

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Chemisch-technische Analyse und chemische Lebensmitteltechnologie

Elementare Zusammensetzung und gesundheitliche Bedeutung von Feinstäuben aus Grundschulklassenzimmern und der umgebenden Außenluft

Jürgen Sebastian Öder

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. M. Rychlik

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. H. Parlar
2. apl. Prof. Dr. J.T.M. Buters

Die Dissertation wurde am 10.11.2010 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 22.12.2010 angenommen.

Der experimentelle Teil dieser Doktorarbeit wurde im Zentrum Allergie und Umwelt (ZAUM) der Technischen Universität München und des Helmholtz Zentrums München unter der Leitung von Frau Professor Heidrun Behrendt (bis März 2010) und Herrn Professor Carsten Schmidt-Weber (seit April 2010) durchgeführt.

I. Inhaltsverzeichnis

I.	Inhaltsverzeichnis	I
II.	Verzeichnis der veröffentlichten Daten aus der Arbeit.....	IV
III.	Abkürzungsverzeichnis	VI
1.	Vorwort	1
2.	Einleitung	2
2.1	Staubfraktionen: Definitionen über die Partikelgröße.....	2
2.2	Zusammensetzung von Feinstäuben	4
2.3	Gesundheitliche Bedeutung von Feinstäuben.....	5
2.3.1	Epidemiologische Studien.....	5
2.3.2	Experimentelle Studien	6
2.4	Anthropogene Quellen von Feinstäuben.....	8
2.5	Richtlinien und Grenzwerte.....	9
2.6	Feinstäube in Innenräumen	10
2.7	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAH)	13
2.8	Fremdstoffmetabolismus.....	15
2.9	Biogene Staubkomponenten und ihre Auswirkungen auf die Gesundheit .	18
2.10	Allergische Reaktionen	19
3.	Ziel der Arbeit	22
4.	Material und Methoden	24
4.2	Medien, Puffer und Lösungen.....	27
4.3	Probanden	28
4.4	Methoden	29
4.4.1	Feinstaubsammlung	29
4.4.2	Bestimmung der PM ₁₀ -Konzentrationen	30
4.4.3	Partikelrückgewinnung.....	30
4.4.4	Analytik der Feistaubproben	31
4.4.4.1	Bestimmung der Partikelzusammensetzung mittels EDX	31
4.4.4.2	PAH-Analytik	32
4.4.4.3	Endotoxinbestimmung	32

4.4.4.4 Allergenmessung.....	32
4.4.5 In-vitro-Testsysteme	33
4.4.5.1 Zellen und Zellkulturbedingungen.....	33
4.4.5.2 Zytotoxizitätstests.....	34
4.4.5.3 Genomweite Genexpressionsanalyse	34
4.5 Basophilenaktivierungstest.....	35
4.6 Statistische Analyse	36
5. Ergebnisse	37
5.1 PM ₁₀ -Belastung in Schulen und Wohnungen.....	37
5.2 Zusammensetzung der Feinstaubproben	38
5.2.1 Einzelelemente	38
5.2.2 Partikeltypen	40
5.2.3 PAH-Gehalt	45
5.2.4 Endotoxingehalt.....	45
5.2.5 Allergengehalt	46
5.3 Zytotoxizität von PM ₁₀	47
5.3.1 Direkte Zytotoxizität.....	47
5.3.2 Metabolismus-vermittelte Zytotoxizität.....	49
5.3.3 Beitrag reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) zur CYP-vermittelten Zytotoxizität.....	51
5.3.4 Toxizität bezogen auf das Luftvolumen.....	52
5.4 Regulation der Genexpression durch PM ₁₀	52
5.4.1 Genomweite Analyse (Affymetrix)	52
5.4.1.1 Genomweite Regulation	53
5.4.1.2 Betroffene Stoffwechselwege	53
5.4.1.3 Vergleich der Wirkung von Innenraum- und Außenluftstäuben	55
5.4.2 Analyse einer Auswahl von 46 Genen.....	55
5.4.2.1 Bestätigung der genomweiten Ergebnisse durch qPCR	56
5.4.2.2 Ausweitung der Genexpressionsanalyse auf alle PM ₁₀ -Proben.....	58
5.4.2.2.1 Funktionen der regulierten Gene.....	58
5.4.2.2.2 Zeitlicher Verlauf der Genregulation	61
5.4.2.2.3 Vergleich Innen – Außen	62
5.4.2.2.4 Genregulatorisches Potential der verschiedenen Schulstäube	65
5.4.2.2.5 Korrelation der Genregulation mit Endotoxinkonzentrationen	66

5.4.2.2.6 Korrelation der Genregulation mit PAH-Konzentrationen.....	66
5.5 PM ₁₀ -induzierte Aktivierung basophiler Granulozyten.....	68
6. Diskussion	71
7. Zusammenfassung	81
8. Abstract (Zusammenfassung auf Englisch)	83
IV. Literaturverzeichnis	VIII
V. Danksagung	XVIII
VI. Anhang.....	XX
VII. Lebenslauf.....	L

II. Verzeichnis der veröffentlichten Daten aus der Arbeit

Publikationen

Oeder S., Weichenmeier I., Schober W., Dietrich S., Pusch G., Pfab F., Schierl R., Jörres R., Fernández-Caldas E., Fromme H., Behrendt H., Buters J.T.M.; Toxicity and Elemental Composition of Particulate Matter PM₁₀ from Outdoor and Indoor Air of Elementary Schools; **2010**; in Vorbereitung

Publizierte Abstracts für einen Vortrag - international

Oeder S., Schober W., Weichenmeier I., Schierl R., Dietrich S., Fromme H., Lintelmann J., Behrendt H. and Buters J.T.M. Differential gene expression of inflammatory and xenobiotic metabolizing genes after exposure to elementary classroom indoor/outdoor PM₁₀. Vortrag auf der IAC 2010 (International Aerosol Conference), Helsinki, 29. August - 03. September **2010**, Abstract 499

Oeder S., Schober W., Weichenmeier I., Dietrich S., Fromme H., Behrendt H., Buters J.T.M. Cytotoxic and inflammatory effects of indoor PM₁₀ compared to outdoor PM₁₀ from German schools. Vortrag auf der EAC 2009 (European Aerosol Conference 2009), Karlsruhe, 06.-11. September **2009**, Abstract T104A04

Publizierte Abstracts für einen Vortrag - national

Oeder S., Weichenmeier I., Schober W., Schierl R., Dietrich S., Fromme H., Matuschek G., Behrendt H., Buters J.T.M. Differential Induction of inflammatory and xenobiotic metabolizing genes by indoor and outdoor PM₁₀. Vortrag auf der 51. Jahrestagung der DGPT (Deutsche Gesellschaft für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie), Mainz, 23.-25 März **2010**, Abstract 305, Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol (2010) 381 (Suppl 1):66

Oeder S., Weichenmeier I., Fernandes-Caldas E., Dietrich S., Fromme H., Behrendt H., Buters J.T.M. Inflammatory and allergenic potential of particulate matter in schools. Vortrag auf dem 22. Mainzer Allergie-Workshop der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und Klinische Immunologie (DGAKI), Mainz, 11.-12. März **2010**, Allergo J 2010, 1:31

Oeder S., Weichenmeier I., Schober W., Dietrich S., Fromme H., Behrendt H., Buters J.T.M. Cytotoxicity and elemental composition of particulate matter in schools. Vortrag auf dem 21. Mainzer Allergie-Workshop der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und Klinische Immunologie (DGAKI), Mainz, 19.-20. März **2009**, Allergo J 2009, 1:29

Oeder S., Weichenmeier I., Schober W., Dietrich S., Fromme H., Behrendt H., Buters J.T.M. Elemental composition and cytotoxic effects of indoor PM₁₀ compared to outdoor PM₁₀. Vortrag auf der 50. Jahrestagung der DGPT (Deutsche Gesellschaft

für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie), Mainz, 10.-12. März **2009**, Abstract 330, Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol (2009) 379 (Suppl 1):68

Publizierte Abstracts für die Präsentation eines Posters - international

Oeder S., Weichenmeier I., Schober W., Dietrich S., Fromme H., Behrendt H., Buters J.T.M. Toxicity and elemental composition of PM₁₀ in classrooms. Poster auf der European Aerosol Conference (EAC) 2008, Thessaloniki, 24.-29. August **2008**, Abstract T10A007P

Publizierte Abstracts für die Präsentation eines Posters - national

Oeder S., Weichenmeier I., Schober W., Dietrich S., Fromme H., Behrendt H., Buters J.T.M. Cytotoxic and inflammatory effects of PM₁₀ in classrooms. Poster auf der 36. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF), Heidelberg, 05.-07. März **2009**, Abstract P299, page 324, Experimental Dermatology, Volume 18, Issue 3 (p 274-333)

Oeder S., Weichenmeier I., Schober W., Dietrich S., Fromme H., Behrendt H., Buters J.T.M. Particulate matter in elementary school classrooms: Elemental composition and toxicity. Poster auf dem 6th Symposium on Environmental Allergy and Allergotoxicology (SEAA), Neuherberg, 29.-31. Januar **2009**, Book of abstracts, Abstract 3, page 2

Oeder S., Weichenmeier I., Schober W., Dietrich S., Fromme H., Behrendt H., Buters J.T.M. Elemental composition of particulate matter in classrooms. Poster auf der 2. Jahrestagung der Gesellschaft für Hygiene, Umweltmedizin und Präventivmedizin (GHUP), Graz, 1.-4. Oktober **2008**, Abstract FNP04, Umweltmedizin in Forschung und Praxis, Volume 13, Issue 5 (p316-335)

Oeder S., Weichenmeier I., Schober W., Dietrich S., Fromme H., Behrendt H., Buters J.T.M. Toxicity and elemental composition of PM₁₀ in classrooms. Poster auf der 49. Jahrestagung der DGPT (Deutsche Gesellschaft für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie), Mainz, 11. – 13. März **2008**, Abstract 477, page 93, Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol (2008) 377 (Suppl 1):1–98

Preise

Posterpreis im Rahmen der 2. Jahrestagung der Gesellschaft für Hygiene, Umweltmedizin und Präventivmedizin (GHUP) e.V., 01.-04. Oktober 2008 in Graz

III. Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
Abb.	Abbildung
AhR	Arylhydrocarbon-Rezeptor
BSA	bovines Serumalbumin
bzw.	beziehungsweise
CYP	Cytochrom P450
CD	<i>cluster of differentiation</i>
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
E-Staub	einatembarer Staub
EDX	energiedispersive Röntgenmikroanalyse
EFC	7-Ethoxy-4-(trifluoromethyl)-coumarin
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
<i>et al.</i>	<i>et alii</i> (und andere)
FACS	<i>fluorescence activated cell sorter</i>
FBS	<i>fetal bovine serum</i> (fötales Rinderserum)
Fel d 1	<i>Felix domesticus</i> Allergen 1
HFC	7-Hydroxy-4-(trifluoromethyl)-coumarin
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
HVS	<i>high volume sampler</i>
IgE	Immunglobulin E
IL	Interleukin
KSFM	<i>keratinocyte serum-free medium</i>
L	Liter
LPS	Lipopolysaccharid

M	molar
Mg	Milligramm
min.	Minute(n)
mind.	mindestens
ml	Milliliter
mM	millimolar
mRNA	<i>messenger-RNA</i> (Boten-RNA)
MVS	<i>medium volume sampler</i>
MW	Mittelwert
n.s.	nicht signifikant
PAK/PAH	polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoff
PBS	<i>phosphate buffered saline</i>
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> (Polymerasekettenreaktion)
PM	<i>particulate matter</i>
PM ₁₀	Partikel mit einem aerodynamischen Durchmesser <10µm
REM	Rasterelektronenmikroskop
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	<i>reactive oxygen species</i> (reaktive Sauerstoffspezies)
rpm	<i>rotations per minute</i> (Umdrehungen pro Minute)
RT	Raumtemperatur
RT-PCR	<i>reverse transcription-PCR</i>
Stabw	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
µM	Mikromolar

1. Vorwort

Diese Dissertation wurde im Rahmen des Projektes PAMINA (**PA**rticulate **M**atter in **IN**door and **A**mbient Environments) durchgeführt. Es handelt sich hierbei um einen Forschungsverbund zu Exposition und Wirkung von Stäuben, an dem das Sachgebiet Umweltmedizin des Bayerischen Landesamtes für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, das Institut für Arbeits- und Umweltmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München und das Zentrum Allergie und Umwelt (ZAUM) der Technischen Universität München und des Helmholtz Zentrums München beteiligt sind. Gefördert wurde das Projekt vom Bayerischen Staatsministerium für Umwelt und Gesundheit als Vorhaben UGV03060902114.

2. Einleitung

In den letzten Jahrzehnten hat sich die Luftqualität in den meisten Ländern Europas deutlich verbessert [1]. Allerdings gibt es eine Reihe an Belegen dafür, dass Luftschadstoffe auch in den Konzentrationen, in denen sie heutzutage in europäischen Ländern vorkommen, zu gesundheitlichen Beeinträchtigungen führen können. Insbesondere die Exposition gegenüber Schadstoffen wie Feinstaub und Ozon geht mit einem Anstieg an Krankenhausbesuchen in Folge von kardiovaskulären und Atemwegserkrankungen [2] und mit einer erhöhten Mortalitätsrate einher [3-5]. So gehen Schätzungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) davon aus, dass weltweit beinahe 6,4 Millionen Lebensjahre durch die Langzeitexposition gegenüber Feinstaub verloren gehen [6, 7]. In Deutschland ist die Lebenserwartung aufgrund der derzeitigen Feinstaubbelastung um 10,2 Monate verkürzt [8].

2.1 Staubfraktionen: Definitionen über die Partikelgröße

Fein- und Schwebstaub oder englisch *particulate matter* (PM) besteht aus luftgetragenen festen oder flüssigen Teilchen, die nicht sofort zu Boden sinken, sondern eine gewisse Zeit in der Atmosphäre verweilen. Diese werden anhand ihres aerodynamischen Durchmessers in folgende Größenfraktionen unterteilt (Abbildung 1):

- Schwebstaub (TSP, total suspended particulates/particles): Die Aerosolkomponente der in der Luft vorhandenen Partikel bis zu einem oberen aerodynamischen Durchmesser von rund 30 μm (VDI 2463 Blatt 1).
- PM_{10} : Partikel, die einen definierten größenselektierenden Lufteinlass passieren, der für einen aerodynamischen Durchmesser von 10 μm eine Abscheidewirksamkeit von 50% aufweist (Immission: Richtlinie 2008/50/EG, DIN EN 12341; Emission: Entwurf DIN EN 23210-1).
- $\text{PM}_{2,5}$: Partikel, die einen definierten größenselektierenden Lufteinlass passieren, der für einen aerodynamischen Durchmesser von 2,5 μm eine

Abscheidewirksamkeit von 50% aufweist (Immission: Richtlinie 2008/50/EG, DIN EN 14907; Emission: Entwurf DIN EN 23210-1).

- Ultrafeine Partikel: Teilchen mit einem thermodynamischen Durchmesser kleiner $0,1 \mu\text{m}$.

Für den Begriff „Feinstaub“ existiert keine exakte Definition. Er wird umgangssprachlich für PM_{10} und $\text{PM}_{2,5}$ verwendet. Im Bereich des Arbeitsschutzes sind außerdem folgende Bezeichnungen geläufig:

- Gesamte Schwebstoffe: Alle von der Luft umgebenen Partikel innerhalb eines bestimmten Volumens (DIN EN 481)
- Einatembarer Staub (E-Staub): Massenanteil aller Schwebstoffe, der durch Mund und Nase eingeatmet wird (definierte Abscheidefunktion nach DIN EN 481; definiert bis $100 \mu\text{m}$ aerodynamischer Durchmesser)
- Thorakaler Staub: Der Massenanteil der eingeatmeten Partikel, der über den Kehlkopf hinaus vordringt (DIN EN 481)
- Alveolengängiger Staub (A-Staub): Der Massenanteil der eingeatmeten Partikel, der bis in die nicht cilierten Luftwege vordringt (definierte Abscheidefunktion nach DIN EN 481; Abscheidegrad z.B. bei $4 \mu\text{m}$: 50%)

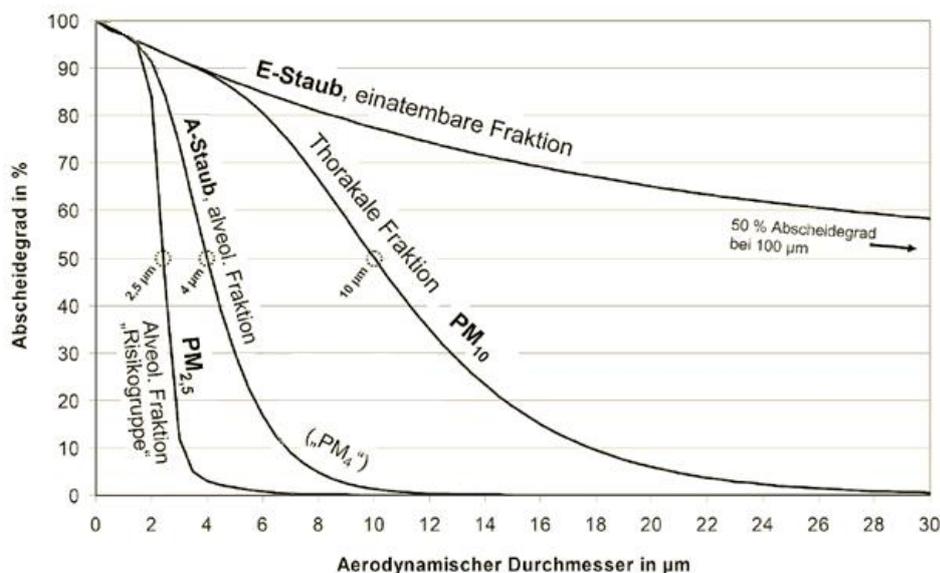


Abbildung 1: Konventionen definierter Staubfraktionen, die zur Staubprobennahme im Bereich Arbeitsschutz und der Überwachung von Emissions-/Immissionsbelastungen in Deutschland verbindlich sind. (nach Mattenklott und Höfert [9])

Der aerodynamische Partikeldurchmesser ist dabei definiert als der Durchmesser einer Kugel mit der normierten Dichte von 1 g/cm^3 , welche die gleiche Sinkgeschwindigkeit in ruhender oder laminar strömender Luft hat wie die Partikel selbst [9, 10].

Die Unterscheidung der Staubfraktionen ist insbesondere deshalb von Bedeutung, da das Gesundheitsrisiko inhalierter Staubpartikel auch davon abhängt, wie tief die Teilchen in den Atemtrakt eindringen können. So werden Partikel, die größer als $10 \text{ }\mu\text{m}$ sind, von Nase, Mund und Rachen zurückgehalten. Partikel zwischen 10 und $2,5 \text{ }\mu\text{m}$ ($\text{PM}_{10-2.5}$) erreichen nur zu einem geringen Prozentsatz die kleineren Bronchien und Alveolen. Für Partikel unter $2,5 \text{ }\mu\text{m}$ Durchmesser ($\text{PM}_{2.5}$) ist dagegen die Wahrscheinlichkeit, in die Alveolen zu gelangen und deponiert zu werden, deutlich höher [11]. Darüber hinaus nimmt mit abnehmender Größe die spezifische Oberfläche und damit die Reaktivität der Partikel zu.

2.2 Zusammensetzung von Feinstäuben

Aber nicht nur die Partikelgröße, sondern auch die chemische und biologische Zusammensetzung von Feinstäuben ist für ihr gesundheitsgefährdendes Potential entscheidend. Grundsätzlich handelt es sich bei Feinstäuben um äußerst komplexe Stoffgemische aus natürlichen und anthropogenen Bestandteilen. Sie enthalten Metalle, Salze, biologisches Material (z.B. Endotoxin), flüchtige organische Verbindungen (VOCs) und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAHs), die oftmals an einen kohlenstoffhaltigen Kern adsorbiert sind [12]. Die Fraktionen TSP und PM_{10} bestehen hauptsächlich aus Material der Erdkruste, Meersalz und biologischen Faktoren, wie Bakterien und Pollen, und entstehen in erster Linie durch mechanische Prozesse. $\text{PM}_{2.5}$ und ultrafeine Partikel werden dagegen hauptsächlich durch Verbrennungsprozesse gebildet und enthalten Metalle, Kohlenwasserstoffe und Sekundärpartikel, die durch chemische Reaktionen mit gasförmigen Verbindungen in der Atmosphäre entstehen [13].

2.3 Gesundheitliche Bedeutung von Feinstäuben

Eine gesundheitsschädigende Wirkung von Feinstäuben wurde sowohl in epidemiologischen, als auch in experimentellen Studien gefunden.

2.3.1 Epidemiologische Studien

In der europäischen APHEA-Studie (Air Pollution and Health: a European Approach) konnte gezeigt werden, dass mit jeder Erhöhung der PM_{10} -Konzentration um $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ die tägliche Sterblichkeitsrate um 0,6% ansteigt, die Zahl der Krankenhausbesuche wegen Asthma und chronisch obstruktiver Lungenerkrankung (COPD) bei den über 65-Jährigen um 1% und Besuche wegen Herz-Kreislaufkrankungen um 0,5% zunehmen [2, 14, 15]. Eine Gefährdung des Kardiovaskularsystems wurde ebenfalls in einer Studie gefunden, die während einer Phase starker Luftverschmutzung im Jahr 1985 in Augsburg durchgeführt wurde. Die hohe Partikelbelastung führte hier zu einer gesteigerten Viskosität des Blutplasmas, einer erhöhten Herzfrequenz, so wie einem Anstieg der Konzentration an C-reaktivem Protein [16-18]. In einer in Boston durchgeführten Studie wurde weiterhin ein Zusammenhang der $PM_{2.5}$ -Konzentration mit lebensbedrohlichen Herzarrhythmien und Herzinfarkten aufgedeckt [19, 20]. Zu einer Beeinträchtigung der Lungenfunktion in Verbindung mit Symptomen einer Bronchitis führte eine erhöhte PM_{10} -Konzentration in einer Serie von schweizerischen Studien [21-23]. Als ein Hauptbestandteil von Feinstäuben bergen Partikel aus Fahrzeugemissionen ein besonders hohes Gesundheitsrisiko. So wurde in einer kanadischen Studie gezeigt, dass Personen, die innerhalb 100 m von einem *highway* oder innerhalb 50 m einer städtischen Hauptverkehrsstraße entfernt wohnen, insgesamt ein relatives Mortalitätsrisiko von 1,18 (bezogen auf alle Todesursachen) und ein relatives Mortalitätsrisiko im Zusammenhang mit kardiovaskulären oder cerebrovaskulären Erkrankungen von 1,35-1,40 bzw. 1,79-1,85 haben [24, 25]. Desweiteren wurde in einer deutschen prospektiven Geburtskohortenstudie der Einfluss von aus dem Straßenverkehr stammendem $PM_{2.5}$ auf allergische Erkrankungen nachgewiesen. Die Schwärzung der $PM_{2.5}$ -Proben – ein Maß für die Herkunft aus dem Straßenverkehr und insbesondere aus Dieselfahrzeugen [26] – korrelierte hier signifikant mit asthmatischer Bronchitis, Heuschnupfen und allergischer Sensibilisierung

gegenüber Pollen [8]. Kinder stellen hinsichtlich der gesundheitsschädigenden Auswirkungen von Luftschadstoffen eine besondere Risikogruppe dar, da sich ihre Lungen und ihr Immunsystem noch in der Entwicklung befinden und da sie aufgrund einer höheren Atemfrequenz höhere Dosen der Schadstoffe inhalieren als Erwachsene [27].

2.3.2 Experimentelle Studien

Experimentelle Studien mit Feinstäuben dienen in erster Linie dazu, die den gesundheitsschädigenden Wirkungen zugrundeliegenden Mechanismen aufzudecken und die auslösenden Bestandteile zu ermitteln. Auf diese Weise konnte gezeigt werden, dass die Pathogenese einer durch Luftschadstoffe bewirkten Schädigung der Lunge zum großen Teil durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) und inflammatorische Zytokine vermittelt werden, die eine bedeutende Rolle im akuten Entzündungsgeschehen spielen [28-33]. ROS beeinflussen neben ihrer oxidativen Wirkung auch die Regulation des *nuclear factor kappa B* (NF- κ B), eines Transkriptionsfaktors, der an der Entstehung entzündlicher Erkrankungen beteiligt ist [31, 34-37]. Aktiviertes NF- κ B induziert seinerseits die Gentranskription des tumour necrosis factor alpha (TNF- α) und interleukin-1beta (IL-1 β) als ein frühes Ereignis der akuten inflammatorischen Antwort [38]. Beide dieser proinflammatorischen Mediatoren veranlassen dann über para- oder autokrine Wege direkt oder indirekt, dass Zellen andere inflammatorische Zytokine (z.B. interleukin-8 (IL-8), granulocyte/macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), interleukin-6 (IL-6) und transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)) ausschütten [28, 34, 39-41]. Solche aus Zellen stammenden Mediatoren können eine normale Homöostase wiederherstellen. Kommt es aber zu einer Überproduktion oder vermehrten Ausschüttung, wirken sie als verstärkende Faktoren in der komplexen Kaskade der akuten Inflammation und in damit verbundenen Erkrankungen [34].

Neben dem Einfluss auf das Entzündungsgeschehen können ROS auch Schädigungen an Membranlipiden, Proteinen und der DNA hervorrufen, die den Zelltod in Form von Nekrose oder Apoptose nach sich ziehen können [42]. Feinstaub-induzierte Bildung reaktiver Sauerstoffspezies kann also pulmonale

Inflammation verursachen, die Entwicklung der Lunge beeinträchtigen und Erkrankungen wie COPD, zystische Fibrose und Asthma begünstigen [43-45].

ROS, wie zum Beispiel das Hydroxyl- oder das Superoxidradikal, können dabei entweder direkt aus den Feinstäuben stammen oder erst endogen durch die Umsetzung von PM-Bestandteilen erzeugt werden. Dabei wirken Redox-aktive Übergangsmetalle, Chinonstrukturen, die in einem Redoxzyklus metabolisiert werden und PAHs auf synergistische Weise zusammen. Eine besondere Rolle scheinen dabei Eisen(II)-Ionen in Feinstäuben zu spielen, die für einen Großteil der Generierung von Hydroxylradikalen verantwortlich gemacht werden [13, 46-48]. Das gesamte Potential zur Generierung von Radikalen scheint allerdings stärker mit dem PAH-Gehalt der Partikelproben, als mit ihrem Gehalt an Übergangsmetallen zusammenzuhängen [49].

Der PAH-Gehalt, im Speziellen der von nitro-PAHs, wirkt sich außerdem auf die Mutagenität von Feinstäuben aus. Insbesondere nach metabolischer Aktivierung durch den S9-Mix (Leberhomogenat) konnte eine mutagene Wirkung festgestellt werden [13].

Zur Abklärung der Zytotoxizität von Feinstäuben wurden viele verschiedene Testsysteme verwendet. Die wichtigsten Unterschiede betreffen die verwendeten Zelltypen, Inkubationszeiten, Feinstaubfraktionen und Staubextraktionsverfahren. Diese Variationen führen zu teilweise unterschiedlichen Ergebnissen. So konnten nur drei von sieben Studien eine positive Dosis-Wirkungs-Beziehung bei steigender Feinstaubkonzentration finden. Beim Vergleich verschiedener Feinstaubfraktionen wurde allerdings immer die höchste Zytotoxizität bei den kleinsten Partikeln gefunden [49-52]. In einigen Studien korrelierte die Zytotoxizität mit dem PAH-Gehalt [52-54], in anderen dagegen eher mit dem Gehalt an löslichen Übergangsmetallen [49, 51].

Nicht zuletzt konnte gezeigt werden, dass sich Feinstaubbestandteile auch auf allergische Reaktionen auswirken können. So können einzelne von Dieselruß stammende PAHs proallergische Prozesse fördern, indem sie die FcεRI-gekoppelte Mediatorfreisetzung aus humanen basophilen Granulozyten verstärken und eine proinflammatorische T_H2-dominierte Immunantwort initiieren [55, 56].

2.4 Anthropogene Quellen von Feinstäuben

Die besondere gesundheitliche Bedeutung der aus dem Straßenverkehr stammenden Partikel zeigt, dass es notwendig ist, die Herkunft der untersuchten Stäube zu berücksichtigen. In Bayern sind nach Angaben des Bayerischen Landesamtes für Umwelt (LfU) die häufigsten Feinstaubquellen (bezogen auf PM₁₀ in der Außenluft) der Verkehr mit 57 %, die Kleinf Feuerungen mit 16 %, die Industrieanlagen mit 12 %, die landwirtschaftliche Viehhaltung mit 12 %, der Umschlag staubender Güter mit 2 % und die Ackerlandbewirtschaftung mit 1 % (Abbildung 2). Der hohe Beitrag des gesamten Verkehrs von 57 % ist die Summe von rund einem Viertel (24 %) direkter Auspuffemissionen des Straßenverkehrs, knapp einem Fünftel (19 %) vom Straßenverkehr resultierender Aufwirbelungen und aus weiteren 14 % von dieselbetriebenen Offroad-Fahrzeugen sowie dem Schienen-, Flug- und Schiffsverkehr.

