

Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät

Institut für Chemie

Fachgebiet: Analytische Chemie

Betreuer: Prof. Dr. Ralf Zimmermann

Mr Xin Cao

(e-mail: xin.cao@uni-rostock.de)

Investigation of the Impact of Three Different Reference Particulate Matter on Human Monocytic THP-1 and Lung Epithelial A549 Cells

Luftverschmutzung ist eines der größten Gesundheitsprobleme der Welt. Jedes Jahr werden Tausende von Todesfällen auf verschmutzte Luft zurückgeführt. Feinstaub (PM) ist ein sehr wichtiger Bestandteil der Luftverschmutzung. Es enthält komplexe anorganische und organische Stoffe wie Metalle und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK). Toxikologische Studien zeigen, dass PM Zytotoxizität, Entzündung und Genotoxizität in Zellen induzieren kann. Die Auswirkungen von PM auf die menschliche Gesundheit sind jedoch sehr komplex und noch nicht vollständig verstanden. Im Zuge dieser Arbeit fanden wir zunächst heraus, dass PM verschiedenen Ursprungs unterschiedliche Zusammensetzungen an PAKs enthielten, die unterschiedliche toxische und mutagene Äquivalente aufwiesen (Publikation 1). Um zu verstehen, wie sich PM verschiedenen Ursprungs auf Zellen auswirken, und welche Komponenten bei den biologischen Effekten eine Rolle spielen, wurden in-vitro-Experimente an verschiedenen Zelltypen durchgeführt (Publikation 2 und 3).

Wir untersuchten den Einfluss von drei Referenz-PM, d. h. Feinstaub ERM-CZ100 (CZ100), Urban Dust SRM1649 (UD 1649), und Diesel PM SRM2975 (Diesel PM 2975), auf humane monozytäre THP-1-Zellen und A549 Lungenepithelzellen. Sowohl oxidative DNA-Schäden in Form von 8-Hydroxy-2'-desoxyguanosin (8-OHdG) Läsionen, als auch das Lipidperoxidationsprodukt Malondialdehyd (MDA) wurden in beiden Zelltypen mittels Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) analysiert, um die oxidative Kapazität der drei verschiedenen PM. Der Zytokinese-Block-Mikronukleus-Zytom Assay (CBMN Cyt, OECD 487) wurde durchgeführt, um in beiden Zelllinien die Genotoxizität (basierend auf Chromosomenschäden) der verschiedenen PM und Oxidationsmittel zu untersuchen. Kontaminationen durch Metallelemente in den PM Proben wurden unter Verwendung von Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) analysiert. Die Auswirkungen von PM auf epigenetische DNA-Modifikationen wie Cytosin-Methylierung, Cytosin-Hydroxymethylierung und Adenin-Methylierung wurden in menschlichen monozytären THP-1-Zellen untersucht. Die Korrelation zwischen verschiedenen toxikologischen Ereignissen und PM-Komponenten wurden untersucht, um eine potenzielle Verbindung zwischen ihnen herzustellen.

Die drei verschiedenen PM wiesen unterschiedliche Verunreinigungen durch Metallelemente und PAHs auf und zeigten unterschiedliche schädliche Wirkungen auf beide Zelltypen. Alle PM induzierten oxidative DNA-Schäden in Form von 8-OHdG. Nur CZ100 zeigte eine oxidative Kapazität, Lipide zu oxidieren, was sich in Form erhöhter MDA Level widerspiegelte. In A549 Zellen generierte Diesel PM 2975 die höchste Genotoxizität im Vergleich zu den beiden anderen PM. CZ100 und UD 1649 verringerten das Cytosin-Methylierungs Level. Während alle PM das Cytosin-Hydroxymethylierungs Level erhöhten, wurde eine erhöhte Adenin-Methylierung nur durch CZ100 induziert. Die Ergebnisse zeigten, dass THP-1 Zellen gegenüber oxidativen Bedingungen sensibler waren als A549 Zellen. Während die persistenten 8-OHdG DNA-Schäden eine potenziell treibende Kraft für Chromosomenschäden darstellen, waren die verringerten Cytosin-Methylierungsniveaus eher auf Metallelemente wie As, Cr und Cd in PM zurückzuführen. Die erhöhte Cytosin-Hydroxymethylierung und N6-Methyladenin waren reversibel und hatten potenziell biologische Funktionen als Reaktion auf die PM-Exposition.