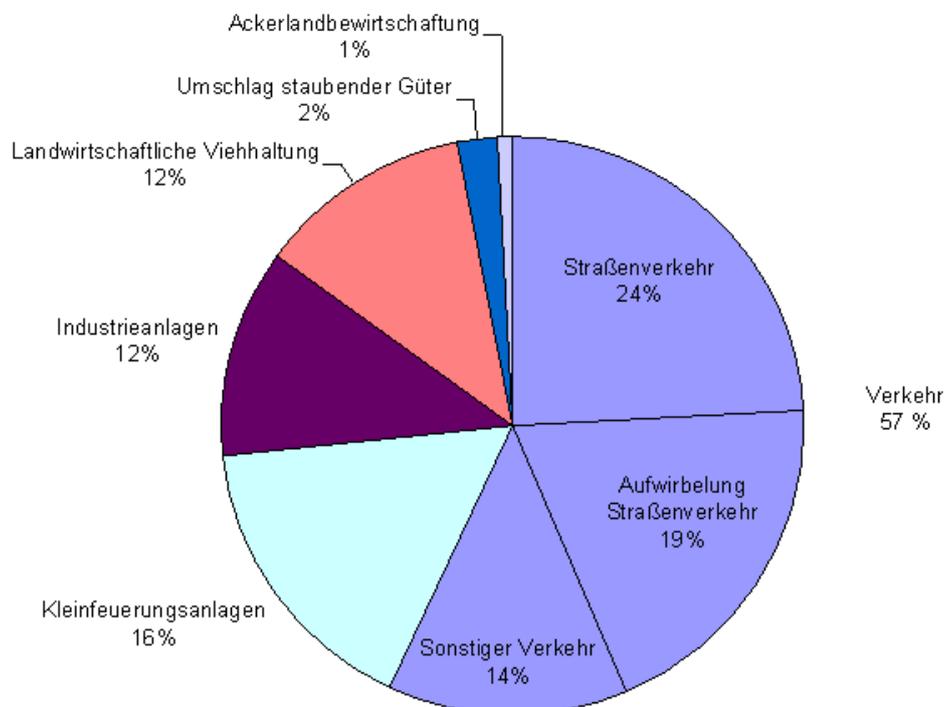


Abbildung 2: Verursacher der Emissionen von Feinstaub in Bayern; Quelle: Emissionskataster Bayern 2004, LfU 2009

2.5 Richtlinien und Grenzwerte

Da sowohl eine kurzzeitige, als auch eine langfristige Exposition gegenüber Feinstaub zu gesundheitlichen Beeinträchtigungen führen kann, empfiehlt die WHO in ihren *Air Quality Guidelines* aus dem Jahr 2005 Richtlinien für einen 24-Stunden- und einen Jahresmittelwert. Für PM_{10} liegen diese bei 50 bzw. 20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, für $PM_{2.5}$ bei 25 bzw 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Tabelle 1). Diese Werte spiegeln die Konzentrationen wieder, ab denen nach dem aktuellen Wissensstand mit einem Anstieg der Mortalitätsrate zu rechnen ist. Allerdings wird darauf hingewiesen, dass diese Richtlinien vermutlich nicht zu einem vollständigen Schutz für jedes Individuum gegen alle möglichen gesundheitsschädigenden Wirkungen von Feinstäuben führen, da bisher noch keine Konzentration gefunden wurde unterhalb derer keine Gesundheitsschädigung auftritt [57]. Ein Erstellen von Grenzwerten sollte daher immer darauf abzielen, eine möglichst geringe Feinstaubkonzentration zu erreichen.

Die europäische Kommission legte in der Richtlinie 1999/30/EG Grenzwerte für PM_{10} fest. Die seit 2005 einzuhaltenden Grenzwerte liegen hier für das Jahresmittel bei 40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ und für das 24-Stundenmittel bei 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, wobei maximal 35 Überschreitungen pro Jahr stattfinden dürfen [58]. In deutsches Recht umgesetzt wurden diese PM_{10} -Grenzwerte mit dem 22. Bundes-Immissionsschutzgesetz. In den USA erfolgt die Regulierung dagegen hauptsächlich über Grenzwerte für $PM_{2.5}$. Die oberste amerikanische Umweltbehörde (Environmental Protection Agency, kurz: EPA) schreibt in ihren *National Ambient Air Quality Standards* Grenzwerte von 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ für das 24-Stunden-Mittel und 15 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ für den Jahresdurchschnitt vor. Für PM_{10} gibt es in den USA lediglich einen 24-Stunden-Grenzwert, der mit 150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ dreimal höher liegt als der in der EU gültige und von der WHO empfohlene Wert von 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Alle genannten Grenzwerte gelten ausschließlich für die Außenluft.

Bei Grenzwertüberschreitungen sind in der EU als Sofortmaßnahmen Aktionspläne und als längerfristige Maßnahmen Luftreinhaltepläne zu erstellen. In Deutschland wird beispielsweise der Einbau von Partikelfiltern in Kraftfahrzeuge steuerlich gefördert und von Seiten einiger Kommunen wurden Umweltzonen eingeführt, die von Fahrzeugen mit hohen Feinstaubemissionen nicht befahren werden dürfen.

Tabelle 1: Richt- und Grenzwerte für Feinstaub in der Außenluft

	PM ₁₀		PM _{2,5}	
	24 Stunden	Kalenderjahr	24 Stunden	Kalenderjahr
<i>WHO Air Quality Guideline</i>	50 µg/m ³	20 µg/m ³	25 µg/m ³	10 µg/m ³
Richtlinie 1999/30/EG	50 µg/m ³ (max. 35 Überschrei- tungen)	40 µg/m ³	-	-
22. Bundes- Immissionsschutzgesetz	50 µg/m ³ (max. 35 Überschrei- tungen)	40 µg/m ³	-	-
<i>EPA National Ambient Air Quality Standards</i>	150 µg/m ³	-	35 µg/m ³	15 µg/m ³

2.6 Feinstäube in Innenräumen

Die beschriebenen Grenzwerte gelten ausschließlich für Feinstäube in der Außenluft und auch der Großteil der Studien, die sich mit der gesundheitlichen Bedeutung von Feinstäuben befassen, bezieht sich auf Außenluftpartikel. Die individuelle Exposition gegenüber Feinstäuben findet allerdings überwiegend in geschlossenen Räumen statt, da sich die meisten Menschen zu mindestens 85% der Zeit in Innenräumen aufhalten [59, 60].

Die in Innenräumen vorliegenden Feinstaubkonzentrationen variieren je nach baulichen Bedingungen, konkreter Nutzung, Art und Intensität potenzieller Innenraumquellen, der Nähe zu Außenluftquellen und der Partikelbewegungen von außen nach innen und umgekehrt, sowie der vorherrschenden meteorologischen Bedingungen. Wesentliche Innenraumquellen sind: Verbrennungsprozesse wie das Betreiben von offenen Brennstellen (Kamine, Gastherme, Gasherde), Abbrennen von Kerzen und insbesondere Rauchen im Innenraum, Kochen, der Betrieb elektronischer Geräte, u. a. Laserdrucker, Heimwerkertätigkeiten, das mechanische

Auf- und Verwirbeln von sedimentierten Partikeln ebenso wie der Eintrag u. a. von anhaftenden Stäuben an Schuhen und Kleidungsstücken [61].

Für die Feinstaubbelastungssituation von Wohnungen ist ein entscheidender Faktor, ob es sich um Raucher- oder Nichtraucherhaushalte handelt. So ergaben Untersuchungen Berliner Wohnungen tagsüber in Raucherhaushalten – in denen während der Probenahme nicht geraucht wurde – PM_4 -Konzentrationen von 18 bis $787 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Winter) bzw. von 57 bis $140 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Sommer). Demgegenüber bewegten sich die Gehalte in Nichtraucherhaushalten von 12 bis $47 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Winter) und von 12 bis $59 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Sommer) [62]. In Schulen ist dagegen nicht mit Zigarettenkonsum zu rechnen. Hier wirken sich eher die Raumnutzung und das Lüftungsverhalten auf die Feinstaubkonzentrationen aus. Die Konzentrationen bewegen sich hier für $PM_{2,5}$ von 3 bis $81 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Winter) bzw. von 5 bis $35 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Sommer) und für PM_{10} von 16 bis $313 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Winter) bzw. von 18 bis $178 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Sommer) [63]. Auffällig ist der ausgeprägte Unterschied der Feinstaubbelastung zwischen dem Winter- und dem Sommerhalbjahr. Insbesondere die hohen Gehalte an größeren Partikeln deuten darauf hin, dass Aufwirbelungsphänomenen eine wesentliche Bedeutung zukommt. So wurde eine Assoziation der Feinstaubgehalte (PM_{10}) mit der Anzahl und Aktivität der Raumnutzer, dem Raumvolumen und der Raumfläche in Klassenräumen beobachtet [63]. Die durchschnittliche PM_{10} Belastung liegt in den Schulen mit 105 (Winter) bzw. $72 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Sommer) deutlich über den in Europa für die Außenluft geltenden Grenzwerten.

Dass diese im Vergleich zur Außenluft erhöhten Feinstaubkonzentrationen in Schulräumen auch zu einem gesteigerten Gesundheitsrisiko führen, lässt sich allerdings nicht ohne weiteres schlussfolgern. Dazu müsste bekannt sein, ob Innenraumstäube die gleiche Zusammensetzung und die gleichen Auswirkungen auf den Organismus haben wie Feinstäube der Außenluft. Dies ist jedoch erst in einigen wenigen Studien untersucht worden. Janssen *et al.* fanden in einer vergleichenden Untersuchung der elementaren Zusammensetzung von PM_{10} aus Klassenzimmern und der Außenluft, dass die erhöhte Konzentration in solchen Innenräumen auf die Resuspension von größeren Partikeln zurückzuführen ist. Diese enthielten gegenüber den Außenluftstäuben deutlich höhere Mengen an den Elementen Silizium, Calcium und Titan, die aus Materialien der Erdkruste stammen. Die einzigen Elemente, die in den Innenräumen nicht angereichert waren, sind Schwefel,

Brom, Blei und Chlor, die überwiegend in kleineren, nicht aus Krustenmaterial stammenden Partikeln vorkommen [64]. Stranger *et al.* konnten in einer Analyse von PM_{2.5} aus Grundschulklassenzimmern ebenfalls eine Anreicherung der Elemente Silizium, Calcium und Titan und darüber hinaus von Chlor, Aluminium, Kalium und Eisen messen [65]. Durch eine Klassifizierung von Einzelpartikeln war es Avigo *et al.* möglich, Ruß, biogene Partikel und Aluminosilikatpartikel als häufigste Partikeltypen in einatembarem Staub aus brasilianischen Grundschulklassenzimmern zu identifizieren [66]. Da in Gebäuden entwickelter Länder viele synthetische Materialien verwendet werden, liegen die Konzentrationen vieler flüchtiger organischer Verbindungen (VOCs) deutlich über denen der Außenluft. So wurden beispielsweise bis zu zehnfach höhere Konzentrationen an dem häufig in Reinigungsmitteln enthaltene *d*-Limonen gemessen. Desweiteren stellen Chloroform, das als Nebenprodukt bei der Trinkwasserdesinfektion entsteht, α -Pinen und β -Pinen als Bestandteile synthetischer Farben und Formaldehyd, das aus Materialien des Gebäudes oder der Einrichtungsgegenstände entweichen kann, eine dominante Innenraumquelle dar [67].

Innenraumstäube setzen sich aber nicht nur anders zusammen als Stäube der Außenluft, sondern sie haben auch unterschiedliche bzw. unterschiedlich starke Auswirkungen auf die Gesundheit. So zeigten König *et al.*, dass entzündliche Prozesse der Atemwege bei Asthmatikern (gemessen an ausgeatmeten Stickoxid) mit der Konzentration an PM_{2.5} der Außenluft, nicht aber mit im Innenraum generiertem PM_{2.5} zusammenhängt [68]. Monn und Becker untersuchten an humanen Monozyten die proinflammatorische Wirkung (IL-6- und IL-8-Freisetzung) und zytotoxische Potential (Hämazytometer) von groben (PM_{10-2.5}) und feinen (PM_{2.5}) Feinstäuben aus Innenräumen und aus der Außenluft und fanden signifikante zytotoxische und proinflammatorische Effekte ausschließlich bei Exposition gegenüber der groben Außenluftstäube. Die Zytotoxizität ließ sich dabei auf Übergangsmetalle, die inflammatorische Wirkung auf Endotoxine zurückführen [69]. Long *et al.* fanden dagegen eine stärkere proinflammatorische Wirkung – gemessen an der Freisetzung des tumor necrosis factor (TNF) – von PM_{2.5} aus Innenräumen als von PM_{2.5} der Außenluft [70]. Diese zum Teil widersprüchlichen Befunde zeigen, dass zwar keine generellen Aussagen über die Wirkung von Innenraumstäuben gemacht werden können, dass Stäube aus Innenräumen aber durchaus ein Potential zur Gefährdung der Gesundheit besitzen.

2.7 Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAH)

Wie bereits erwähnt, kann die Wirkung von Feinstäuben mit ihrem Gehalt an PAHs zusammenhängen. Im Folgenden soll daher auf diese Stoffgruppe näher eingegangen werden. Die Stoffgruppe der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe umfasst mehrere hundert Einzelsubstanzen. Ihr Grundgerüst besteht aus zwei oder mehreren miteinander verbundenen (anellierten) Benzolringen, die unterschiedlich modifiziert sein können [71]. PAHs sind überwiegend neutrale, unpolare Feststoffe, die farblose, gelbliche oder grüne Kristalle bilden. Die Wasserlöslichkeit von PAHs ist gering. Mit zunehmender Anzahl an Ringen sind PAHs schwerer flüchtig und noch weniger wasserlöslich [72].

PAHs entstehen bei der unvollständigen Verbrennung (Pyrolyse) und beim Erhitzen von organischem Material unter Luftabschluss [73]. Sie finden sich in den Abgasen von Heizungen (insbesondere Kohleheizungen), Kraftfahrzeugen, Kokereien, Stahl- und Aluminiumfabriken und der erdölverarbeitenden Industrie [74]. Außerdem sind sie in Flugasche, gebrauchten Schmierölen, Teer, Bitumen, Ruß, geräucherten, gegrillten und gebratenen Nahrungsmitteln und Tabakrauch vorhanden. Auch durch natürliche Prozesse wie Waldbrände können große Mengen PAHs entstehen [75]. PAHs treten je nach Art der Pyrolyse und des Ausgangsmaterials in unterschiedlicher Zusammensetzung, jedoch immer als Gemisch auf. Sie verbreiten sich – zumeist an Staubpartikel gebunden [75] – ubiquitär in der Umwelt und können gleichermaßen Luft, Boden und Wasser kontaminieren. Schon in den 1980er Jahren stellte die US-amerikanische Umweltbehörde (EPA) eine Liste der am häufigsten in Umweltproben (Böden, Sedimente) nachgewiesenen PAHs zusammen: Dies sind Acenaphthen, Acenaphthylen, Anthracen, Benz[*a*]anthracen, Benzo[*b*]fluoranthren, Benzo[*k*]fluoranthren, Benzo[*g,h,i*]perylen, Benzo[*a*]pyren, Chrysen, Fluoranthren, Fluoren, Indeno[*1,2,3-cd*]pyren, Naphthalin, Phenanthren und Pyren, und Dibenzo[*a,h*]anthracen (Abbildung 3). Vom Menschen werden PAHs über Nahrung, Haut und Atemluft aufgenommen [72].

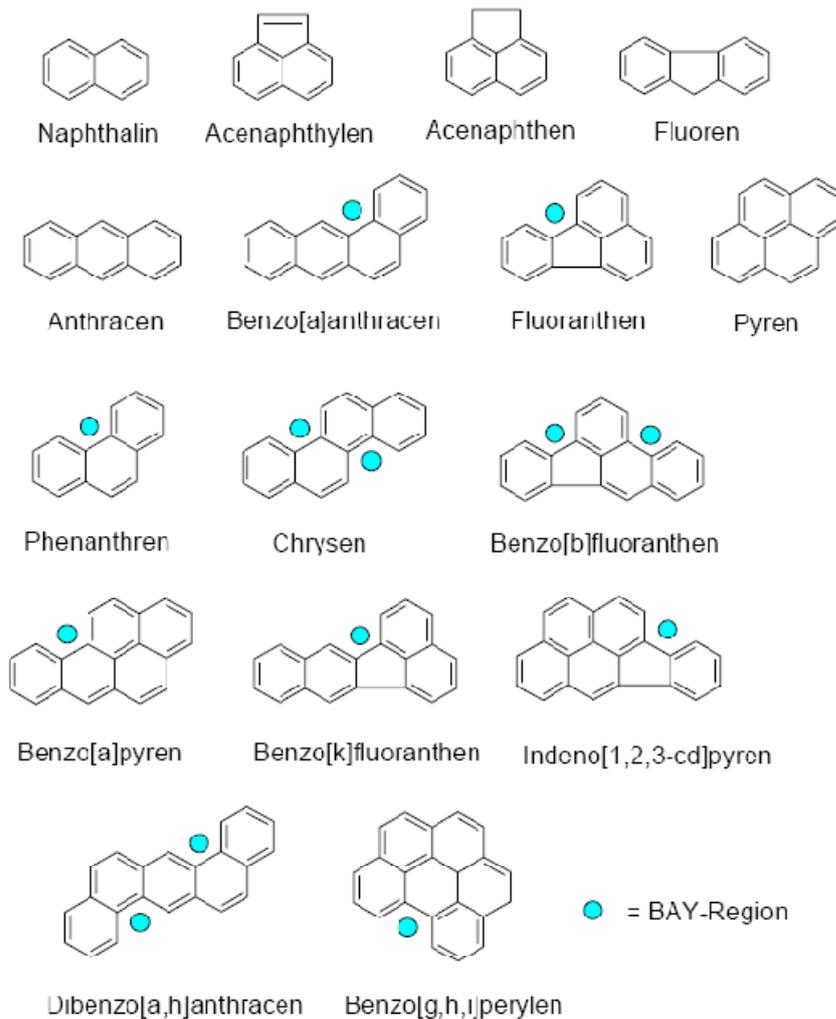


Abbildung 3: Strukturen der 16 EPA *priority* PAHs; der blaue Punkt kennzeichnet die BAY-Region

PAHs besitzen für den Menschen zwar nur eine geringe akute Toxizität, bei langzeitiger Exposition können einige Vertreter dieser Stoffgruppe allerdings starke gesundheitsschädigende Wirkungen aufweisen: Verschiedene PAHs wirken mutagen, beeinträchtigen die Fortpflanzung und können Krebs auslösen. Die *International Agency for Research on Cancer* (IARC) stuft Belastungen mit PAH-Gemischen in die Gefahrengruppe 1 (nachweislich kanzerogen) ein, während alle Einzelsubstanzen maximal in Gruppe 2A eingestuft werden (wahrscheinlich kanzerogen). Krebs auslösende Wirkung haben vor allem PAHs mit vier oder mehr Benzolringen. Außerdem ist die für viele PAHs typische Bay-Region (Abbildung 3) ein Anzeichen für deren Kanzerogenität (Ausnahme: Phenanthren) [76]. Nach dermalen Aufnahme solcher Substanzen erhöht sich vor allem das Risiko für

Hautkrebs: Bei Schornsteinfegern wird Benzo[*a*]pyren für den besonders in früheren Jahren gehäuft auftretenden Hautkrebs verantwortlich gemacht. Nach Inhalation erhöht sich das Risiko, an Lungenkrebs zu erkranken. Dabei leistet der PAH-Gehalt im Tabakrauch einen wesentlichen Beitrag zur Entstehung von Lungenkrebs. Weitere Krebsleiden, die in Zusammenhang mit PAHs gebracht werden, sind Kehlkopf-, Magen-, Darm- und Blasenkrebs. PAHs sind so genannte indirekte Kanzerogene, die erst durch metabolische Umwandlung mutagen und kanzerogen werden [72]. Diese metabolische Aktivierung erfolgt durch Enzyme des Fremdstoffmetabolismus.

2.8 Fremdstoffmetabolismus

Da lipophile Substanzen, wie beispielsweise PAHs, nur schlecht aus dem Körper ausgeschieden werden können, hat sich im Laufe der Evolution ein Enzymsystem entwickelt, das solche Stoffe in hydrophilere und damit leichter ausscheidbare Substanzen transformiert. Dieser als Biotransformation bezeichnete Prozess findet überwiegend in der Leber, zu geringerem Maße aber auch in anderen Organen statt. Er lässt sich in folgende drei Phasen unterteilen [77]:

Phase I: Hier werden Fremdstoffe oxidiert, reduziert oder hydrolisiert. Hauptvertreter dieser Phase sind die Cytochrom-P450-Monooxygenasen.

Phase II: Ein Phase-I-Produkt wird hier in einer Konjugationsreaktion an eine Trägersubstanz gebunden, wodurch der Fremdstoff hydrophiler wird. Die Konjugation erfolgt überwiegend mit Glutathion (Glutathion-S-Transferasen), aktivierter Glucuronsäure (UDP-Glucuronyltransferase), Aminosäuren (Trans-acylase), aktivierter Essigsäure (*N*-Acetyltransferase), aktiviertem Sulphat (Sulfo-transferasen) und Catecholaminen (Catechol-*O*-Methyltransferase).

Phase III: Hierzu zählen die Enzyme und Prozesse, die den Transport der Phase-II-Konjugate aus der Zelle ermöglichen. Solche Transportproteine sind beispielsweise Vertreter der ATP-bindenden Kassetten (ABC)-Transporterfamilie.

Die Eliminierung der transformierten Fremdstoffe erfolgt über die Nieren (Urin), über die Leber und den Darm (Fäzes), sowie über die Lunge (Atem) [78].

Die schon erwähnten Cytochrome P450 (CYPs) sind für den Fremdstoffmetabolismus von ganz besonderer Bedeutung. Zum einen wird die überwiegende Mehrheit der in der Phase I metabolisierten Verbindungen von CYPs umgesetzt, was aufgrund der breiten Substratspezifität dieser Enzyme möglich ist. Zum anderen können CYPs reaktive Metabolite, wie beispielsweise Epoxide, generieren, die eine größere toxische Wirkung besitzen als die Ausgangsverbindungen. Wird also eine Metabolismus-vermittelte Toxizität beobachtet, so ist diese in einem Großteil der Fälle auf eine metabolische Aktivierung über Cytochrome P450 zurückzuführen [77].

Die Bezeichnung P450 stammt von der Beobachtung, dass das Enzym, wenn Kohlenstoffmonoxid daran gebunden ist, im UV/VIS-Spektrum ein Absorptionsmaximum bei 450 nm besitzt („Pigment 450“) [79-81].

CYPs kommen hauptsächlich in der Leber vor. Es existieren aber auch Isoformen, die überwiegend extrahepatisch gebildet werden. CYP2S1 kommt beispielsweise vermehrt in Epithelien wie Haut und Schleimhäuten vor. CYP1A1 (nach Induktion) und CYP1B1 werden ubiquitär exprimiert, aber eben gerade nicht in der Leber [77].

Die Superfamilie der Cytochrome P450 umfasst nach dem derzeitigen Wissensstand über die Artgrenzen hinweg 7700 Mitglieder [82]. Das humane Genom kodiert für 57 verschiedene Formen des CYP-Proteins, die sogenannten Isoformen oder Isoenzyme [83]. Mindestens 15 davon werden mit der Metabolisierung von Medikamenten und andere Fremdstoffen in Verbindung gebracht. Dazu gehören die Isoenzyme: CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2A6, CYP2A13, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4, CYP3A5 und CYP3A7 [83, 84]. Die Nomenklatur der CYP-Isoformen ist von der durch Gensequenzierung bestimmten Ähnlichkeit der Aminosäuresequenzen abgeleitet. Normalerweise werden Aminosäuresequenzen mit einer Ähnlichkeit von über 40% zu einer Familie zusammengefasst und mit einer Nummer gekennzeichnet (z.B. CYP1). Desweiteren werden Sequenzen mit einer Ähnlichkeit von über 55% in Unterfamilien gruppiert und mit einem Buchstaben versehen (z.B. CYP1A). Zu einer spezifischen Isoform werden schließlich Sequenzen mit einer Ähnlichkeit von über 97% zusammengefasst. Diese werden mit einer weiteren Zahl gekennzeichnet (z.B. CYP1A1) [85].

Cytochrome P450 sind Häm-Thiolat-Proteine, die für die Monooxygenierung ihrer Substrate molekularen Sauerstoff und die Reduktionsäquivalente NADH und NADPH benötigen:



Die ersten vier Schritte des katalytischen Zyklus der CYPs sind bereits gut charakterisiert worden (Abbildung 4). Im ersten Schritt wird das Substrat gebunden, wodurch das Absorptionsmaximum, der Spin-Zustand und das Redox-Potential des Häm-Protein-Systems verändert werden. Der zweite Schritt besteht aus einer ein-Elektronen-Reduktion des Komplexes von Fe^{III} zu Fe^{II} . Im dritten Schritt wird molekularer Sauerstoff gebunden und ein Superoxid-Komplex gebildet. Der vierte Schritt besteht schließlich aus einer zweiten Reduktion, die zur Bildung von „aktivierten Sauerstoffspezies“ führt. Diese katalysieren in den meisten Fällen als hochreaktive und elektrophile Eisen-Oxo-Intermediate ($[\text{C}]$ Abbildung 4) eine Hydroxylierung (O-Insertion) oder in der Hydroperoxo-Form ($[\text{B}]^-$ Abbildung 4) eine OH^+ -Insertion oder einen nucleophilen Angriff ($[\text{A}]^{2-}$ und $[\text{B}]^-$ Abbildung 4). Die Sauerstoff-freien Formen der Enzyme können außerdem eine Reduktion, Isomerisation, Dimerisation, Dehydratation oder Dealkylierung katalysieren [86]. Zusammen mit einer großen Zahl an Apoproteinen und intrinsischen Aktivitäten aller ihrer Substrate führen diese unterschiedlichen Reaktionsmechanismen dazu, dass Cytochrome P450 ein außergewöhnlich weites Spektrum an Reaktionen katalysieren können [86].

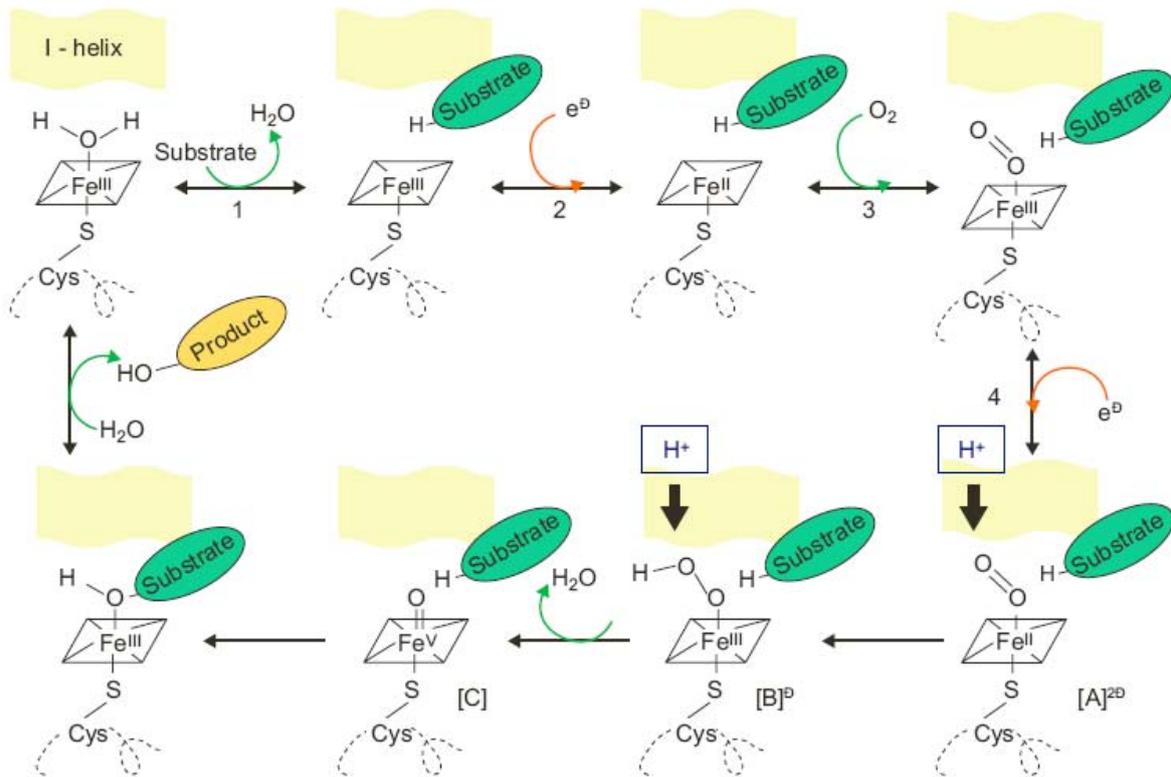


Abbildung 4: Katalytischer Zyklus der Cytochrome P450 [86]

2.9 Biogene Staubkomponenten und ihre Auswirkungen auf die Gesundheit

Neben den PAHs sind biogene Komponenten, die entweder ebenfalls an Umweltpartikel adsorbiert sein können oder selber in partikulärer Form in der Atmosphäre vorkommen, von besonderer gesundheitlicher Bedeutung. Entgegen früherer Einschätzungen stellt die Biosphäre eine wichtige Quelle für primäre Aerosolpartikel dar. So werden unter anderem Haare, Schuppen, Hautfragmente, Debris von Pflanzen und Insekten, Pollen, Sporen, Bakterien, Algen, Pilze, Viren und Proteinkristalle als biogene Partikel in die Atmosphäre abgegeben [87]. Der Anteil dieser Partikel an der Masse der gesamten primären Aerosolpartikel wird auf 16% [87] und an der Masse von $PM_{2.5}$ auf 4 bis 11% [88] geschätzt.

Als luftgetragene biologische Agentien sind sie sowohl mit infektiösen, als auch mit nicht-infektiösen Erkrankungen assoziiert [89]. So sind akute Atemwegsinfektionen, wie zum Beispiel bakterielle und virale Lungenentzündungen, Grippe, Tuberkulose und Masern, die Hauptursache für infektionsbedingte Todesfälle, wovon

überwiegend Kinder unter fünf Jahren betroffen sind [90]. In entwickelten Ländern verlaufen Atemwegsinfektionen zwar selten tödlich, allerdings sind die Infektionsraten auch hier ähnlich hoch (4-6 pro Kind pro Jahr). In den USA treten beispielsweise pro Jahr über 1 Milliarde akute Atemwegsinfektionen auf. Dieses Maß an Morbidität übersteigt bei weitem die Infektionen, die durch Pathogene aus Lebensmitteln (10-fach) oder aus dem Trinkwasser (10.000-fach) verursacht werden [89, 91, 92]. Luftgetragene biologische Staubkomponenten, wie Allergene, Pilze, thermophile Actinomyceten, Endotoxin und 1,3-beta-D-Glucan werden darüber hinaus auch mit nicht-infektiösen Erkrankungen, wie Allergien, Asthma und exogen allergischer Alveolitis in Verbindung gebracht [89].

2.10 Allergische Reaktionen

Eine Allergie ist eine verstärkte, spezifische Abwehrreaktion gegenüber an sich harmlosen Substanzen im Sinne einer krank machenden Überempfindlichkeit. In diesem Zusammenhang wird die Neigung bestimmte Krankheiten wie allergisches Asthma bronchiale, allergische Rhinokonjunktivitis und atopisches Ekzem zu entwickeln, als Atopie bezeichnet [93].

Allergische Reaktionen vom Soforttyp (Typ-I-Hypersensibilitätsreaktionen) treten auf, wenn ein Individuum nach dem Kontakt mit einem Antigen oder Allergen Immunglobulin E (IgE) produziert (da es sensibilisiert wird) und daraufhin erneut mit demselben Allergen in Berührung kommt. IgE unterscheidet sich von anderen Antikörperisotypen vor allem darin, dass es hauptsächlich in Geweben vorkommt, wo es über den hochaffinen IgE-Rezeptor Fc ϵ RI fest an die Oberfläche insbesondere von Mastzellen gebunden ist. Die Bindung eines Antigens an IgE führt zu einer Quervernetzung dieser Rezeptoren und zur Freisetzung von chemischen Mediatoren aus den Mastzellen (Abbildung 5). Die ausgeschütteten Mediatoren, zu denen inflammatorische Lipidmediatoren, Cytokine und Chemokine gehören locken basophile und eosinophile Zellen an den Ort der IgE-vermittelten Reaktion, welche ebenfalls den Fc ϵ RI exprimieren, somit oberflächengebundenes IgE präsentieren und ihrerseits nach Rezeptorquervernetzung die Typ-I-Reaktion durch Mediatorfreisetzung weiter verstärken können. Auf die durch Mastzelldegranulation hervorgerufene allergische Sofortreaktion folgt also als Spätreaktion eine

längeranhaltende Entzündung, an der auch andere Effektorzellen (T_H2 -Lymphocyten, eosinophile und basophile Zellen) beteiligt sind. Bei der Mastzelldegranulation werden vorgefertigte Mediatoren ausgeschüttet. Dazu gehören das kurzlebige und vasoaktive Amin Histamin, das zu einer sofortigen Erhöhung der lokalen Durchblutung und Gefäßdurchlässigkeit führt und außerdem die Enzyme Chymase, Tryptase und Serinesterasen, die ihrerseits bestimmte Metalloproteinasen aktivieren, die dann durch den Abbau von Matrixproteinen Gewebeschäden verursachen. Ebenfalls freigesetztes $TNF-\alpha$ aktiviert Endothelzellen, die daraufhin bestimmte Adhäsionsmoleküle verstärkt exprimieren, welche das Eindringen von inflammatorischen Leukozyten fördern. Desweiteren werden Cytokine wie IL-4 und IL-13, welche die T_H2 -Reaktion aufrechterhalten und Lipidmediatoren, die Kontraktionen der glatten Muskulatur, eine erhöhte Gefäßpermeabilität und Schleimfreisetzung verursachen, synthetisiert und sezerniert.

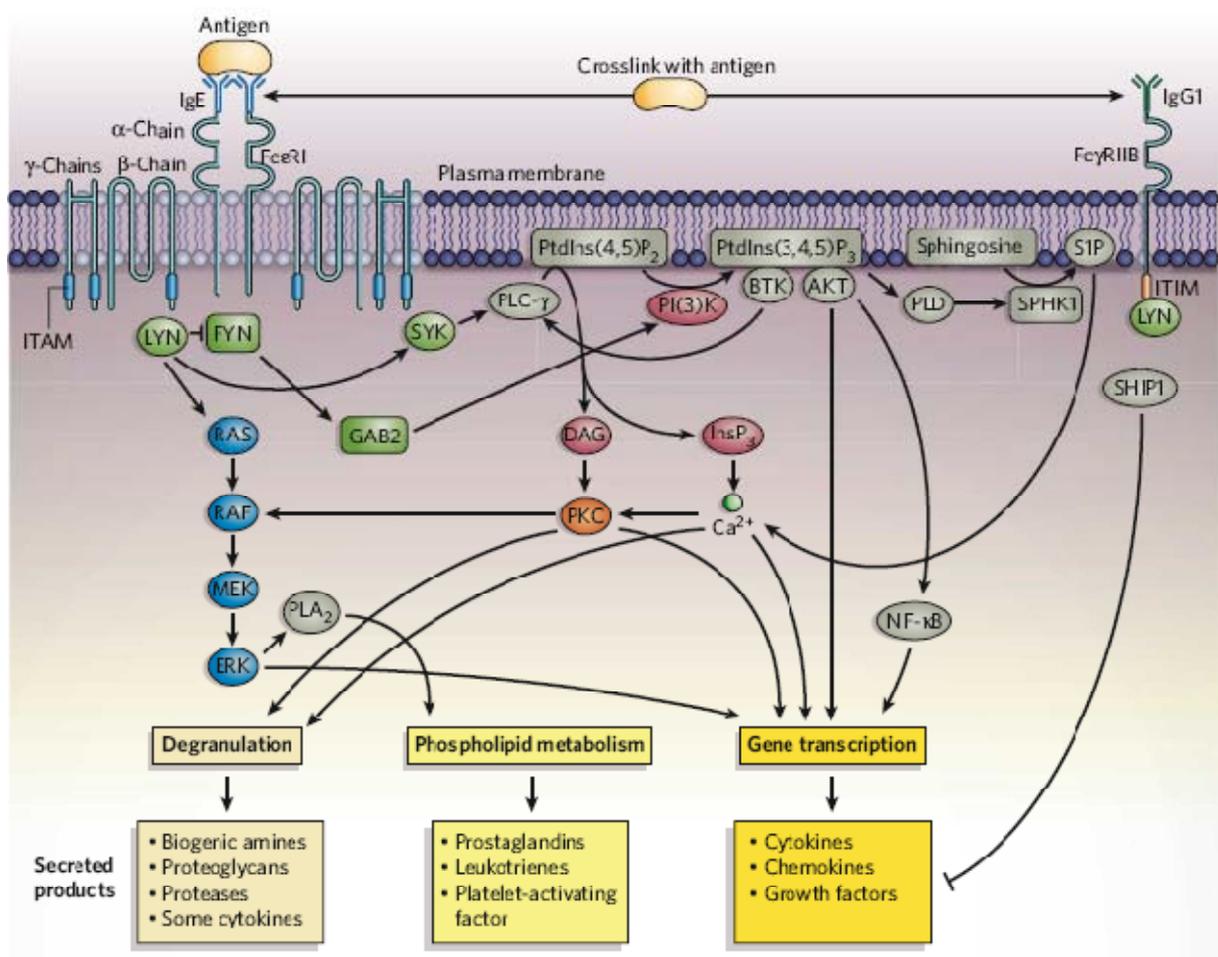


Abbildung 5: Vereinfachtes Schema des FcεRI-Signalweges in Mastzellen [94]

Letztendlich führen diese Prozesse abhängig vom Ort der Allergenexposition und Mastzellaktivierung zu unterschiedlichen klinischen Auswirkungen. Gelangt das Allergen direkt ins Blut oder wird es schnell vom Darm absorbiert, kommt es zu einer systemischen Anaphylaxie, die durch eine erhöhte Gefäßdurchlässigkeit und damit verbundenen Blutdruckabfall, Zusammenziehen der Atemwege, Atembeschwerden, Anschwellen des Kehlkopfes gekennzeichnet ist und im schlimmsten Fall zum Ersticken führen kann. Bei Aufnahme des Allergens über die Haut kommt es zu erythematöser Quaddelbildung. Eine Exposition gegenüber dem Allergen an der Luft ruft an der Augenbindehaut eine allergische Konjunktivitis hervor. In den oberen Atemwegen verursacht sie Symptome der allergischen Rhinitis (Heuschnupfen). Dazu gehören intensiver Juckreiz, Niesen und Verstopfung und „Laufen“ der Nase. In den unteren Atemwegen führt sie zu allergischem Asthma, das durch eine Bronchokonstriktion sowie erhöhter Flüssigkeits- und Schleimsekretion gekennzeichnet ist, wodurch das Atmen erschwert wird. Solche Asthmaanfälle können lebensbedrohlich sein. Allergisches Asthma entsteht zwar durch eine Reaktion auf ein spezifisches Antigen, bleibt aber auch ohne Allergenkontakt in Form einer chronischen Entzündung bestehen. Somit können spätere Asthmaanfälle nicht nur durch das ursprüngliche Antigen, sondern auch durch andere Faktoren ausgelöst werden. Beispielsweise sind die Atemwege von Asthmatikern extrem empfindlich gegenüber chemischen Reizen aus der Umwelt wie Zigarettenrauch oder Schwefeldioxid [94-96].

3. Ziel der Arbeit

In Grundschulklassenzimmern wurden im Vergleich zur Außenluft deutlich erhöhte Feinstaubkonzentrationen gefunden [63]. In dieser Arbeit soll zum einen die Zusammensetzung solcher in Klassenzimmern vorkommender Feinstaubpartikel und zum anderen ihre gesundheitliche Bedeutung untersucht werden. Von besonderer Bedeutung soll dabei die Frage sein, ob sich diese Innenraumfeinstäube in ihrer Zusammensetzung und biologischen Wirkung von Feinstäuben der die Schulen umgebenden Außenluft unterscheiden.

Zur Analyse der elementaren Zusammensetzung der Feinstaubpartikel soll das Verfahren der energiedispersiven Röntgenmikroanalyse (EDX) zum Einsatz kommen. Damit lassen sich die chemischen Elemente, die in einem Partikel vorkommen, quantifizieren, so dass die Partikel einzeln hinsichtlich ihrer anorganischen Zusammensetzung klassifiziert werden können. Dies soll einen Vergleich der relativen Häufigkeiten verschiedener Partikeltypen in den Feinstaubproben unterschiedlicher Klassenzimmer und insbesondere zwischen Innenraum- und Außenluftproben ermöglichen.

Der Schwerpunkt dieser Arbeit soll auf der Analyse der gesundheitlichen Bedeutung von Innenraumfeinstäuben liegen. Es soll zunächst die zytotoxische Wirkung von PM_{10} untersucht werden, sowohl als akute Toxizität, als auch als Metabolismus-vermittelte Zytotoxizität nach metabolischer Aktivierung organischer PM_{10} -Bestandteile durch Enzyme der Cytochrom P450-Familie. Darüber hinaus soll in einer genomweiten Genexpressionsstudie nach weiteren gesundheitlichen Auswirkungen einer Exposition gegenüber PM_{10} gesucht werden. Dies soll zum einen einen Überblick über die verschiedenen Wirkungen von unterschiedlichen Feinstäuben verschaffen und zum anderen einen tieferen Einblick in die betroffenen Wirkmechanismen ermöglichen. Die genomweite Analyse soll zunächst mit den Staubproben einer Schule durchgeführt und mit Hilfe von humanen Affymetrix Genexpressions-Chips gemessen werden. Mittels real-time RT-PCR sollen die Ergebnisse der am stärksten regulierten Gene bestätigt werden und die Analyse auf die Stäube aller beprobten Schulen ausgeweitet werden. Desweiteren soll abgeklärt werden, ob die Schulfeststäube einen Einfluss auf allergische Reaktionen haben. In diesem Zusammenhang wurde in der Literatur bereits ein adjuvanter Effekt von Feinstäuben auf die Mediatorfreisetzung von basophilen Granulozyten beschrieben

[55]. Bei allen Untersuchungen, die zur Abklärung der gesundheitlichen Bedeutung der Feinstäube durchgeführt werden sollen, steht im Mittelpunkt des Interesses der Vergleich der Wirkung von Innenraum- und Außenluftstäuben. Darüber hinaus sollen Zusammenhänge zwischen der Zusammensetzung und Wirkung verschiedener Feinstäube aufgedeckt werden.

4. Material und Methoden

4.1 Chemikalien, Verbrauchsmaterialien und Geräte

Chemikalien

Bovines Collagen Typ 1	BD Biosciences, San Jose, USA, Best. Nr. 354231
Bovines Serum Albumin (BSA)	Merck, Darmstadt, Best. Nr. 12018
CellTiter-Glo [®] (Luminescent Cell Viability Assay)	Promega, Madison, USA, Best. Nr. G7571
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Merck, Darmstadt, Best. Nr. 116743
D-PBS (w/o Ca/Mg)	Gibco, Invitrogen Corporation, Paisley, Schottland, Best. Nr. 14190-094
Fetal Bovine Serum (FBS)	HyClone, Perbio, Thermo Fisher Scientific, Best. Nr. CH30160.03
Flow CAST [®]	BÜHLMANN Laboratories AG, Schönenbuch, Schweiz, Best. Nr. FK- BAT
Fibrinectin, Bovine Plasma	Calbiochem, MerckKGaA, Darmstadt, Best. Nr. 341631
High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit	Applied Biosystems, Foster City, USA, Best.Nr. 4368814
L-Glutamin 200 mM (100x)	Gibco, Invitrogen Corporation, Paisley, Schottland, Best. Nr. 25030-032
MEM Sodium Pyruvate (100mM)	Gibco, Invitrogen Corporation, Paisley, Schottland, Best. Nr. 11360-039
Penicillin/Streptomycin-Lösung	Gibco, Invitrogen Corporation, Paisley, Schottland, Best. Nr. 15140-148
QIAshredder	Qiagen, Hilden, Best. Nr. 79654

RNA Nano Chips	Agilent Technologies, Waldbronn, Best. Nr. 5067-1511
RNeasy Micro Kit	Qiagen, Hilden, Best. Nr. 74004
TaqMan Array Micro Fluidic Cards	Applied Biosystems, Foster City, USA, Best. Nr. MFC_384

TaqMan Assays auf den TaqMan Array Micro Fluidic Cards:

Gen	TaqMan Assay	Gen	TaqMan Assay
ALDH1A3	Hs00167476_m1	IQGAP1	Hs00182622_m1
BIRC3	Hs00154109_m1	KRT6B	Hs00745492_s1
CAMK2B	Hs00176186_m1	LIF	Hs01055668_m1
CCL20	Hs00355476_m1	MMP1	Hs00899660_g1
CFB	Hs00156060_m1	NDRG1	Hs00608389_m1
CLDN1	Hs01076359_m1	NFKBIA	Hs00153283_m1
CXCL1	Hs00236937_m1	NPTX1	Hs00159652_m1
CXCL2	Hs00236966_m1	NQO1	Hs02512143_s1
CXCL3	Hs00171061_m1	PTX3	Hs01073991_m1
CXCL5	vHs00171085_m1	RALBP1	Hs00183639_m1
GAPDH	Hs99999905_m1	S100A8	Hs00374264_g1
CXCL6	Hs00237017_m1	S100A9	Hs00610058_m1
CYP1A1	Hs01054797_g1	SAA1;SAA2	Hs00761940_s1
CYP1B1	Hs00164383_m1	SERPINA3	Hs01038298_m1
CYP2S1	Hs00258076_m1	SERPINB2	Hs00234032_m1
EREG	Hs00914313_m1	SERPINB3	Hs00199468_m1
GREM1	Hs00171951_m1	SOD2	Hs00167309_m1
HPRT1	Hs99999909_m1	STC1	Hs00174970_m1
ICAM1	Hs99999152_m1	STC2	Hs00175027_m1
IL1A	Hs00174092_m1	TIPARP	Hs00296054_m1
IL1B	Hs01555413_m1	TLR2	Hs00152932_m1
IL24	Hs01114274_m1	TNFAIP2	Hs00196800_m1
IL6	Hs00985641_m1	TNFAIP3	Hs00234713_m1
IL8	Hs01553824_g1	TSLP	Hs00263639_m1

TaqMan [®] Universal PCR Master Mix	Applied Biosystems, Foster City, USA, Best. Nr. 4304437
Trypsin-EDTA .05%	Gibco, Invitrogen Corporation, Paisley, Schottland, Best. Nr. 25300-096

Verbrauchsmaterialien

Eppendorf Tubes 1,5 ml	Eppendorf, Hamburg, Best. Nr. 0030 015.002
------------------------	---

Kryoröhrchen	CryoPure Gefäß, Sarstedt, Nürmbrecht, Best. Nr. 72.379
Polypropylen-Röhrchen 15 ml/ 50 ml	Sarstedt, Nürmbrecht, Best. Nr. 62.554.502/62.547.254
Parafilm M	Pechiney Plastic Packaging, Chicago, USA; Size: 4“ x 125‘
12-Well Platte, steril, Flachboden	Multiwell™, Falcon, Becton Dickinson Labware, Franklin Lakes, USA, Best. Nr. 353043
96-Well Platte, steril, Flachboden	Nunc™, Thermo Fisher Scientific, Langenselbold, Best. Nr. 167008
Geräte	
Brutschrank	Heracell, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA
Durchflusszytometer	FACSCalibur™, BD Bioscience, Heidelberg
EDX-Detector	NORAN System SIX, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA
Lichtmikroskop	
Lumineszenz-Platten-Reader	Fluostar Optima, BMG Labtech, Offenburg
Lyophile	Alpha 1-4, Martin Christ Gefriertrocknungs- anlagen GmbH, Osterode am Harz
Real Time PCR-Gerät	ABI Prism 7000 Sequence Detection System und 7900HT Fast Real-Time PCR System, Applied Biosystems, Foster City, USA
Spectrophotometer	Nanodrop, ND-1000, PeqLab, Erlangen
Rasterelektronenmikroskop	Jeol 6300, Jeol Ltd., Tokyo, Japan

RNA-Kapillarelektrophorese-Gerät	2100 Bioanalyzer, Agilent Technologies, Santa Clara, USA
Thermo Cycler	TC-412, Techne, Bibby Scientific Ltd., Stone, Staffordshire, UK
Tischzentrifuge	Sigma 1-15, SIGMA Laborzentrifugen GmbH, Osterode am Harz
Ultraschallbad	Sonorex Super RK103H, Bandelin electronic GmbH & Co. KG, Berlin
Vortexer	Vortex-Genie 2, Scientific Industries, New York, USA
Wasserbad	SW21, Julabo, Seelbach
Zentrifuge	Universal 32 R, Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen

4.2 Medien, Puffer und Lösungen

Komplettmedium (für native V79- und A549-Zellen):

DMEM (GIBCO[®], Invitrogen Ltd, Paisley, UK) mit 10% hitzeinaktiviertem fötalem Rinderserum, 1% L-Glutamin (200 mM), 1% Natriumpyruvat (100mM), 1% Penicillin/Streptomycin (10000 Units/ml)

Selektivmedium (für transfizierte V79-Zellen):

Komplettmedium mit 1 mg/ml Geneticin (G-418; Linz, Österreich)

Keratinozytenmedium:

KSFM (Keratinocyte serum-free medium; GIBCO[®], Invitrogen Ltd, Paisley, UK) mit 5% Rinderhypophysenextrakt, 10 ng/ml humanem rekombinaten epidermalen Wachstumsfaktor und 1% Penicillin/Streptomycin (10000 Units/ml)

Bronchialepithelzellwachstumsmedium BEGM:

BEBM[®] (Bronchial Epithelial Cell Basal Medium; Clonetics[®], Lonza Inc., Walkersville, USA) mit den folgenden Supplementen: BPE, 2 ml; Hydrocortisone, 0.5 ml; hEGF,

0.5 ml; Epinephrine, 0.5 ml; Transferrin, 0.5 ml; Insulin, 0.5 ml; Retinoic Acid, 0.5 ml; Triiodothyronine, 0.5 ml (BEGM[®] SingleQuots[®], Clonetics[®], Lonza Inc., Walkersville, USA).

4.3 Probanden

Die Blutentnahme für die Basophilenaktivierungstests erfolgte von 11 freiwilligen Probanden (Tabelle 2).

Tabelle 2: Charakterisierung der Probanden für den Basophilenaktivierungstest; Prick = skin prick Test, RAST = Klasse spezifisches IgE, Q = Quaddel, E = Erythem

Probanden- nummer	Geschlecht (♀/♂)	Alter	Birke		Gräser		Katze	
			Prick	RAST	Prick	RAST	Prick	RAST
1 GE	♂	22		6		4		0/1
2 MM	♀	19	Q12E15		Q10E30		Q0E0	
3 LM	♀	18	4x4	3	6x10	4	0	0
4 SB	♀	35	4x4		7x7		0	
5 IW	♂	34	5x5		6x6		4x4	
6 AK	♀	36	6x6		5x5		4x4	
7 AL	♀	34	10x10	6	7x7	R5	5x5	R6
8 GK	♂	40	5x5		5x5		2x2	
9 Pat16	♂	41	15x9		10x10		3x3	
10 Pat 23	♂	41	4x4		10x10		6x6	
11 JK	♀	24	Q0E0		Q0E0		Q5 E20	

In die Studie eingeschlossen wurden Patienten beiderlei Geschlecht im Alter zwischen 16 und 45 Jahren mit saisonaler allergischer Rhinitis (SAR), klinischen Beschwerden und nachgewiesener Sensibilisierung auf Gräser- und Birkenpollen. Eine mittelschwere bis schwere SAR sollte seit mindestens zwei Jahren vorliegen und positive Ergebnisse des Skin-Prick Tests oder ein erhöhter Spiegel des spezifischen IgE (mind. Rast-Klasse 2) vorhanden sein. Die Anwendung von

systemischen Kortikosteroiden oder anderen immunsuppressiv wirkenden Substanzen innerhalb der letzten vier Wochen vor Blutentnahme galt als Ausschlusskriterium. Zur Abklärung der Wirkung des in den Staubproben nachgewiesenen Katzenallergens (Fel d 1) wurde ein Proband ohne SAR, aber mit belegter Katzenallergie und entsprechender Symptomatik mit in die Studie einbezogen.

4.4 Methoden

4.4.1 Feinstaubsammlung

Im Zeitraum von Dezember 2006 bis August 2008 wurden im Großraum München in sieben Grundschulen Feinstaubsammlungen durchgeführt. Es wurden sechs Schulen außerhalb des Mittleren Rings (vier in München, eine im Münchner Umland) mit geringer Verkehrsbelastung und eine innerhalb des Mittleren Rings (der heutigen Umweltzone) mit starker Verkehrsbelastung ausgewählt (Tabelle 3). In jeder Schule wurden zwei Klassenzimmer und parallel dazu die Außenluft im Schulhof oder vor der Schule beprobt. Die Sammlungen fanden jeweils vier Wochen lang und ausschließlich während der Unterrichtszeiten (5,5 h/Tag) statt.

Tabelle 3: Charakterisierung der beprobten Schulen

Ort	Straße	Abkürzung	Zeitraum	Lage relativ zum Mittleren Ring
München	Gerastraße	GE	Dezember 2006	außerhalb
München	Eduard-Spranger-Str.	ES	Juli 2007	außerhalb
München	Ittlingerstr.	IT	Oktober 2007	außerhalb
Poing	Gruberstr.	PO	Dezember 2007	außerhalb
München	Ernst-Reuter-Str.	ER	Februar 2008	innerhalb
München	Toni-Pföhl-Str.	TP	März 2008	außerhalb
München	Bernaystr.	BE	Juni 2008	außerhalb

Zur Analyse der elementaren Zusammensetzung der Staubpartikel wurde an zwei Tagen in der Woche (dienstags und donnerstags) einatembare Staub (E-Staub) gesammelt. Dazu wurden *personal air sampling pumps* (3,5 l/min; SKC Inc, Eighty

Four, USA) und Polycarbonat-Filter (Porengröße 0,8 μm , Whatman plc, Maidstone, UK) verwendet. An jedem Sammlungstag wurden neue Filter eingesetzt. Für den Einsatz in Zellkultur-basierten Testsystemen wurde an fünf Tagen die Woche (Montag bis Freitag) PM_{10} gesammelt. Für die Beprobung der Innenraumluft kamen *medium volume samplers* (MVS; 2.3 m^3/h ; Derenda e.Kfm., Stahnsdorf, Germany) und für die der Außenluft *high volume samplers* (HVS; 30 m^3/h ; Derenda e.Kfm., Stahnsdorf, Germany) zum Einsatz. Mit beiden Pumpen wurde mittels eines PM_{10} -Probenkopfes und eingesetzten Teflonfilters PM_{10} aus der Luft abgeschieden. Die Teflonfilter wurden jeweils von Montag bis Freitag beprobt und anschließend ausgewechselt.

Die Sammlung von PM_{10} wurde für einen Vergleich mit nicht öffentlichen Innenräumen zusätzlich in sechs privaten Wohnungen durchgeführt. Die Beprobungen fanden hier jeweils tagsüber (12 h) an 10 Werktagen und wiederum parallel innerhalb und außerhalb der Wohnungen mit den oben genannten Sammelgeräten statt.

4.4.2 Bestimmung der PM_{10} -Konzentrationen

Zur Bestimmung der PM_{10} -Belastung in den Klassenzimmern und der umgebenden Außenluft wurde das Gewicht der beprobten Filter gravimetrisch bestimmt und nach Abzug des vorher ermittelten Leerfiltergewichtes durch das beprobte Luftvolumen geteilt.

4.4.3 Partikelrückgewinnung

Zur Rückgewinnung der Partikel von in MVS beprobten Teflonfiltern wurde die Filteroberfläche mit 150 μl Ethanol als Lösungsvermittler benetzt, der Filter in acht gleichgroße Fragmente zerschnitten und in ein Becherglas mit 20 ml LPS-freiem Wasser gegeben. Das Becherglas wurde mit Parafilm verschlossen und für 60 min in einem Ultraschallbad sonifiziert, wobei es alle 5 min geschwenkt wurde. Um eine durch die Schwingung des Schalls verursachte Erhitzung der Partikel zu vermeiden, wurde regelmäßig Eis in das Ultraschallbad gegeben. Anschließend wurden die

Filterfragmente aus dem Becherglas entfernt, wurde die gewonnene Partikelsuspension in ein 200 ml Gefriertrocknungsgefäß dekantiert und das Becherglas mit 5 ml LPS-freiem Wasser nachgespült. Das Gefriertrocknungsgefäß mit der Partikelsuspension wurde nun bei -80°C eingefroren und in einer Lyophile gefriergetrocknet. Nachdem das Gewicht der getrockneten Partikel mit einer Feinwaage gravimetrisch bestimmt wurde, wurde eine wässrige Partikelsuspension mit $1 \text{ mg PM}_{10} / \text{ml Wasser}$ hergestellt. Diese wurde anschließend in Braunglasfläschchen mit Teflon-beschichtetem Septum aliquotiert. In HVS beprobte Filter wurden aufgrund der größeren Oberfläche in 10 gleichgroße Fragmente zerschnitten, die anschließend wie separate MVS-Filter aufgearbeitet wurden.

4.4.4 Analytik der Feistaubproben

4.4.4.1 Bestimmung der Partikelzusammensetzung mittels EDX

Zur Analyse der elementaren Zusammensetzung der Staubpartikel wurde das Verfahren der energiedispersiven Röntgenmikroanalyse (EDX) angewandt, wodurch mit Ausnahme der Elemente mit den Ordnungszahlen 1 bis 3 (H, He, Li) alle Elemente des Periodensystems nachgewiesen werden können. Es kamen ein Rasterelektronenmikroskop (REM) Jeol 6300 (Jeol Ltd, Tokyo, Japan) und ein EDX-Detektor (EDX; Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, USA) zum Einsatz. Die als E-Staub gesammelten Partikel wurden direkt auf dem Polycarbonatfilter gemessen. Um eine für die Messung ausreichende elektrische Leitfähigkeit zu gewährleisten, wurden die Filter mit Kohlenstoff bedampft (Schichtdicke: 4-6 nm; BAL-TEC AG, Balzers, Liechtenstein). Pro Filter wurden 500 Partikel analysiert, wobei Partikel mit einem geometrischen Durchmesser kleiner $0,66 \mu\text{m}$ auf Grund des begrenzten Auflösungsvermögens des EDX-Detektors nicht mit berücksichtigt werden konnten. Durch die Messung der ersten vier Filter in einem Lernmodus wurde eine chemische Bibliothek erstellt, die sich aus Partikeltypen zusammensetzt, welche sich in der Zusammensetzung ihrer chemischen Elemente um mindestens 5% (Gewichtsprozent) unterscheiden. Kohlenstoff (C) konnte zwar detektiert, aber nicht exakt quantifiziert werden, da die Partikel direkt auf den Polycarbonatfiltern analysiert wurden und da sie mit Kohlenstoff bedampft wurden. Stickstoff (N) konnte nicht detektiert werden da dessen Peak im Röntgenspektrum sehr nah am C-Peak liegt und von diesem überlagert wurde.

4.4.4.2 PAH-Analytik

Am Institut für Ökologische Chemie am Helmholtz Zentrum München (Dr. Lintelmann) wurde der Gehalt an polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAHs) in den PM₁₀-Proben analysiert. Mittels HPLC wurden die von der amerikanischen Umweltschutzbehörde EPA (Environmental Protection Agency) als häufigste Umwelt-PAHs eingestufteten Verbindungen gemessen. Dazu wurden die tiefgefrorenen, wässrigen Suspensionen aufgetaut und kurz homogenisiert (Vortex, Ultraschall). Anschließend wurden sofort 500 µl entnommen und in ein Autosamplervial überführt. Die Proben wurden tiefgefroren und 24 h gefriergetrocknet, in ca. 1- 2 ml Aceton resuspendiert, in eine mit Diatomeenerde gefüllte Stahlkartusche (11 ml Volumen) überführt und mit der Accelerated Solvent Extraction (ASE) mit Hexan/Aceton (70/30, v/v) extrahiert. Der Extrakt (ca. 30 ml) wurde zunächst auf ca. 300 µl, anschließend unter einem leichten Stickstoffstrom vorsichtig zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde in 100 µl Acetonitril aufgenommen, in ein Autosamplervial überführt und analysiert. Zusätzlich zu den Proben wurden zwei Blindproben aufbereitet und analysiert. Die Berechnung der Konzentrationen erfolgte nach Abzug der Blindwerte.

4.4.4.3 Endotoxinbestimmung

Der Endotoxingehalt der wässrigen PM₁₀-Suspensionen wurde von den Projektpartnern der LMU München (Dr. Schierl) durchgeführt. Die Werte wurden mittels LAL-Test ermittelt.

4.4.4.4 Allergenmessung

Das Katzenallergen Fel d 1 (und das Hausstaubmilbenallergen Der p 1) wurden in den PM₁₀-Proben mittels ELISA nachgewiesen. Dabei wurde nach den Angaben des Herstellers (Indoor Biotechnologies Ltd, Warminster, UK) verfahren. Durchgeführt wurden diese Messungen von der Firma Allergy Innovations in Starnberg.

4.4.5 In-vitro-Testsysteme

4.4.5.1 Zellen und Zellkulturbedingungen

Primäre humane Keratinozyten von gesunden Probanden wurden mittels der sogenannten *suction blister*-Methode gewonnen [97]. Die isolierten Keratinozyten wurden in KSFM (GIBCO[®], Invitrogen Ltd, Paisley, UK) mit 5% Rinderhypophysenextrakt, 10 ng/ml humanem rekombinaten epidermalen Wachstumsfaktor und 1% Penicillin/Streptomycin (10000 Units/ml) kultiviert. Die humane Lungenepithelzelllinie A549 und die chinesischer Hamster Lungenfibroblastenzelllinie V79 (Gabe von M. Arand, Universität Zürich) wurden in Plastikzellkulturflaschen (Falcon[™], BD Biosciences, San Jose, USA) in Komplettmedium (DMEM, GIBCO[®], Invitrogen Ltd, Paisley, UK) mit 10% hitzeinaktiviertem fötalem Rinderserum, 1% L-Glutamin (200 mM), 1% Natriumpyruvat (100 mM), 1% Penicillin/Streptomycin (10000 Units/ml) kultiviert. Für V79-Zellen, die nach Transfektion eines CYP-IRES-EGFP-Vektors eine der spezifischen humane CYP-Isoformen 1A1, 1A2, 1B1, 2A6, 2B6, 2C9, 2D6, 2E1, 3A4 oder 3A5 exprimieren, wurde in den Experimenten ebenfalls Komplettmedium verwendet (nähere Angaben zu diesem Expressionssystem siehe Schober et al., 2009 [98]). Vor einem erneuten Einfrieren dieser transfizierten Zellen wurde allerdings für vier Tage auf Selektivmedium (Komplettmedium mit 1 mg/ml G-418) umgestellt. Die humane Bronchialepithelzelllinie BEAS-2B, die durch Immortalisierung durch ein Adenovirus-12-SV40-Virus-Hybrid erzeugt worden ist, wurde über LGC Standards bezogen (ATCC Nummer: CRL-9609, LGC Standards GmbH, Wesel) und in Bronchialepithelzellwachstumsmedium (BEBM[®]; Bronchial Epithelial Cell Basal Medium; Clonetics[®], Lonza Inc., Walkersville, USA) mit den folgenden Supplementen: BPE, 2 ml; Hydrocortisone, 0.5 ml; hEGF, 0.5 ml; Epinephrine, 0.5 ml; Transferrin, 0.5 ml; Insulin, 0.5 ml; Retinoic Acid, 0.5 ml; Triiodothyronine, 0.5 ml (BEGM[®] SingleQuots[®], Clonetics[®], Lonza Inc., Walkersville, USA) und 1% Penicillin/ Streptomycin (10000 Units/ml) kultiviert. Um eine verbesserte Adhärenz und eine möglichst natürliche Differenzierung der BEAS-2B-Zellen zu ermöglichen, wurden die Kulturplatten mit 0,01 mg/ml Fibronectin, 0,03 mg/ml Rinderkollagen Typ 1 und 0,01 mg/ml BSA vorgecoatet. Exponentiell wachsende Zellen wurden bei 37°C und 5% CO₂ erhalten.

4.4.5.2 Zytotoxizitätstests

Als Maß für die zytotoxische Wirkung von PM₁₀ wurde die Abnahme der Zellzahl der behandelten Ansätze gegenüber der von unbehandelten Kontrollen bestimmt. Am Tag 0 wurden die Zellen in 96-well-Platten (Nunc™, Thermo Electron LED GmbH, Langenselbold, Germany) ausgesät. Je nach Zelltyp wurde eine Zellzahl eingesetzt, die eine 100%ige Konfluenz der unbehandelten Zellen nach vier Tagen der Kultivierung gewährleistete (500 V79-Zellen/well, 1000 A549-Zellen/well bzw. 2000 Keratinozyten/well). Am darauf folgenden Tag wurden die Zellen mit PM₁₀ in Konzentrationen von 3 ng/ml bis 10 µg/ml (6 µg/cm²) inkubiert. Nach weiteren 72 Stunden wurde die Zellzahl durch einen Zellvitalitätstest (CellTiter-Glo[®], Promega Inc.) ermittelt. Dieses lumineszenzbasierte Testsystem misst den intrazellulären ATP-Gehalt, welcher mit der Zellzahl korreliert. Um Variationen in der Wachstumsrate, welche durch Lösungsmittel oder Platteneffekte hervorgerufen werden können, zu kompensieren, wurde jeweils die Hälfte einer 96-well-Platte mit Lösungsmittelkontrollen (d.h. Wasser) belegt und die Werte der mit Partikeln behandelten Ansätze auf diese bezogen.

Zur Abklärung der zytotoxischen Wirkung metabolisch aktivierter organischer PM₁₀-Bestandteile wurden V79-Zelllinien verwendet, die jeweils eine spezifische Isoform des humanen Cytochroms P450 exprimieren [98]. Es wurde getestet, ob die CYP-Isoformen 1A1, 1A2, 1B1, 2A6, 2B6, 2D6, 2E1, 3A4 und 3A5 eine toxische Wirkung der PM₁₀-Proben vermitteln. Mit jedem Zytotoxizitätstest wurde die katalytische Aktivität der jeweils verwendeten CYPs durch eine enzymatische Umsetzung von 7-Ethoxy-4-(trifluoromethyl)-coumarin (EFC) zu 7-Hydroxy-4-(trifluoromethyl)-coumarin (HFC) überprüft [99]. Nur bei vorhandener katalytischer Aktivität wurden die Ergebnisse berücksichtigt.

4.4.5.3 Genomweite Genexpressionsanalyse

Für eine genomweite Genexpressionsanalyse wurden humane immortalisierte Bronchialepithelzellen (BEAS-2B) für 4, 10 und 24 h mit 10 µg/ml (6 µg/cm²) PM₁₀ inkubiert. Es wurden jeweils eine Innenraum- (Raum 130) und eine Außenluftstaubprobe der Grundschule IT verwendet und zum Vergleich eine mit

Lösungsmittel (Wasser) behandelte Kontrolle mitgeführt. Um eine möglichst hohe Reproduzierbarkeit zu erreichen, wurden ausschließlich die Zellen einer Passage (p41) eingesetzt. Um kultivierungsbedingte Schwankungen der Genexpression (durch unterschiedliche Konfluenz, etc.) zu vermeiden, wurden die Zellen gleichzeitig ausgesät, wurden die Inkubationen zeitlich versetzt gestartet und gleichzeitig gestoppt. Im Anschluss erfolgte eine Extraktion der Gesamt-RNA mit Hilfe des RNeasy Micro Kits (Qiagen). Die Konzentration der gewonnenen RNA wurde photometrisch bestimmt (Nanodrop, PeqLab) und ihre Qualität mittels Kapillarelektrophorese (Bioanalyzer, Agilent Inc.) überprüft. Die RNA-Proben wurden zur genomweiten Genexpressionsanalyse an die Affymetrix Core Facility des Instituts für medizinische Mikrobiologie (TU München) gegeben. Dort wurden die RNA-Proben in cDNA und dann in biotinylierte cRNA-Proben umgeschrieben und auf HG U133 A 2.0 Microarrays (Affymetrix) analysiert, welche die Untersuchung der Genexpression von 14.500 gut charakterisierten humanen Genen ermöglichen. Die Experimente wurden für jede Bedingung jeweils dreimal an verschiedenen Tagen durchgeführt, um unabhängige Replikate zu gewinnen. Die Genexpressionswerte der 46 am stärksten regulierten Gene wurde mittels quantitativer RT-PCR auf TaqMan Micro Fluidic Cards (ehemals Low Density Arrays, Applied Biosystems) bestätigt. Zusätzlich wurde mit dieser Methodik die Genexpressionsanalyse auf alle gesammelten PM₁₀-Proben ausgeweitet (12 Klassenzimmer und 6 Außenluftsammlungen). Die Partikelexposition wurde wiederum in drei unabhängigen Wiederholungen durchgeführt. Nach der RNA-Extraktion wurden die Replikate (nach Konzentrationsbestimmung und Qualitätskontrolle, s.o.) vereinigt und daraus mittels reverser Transkription cDNA synthetisiert (High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, Applied Biosystems). Die cDNA-Proben wurden anschließend auf TaqMan Array Micro Fluidic Cards analysiert. Mittels der $2^{\Delta\Delta CT}$ -Methode wurde die fache Regulation der Genexpression bestimmt. Als Housekeeping-Gen diente GAPDH.

4.5 Basophilenaktivierungstest

Es wurden Probanden rekrutiert, die einer Sensibilisierung auf Birkenpollen-, Gräserpollen- und/oder Katzenallergene und eine entsprechende Symptomatik

aufwiesen. Aus peripherem Blut wurden humane Leukozyten isoliert, mit Interleukin-3 vorstimuliert und mit Birken- (T3) bzw. Gräserpollenallergen (G6) einmal ohne und einmal mit 10 µg/ml PM₁₀ inkubiert. Anschließend wurden die Zellen nach dem Protokoll des Herstellers (FK-BAT, Bühlmann Inc.) mit CD63- und IgE-spezifischen Antikörpern gefärbt und der Anteil der CD63-positiven basophilen Granulozyten (aktivierte Basophile) durchflusszytometrisch (FACSCalibur, BD Bioscience Inc., San Jose, USA) bestimmt.

4.6 Statistische Analyse

Unterschiede wurden mit einem paarweisen Student's t-Test bestimmt. P-Werte kleiner 0,05 wurden als statistisch signifikant angenommen.

5. Ergebnisse

5.1 PM₁₀-Belastung in Schulen und Wohnungen

Die durchschnittliche PM₁₀-Konzentration betrug in den getesteten Klassenzimmern 120,8 ±43,9 µg/m³ und in der die Schulen umgebenden Außenluft 22,0 ±14,1 µg/m³. Die PM₁₀-Belastung der Klassenzimmer war somit 5,5-mal höher (p<0,001) als die der Außenluft und würde in jedem Fall den für die Außenluft gültigen Grenzwert von 50 µg/m³ [58] überschreiten (Abbildung 6). Derart hohe Konzentrationen wurden in den Wohnungen nicht gemessen. Hier lag die Belastung mit 16,9 ±8,7 µg/m³ annähernd bei der der Außenluft (13,9 ±8,3 µg/m³). Dabei gilt es zu berücksichtigen, dass es sich bei den getesteten Wohnungen ausschließlich um Nichtraucherwohnungen handelte. Bei verschiedenen Klassenzimmern einer Schule wurden jeweils sehr ähnliche PM₁₀-Werte gemessen. Die verschiedenen Schulen sind allerdings sehr unterschiedlich stark belastet. Besonders hohe PM₁₀-Konzentrationen weisen die Schulen auf, in denen die Proben im Winter genommen wurden (GE, PO, ER, TP). Die Belastung war hier mehr als doppelt so hoch (p<0,001) als in den Schulen, die im Sommer beprobt wurden.

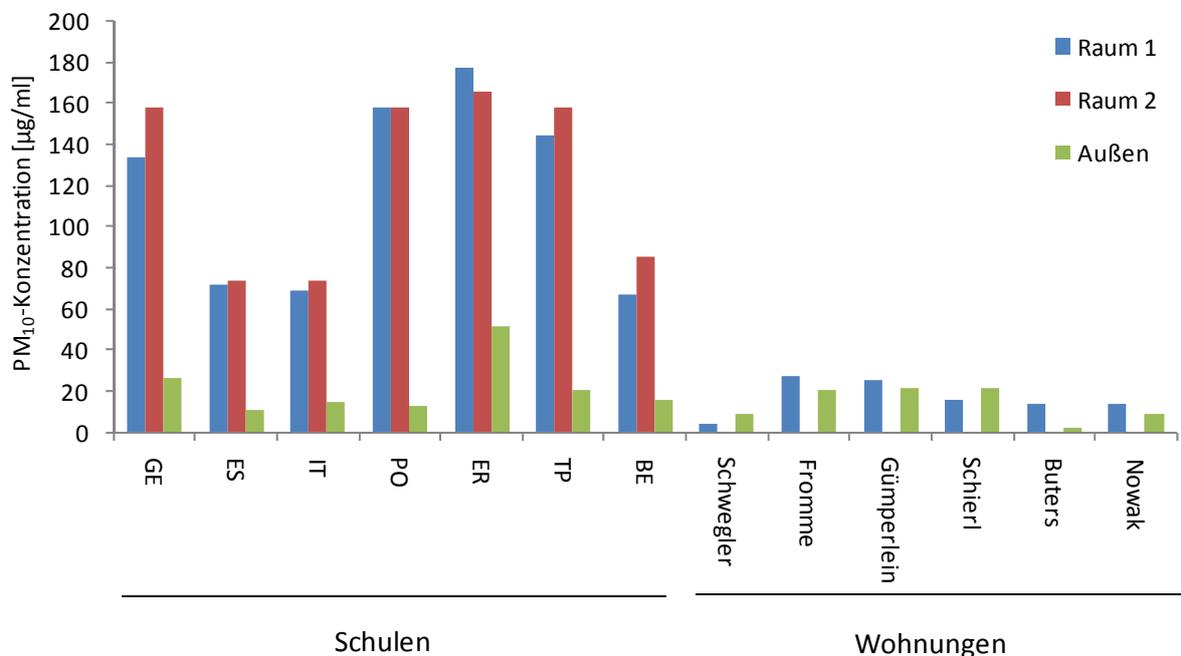


Abbildung 6: PM₁₀-Belastung der beprobten Schulen und Wohnungen

5.2 Zusammensetzung der Feinstaubproben

5.2.1 Einzelelemente

Mittels energiedispersiver Röntgenmikroanalyse (EDX) wurde die elementare Zusammensetzung der Staubpartikel untersucht. Pro Sammelort (d.h. ein Klassenzimmer bzw. Schulhof) wurden für 4000 Partikel Röntgenspektren aufgenommen und die jeweils detektierten Elemente quantifiziert. Bedingt durch die begrenzte Auflösung des REM-EDX war die Analyse der Partikelgröße und -zusammensetzung auf Partikel mit einem geometrischen Durchmesser größer gleich $0,66 \mu\text{m}$ beschränkt. In dieser Fraktion hatten die Innenraumpartikel aller fünf Schulen (für Schule ES war keine EDX-Analyse möglich) im Durchschnitt einen höheren Durchmesser als die Partikel der entsprechenden Außenluftsammlungen (Abbildung 7). Der Median der Partikeldurchmesser des Innenraums liegt mit $1,20 \mu\text{m}$ hochsignifikant über dem der Außenluft von $0,90 \mu\text{m}$. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen der Abbildung 8 zeigen beispielhaft große Partikel mit einem geometrischen Durchmesser größer $10 \mu\text{m}$, welche ausschließlich auf im Innenraum beprobten Filtern, nicht aber auf außen beprobten Filtern gefunden werden konnten.

Bei der EDX-Analyse können, wie bereits erläutert, theoretisch alle Elemente ab der Ordnungszahl 4 (Beryllium, Be) nachgewiesen werden. Kohlenstoff (C) konnte zwar detektiert, aber nicht genau quantifiziert und Stickstoff (N) weder quantifiziert, noch detektiert werden (siehe Methoden S.31). Detektiert und quantifiziert wurden die Elemente: Sauerstoff (O), Natrium (Na), Magnesium (Mg), Aluminium (Al), Silizium (Si), Phosphor (P), Chlor (Cl), Kalium (K), Calcium (Ca), Titan (Ti), Eisen (Fe) (Abbildung 9). Es konnte festgestellt werden, dass in Innenraum- und Außenluftpartikeln die Elemente O und Ca mit 50% und 11% (Gewichtsprozent) den größten Anteil ausmachen, dass ihnen aber im Fall der Innenraumpartikel die Elemente Si und Al und im Fall der Außenluftpartikel die Elemente S und Fe folgen (Abbildung 10). Innenraumpartikel enthielten also mehr Si (innen (i) 10,4%, außen (a) 4,5%, $p < 0,01$) und Al (i 4,7%, a 1,4%, $p < 0,001$), wohingegen Außenluftpartikel einen höheren Anteil an S (i 3,4%, a 11,7%, $p < 0,01$) und Fe (i 4,6%, a 8,4%, $p = 0,05$) hatten. Die Staubproben von Klassenzimmern der gleichen Schule hatten eine sehr ähnliche Zusammensetzung und auch zwischen den Stäuben der fünf verschiedenen Schulen wurden kaum Unterschiede hinsichtlich der elementaren Zusammensetzung

gefunden. Bei allen Schulen zeigte sich allerdings ein deutlicher Unterschied zwischen Innenraum- und Außenluftstäuben.

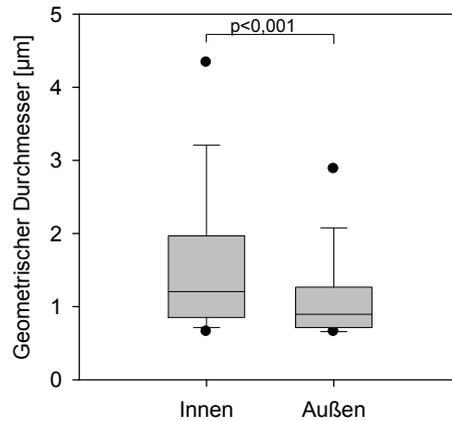


Abbildung 7: Geometrischer Durchmesser der Innenraum- bzw. Außenluftpartikel der EDX-Analyse; Innen: n=50000, Außen: n=20000; Punkte sind 5tes bzw. 95stes Perzentil

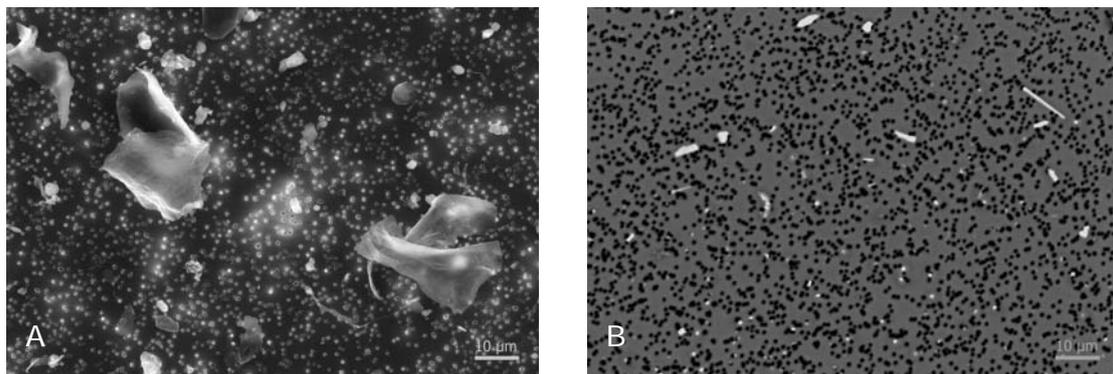


Abbildung 8: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines im Innenraum A) und eines an der Außenluft B) beprobten Filters der EDX-Analyse; Aufnahmen: Dr. I. Weichenmeier

H																			He
Li	Be											B	C	N	O	F			Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl			Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br			Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I			Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At			Rn
Fr	Ra	Ac	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Ds	Rg	Uub	Uut	Uuq	Uup	Uuh	Uus			Uuo

Abbildung 9: Periodensystem, **gelb**=detektiert, aber nicht quantifizierbar, **orange**=detektiert und quantifizierbar; C=Kohlenstoff, N=Stickstoff, O=Sauerstoff, Na=Natrium, Mg=Magnesium, Al=Aluminium, Si=Silizium, P=Phosphor, Cl=Chlor, K=Kalium, Ca=Calcium, Ti=Titan, Fe=Eisen.

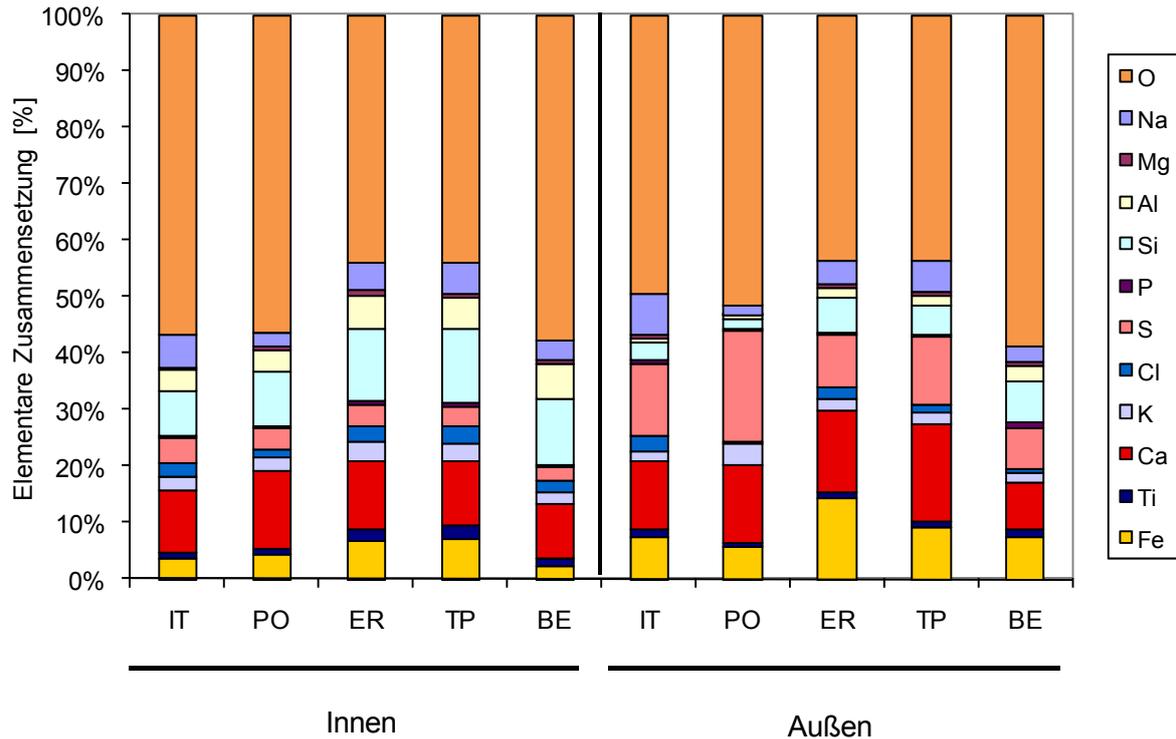


Abbildung 10: Durchschnittliche elementare Partikelzusammensetzung; Innen: je Schule n=8000, Außen: je Schule n=4000

5.2.2 Partikeltypen

Zur genaueren Charakterisierung der einzelnen Partikel wurde eine chemische Bibliothek erstellt, indem die ersten Filter in einem Lernmodus analysiert wurden und anhand der elementaren Zusammensetzung bestimmte Partikeltypen definiert wurden. Dabei wurden 71 Partikeltypen gefunden (Tabelle 4), die sich in ihrer Zusammensetzung um mindestens 5 % (Gewichtsprozent der Elemente) voneinander unterscheiden. Die Partikeltypen wurden entsprechend ihrer Zusammensetzung benannt und in folgende Gruppen zusammengefasst: Organisch, Feldspat, Al-Silikat, Fe-Silikat, Si-Dioxid, andere Silikate, Na-Chlorid, Na-Carbonat, Mg-Ca-Carbonat, Ca-Carbonat, Ca-Sulfat, Al-Oxid, Fe-Oxid, Ti-Oxid und Mischpartikel (Aggregate verschiedener Partikeltypen). Die Partikelgruppe Organisch war durch das Vorkommen biogener Leitelemente (S, K, Na, Cl, Ca) und einen hohen Kohlenstoffgehalt gekennzeichnet, der zwar wegen des variablen Hintergrundes nicht genau quantifizierbar war, aber weitaus über dem Kohlenstoffgehalt der anderen Partikelgruppen lag.

Die mit 36% der Gesamtpartikelzahl am häufigsten in den Klassenzimmern vorkommenden Partikel waren Silikate (Abbildung 11). Zu dieser Partikelgruppe gehören Al-Silikate, Fe-Silikate, Feldspate und Si-Dioxid. Den zweitgrößten Anteil machten mit 29% die organischen Partikel aus, gefolgt von den Ca-Carbonaten mit einem Anteil von 12%. Im Gegensatz dazu waren in der Außenluft die mit Abstand häufigsten Partikel Ca-Sulfate, die hier 38%, in den Klassenzimmern dagegen nur 4% ausmachten. Wie bei der Einzelelementanalyse fand sich auch bei dieser Analyse in den Stäuben der verschiedenen Klassenzimmer ein gemeinsames Muster der Partikeltypen (Abbildung 12). Abweichungen von diesem gemeinsamen Muster fanden sich in den Innenraumstäuben der Schulen IT und PO, bei denen die häufigsten Partikel organisch und nicht silikatisch waren. Auch bei den Außenluftstäuben ergaben sich zwischen den verschiedenen Beprobungsorten einige Variationen. Besonders auffällig ist das abweichende Muster in der Außenluft von Schule BE (Abbildung 13). Es wurden hier vergleichsweise viele organische und silikatische, dafür aber deutlich weniger sulfatische Partikel gefunden. Der Ca-Sulfat-Gehalt war mit 15% bei Schule BE gegenüber 58% bei Schule PO generell sehr variabel. Eine weitere Besonderheit war der hohe Na-Chlorid-Gehalt in den Außenluftproben der Schule IT, der erst an Beprobungstagen (13./15. November 2007) gefunden werden konnte an denen es geschneit hatte und Streusalz ausgebracht worden war. Trotz dieser Unterschiede gab es auch für die Partikeltypen der Außenluft ein gemeinsames Muster, das sich wiederum wesentlich von dem der Innenraumstäube unterschied.

Anhand von rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen konnte in Kombination mit der EDX-Analyse für einige Partikeltypen eine charakteristische Morphologie gefunden werden (Abbildung 14).

Tabelle 4: Chemische Bibliothek der in den Innenraum- und Außenluftstäuben vorhandenen Partikeltypen, die sich um mind. 5% (Gewichtsprozent) voneinander unterscheiden

Chem Type	Fe	O	Al	P	Si	Ca	S	Na	Mg	Cl	K	Ti
Al-Oxid	6.40 %	47.80 %	44.10 %									
Al-Phosphat		57.00 %	23.00 %	11.00 %								
Al-Silikat		57.00 %	17.00 %		25.00 %							
Ca-Carb 1		59.00 %				37.90 %						
Ca-Carb 2		46.50 %				51.50 %						
Ca-Carb 4		65.00 %				27.00 %						
Ca-Sulfat 1		57.80 %				23.20 %	17.00 %					
Ca-Sulfat 2		60.00 %				10.60 %	25.00 %					
Ca-Sulfat 3		43.50 %				29.90 %	24.50 %					
Ca-Sulfat 4		45.00 %				20.00 %	30.00 %					
Ca-Sulfat 5		21.10 %				42.90 %	34.60 %					
Fe-Oxid 1	57.30 %	37.20 %										
Fe-Oxid 2	43.90 %	46.10 %										
Fe-Oxid 3	30.80 %	54.10 %										
Fe-Oxid 4	72.40 %	23.40 %										
Fe-Oxid 5	84.20 %	12.40 %										
Fe-Silikat 1	24.70 %	38.00 %	10.50 %		16.00 %							
Fe-Silikat 2	23.90 %	43.80 %			29.10 %							
Fe-Silikat 3	17.10 %	48.20 %	10.40 %		13.50 %							
Fe-Silikat 4	43.00 %	35.00 %	5.00 %		12.00 %							
Feldspat 1		47.00 %	15.00 %		25.00 %	6.00 %		6.00 %				
Feldspat 2		45.00 %	18.00 %		20.00 %	10.00 %						
Matrix 1		86.40 %				6.20 %						
Matrix 2		74.00 %			6.80 %		16.90 %					
Matrix 3		96.60 %										
Matrix 4		81.10 %			5.80 %							
Mg-Ca-Carb		57.00 %				23.00 %			12.00 %			
Mischp		30.37 %				23.35 %	8.71 %			23.24 %		
Mischp 10		22.80 %	7.70 %		12.90 %	15.30 %	5.90 %			9.80 %	17.80 %	
Mischp 11		33.80 %					12.90 %	10.50 %		16.30 %	15.20 %	
Mischp 12	10.50 %	48.80 %				5.60 %	10.80 %	21.80 %				
Mischp 13		33.30 %			13.60 %	13.30 %						20.60 %
Mischp 14		38.20 %			32.20 %			8.90 %			14.30 %	6.20 %
Mischp 3		47.50 %		7.20 %		29.00 %	11.10 %					
Mischp 7		30.60 %				16.70 %	27.70 %			16.20 %		
Mischp 8	30.20 %	40.50 %				9.10 %	11.30 %					
Na-Carb 1		48.90 %						41.70 %				
Na-Carb 2		64.60 %						30.80 %				
Na-Carb 4		54.00 %						30.00 %				
NaCl 1		23.90 %						31.90 %		43.50 %		
NaCl 2		11.00 %						32.10 %		55.70 %		
NaCl 3		43.90 %				5.10 %		20.10 %		25.50 %		
NaCl 4		10.00 %						33.00 %		44.00 %		
Organ P 1		60.00 %				10.00 %	5.00 %	5.00 %		9.00 %		
Organ P 10		49.00 %			6.00 %		7.00 %			8.00 %	12.00 %	
Organ P 11	12.00 %	52.00 %						9.00 %		6.00 %		
Organ P 12		52.00 %				22.00 %		7.00 %		6.00 %		
Organ P 13		30.40 %				23.40 %	8.70 %			23.20 %		
Organ P 14		57.00 %		15.50 %					6.60 %	5.00 %	5.40 %	
Organ P 15		59.00 %				9.00 %	9.50 %				16.90 %	
Organ P 16		60.00 %				10.00 %	5.00 %	5.00 %		9.00 %		
Organ P 17		45.50 %				17.40 %	19.30 %				15.90 %	
Organ P 18		30.40 %				23.40 %	8.70 %			23.20 %		
Organ P 19		45.50 %				17.40 %	19.30 %				15.90 %	
Organ P 2		59.00 %				9.00 %	9.50 %				16.90 %	
Organ P 20		55.90 %		5.10 %		10.10 %		9.30 %		10.30 %		
Organ P 21		32.00 %				8.10 %				21.80 %	26.40 %	
Organ P 22		60.20 %	10.00 %		9.20 %			7.20 %				5.80 %
Organ P 23		70.10 %				21.30 %				5.40 %		
Organ P 9		39.00 %			28.00 %	11.00 %				16.00 %		
Si-Dioxid 1		68.60 %			25.00 %							
Si-Dioxid 2		54.80 %			42.00 %							
Si-Dioxid 3		44.50 %			43.40 %							
Silikat 1	8.10 %	45.20 %	11.80 %		24.30 %							
Silikat 2		52.60 %	9.40 %		12.80 %	15.50 %						
Silikat 3	6.50 %	55.80 %	9.60 %		19.60 %							
Silikat 4		16.40 %			38.90 %	18.30 %	7.00 %					
Ti-Oxid 1		50.90 %										47.10 %
Ti-Oxid 2		39.50 %										49.70 %
Ti-Oxid 3		42.60 %				10.30 %						33.10 %
Ti-Oxid 4		55.70 %				7.60 %						32.50 %

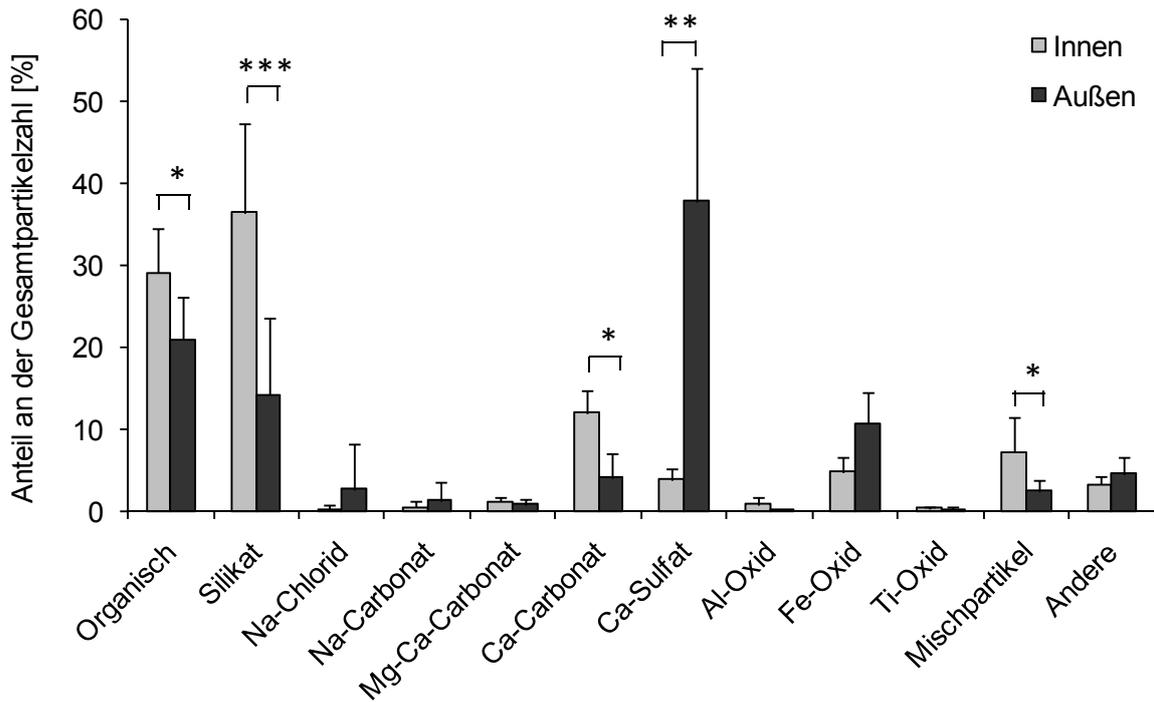


Abbildung 11: Zusammensetzung der Innenraum- und Außenluftstäube - Anteile der einzelnen Partikeltypen an der Gesamtpartikelzahl; n=5 (5 Schulen)

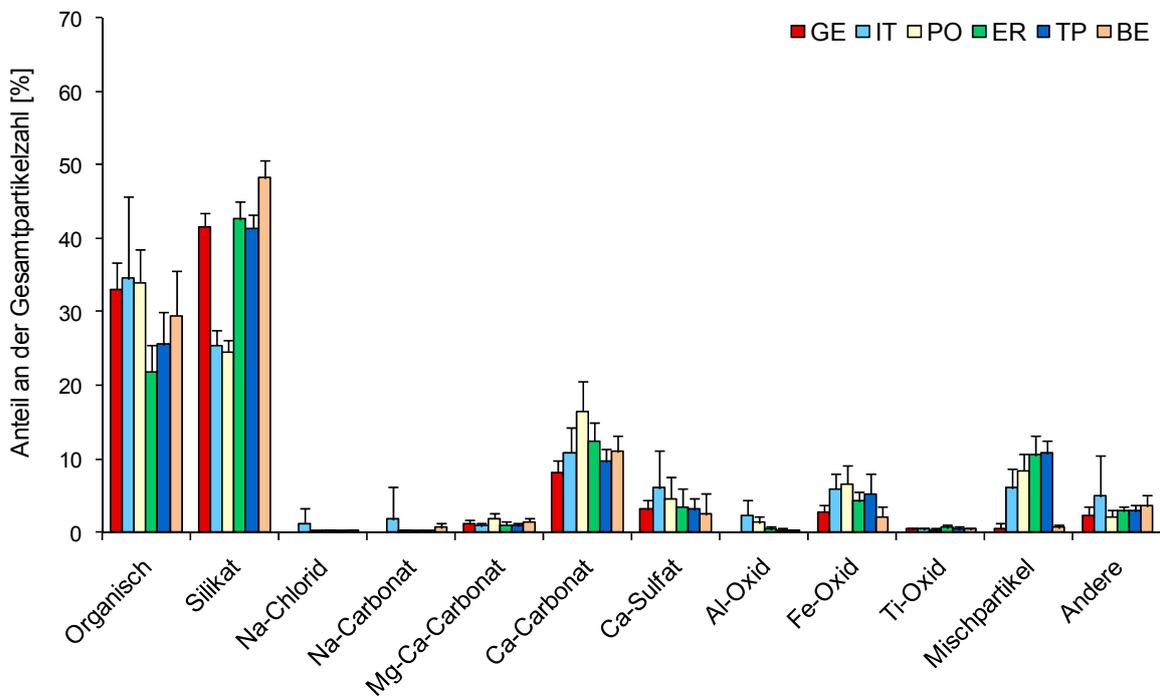


Abbildung 12: Zusammensetzung der Innenraumstäube der verschiedenen Schulen; n=8 (8 Beprobungstage)

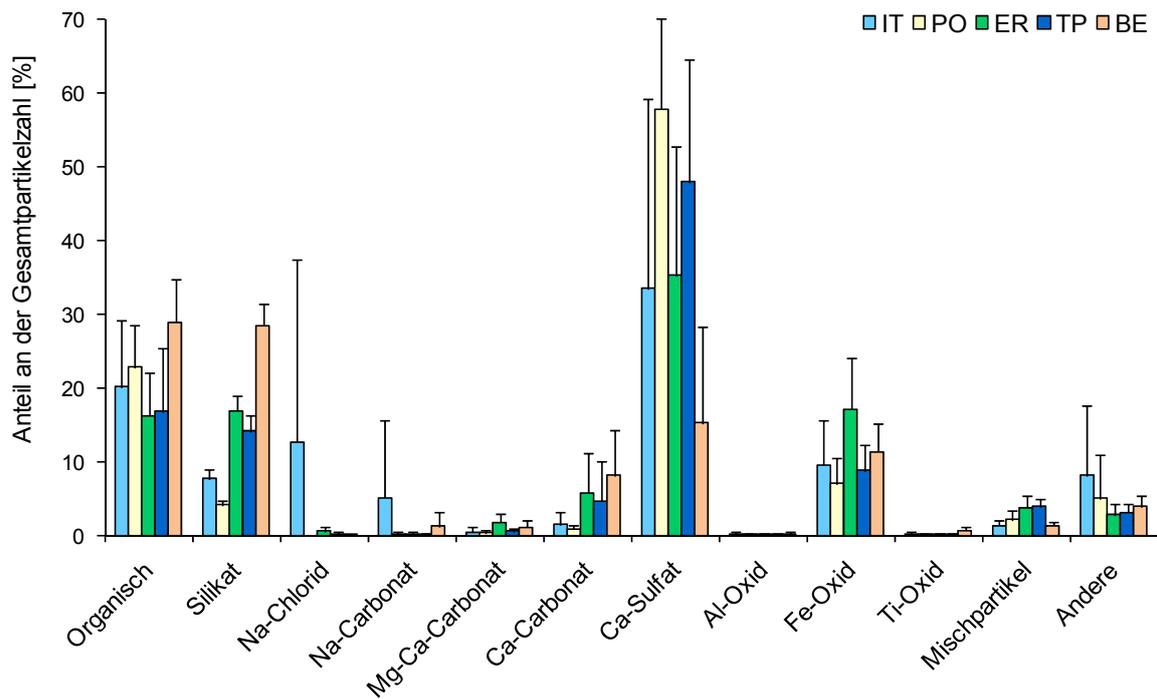


Abbildung 13: Zusammensetzung der Außenluftstäube der verschiedenen Schulen; n=8 (8 Beprobungstage)

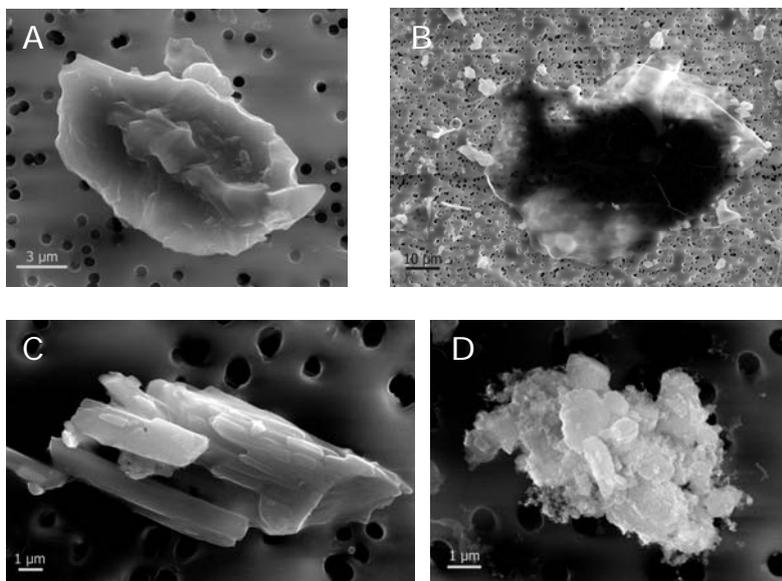


Abbildung 14: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen typischer Innenraumpartikel: A) Ca-Carbonat und B) organischer Partikel und typischer Außenluftpartikel: C) Ca-Sulfat und D) Eisenoxid; Aufnahmen: Dr. I. Weichenmeier

5.2.3 PAH-Gehalt

Folgende PAHs konnten in den PM₁₀-Proben der Klassenzimmer und der Außenluft nachgewiesen werden:

Benzo[<i>a</i>]anthracen	Baa	Chrysen	Cry
Benzo[<i>e</i>]pyren	Bep	Benzo[<i>b</i>]fluoranthen	Bbf
Benzo[<i>k</i>]fluoranthen	Bkf	Benzo[<i>a</i>]pyren	Bap
Dibenzo[<i>a,h</i>]anthracen	Dbal	Benzo[<i>g,h,i</i>]perylene	Bghi
Indeno[123- <i>c,d</i>]pyren	Ind	Coronen	Cor

Die Summe dieser PAHs liegt in den Staubproben der Klassenzimmer im Durchschnitt bei 8,30 ng/mg und für die der Außenluft bei 16,66 ng/mg, wobei sich dieser Unterschied zwischen Innen und Außen ausschließlich auf die erhöhten Außenluft-Werte der im Winter beprobten Schulen (PO, ER, TP) zurückführen lässt (i: 11,39 ±3,18 ng/mg, a: 29,21 ±9,91 ng/mg, p<0,01, Abbildung 15 und Anhang S. XLVIII).

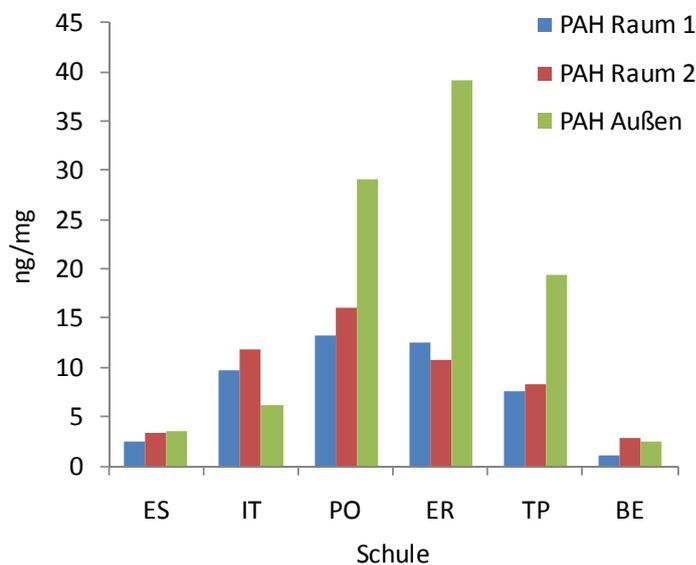


Abbildung 15: PAH-Konzentrationen in den PM₁₀-Proben

5.2.4 Endotoxingehalt

Der Endotoxingehalt lag bei den Proben, die in den Klassenzimmern genommen wurden mit durchschnittlich 128,5 ±42,2 EU/mg PM₁₀ deutlich über dem der Außenluftproben (13,4 ±21,5 EU/mg PM₁₀, p<0,001) (Tabelle 5).

5.2.5 Allergengehalt

In sechs der zwölf untersuchten Klassenzimmerstäuben und in einer der sechs Außenluftproben wurde das Katzenallergen Fel d 1 detektiert (Tabelle 5). Im Mittel betrug die Fel d 1-Konzentration in den Innenraum-PM₁₀-Proben 1,10 ±1,81 ng/mg und in den Außenluft-PM₁₀-Proben 0,04 ±0,10 ng/mg (nicht signifikant). Die Messwerte für die Schule PO – darunter auch der einzige Wert für die Außenluft – lagen sehr nah an der Nachweisgrenze. Die übrigen vier positiven Werte beruhen auf deutlichen Messsignalen.

Tabelle 5: Endotoxin- und Fel d 1-Gehalt der Staubproben, Unterschied innen gegenüber außen für Endotoxin hoch signifikant ($p < 0,001$), für Fel d 1 nicht signifikant

Schule	Endotoxin (EU/mg PM ₁₀)	Fel d 1 (ng /mg PM ₁₀)
ES Klassenzimmer 1	104,5	1,55
ES Klassenzimmer 2	116,4	0,00
ES Außen	56,8	0,00
IT Klassenzimmer 1	138,3	5,95
IT Klassenzimmer 2	231,1	2,04
IT Außen	2,6	0,00
PO Klassenzimmer 1	112,1	0,36
PO Klassenzimmer 2	97,8	0,36
PO Außen	3,6	0,25
ER Klassenzimmer 1	96,9	2,88
ER Klassenzimmer 2	133,7	0,00
ER Außen	2,7	0,00
TP Klassenzimmer 1	152,1	0,00
TP Klassenzimmer 2	178,4	0,00
TP Außen	3,2	0,00
BE Klassenzimmer 1	93,5	0,00
BE Klassenzimmer 2	87,2	0,00
BE Außen	11,3	0,00
Mittelwert innen	128,5±42,2	1,10±1,81
Mittelwert außen	13,4±21,5	0,04±0,10

5.3 Zytotoxizität von PM₁₀

Für eine erste Abschätzung des gesundheitsgefährdenden Potentials von PM₁₀ aus Klassenzimmern wurden Zytotoxizitätstests durchgeführt. Zum einen wurde überprüft, ob die Stäube direkt eine zytotoxische Wirkung hervorrufen können und zum anderen, ob eine Metabolisierung organischer PM₁₀-Bestandteile durch spezifische Isoformen des Cytochroms P450 zu einer zytotoxischen Wirkung führen kann.

5.3.1 Direkte Zytotoxizität

Auf die humane Lungenepithelzelllinie A549 zeigten weder Innenraum-, noch Außenluftstäube einen zytotoxischen Effekt (Abbildung 16). Bei primären humanen Keratinozyten konnte allerdings nach Exposition gegenüber Innenraumstäuben eine Abnahme der Zellvitalität auf 82% im Vergleich mit der mit Lösungsmittel (Wasser) behandelten Kontrolle beobachtet werden. Dieser zytotoxische Effekt folgte einer Dosis-Wirkungs-Beziehung und war im Konzentrationsbereich zwischen 0,33 und 10 µg/ml statistisch signifikant ($p < 0,05$, $p < 0,01$ bzw. $p < 0,001$, siehe Abbildung 16). PM₁₀ der Außenluft hatte dagegen keinen Einfluss auf die Vitalität primärer Keratinozyten.

Im direkten Vergleich zeigten die Innenraumstäube der Grundschulen PO und ER die stärkere zytotoxische Wirkung auf Keratinozyten als die der Schulen GE, ES, IT, TP und BE (Abbildung 17).

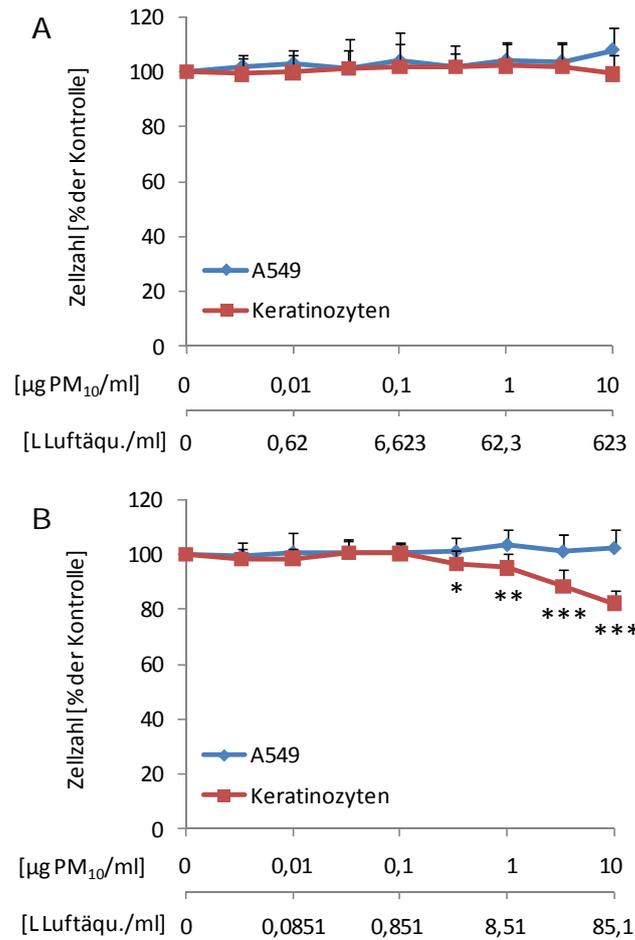


Abbildung 16: Zytotoxizität von PM₁₀ der A) Außenluft (n=6) und B) Innenraumluft (n=12) in A549-Zellen und Keratinozyten; *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001; Konzentrationen sind als Masse PM₁₀ pro Volumen Zellkulturmedium und als beprobtes Luftvolumen pro Volumen Zellkulturmedium angegeben

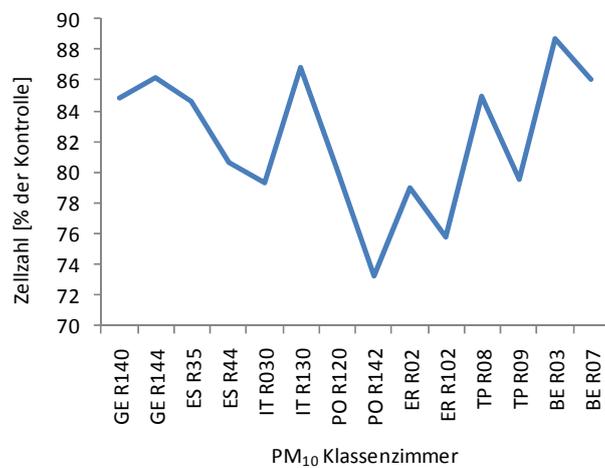


Abbildung 17: Zytotoxizität der Innenraumstäube (10 µg/ml) der verschiedenen Klassenzimmer in Keratinozyten

5.3.2 Metabolismus-vermittelte Zytotoxizität

Eine Zytotoxizität nach metabolischer Aktivierung organischer PM₁₀-Bestandteile wurde in V79-Zelllinien beobachtet, die die humanen CYP-Isoformen 2B6 bzw. 3A4 exprimieren (Abbildung 19). Auch dieser Effekt trat nur nach Inkubation mit PM₁₀ der Klassenzimmer und nicht mit PM₁₀ der Außenluft auf (Abbildung 18). Eine Untergruppe von drei der zwölf Innenraumproben (zwei Räume der Schule ER und ein Raum der Schule TP) verursachte zusätzlich eine CYP1A1-vermittelte Zytotoxizität, die mit anderen PM₁₀-Proben nicht gefunden werden konnte (Abbildung 20). Die übrigen eingesetzten humanen CYP-Isoformen 1A2, 1B1, 2A6, 2D6, 2E1 und 3A5 vermittelten keine Zytotoxizität von Innenraum- oder Außenluftstäuben.

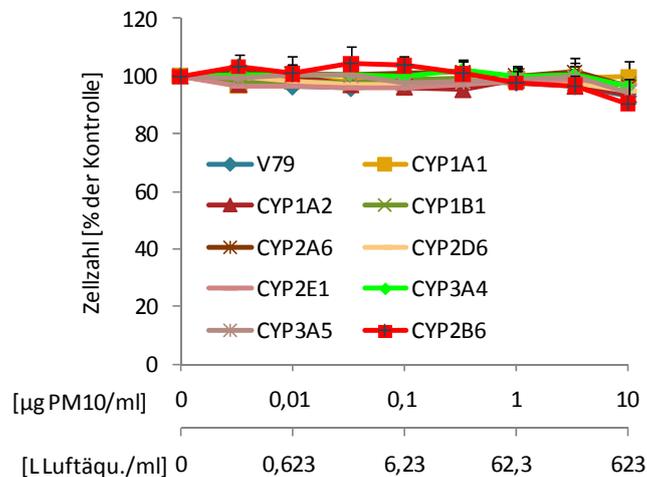


Abbildung 18: Zytotoxizität nach metabolischer Aktivierung von Außenluftstaubkomponenten; n=6; nicht signifikant

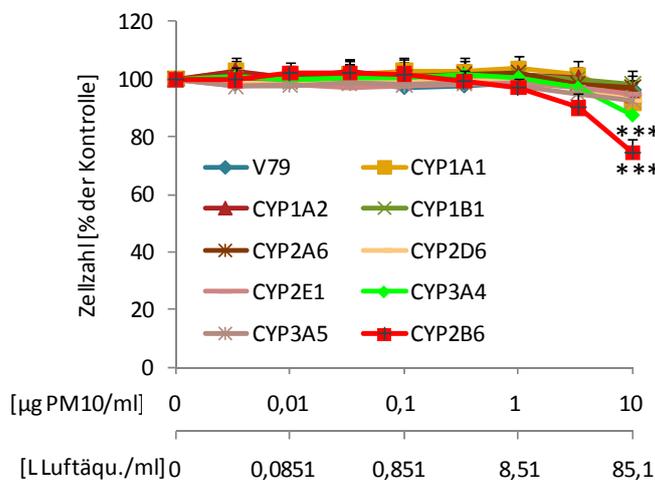


Abbildung 19: Zytotoxizität nach metabolischer Aktivierung von Innenraumstaubkomponenten; n=12; ***p<0,001

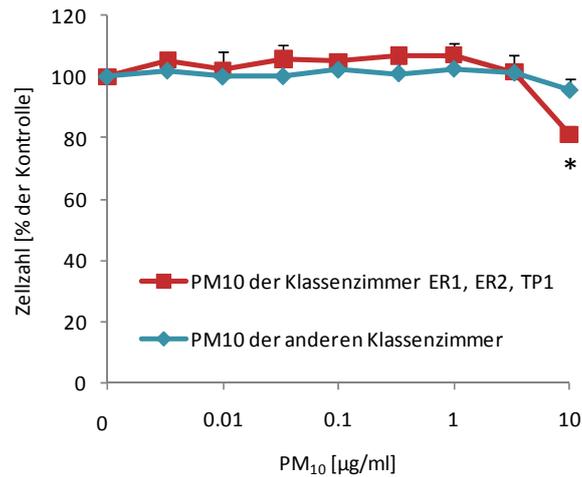


Abbildung 20: CYP1A1-vermittelte Zytotoxizität durch PM₁₀ von 3 der 12 Klassenzimmer; n=3 für die 3 Sonderfälle; *p<0,05

Die CYP2B6-vermittelte Zytotoxizität war in beiden Räumen der Schule PO und im zweiten Raum der Schule ER besonders hoch (Abbildung 21).

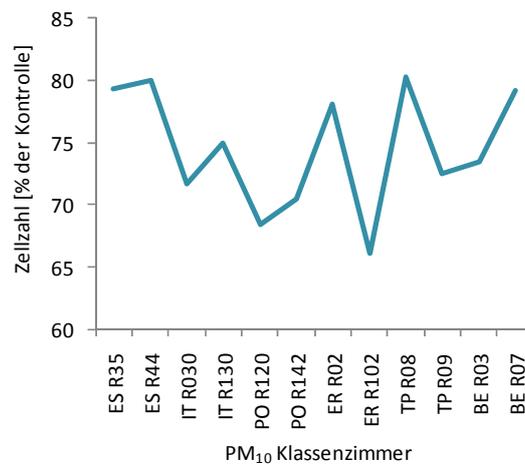


Abbildung 21: Zytotoxizität der Innenraumstäube (10 µg/ml) der verschiedenen Klassenzimmer in Keratinozyten nach metabolischer Aktivierung durch CYP2B6

Neben den PM₁₀-Proben der Schulen wurden auch die Innenraumstäube der Wohnungen hinsichtlich ihres Potentials eine CYP2B6-vermittelte Zytotoxizität auszulösen, untersucht. Eine Partikelrückgewinnung von den Filtern war aufgrund der geringen Beladung nur für vier der sechs beprobten Wohnungen möglich, so dass in diesen Test vier verschiedene Wohnungsstaubproben eingesetzt werden konnte. Die PM₁₀-Proben der Wohnungen lösten im Gegensatz zu denen der

Schulen nur eine sehr geringfügige und nicht statistisch signifikante CYP2B6-vermittelte Zytotoxizität aus (Abbildung 22). Die schädigende Wirkung der Schulstäube war signifikant höher als die der Wohnungen.

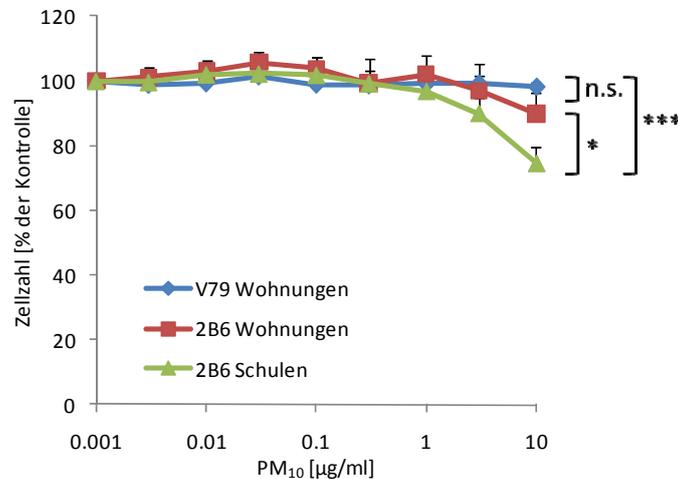


Abbildung 22: Vergleich der CYP2B6-vermittelte Zytotoxizität durch Stäube aus Innenräumen von Schulen (n=12) und Wohnungen (n=4); n.s.=nicht signifikant, *p<0,05, ***p<0,001

5.3.3 Beitrag reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) zur CYP-vermittelten Zytotoxizität

Der Redox-Zyklus der Cytochrome P450 ist normalerweise durch folgende Systemkomponenten exakt reguliert: durch den Redox-Partner NADPH, die subzelluläre Lokation (endoplasmatisches Retikulum oder Mitochondrien) und die Beschaffenheit des aktiven Zentrums des Enzyms. Wenn diese Regulation nicht genau kontrolliert ist, können Elektronen entkoppeln und statt auf das Substrat auf das aktivierte gebundene Sauerstoffmolekül übertragen werden, wodurch anstatt des oxidierten Substrates reaktive Sauerstoffspezies (ROS) (O_2^- , H_2O_2 und $\cdot OH$) gebildet werden, welche zu oxidativem Stress in der Zelle führen können [100, 101].

Um zu überprüfen, ob der Mechanismus der Generierung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) während des CYP-Redox-Zyklus die beobachtete Zytotoxizität von PM₁₀ vermittelt, wurden die Zellen mit dem potenten Antioxidans N-Acetylcystein (NAC) vorinkubiert. Während die CYP1A1- und CYP3A4-vermittelte Zytotoxizität nicht durch NAC beeinflusst wurde, ließ sich der CYP2B6-vermittelte zytotoxische Effekt durch dieses Antioxidans vollständig aufheben (Abbildung 23). Die Entstehung reaktiver

Sauerstoffspezies im Redox-Zyklus von CYPs scheint also einen bedeutenden Beitrag zur CYP2B6-vermittelten Zytotoxizität von Innenraumstäuben zu leisten.

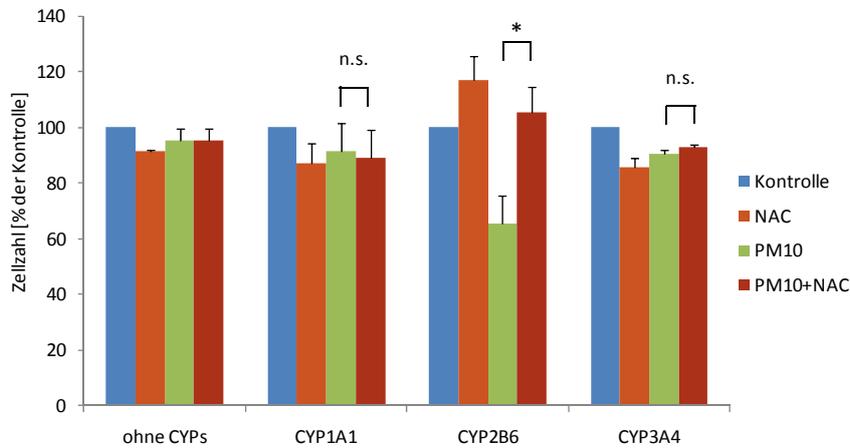


Abbildung 23: Inhibierung der CYP-vermittelten Zytotoxizität durch N-Actetylcystein (NAC); n=3; n.s.=nicht signifikant, *p<0,05

5.3.4 Toxizität bezogen auf das Luftvolumen

Da die PM₁₀-Belastung in den Klassenzimmern 5,5-fach über der der Außenluft lag, wurde für die Sammlung einer bestimmten Menge PM₁₀ im Innenraum ein 5,5-fach geringeres Luftvolumen benötigt als an der Außenluft. So entspricht die höchste eingesetzte PM₁₀-Konzentration von 10 µl/ml 82,6 L Innenraumluft und 400,0 L Außenluft pro ml Zellkulturmedium. Da nun eine deutliche Toxizität nur für die Innenraumstäube gefunden wurde (Abbildung 16 und Abbildung 19), lässt sich schlussfolgern, dass ein vergleichsweise kleineres Volumen an Innenraumluft eine größere toxische Wirkung zeigte als ein größeres Volumen an Außenluft.

5.4 Regulation der Genexpression durch PM₁₀

5.4.1 Genomweite Analyse (Affymetrix)

Bei der Auswertung der Affymetrix-Daten wurde auf folgende Qualitätskriterien geachtet. Zum einen sollte ein *present call* in allen 18 Bedingungen (Innenraum-PM₁₀, Außenluft-PM₁₀, Lösungsmittel x drei Inkubationszeiten x drei Replikate) vorhanden sein. Der *present call* ist ein statistisches Maß dafür, dass ein

spezifisches Transkript vorhanden ist. Er wird aus den Signalen von *mismatch* und *perfect match*-Sonden berechnet [102]. Zum anderen sollte ein p-Wert für den Vergleich mit der Lösungsmittelkontrolle in mindestens einer Bedingung kleiner 0,05 sein.

5.4.1.1 Genomweite Regulation

Global betrachtet verursachte die PM₁₀-Exposition in der Konzentration 10 µg/ml eine relativ geringe Regulation der Genexpression in BEAS-2B-Zellen. Sowohl die Anzahl der signifikant regulierten Gene war mit 153 von 14500 untersuchten Genen relativ gering, als auch die Höhe der Genregulation (max. 9-fach). Insgesamt wurde die Genexpression stärker induziert als inhibiert. So wurden 95 Gene über 1,5-fach induziert (36 davon über 2-fach) und 58 Gene inhibiert (2 davon über 2-fach).

5.4.1.2 Betroffene Stoffwechselwege

Um einen Überblick zu bekommen, in welchen Stoffwechselwegen die regulierten Gene eine Rolle spielen, wurde das Online-Programm DAVID (**D**atabase for **A**notation, **V**isualization and **I**ntegrated **D**iscovery, NIAID, NIH) verwendet. Dieses bietet die Möglichkeit, *gene ontology terms* zu finden, die in der Liste der regulierten Gene signifikant angereichert sind. Für die Liste der inhibierten Gene ergab sich dabei kein einheitliches Bild. Bei den induzierten Genen waren allerdings solche Gene hoch signifikant angereichert, die bei einer inflammatorischen Immunantwort, bei der Reaktion auf einen chemischen Stimulus und bei zellulärem Stress eine Rolle spielen (Tabelle 6). Bei dieser Art der Auswertung wird weniger die Höhe der Regulation als vielmehr die Anzahl der regulierten Gene berücksichtigt. Bei den stark regulierten Genen finden sich allerdings auch einzelne Vertreter anderer Stoffwechselwege. So spielt beispielsweise das am höchsten induzierte Gen SERPINB2 (oder PAI-2) (Abbildung 24) bei der Regulation der Blutgerinnung, das Gen MMP1 (Abbildung 25) beim Abbau von zellulärer Matrix und damit beim *airway remodelling* und das Gen CAMK2B beim Calcium-Signalweg eine Rolle.

Tabelle 6: Häufigste Genfunktionen der regulierten Gene, aufgelistet als *gene ontology terms*, die unter den regulierten Genen signifikant angereichert waren

Gene Ontology Term	Anzahl	%	P-Wert
Defense response	31	32,6	$4,2 \times 10^{-22}$
Response to external stimulus	30	31,6	$1,3 \times 10^{-16}$
Response to wounding	25	26,3	$2,8 \times 10^{-18}$
Inflammatory response	22	23,2	$5,3 \times 10^{-18}$
Immune system response	35	36,8	$2,7 \times 10^{-17}$
Immune response	31	32,6	$3,3 \times 10^{-16}$
Response to stimulus	51	53,7	$9,0 \times 10^{-16}$
Response to chemical stimulus	22	23,2	$5,8 \times 10^{-12}$
Response to stress	28	29,5	$6,2 \times 10^{-12}$
Taxis	13	13,7	$2,4 \times 10^{-11}$
Chemotaxis	13	13,7	$2,4 \times 10^{-11}$
Locomotory behavior	13	13,7	$6,6 \times 10^{-10}$
Cell-cell signalling	20	21,1	$1,6 \times 10^{-9}$
Behaviour	13	13,7	$1,8 \times 10^{-7}$
Regulation of cell proliferation	15	15,8	$4,1 \times 10^{-7}$
Developmental process	38	40,0	$1,5 \times 10^{-6}$
Organ development	22	23,2	$3,1 \times 10^{-6}$
Acute inflammatory response	7	7,4	$3,1 \times 10^{-6}$

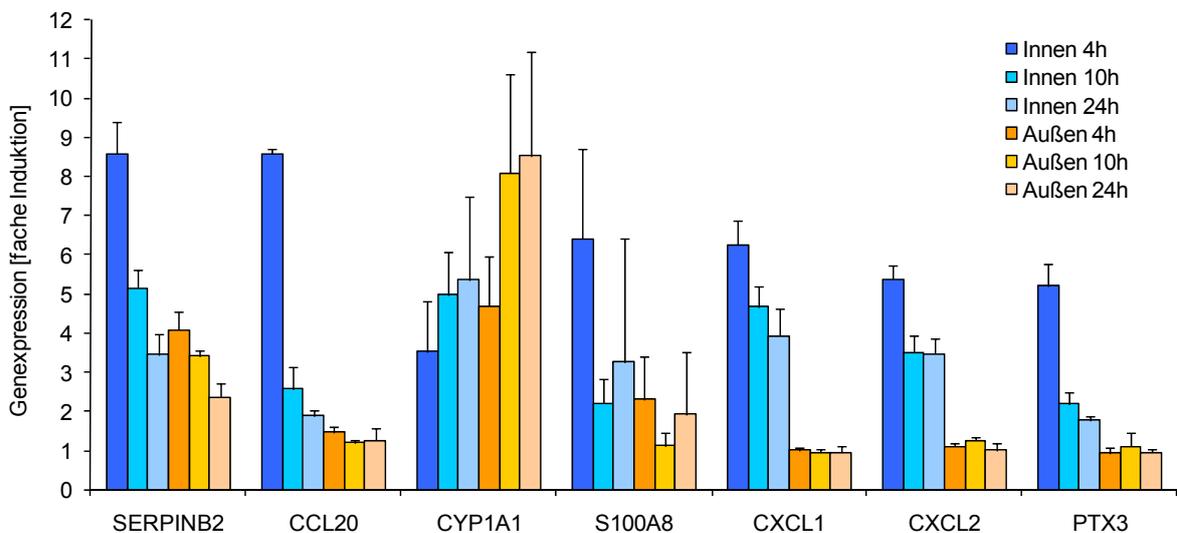


Abbildung 24: Genomweit über 5-fach induzierte Gene; GS IT Raum 2 und außen; n=3

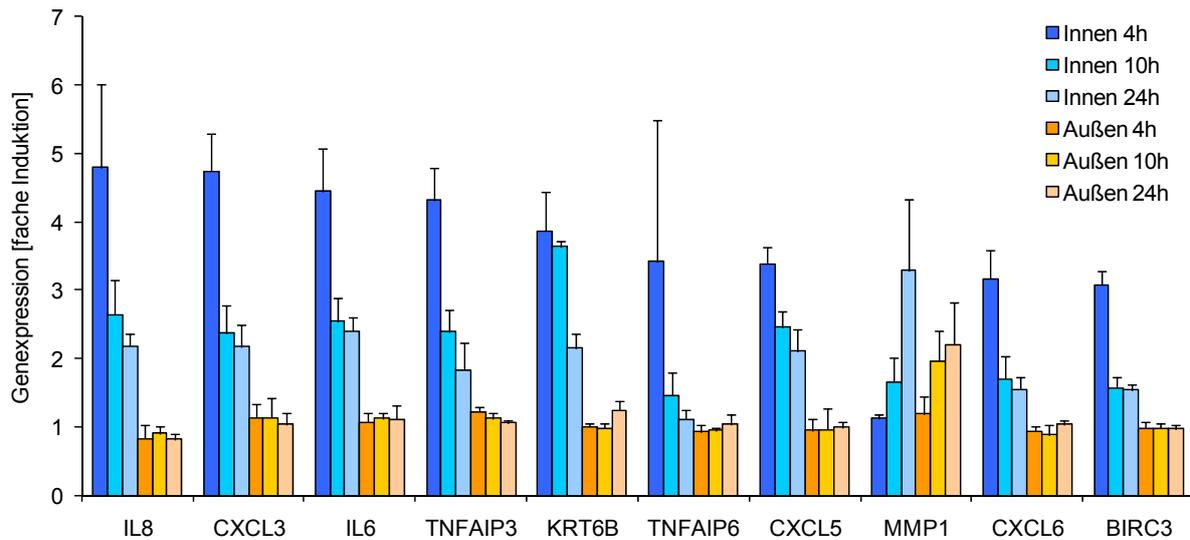


Abbildung 25: Genomweit 3-5-fach induzierte Gene; GS IT Raum 2 und außen; n=3

5.4.1.3 Vergleich der Wirkung von Innenraum- und Außenluftstäuben

Vergleicht man die Wirkungen von Innenraum- und Außenluft-PM₁₀, so fallen sehr deutliche Unterschiede auf. PM₁₀ der Klassenzimmer induzierte proinflammatorische Chemokine und Cytokine viel stärker, aber CYP1A1, ein Enzym des Fremdstoffmetabolismus, schwächer als PM₁₀ der Außenluft. Zudem erreichte die inflammatorische Wirkung der Innenraumstäube bereits nach vier Stunden ihr Maximum, die eher durch Außenstaub verursachte Induktion von Fremdstoffmetabolisierenden Genen erst nach 24 Stunden.

5.4.2 Analyse einer Auswahl von 46 Genen

Zur Bestätigung der genomweit am stärksten regulierten Genexpressionswerten wurden quantitative RT-PCR-Analysen auf TaqMan Low Density Arrays (LDA) durchgeführt. Jede dieser Karten enthielt assays für den Nachweis der 34 durch PM₁₀ höchstinduzierten (über 2-fach), der zwei höchstinhibierten (über 2-fach), einer Auswahl von sechs über 1,5-fach induzierten, von zwei schwach induzierten (unter 1,5-fach) aber AhR-regulierten, von zwei Genen, deren Regulation durch Partikel in

der Literatur beschrieben ist (CYP2S1 [103], TSLP [104]), zu denen aber keine Daten aus der Affymetrix-Analyse vorhanden waren, sowie von zwei *house-keeping* Genen (Tabelle 7).

Tabelle 7: Auswahl der Gene für weitere Analysen

Gen	Auswahlkriterium	Gen	Auswahlkriterium
ALDH1A3	AhR- induziert	IQGAP1	2-fach inhibiert
BIRC3	2-fach induziert	KRT6B	2-fach induziert
CAMK2B	2-fach inhibiert	LIF	1,5-fach induziert
CCL20	2-fach induziert	MMP1	2-fach induziert
CFB	2-fach induziert	NDRG1	2-fach induziert
CLDN1	1,5-fach induziert	NFKBIA	2-fach induziert
CXCL1	2-fach induziert	NPTX1	2-fach induziert
CXCL2	2-fach induziert	NQO1	AhR- induziert
CXCL3	2-fach induziert	PTX3	2-fach induziert
CXCL5	2-fach induziert	RALBP1	1,5-fach induziert
GAPDH	<i>House keeping</i> Gen	S100A8	2-fach induziert
CXCL6	2-fach induziert	S100A9	2-fach induziert
CYP1A1	2-fach induziert	SAA1;SAA2	2-fach induziert
CYP1B1	2-fach induziert	SERPINA3	2-fach induziert
CYP2S1	Literatur	SERPINB2	2-fach induziert
EREG	2-fach induziert	SERPINB3	2-fach induziert
GREM1	1,5-fach induziert	SOD2	2-fach induziert
HPRT1	<i>House keeping</i> Gen	STC1	2-fach induziert
ICAM1	2-fach induziert	STC2	1,5-fach induziert
IL1A	2-fach induziert	TIPARP	2-fach induziert
IL1B	2-fach induziert	TLR2	1,5-fach induziert
IL24	2-fach induziert	TNFAIP2	2-fach induziert
IL6	2-fach induziert	TNFAIP3	2-fach induziert
IL8	2-fach induziert	TSLP	Literatur

5.4.2.1 Bestätigung der genomweiten Ergebnisse durch qPCR

Durch die quantitative RT-PCR konnte für 37 der 44 untersuchten Gene (ohne die zwei *house keeping* Gene und die zwei Gene, die auf dem verwendeten Microarray nicht vorkommen) für alle 3 Inkubationszeiten die in der genomweiten Microarrayanalyse gefundene Regulation bestätigt werden (Tabelle 8). Sowohl die Art der Regulation (Induktion oder Inhibition), als auch das Verhältnis der Regulation durch Innenraum- und Außenluftstaub war hier mit den Werten der Microarrayanalyse vergleichbar. Für vier Gene konnte die Regulation nur für eine oder zwei der Inkubationszeiten bestätigt werden. Bei drei Genen, die in der Microarrayanalyse schwach reguliert waren, konnte mittels PCR keine Regulation gefunden werden. Ebenso wurde für die zwei Gene, die aufgrund von

Literaturangaben in die PCR-Analyse mit aufgenommen wurden, keine Regulation detektiert.

Tabelle 8: Bestätigung der Ergebnisse der genomweiten Analyse, jeweils nach Exposition gegenüber PM₁₀ von Schule IT (Raum 2 und außen); hk = house keeping Gen, kD = keine Daten aus der genomweiten Analyse vorhanden.

Gen	Durch PCR bestätigt			Gen	Durch PCR bestätigt		
	4h	10h	24h		4h	10h	24h
ALDH1A3	+	+	+	IQGAP1	-	-	-
BIRC3	+	+	+	KRT6B	+	+	+
CAMK2B	+	+	+	LIF	+	+	+
CCL20	+	+	+	MMP1	+	+	+
CFB	+	+	+	NDRG1	+	+	+
CLDN1	-	-	-	NFKBIA	+	+	+
CXCL1	+	+	+	NPTX1	+	+	+
CXCL2	+	+	+	NQO1	+	+	+
CXCL3	+	+	+	PTX3	+	+	+
CXCL5	+	+	+	RALBP1	-	-	-
GAPDH	hk	hk	hk	S100A8	-	+	-
CXCL6	+	+	+	S100A9	-	+	-
CYP1A1	+	+	+	SAA1;SAA2	-	+	+
CYP1B1	+	+	+	SERPINA3	+	+	+
CYP2S1	kD	kD	kD	SERPINB2	+	+	+
EREG	+	+	+	SERPINB3	+	+	+
GREM1	+	+	+	SOD2	+	+	+
HPRT1	hk	hk	hk	STC1	+	+	+
ICAM1	+	+	+	STC2	+	+	-
IL1A	+	+	+	TIPARP	+	+	+
IL1B	+	+	+	TLR2	+	+	+
IL24	+	+	+	TNFAIP2	+	+	+
IL6	+	+	+	TNFAIP3	+	+	+
IL8	+	+	+	TSLP	kD	kD	kD

Auch die Höhe der Regulation war zwischen den zwei Analysemethoden recht gut vergleichbar (Abbildung 26 und Anhang S. XXV). In der Korrelationsanalyse der durch PCR bestätigten Gene ergab sich hier ein Determinationskoeffizient (r^2) von 0,64 (Abbildung 26).

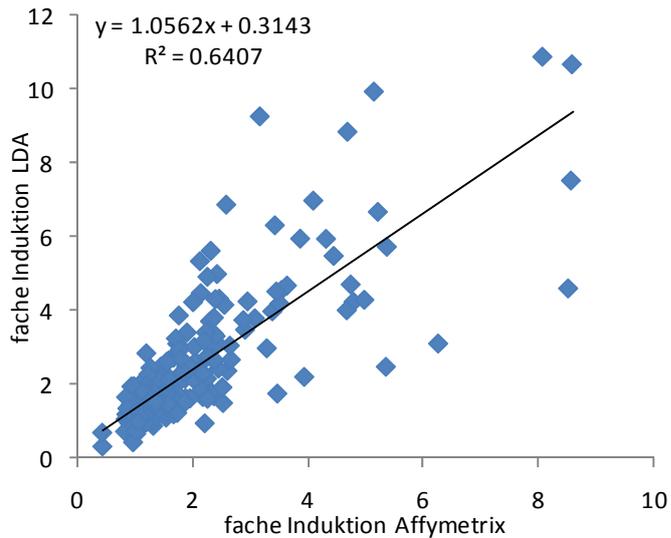


Abbildung 26: Korrelation der Geninduktionswerte der genomweiten Analyse (Affymetrix) und der PCR-Analyse (LDA); jeweils PM₁₀ von Schule IT (Raum 2 und außen)

5.4.2.2 Ausweitung der Genexpressionsanalyse auf alle PM₁₀-Proben

Die Expression der 46 ausgewählten Gene wurde nun nach Inkubation mit den PM₁₀-Proben aller sechs Schulen analysiert. Dies führte zum einen zu einer erhöhten n-Zahl für den Vergleich der Innenraumstaub- und Außenstaubwirkung und ermöglichte zum anderen einen Vergleich der verschiedenen Schulen untereinander. Desweiteren können so in Verbindung mit der Analytik der Feinstaubzusammensetzung bestimmte Effekte auf bestimmte PM₁₀-Bestandteile zurückgeführt werden.

5.4.2.2.1 Funktionen der regulierten Gene

Der Großteil der regulierten Gene codiert für Proteine, die im Entzündungsgeschehen eine Rolle spielen (Abbildung 27, Abbildung 28, Abbildung 29 und Abbildung 30). Dazu gehören die Chemokine CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL6, IL8, die eine Chemotaxis von Neutrophilen verursachen, das Chemokin CCL20, welches eine Migration von Dendritischen Zellen in die Lunge bewirken kann [105], anderen proinflammatorischen Zytokinen, wie IL1A, IL1B, IL6 und LIF, die Rezeptoren des innate Immunsystems TLR2 und PTX3, die Strukturen

von gram-positiven Bakterien und Hefen bzw. gram-negativen Bakterien, Hefen, Viren und Pilzsporen erkennen können, das interzelluläre Zelladhäsionsmolekül ICAM1, welches die Leukozytenmigration ermöglicht und andere bei entzündlichen Prozessen induzierten Proteinen (CFB, NFKBIA, S100A8, S100A9, SAA1///SAA2, SERPINA3, SERBINB3, TNFAIP2 und TNFAIP3).

Eine weitere Gruppe von induzierten Genen umfasst Enzyme des Fremdstoffmetabolismus, die zur Dehydrogenierung von Aldehyden (ALDH1A3), Reduktion von Quinonen (NQO1) und Monooxygenierung einer Vielzahl hydrophober Substanzen (CYP1A1, CYP1B1) und damit zur Detoxifizierung dieser Substanzen beitragen. Ebenfalls durch Fremdstoffe induziert wird die poly(ADP-Ribose)-Polymerase TIPARP. Nach Induktion durch TCCD (Dioxin) ist diese in der Lage, Proteinfunktionen durch Ribosylierung zu modulieren [106].

Eine dritte Gruppe von induzierten Genen spielt bei Umbauprozessen im Gewebe eine Rolle. So verursacht die Peptidase MMP1 einen Abbau der extrazellulären Matrix und ist mit der Pathogenese der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) assoziiert [107]. Eine erhöhte Expression von GREM1 kann eine pulmonale Fibrose induzieren [108]. Das zur Interleukin-10-Familie gehörende IL24 beeinflusst die Wundheilung [109]. Und der Serpin-Peptidase-Inhibitor B3 (SERPINB3) kann neben seiner inflammatorischen Rolle eine Barrierestörung hervorrufen, was allerdings bisher nur für das Stratum Corneum der Epidermis gezeigt wurde [110].

Für folgende Funktionen wurden nur jeweils ein Vertreter untersucht: Blutgerinnung (SERPINB2), Oxidativer Stress (SOD2), Ektodermentwicklung (KRT6B), Apoptoseinhibition (BIRC3), Toxinbindung (NPTX1), Calcium-Homöostase (STC1), Wachstumsinhibition (STC2), Stressantwort (NDRG1), Epidermaler Wachstumsfaktor (EREG), Calcium-Signalgebung (CAMK2B), *tight junctions* (CLDN1).

Auf die Funktionen der Gene TSLP, IQGAP, RALBP1 und CYP2S1 wird hier nicht näher eingegangen, da die getesteten Staubproben keinen Einfluss auf die Expression dieser Gene zeigten.

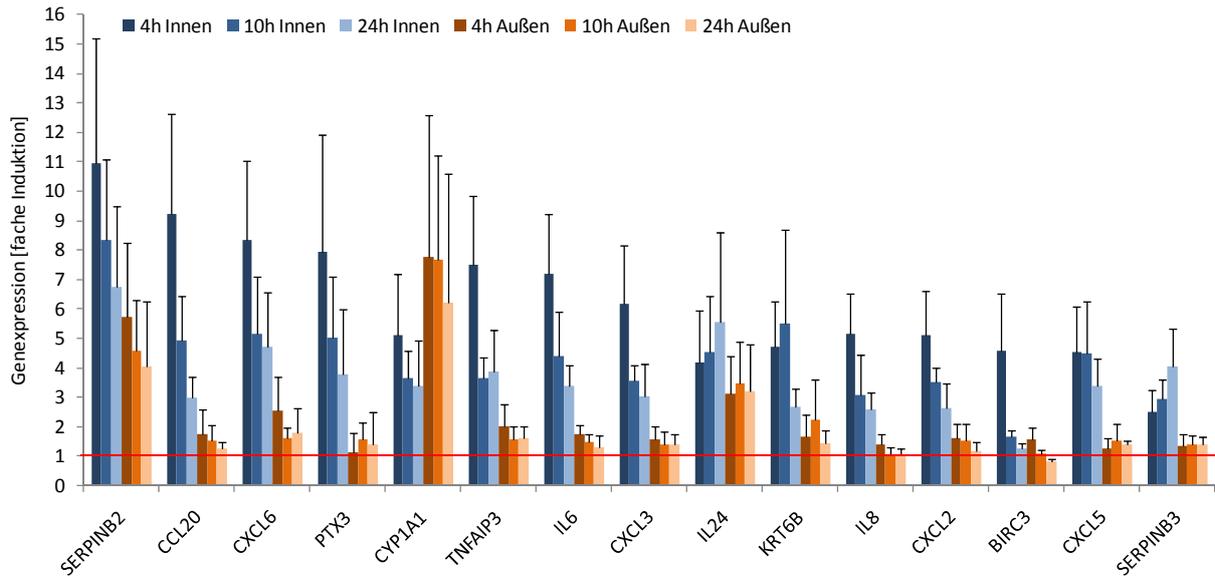


Abbildung 27: Über 4-fach induzierte Gene bei der PCR-Analyse; Mittelwerte der Stäube der 12 Klassenzimmer und 6 Außenluftsammlungen

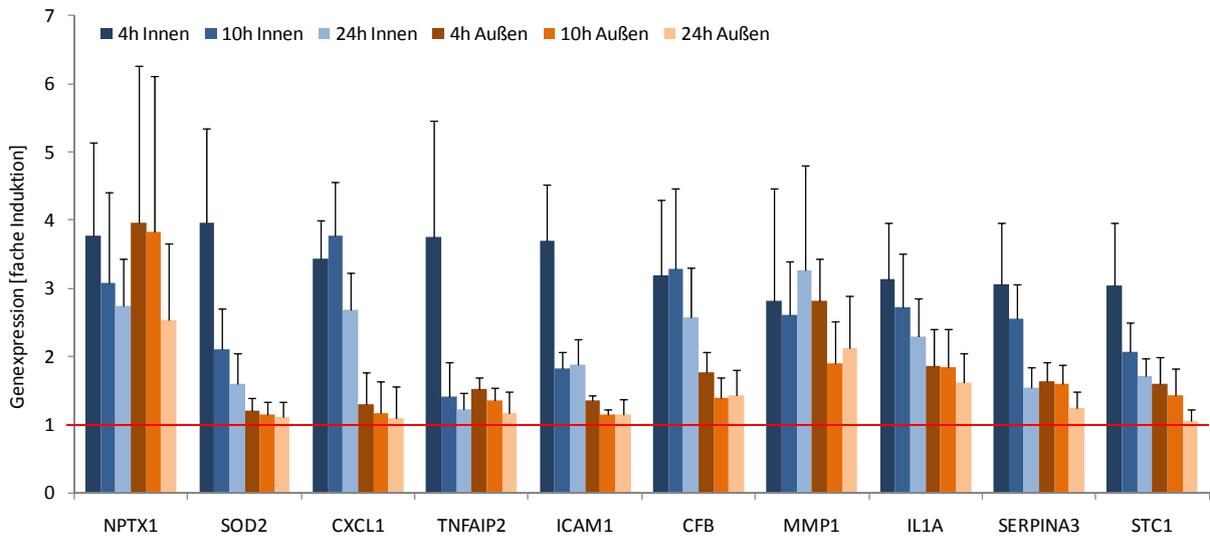


Abbildung 28: 3-4-fach induzierte Gene bei der PCR-Analyse; Mittelwerte der Stäube der 12 Klassenzimmer und 6 Außenluftsammlungen

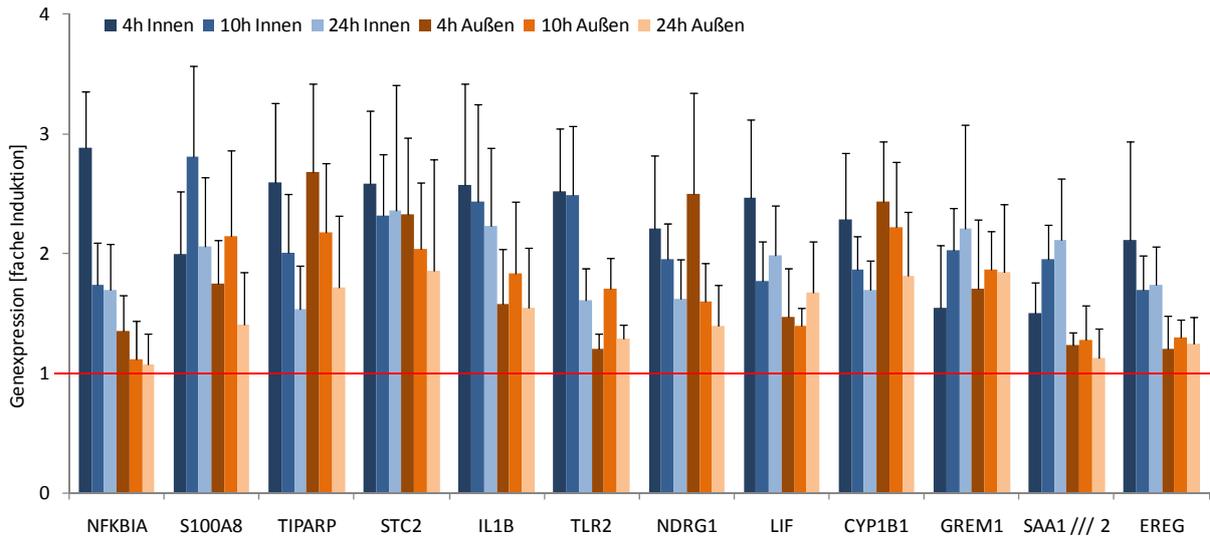


Abbildung 29: 2-3-fach induzierte Gene bei der LDA-Analyse; Mittelwerte der Stäube der 12 Klassenzimmer und 6 Außenluftsammlungen

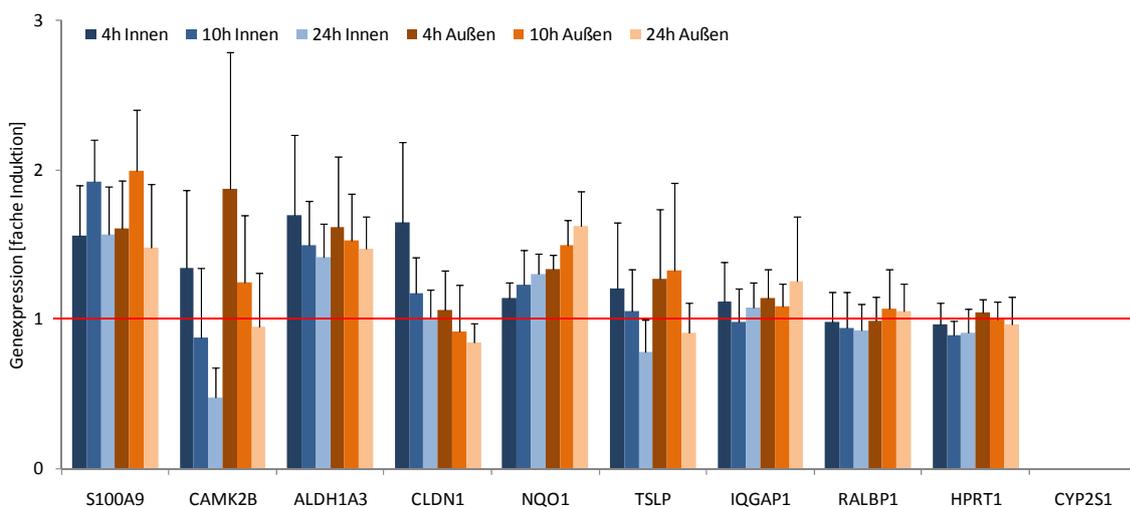


Abbildung 30: 1-2-fach induzierte Gene bei der LDA-Analyse; Mittelwerte der Stäube der 12 Klassenzimmer und 6 Außenluftsammlungen

5.4.2.2.2 Zeitlicher Verlauf der Genregulation

Betrachtet man das Verhältnis der Genregulation zum 4h-Zeitpunkt zu der zum 24h-Zeitpunkt, kann man feststellen, dass der Großteil der Gene bereits sehr früh induziert ist und dass diese Induktion nach 24h Stunden wieder deutlich abnimmt (Abbildung 31). Diese kurzen, früh einsetzenden Effekte sind zum einen die

Inflammation (CCL20, TNFAIP2, IL6, IL8, PTX3, CXCL2, CXCL3, TNFAIP3) und eine Antwort auf oxidativen Stress durch die Superoxiddismutase 2 (SOD2).

Im Mittelfeld liegen Gene, die ebenfalls bereits zum 4h-Zeitpunkt induziert sind, deren Induktion aber bis zum 24h-Zeitpunkt anhält. Hier finden sich die Vertreter des Fremdstoffmetabolismus CYP1A1, CYP1B1 und ALDH1A3.

Lediglich fünf Gene sind zum 24h-Zeitpunkt stärker induziert als zum 4h-Zeitpunkt. Diese spät einsetzende Induktion betrifft Gene, die an Umbauprozessen im Gewebe beteiligt sind. So kann es hier zu einer Barrierestörung (SERPINB3), einer Induktion der pulmonalen Fibrose (GREM1) und der Wundheilung (IL24) kommen.

5.4.2.2.3 Vergleich Innen – Außen

Wie es sich bereits in der genomweiten Analyse andeutete, führte PM₁₀ der Außenluft zu einer spezifischen Induktion des Fremdstoffmetabolismus (Abbildung 32). Im speziellen wurden die Cytochrome P450 1A1 und 1B1 und die NAD(P)H-Dehydrogenase, Quinone 1 (NQO1) und darüber hinaus die durch Dioxin induzierbare poly(ADP-ribose)-Polymerase (TIPARP) induziert. PM₁₀ der Klassenzimmer induzierte dagegen sehr spezifisch einige Gene, die beim Inflammationsgeschehen eine Rolle spielen. Eine im Vergleich mit der Wirkung der Außenluftstäuben über dreifach höhere und damit besonders für die Wirkung von Innenraumstäuben spezifische Induktion wurde für den pattern recognition receptor PTX3 und die Zytokine CCL20, IL6, IL8 und CXCL6 gefunden.

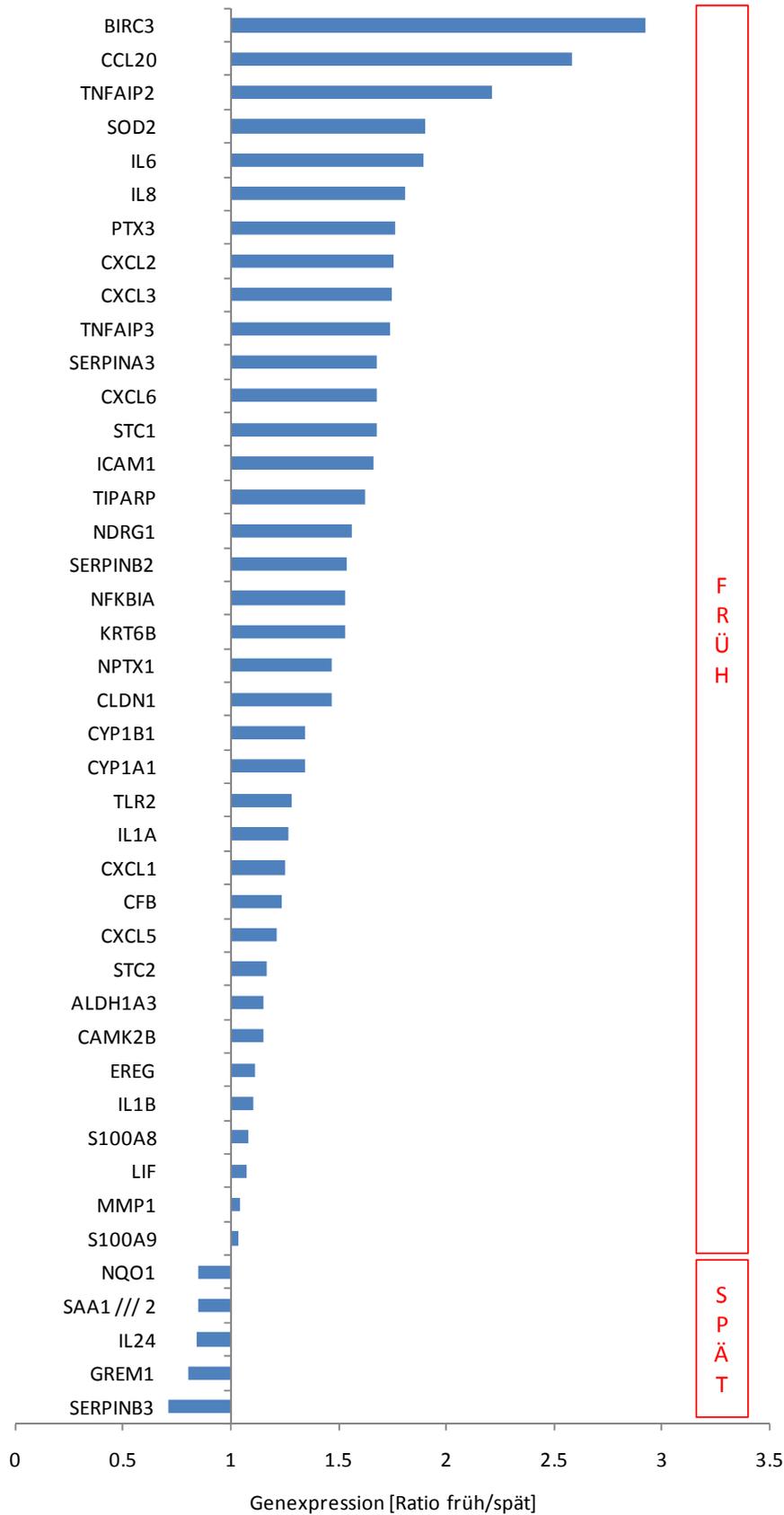


Abbildung 31: Zeitlicher Verlauf der Geninduktion als Verhältnis der Induktion zum frühen (4h) und späten (24h) Zeitpunkt

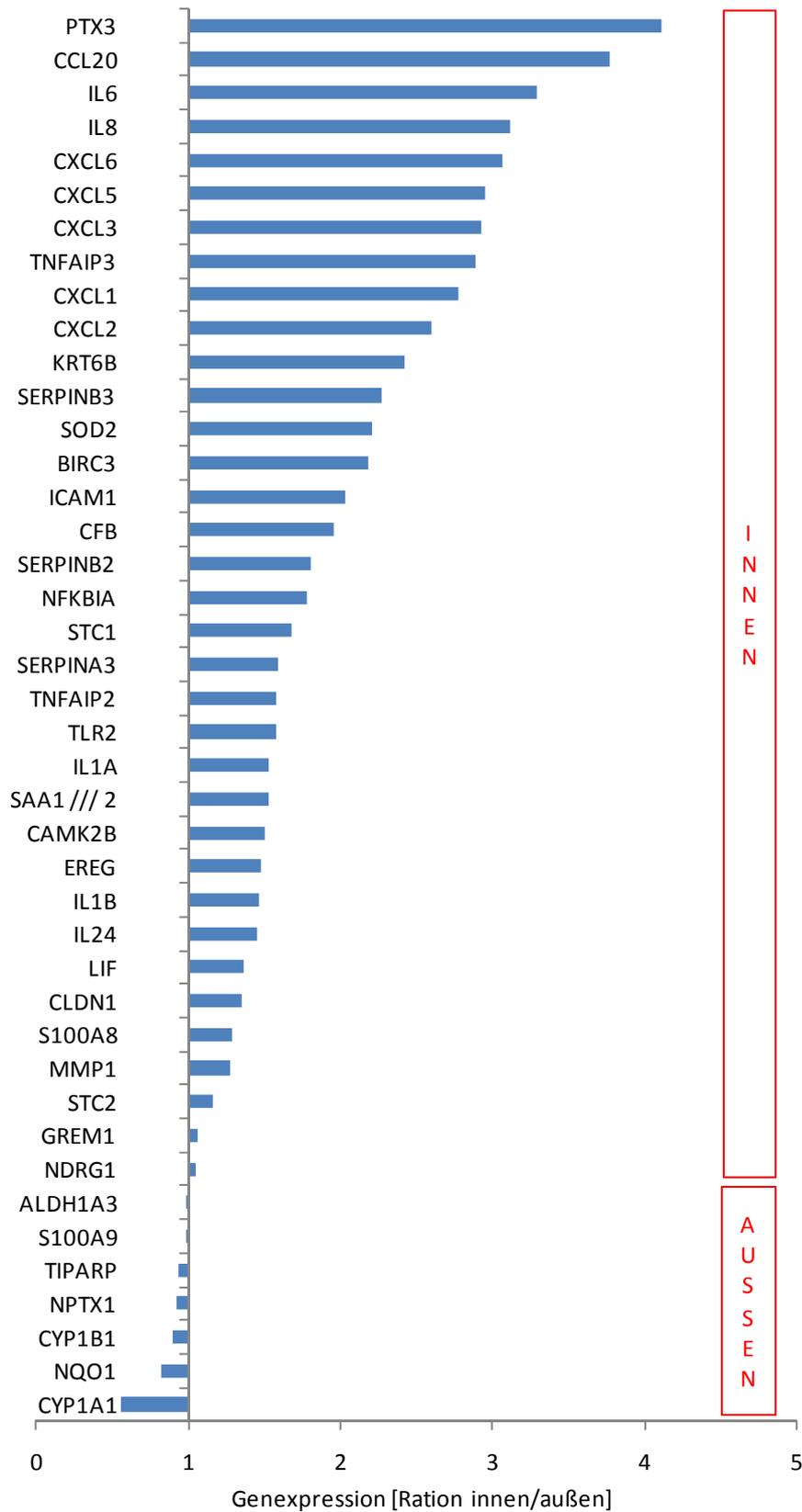


Abbildung 32: Spezifität der Geninduktionen für Innenraum- oder Außenluftproben

5.4.2.2.4 Genregulatorisches Potential der verschiedenen Schulstäube

Betrachtet man die globale Genexpression über alle 46 regulierten Gene hinweg, so wird deutlich, dass sich die Stäube der verschiedenen Schulen in ihrem genregulatorischen Potential unterscheiden. Die Innenraumproben der Schulen ER und PO bewirkten die stärkste Regulation, gefolgt von denen der Schulen TP (ER/PO>TP; $p<0,001$) und IT (TP>IT; $p<0,001$) (Abbildung 34). Die Stäube der Schulen ES und BE riefen die geringste Regulation hervor (IT>ES/BE; $p<0,001$). Bei den Außenluftstäuben hatten die Proben der Schule PO ein signifikant höheres genregulatorisches Potential als die der Schulen ER, TP, IT und ES ($p<0,001$) und das der Schule BE war signifikant niedriger als das dieser vier Schulen ($p<0,001$) (Abbildung 33).

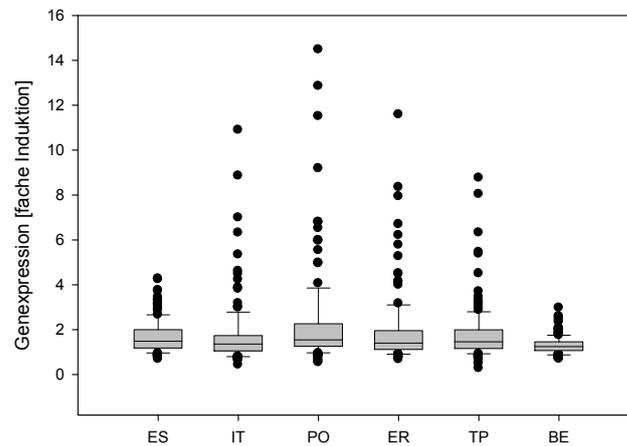


Abbildung 33: Genregulatorisches Potential der Außenluftstäube; PO>ER/TP/IT/ES>BE

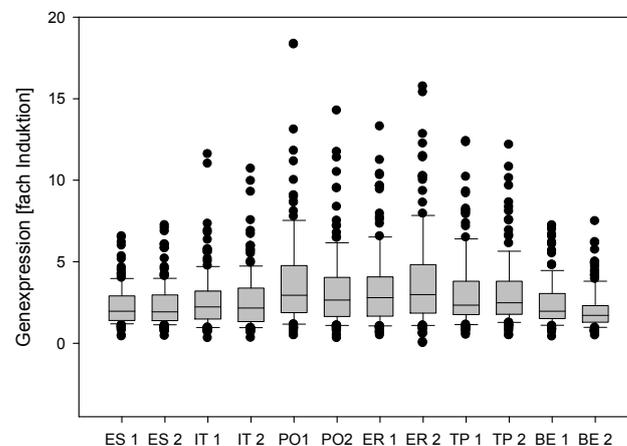


Abbildung 34: Genregulatorisches Potential der Innenraumstäube; ER/PO>TP>IT>ES/BE

5.4.2.2.5 Korrelation der Genregulation mit Endotoxinkonzentrationen

Die inflammatorische Wirkung der Staubproben könnte möglicherweise mit deren mikrobieller Belastung im Zusammenhang stehen. Um dies zu überprüfen, wurden Korrelationsanalysen für die Regulation der 45 untersuchten Gene und den Endotoxingehalt der 18 Staubproben durchgeführt (Anhang S. XLI). Unter den Korrelationen mit den höchsten Determinationskoeffizienten fanden sich die inflammatorischen Gene CXCL6, CXCL1, ICAM1, TLR2, CXCL5, IL8, CXCL2 und IL6. Die Induktion dieser Gene nimmt also mit dem Endotoxingehalt zu (Abbildung 35). Allerdings sind die Determinationskoeffizienten mit ca. 0,6 relativ niedrig, so dass der Endotoxingehalt nur teilweise für die Inflammatorische Wirkung der Staubproben verantwortlich gemacht werden kann.

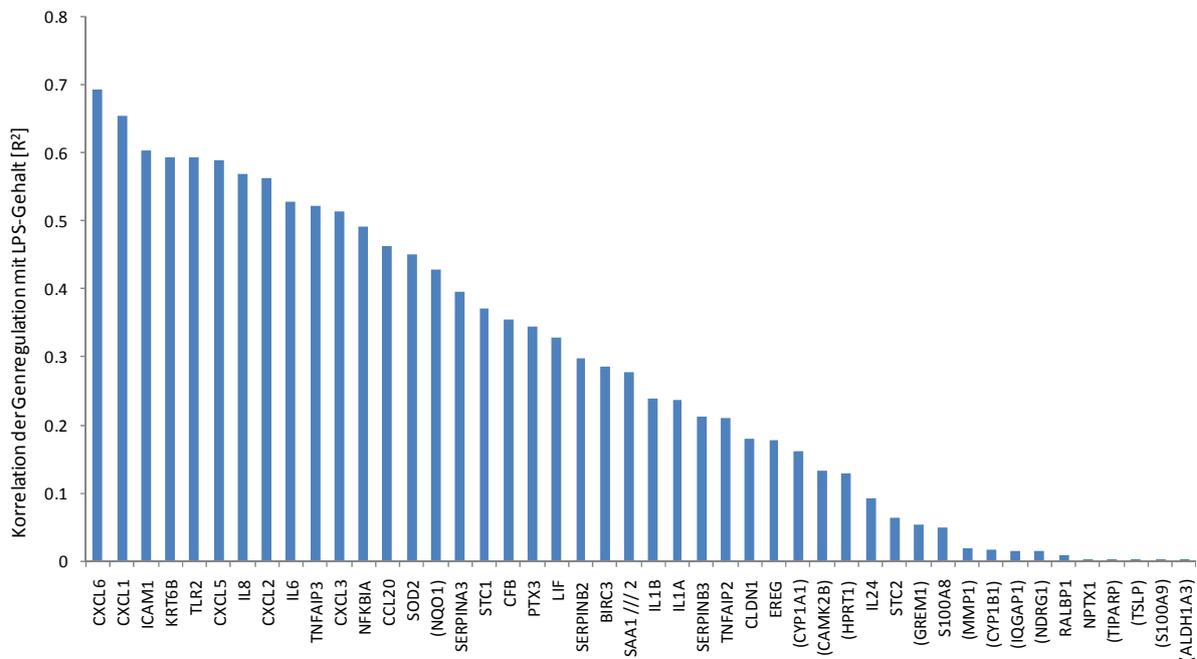


Abbildung 35: Qualität der Korrelation von Genexpression und LPS-Gehalt der Staubproben

5.4.2.2.6 Korrelation der Genregulation mit PAH-Konzentrationen

Desweiteren wurde getestet, ob die Induktion des Fremdstoffmetabolismus mit dem Gehalt der Proben an polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen zusammenhängt. Die Korrelationsanalyse aller 45 untersuchten Gene (Anhang S. XLIV) ergab hier für die Cytochrome P450 die höchsten Determinationskoeffizienten, wobei das Isoenzym CYP1A1 die mit Abstand deutlichste Korrelation aufwies

($r^2=0,75$, Abbildung 36 und Abbildung 37), gefolgt von CYP1B1 (Abbildung 36). An dritter Stelle lag die durch Dioxin induzierbare poly(ADP-Ribose)-Polymerase (TIPARP). Die PAHs in den Staubproben tragen somit zur Induktion von Genen des Fremdstoffmetabolismus bei.

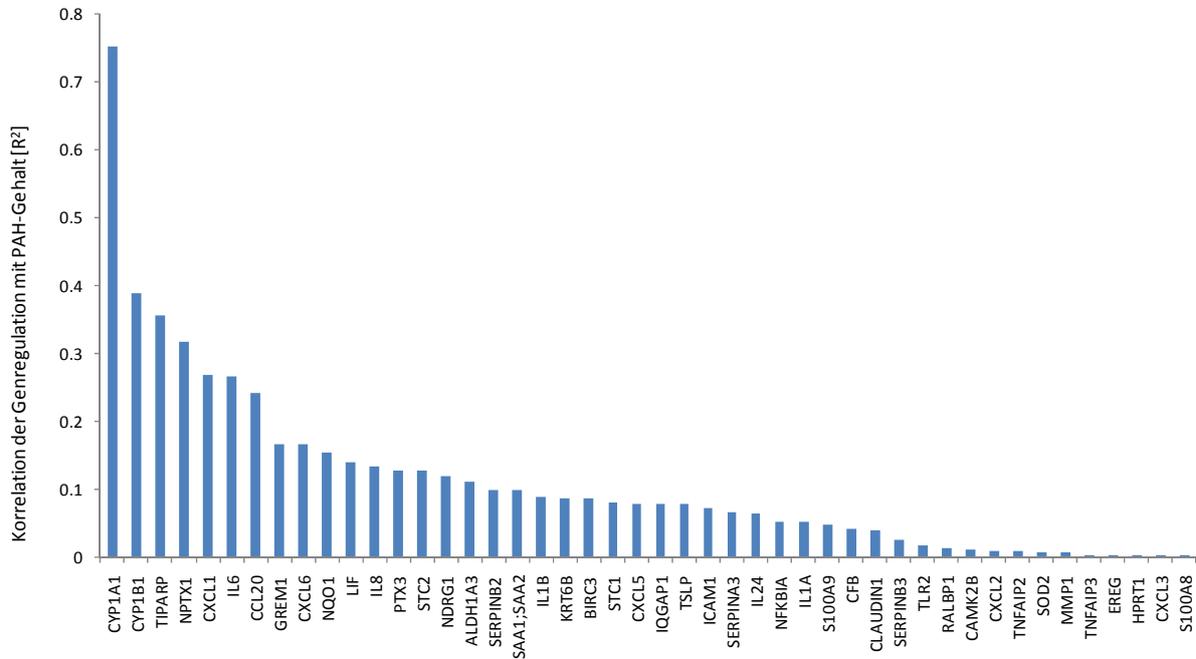


Abbildung 36: Qualität der Korrelation von Genexpression und PAH-Gehalt der Staubproben

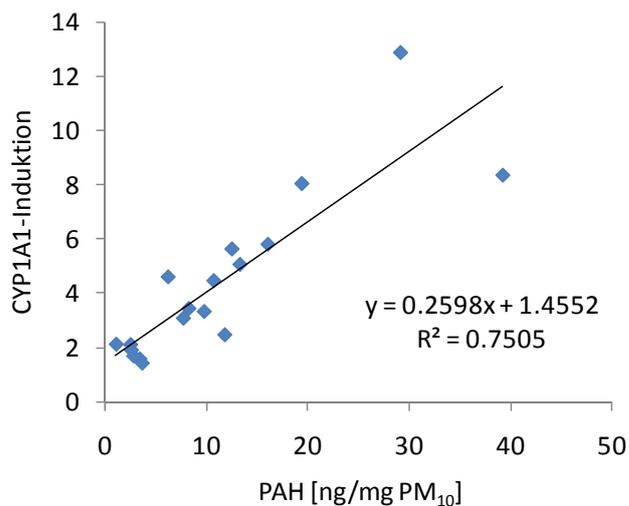


Abbildung 37: Korrelation der CYP1A1-Induktion mit dem PAH-Gehalt der Staubproben

5.5 PM₁₀-induzierte Aktivierung basophiler Granulozyten

Neben dem zytotoxischen und genregulatorischen Potential wurde ermittelt, ob die Schulstäube einen Einfluss auf die Auslösung allergische Reaktionen haben können. Dazu wurde die Aktivierung frisch isolierter humaner basophiler Granulozyten in Gegenwart einer komplexen Mischung humaner Leukozyten gemessen. Wenn Basophile aktiviert werden, steigern sie an ihrer Oberfläche die Menge an CD63, welches als spezifischer Marker für aktivierte Basophile durchflusszytometrisch bestimmt werden kann. Auf diese Weise wurde in Leukozyten von Gräser- und Birkenpollenallergikern eine Basophilenaktivierung nach Inkubation mit Gräser- bzw. Birkenpollenallergenen gemessen. Eine zusätzliche Zugabe von PM₁₀ aus Klassenzimmern bzw. aus der Außenluft bewirkte keine Steigerung der Zahl aktivierter Basophiler (Abbildung 38). Weder Innenraum-, noch Außenluftfeinstaub zeigte also einen adjuvanten Effekt auf eine allergeninduzierte Basophilenaktivierung.

Wurden allerdings Leukozyten von Katzenallergikern in das Testsystem eingesetzt, führte eine Inkubation mit Innenraum-PM₁₀ alleine zu einer signifikanten Aktivierung basophiler Granulozyten (Abbildung 39). Eine Inkubation mit Außenluft-PM₁₀ wirkte sich dagegen nicht auf den Aktivierungsstatus dieser Zellen aus. Anhand der Leukozyten einer auf das Katzenallergen monosensibilisierten Probandin (Nr. 11; Tabelle 2) wurden nun alle 18 Staubproben hinsichtlich ihrer Fähigkeit zur Katzenallergen-spezifischen Basophilenaktivierung überprüft. Eine deutliche Aktivierung wurde auch hier wiederum nur durch Innenraumstaubproben hervorgerufen (Abbildung 40). Die Proben, die zu den höchsten Aktivierungswerten führten, waren jene, in denen das Katzenallergen Fel d 1 nachgewiesen wurde. Die Aktivierung basophiler Granulozyten durch Innenraum-PM₁₀ ist also auf den Fel d 1-Gehalt dieser Staubproben zurückzuführen.

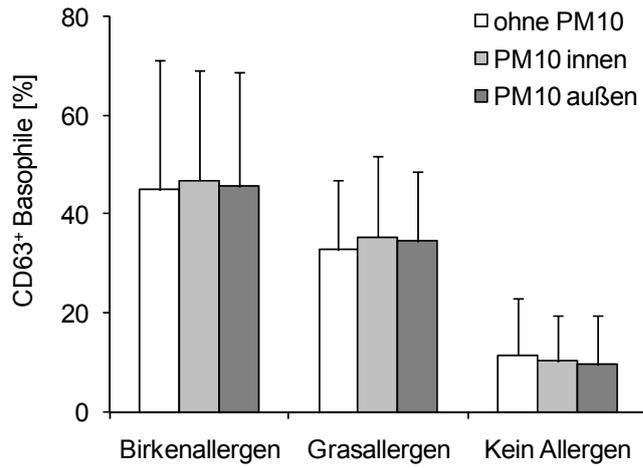


Abbildung 38: Effekt der Innen- und Außenluftstäube auf die allergeninduzierte Basophilenaktivierung; n=4

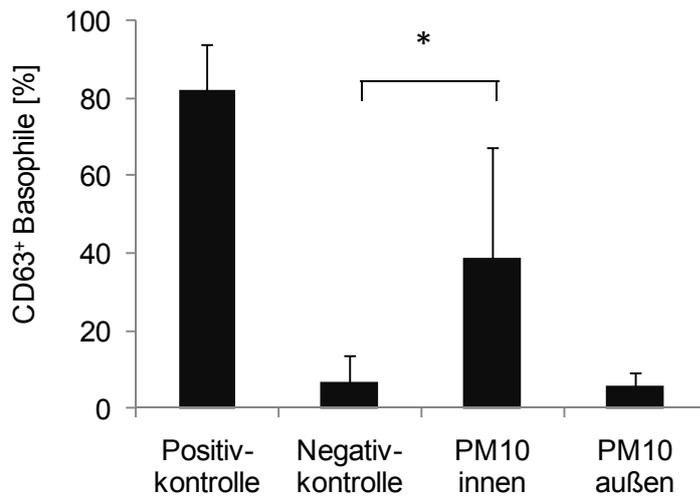


Abbildung 39: Aktivierung basophiler Granulozyten von Katzenallergikern durch Innen- und Außenluftstäube; n=6

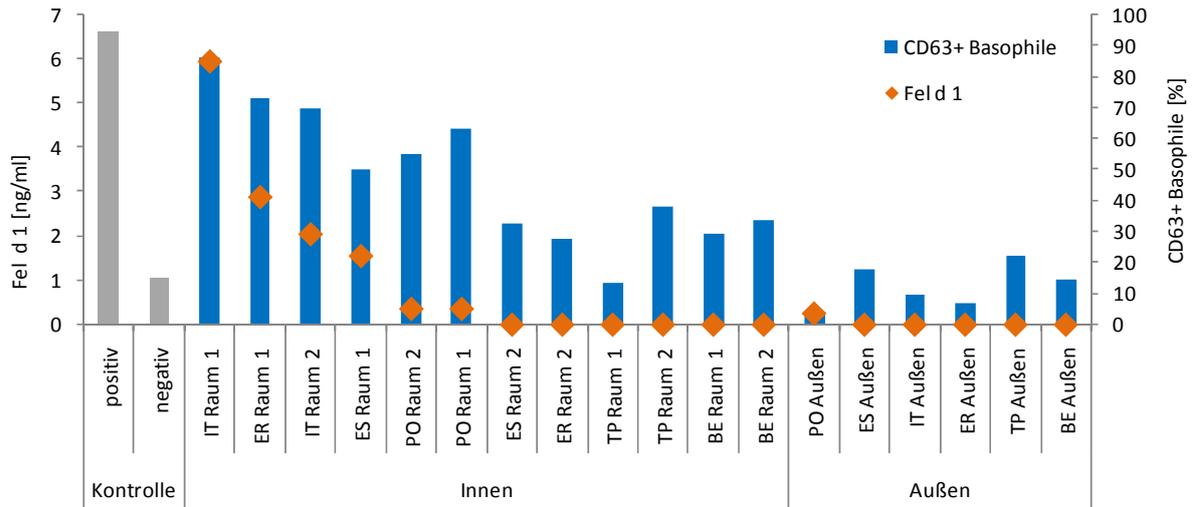


Abbildung 40: Aktivierung basophiler Granulozyten eines auf Katzenallergen monosensibilisierten Spenders und Fel d 1-Gehalt der entsprechenden Innenraum- und Außenluftstäube

6. Diskussion

Die gesundheitlichen Auswirkungen einer Exposition gegenüber Feinstaub werden bereits seit einigen Jahrzehnten erforscht. So ist es heute unumstritten, dass eine Feinstaubexposition sowohl zu einer gesteigerten Mortalität, als auch zu erhöhter Morbidität – insbesondere im Hinblick auf respiratorische und kardiovaskuläre Erkrankungen – führt [3-5]. Auf experimenteller Ebene wurde eine proinflammatorische [28-33] und zytotoxische Wirkung [49-54] verschiedener Staubfraktionen nachgewiesen. Allerdings hängt die Wirkung von Stäuben stark von ihrer Größe, Form und Zusammensetzung ab, so dass diese Faktoren beim Vergleich verschiedener Staubproben berücksichtigt werden müssen.

Besonders hohe Feinstaubkonzentrationen wurden in bayerischen Grundschulklassenzimmern gemessen [63]. Ob diese im Vergleich zur Außenluft deutlich erhöhten Konzentrationen auch ein erhöhtes Gesundheitsrisiko bedeuten, sollte im Rahmen der PAMINA-Studie, innerhalb der diese Arbeit angefertigt wurde, geklärt werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden luftgetragene Stäube von Grundschulklassenzimmern hinsichtlich

1. der Massenkonzentrationen in der Luft,
2. der elementaren Zusammensetzung,
3. des akut zytotoxischen Potentials,
4. der zytotoxischen Wirkung nach metabolischer Aktivierung,
5. der genomweiten Regulation der Genexpression und
6. des allergenen Potentials

mit Stäuben der Außenluft verglichen.

Die durchschnittlichen PM₁₀-Konzentrationen der Klassenzimmer lagen mit 121 µg/m³ in dem Größenordnungsbereich, der bereits in anderen Studien gemessen wurde. Fromme *et al.* fanden beispielsweise bei Beprobungen von 92 Klassenzimmern im Winter eine mittlere PM₁₀-Konzentration von 105 µg/m³ und im Sommer eine Belastung von 72 µg/m³ (75 Klassenzimmer) [63]. Janssen *et al.*

konnten bei der Beprobung von drei Klassenzimmern an jeweils 11 bzw. 15 Tagen eine mittlere PM₁₀-Konzentration von 157 µg/m³ messen [111]. Bei diesen beiden Studien wurde die Beprobung wie in der vorliegenden Arbeit ausschließlich während der Unterrichtszeiten durchgeführt. Dies ist für die Vergleichbarkeit von entscheidender Bedeutung, da die hohen Feinstaubkonzentrationen erst durch die Raumnutzung entstehen. Der wohl bedeutendste Prozess ist dabei die Resuspension von sedimentierten Partikeln [112], die vor allem dann stattfindet, wenn sich viele Menschen auf engem Raum befinden und durch ihre Bewegungen Verwirbelungen der Raumluft verursachen [63]. Diese Voraussetzungen treffen auf Schulen zu, sofern die Beprobungen zu den Unterrichtszeiten vorgenommen werden. In Wohnungen halten sich dagegen meist weniger Menschen in einem Raum auf. Dies erklärt auch, warum in dieser Studie die im Vergleich zur Außenluft stark erhöhten PM₁₀-Konzentrationen nur in Schulen, aber nicht in Wohnung gefunden wurden (Außen: 22,0 ± 14,1 µg/m³, Schulen: 120,8 ± 43,9 µg/m³, Wohnungen: 16,9 ± 8,7 µg/m³). Neben der Resuspension kann in Innenräumen auch die Partikelgenerierung durch Verbrennungsprozesse einen Beitrag zu hohen Feinstaubbelastungen leisten [61]. Im Hinblick auf Wohnungen ist daher entscheidend, ob es sich um Raucher- oder Nichtraucherhaushalte handelt. In den in dieser Studie untersuchten Wohnungen wurde nicht geraucht, wodurch es hier zu keinem bedeutenden Anstieg der Feinstaubkonzentrationen gegenüber denen der Außenluft kam. In anderen Studien wurden in Raucherwohnungen deutlich höhere Werte gemessen als in Nichtraucherwohnungen [61]. Ein weiterer Faktor, der zu hohen Konzentrationen führen kann, ist das Lüftungsverhalten. Insbesondere in den Wintermonaten wird oftmals wegen der geringen Außentemperaturen weniger gelüftet. Damit findet ein geringerer Luftaustausch statt und die resuspendierten Partikel werden in der Raumluft zurückgehalten. In der Studie von Fromme *et al.* war der lüftungsbedingte Unterschied zwischen den Feinstaubkonzentrationen im Winter und im Sommer signifikant [63]. In der vorliegenden Arbeit waren die Konzentrationen in den Schulen, die im Winter beprobt wurden (GE, PO, ER, TP) mit 156,4 ± 13,2 µg/m³ im Durchschnitt mehr als doppelt so hoch wie die der im Sommer bzw. Herbst beprobten Schulen (ES, IT, BE; 73,4 ± 6,5 µg/m³; p<0,001), so dass auch hier von einem reduzierten Lüftungsverhalten in der kalten Jahreszeit ausgegangen werden kann. In jedem Klassenzimmer wurden hier unabhängig von der Jahreszeit PM₁₀-Konzentrationen gemessen, die deutlich über dem Jahresgrenzwert von 40 µg/m³

liegen, der in der EU für die Außenluft gilt. Der Richtwert von $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$, den die WHO auch für Innenräume empfiehlt [57], ist mit durchschnittlich $121 \mu\text{g}/\text{m}^3$ mehr als 6-fach überschritten.

Da durch Resuspension überwiegend gröbere Partikel aufgewirbelt werden [112], kommt es zu einer Verschiebung der Größenverteilung und einer Veränderung der Zusammensetzung der Feinstäube im Vergleich zu den Feinstäuben der Außenluft. Auch in dieser Studie besitzen die Innenraumpartikel einen signifikant um $0,3 \mu\text{m}$ größeren Durchmesser als die Außenluftpartikel (Median: innen (i): $1,2 \mu\text{m}$ / außen (a): $0,9 \mu\text{m}$). Hierbei ist zu berücksichtigen, dass mit abnehmendem Durchmesser die Partikelzahl anstieg, dass aber Partikel mit einem Durchmesser von kleiner als $0,66 \mu\text{m}$ aus technischen Gründen in unserer Studie nicht gemessen werden konnten, so dass der Größenunterschied hier wohl leicht überschätzt wird. Der erhöhte Durchmesser der Innenraumpartikel führt dazu, dass die Zahlenkonzentration der Partikel im Innenraum nicht in dem Maß erhöht ist wie ihre Massenkonzentration. In der aktuellen Partikelforschung wird diskutiert, ob es nicht sinnvoller wäre eine Partikeldosis als Partikelzahl oder -oberfläche und nicht als Partikelmasse anzugeben, da man davon ausgeht, dass die gesundheitsschädigende Wirkung von Feinstäuben eher mit der Anzahl bzw. Oberfläche als mit der Masse der Partikel zusammenhängt [113-115]. Somit muss eine erhöhte Massenkonzentration an PM_{10} in den Klassenzimmern nicht automatisch ein gesteigertes Gesundheitsrisiko bedeuten.

Ein weitaus größerer Unterschied als bei der Größenverteilung wurde bei der mittels EDX-Analyse bestimmten elementaren Zusammensetzung der Einzelpartikel aus Innenraum- und Außenluft gefunden. So zeigte sich in der Einzelelementanalyse, dass die Stäube der Klassenzimmer einen im Vergleich höheren Gehalt an Silizium (i: 10,4%, a: 4,5%, $p < 0,01$), die Stäube der Außenluft dagegen einen deutlich höheren Anteil an Schwefel (i: 3,4%, a: 11,7%, $p < 0,01$) haben. Wenn man nun mit einberechnet, dass die durchschnittliche PM_{10} -Konzentration in den Klassenzimmern 5,5-fach über der der Außenluft lag, so war Silizium das in der Innenraumluft am stärksten angereicherte Element. Diese Ergebnisse stimmen mit der Studie von Janssen et al. überein, in der für Schwefel eines der niedrigsten und für Silizium eines der höchsten Innen/Außen-Verhältnisse gefunden wurde [116]. Neben der Einzelelementanalyse wurde eine Klassifizierung der einzelnen Partikel in

verschiedene Partikeltypen vorgenommen. Durch die Analyse einzelner Partikel war es möglich, nicht nur die in einer Feinstaubprobe enthaltenen Elemente zu analysieren, sondern auch zu bestimmen, aus welchen anorganischen Verbindungen der einzelnen Partikel bestehen. Diese Methodik ermöglichte zwar nicht die Bestimmung von Massenkonzentrationen von chemischen Verbindungen der Innenraum- und Außenluft, dafür aber eine detaillierte Analyse der relativen Zusammensetzung der verschiedenen Staubproben. So konnte ermittelt werden, dass es sich bei den Partikeln, die in den Klassenzimmern angereichert sind, hauptsächlich um Silikate (i: 36%, a: 14%, $p < 0,001$), organische Partikel (i: 29%, a: 21%, $p < 0,05$) und Ca-Carbonate (i: 12%, a: 4%, $p < 0,05$) handelt. Als Bestandteile der Erdkruste sind die Silikate und Ca-Carbonate höchstwahrscheinlich von Außen in die Klassenzimmer eingetragen und dort resuspendiert worden. Eine Innenraumquelle für Ca-Carbonat könnte die Verwendung von Papier darstellen. In der Papierherstellung findet präzipitiertes Ca-Carbonate als Füllstoff zur Senkung der Herstellungskosten und des Gewichtes von Papier Verwendung [117]. Die dabei eingesetzten Ca-Carbonat-Partikel haben einen Durchmesser von etwa 1 bis 2 μm , der mit dem der hier gemessenen Ca-Carbonat-Partikel (durchschnittlich 1,9 μm ; Daten hier nicht gezeigt) übereinstimmt. Die Anreicherung von organischen Partikeln in den Klassenzimmern könnte teilweise auf den Abrieb von Hautschuppen der Schulkinder zurückzuführen sein. Diese Partikel ähneln in ihrer Morphologie und Zusammensetzung sehr stark denen von experimentell gewonnenen menschlichen Hautschuppen (hier nicht gezeigt). Zudem wurden Hautschuppen bereits in der Literatur als Quelle von Staubpartikeln in Grundschulklassenzimmern beschrieben [118]. Im Gegensatz dazu enthielten die Staubproben der Außenluft einen deutlich höheren Anteil an Ca-Sulfat (i: 4%, a: 38%, $p < 0,01$). Dies steht im Einklang mit anderen Untersuchungen, die ebenfalls Sulfate als Hauptbestandteil von Feinstäuben der Außenluft ermittelten [119, 120]. Der in diesen Studien gemessene Anteil der Sulfate an der Masse des Feinstaubes ist nicht so hoch wie der in der vorliegenden Arbeit bestimmte Anteil an der Partikelzahl. Dies könnte damit zusammenhängen, dass die Ca-Sulfat-Partikel im Verhältnis zu den anderen hier gefundenen Partikeltypen einen relativ kleinen Durchmesser besitzen und somit an der Masse der Feinstaubproben einen geringeren Anteil haben. Auch Silanpää *et al.* fanden mehr Sulfate bei $\text{PM}_{2,5}$ als bei PM_{10} und damit vermehrt bei den kleineren Partikeln [120].

Nicht nur die Zusammensetzung der Innen- und Außenluftstäube war unterschiedlich, sondern auch ihre biologische Wirkung. Eine zytotoxische Wirkung von Außenluftstäuben konnte in den getesteten Konzentrationen von maximal 10 µg/ml weder direkt noch nach metabolischer Aktivierung festgestellt werden. Die Innenraumstäube der Klassenzimmer zeigten dagegen auf humane primäre Keratinozyten und nach metabolischer Aktivierung durch CYP2B6, CYP3A4 und teilweise durch CYP1A1 auch auf V79-Zellen eine zytotoxische Wirkung. Auch Long *et al.* schätzen die Toxizität von Innenraumpartikeln als mindestens so hoch wie die von Außenluftpartikeln ein [70]. In ihren Untersuchungen fanden sie in Alveolarmakrophagen (AM) eine höhere durch *tumor necrosis factor* (TNF) vermittelte Zytotoxizität nach Exposition gegenüber PM_{2.5} aus Innenräumen als gegenüber PM_{2.5} aus der Außenluft [70, 121]. Monn und Becker fanden dagegen signifikante zytotoxische und proinflammatorische Effekte ausschließlich bei Exposition gegenüber groben Außenluftstäuben (PM_{10-2.5}) [69]. Sie untersuchten an humanen Monozyten die proinflammatorische Wirkung (IL-6- und IL-8-Freisetzung) und zytotoxische Potential (Hämazytometer) von groben (PM_{10-2.5}) und feinen (PM_{2.5}) Feinstäuben aus Innenräumen und aus der Außenluft. Die Zytotoxizität ließ sich dabei auf Übergangsmetalle, die inflammatorische Wirkung auf Endotoxine zurückführen [69]. Diese Inkonsistenz in der Bewertung von Innenraum- und Außenluftpartikeln spiegelt die hohe Variabilität von Feinstaubproben wider und deutet darauf hin, dass für das Verständnis der verschiedenen gesundheitlichen Auswirkungen von Umweltpartikeln eine umfassende Charakterisierung der Feinstaubproben notwendig ist. In unseren Untersuchungen waren unter anderem organische Partikel mit einem hohen Gehalt an Kohlenstoff in den Klassenzimmern angereichert. Zhang *et al.* kamen in einer Studie zu dem Schluss, dass dieser Partikeltyp neben Eisenpartikeln stark zu der Feinstaub-assoziierten Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) beiträgt [122]. Tatsächlich ließ sich auch in unseren Untersuchungen die durch Innenraumpartikel verursachte CYP2B6-vermittelte Zytotoxizität auf die Generierung reaktiver Sauerstoffspezies zurückführen. Der ROS-scavenger N-Acetylcystein (NAC) war hier in der Lage, die zytotoxische Wirkung aufzuheben. CYP2B6 selbst kann bei der Umsetzung organischer Verbindungen eine physiologisch relevante Quelle für ROS sein. So können im katalytischen Zyklus von CYPs bei der für die Reduzierung des zentralen Häm-Eisens benötigten Übertragung von Elektronen auf das aktivierte gebundene

Sauerstoffmolekül Superoxid, Wasserstoffperoxid und Hydroxylradikale gebildet werden [101]. Auf diese Weise können während der Umsetzung organischer Feinstaubbestandteile ROS gebildet werden und zur Toxizität von Feinstäuben aus Klassenzimmern beitragen. Dass in unseren Untersuchungen für Außenluftstäube keine Toxizität gefunden wurde könnte mit dem hohen Sulfatgehalt unserer Außenluftproben zusammenhängen. Für Sulfate in Feinstäuben fand sich bisher keine Korrelation mit Lungentoxizität [119] oder Arztbesuchen im Zusammenhang mit kardiovaskulären und respiratorischen Erkrankungen [123]. Die Feinstaubproben der Klassenzimmer wiesen also eine deutlich größere zytotoxische Wirkung auf als die der Außenluft, was sich teilweise auf die unterschiedliche Zusammensetzung der Partikelproben zurückführen ließ.

Für eine Analyse weiterer toxischer Wirkungen von Feinstäuben eignet sich besonders gut eine Kombination aus in-vitro-Zellkultursystemen und der Microarray-Technologie [124]. Diese Methodik kann dabei helfen, die durch Feinstaub beeinflussten physiologischen Mechanismen zu identifizieren und Zusammenhänge zwischen Partikelgröße bzw. Feinstaubbestandteilen und schädigenden Wirkungen zu ermitteln. In unserer Untersuchung konnten wir auf diese Weise feststellen, dass Feinstäube aus Grundschulclassenzimmern genomweit hauptsächlich solche Gene induzierten, die bei einer inflammatorischen Immunantwort auf einen externen Stimulus eine Rolle spielen. Darunter fallen einige proinflammatorische Zytokine und Chemokine, die eine interzelluläre Signalgebung und Chemotaxis bewirken. Diese Art der proinflammatorischen Reaktion auf eine Feinstaubexposition wurde bereits in einigen Studien gefunden [125-129]. Allerdings ist bisher nur eine Untersuchung bekannt, die die inflammatorische Wirkung von Innenraum- und Außenluftstäuben direkt vergleicht. In den bereits erwähnten Untersuchungen von Monn und Becker wurde für Außenstäube ein höheres inflammatorisches Potential gefunden als für Innenraumstäube [69]. Dies widerspricht zunächst einmal unseren Daten, in denen die Innenraumstäube eine deutlich größere inflammatorische Wirkung aufweisen. Die beiden Studien lassen sich dennoch in Einklang bringen, wenn berücksichtigt wird, dass sich in beiden Fällen die inflammatorische Wirkung zumindest teilweise auf Endotoxine zurückführen ließ, die in unseren Innenraumstaubproben erhöht waren.

Neben der Vielzahl an inflammatorischen Genen waren auch einige Enzyme des Fremdstoffmetabolismus induziert, die zur Dehydrogenierung von Aldehyden

(ALDH1A3), Reduktion von Quinonen (NQO1) und Monooxygenierung einer großen Zahl hydrophober Substanzen (CYP1A1, CYP1B1) und damit zur Detoxifizierung dieser Substanzen oder aber auch zu ihrer Aktivierung zu reaktiven Metaboliten beitragen. Ebenfalls durch Fremdstoffe induziert wird die poly(ADP-Ribose)-Polymerase TIPARP. Nach Induktion durch TCDD (Dioxin) ist TIPARP in der Lage, Proteinfunktionen durch Ribosylierung zu modulieren [106]. Die Genexpression sowohl von CYP1A1 und CYP1B1, als auch von ALDH1A3, NQO1 und TIPARP ist durch den Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor (AhR) reguliert [106, 130]. Es handelt sich also bei der deutlichen Induktion von CYP1A1 nicht um einen zufälligen Einzelbefund, sondern um ein Ergebnis, das aufgrund der Regulation über einen gemeinsamen Rezeptor sehr gut mit den Expressionswerten der anderen hier untersuchten Enzyme des Fremdstoffmetabolismus zusammenpasst und das darauf hindeutet, dass die PM₁₀-Proben Verbindungen enthalten, die vom AhR gebunden werden. Als Liganden für den AhR sind vor allem hydrophobe Umweltschadstoffe, wie halogenierte aromatische Kohlenwasserstoffe (HAHs) und nicht halogenierte polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAHs) bekannt [131]. Eine Induktion des CYP1A1 wurde bereits in vielen Untersuchungen von Dieselrußpartikel bzw. organische PM-Bestandteile auf diese Verbindungen zurückgeführt [127, 132-134]. Auch in der vorliegenden Arbeit wurde eine Abhängigkeit der CYP1A1-Induktion vom Gehalt der Feinstaubproben an einigen PAHs und damit mit der Beladung der Partikel mit organischen Verbindungen festgestellt. Die Konzentration der nachweisbaren PAHs war in den Außenluftproben 2,01 mal so hoch und die CYP1A1-Induktion durch Außenluftfeinstäube 1,78-fach höher als die der Staubproben der Klassenzimmer und in der Korellationsanalyse wurde im Vergleich mit den anderen durch PM₁₀ induzierten Genen für CYP1A1 die mit Abstand beste Korellation mit dem PAH-Gehalt erhalten. Eine weitere Gruppe induzierter Gene trägt zu Umbauprozessen im Gewebe bei. Die Peptidase MMP1 verursacht beispielsweise den Abbau extrazellulärer Matrix und ist mit der Pathogenese der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) assoziiert [107]. Eine erhöhte Expression von GREM1 kann eine pulmonale Fibrose induzieren [108]. Das zur Interleukin-10-Familie gehörende IL24 beeinflusst die Wundheilung [109]. Und der Serpin-Peptidase-Inhibitor B3 (SERPINB3) kann neben seiner inflammatorischen Rolle eine Barrierestörung hervorrufen [110]. Neben diesen Stoffwechselwegen, die durch mehrere Gene vertreten waren, fanden sich bei den induzierten Genen auch

einzelne Vertreter anderer Funktionen im Organismus. So ist das Risiko einer Blutgerinnung durch die starke Induktion von SERPINB2 deutlich erhöht [127] und die Induktion der SOD2 deutet darauf hin, dass die Zellen unter oxidativem Stress stehen. Beide Gene waren wiederum verstärkt durch die Stäube der Klassenzimmer induziert. Wie schon in den Untersuchungen der Zytotoxizität ließen sich also auch einige Ergebnisse der Genexpressionsanalyse auf die Zusammensetzung der Feinstaubproben zurückführen. So spielte für die Induktion von proinflammatorischen Genen der Endotoxingehalt und für die Induktion von Genen des Fremdstoffmetabolismus der PAH-Gehalt eine entscheidende Rolle.

Luftschadstoffe beeinflussen im Hinblick auf Funktionsstörungen der Atemwege insbesondere allergische Atemwegserkrankungen [135]. Daher wurde in dieser Arbeit der Einfluss der Innenraum- und Außenluftstäube auf die Auslösephase allergischer Reaktionen gemessen. In früheren Studien wurde bereits gezeigt, dass organische Extrakte von Aerosolpartikeln IgE-vermittelte allergische Erkrankungen beeinflussen können, indem sie die Allergen-induzierte Aktivierung humaner basophiler Granulozyten verstärken [55]. Ein solcher adjuvanter Effekt konnte allerdings weder bei Inkubation mit Innenraum- noch bei der mit Außenluftstäuben festgestellt werden. Das Fehlen dieses Effektes könnte sich damit erklären lassen, dass hier die Partikel in wässriger Suspension eingesetzt wurden, wohingegen Schober *et al.* organische Extrakte mit wesentlich höheren Konzentrationen organischer Verbindungen einsetzten.

Einige Staubproben aus Klassenzimmern zeigten allerdings bereits ohne Zugabe eines Allergens eine aktivierende Wirkung auf Basophile. Dieser Effekt war am stärksten bei den Proben, in denen mittels ELISA das Katzenallergen Fel d 1 nachgewiesen wurden und ausschließlich unter Verwendung von Leukozyten aus Katzenallergikern. Der Basophilenaktivierungstest kann unter diesen Umständen also als *bioassay* für Fel d 1 dienen. In anderen Studien wurde Fel d 1 in sedimentierten Partikeln in Klassenzimmern nachgewiesen [136, 137]. Wir fanden nun Fel d 1 in luftgetragenen Partikeln aus Klassenzimmern, welches in der Lage war humane basophile Granulozyten zu aktivieren und somit in Kindern, die auf das Katzenallergen sensibilisiert sind, zu allergische Reaktionen führen könnte.

Vergleicht man die Wirkung der Stäube der verschiedenen Schulen miteinander, so stechen die Proben der Schulen PO und ER über die meisten hier angewendeten

Testsysteme hinweg hervor. Sowohl die die zytotoxische Wirkung (direkt und CYP2B6-vermittelt), als auch das genregulatorische Potential und darunter auch die inflammatorische und Fremdstoffmetabolismus-aktivierende Wirkung sind durch die Stäube dieser zwei Schulen im Vergleich zu den Proben der anderen Schulen erhöht. PM₁₀ dieser beiden Schulen ist also möglicherweise schädlicher und kommt darüber hinaus auch in höheren Konzentrationen vor als in den anderen Schulen. Eine mögliche Erklärung dafür könnte sein, dass die Schule ER in München innerhalb des mittleren Rings in einer Region mit hohem Verkehrsaufkommen liegt und dass beide Schulen in der kalten Jahreszeit beprobt wurden, in der sich wegen erhöhten Heizens mehr Schadstoffe in der Luft befinden. So ließ sich auch in den Stäuben dieser beiden Schulen die höchste Konzentrationen an PAHs messen. Es wäre also möglich, dass sich die Jahreszeit nicht nur auf die Konzentrationen, sondern auch auf das gesundheitsgefährdende Potential von Feinstäuben auswirkt.

Die in dieser Studie eingesetzten PM₁₀-Konzentrationen betragen maximal 10 µg/ml bzw. 6 µg/cm² und damit weit unterhalb der üblichen Konzentrationen, die in anderen in-vitro-Studien eingesetzt wurden, von ca. 50 bis 300 µg/ml [12, 28, 33, 138, 139]. Signifikante Effekte wurden in diesen Untersuchungen erst ab mindestens 50 µg/ml gefunden [138]. Der Einsatz der niedrigen PM₁₀-Konzentration in dieser Arbeit führte dazu, dass die Effekte, wenn auch gut reproduzierbar, nur relativ gering ausgeprägt waren. Allerdings spiegelt diese Art der Untersuchung die tatsächliche Expositionssituation besser wieder.

Von den in dieser Studie auf zellulärer Ebene gefundenen Effekten kann nicht direkt auf ein Risiko für die Gesundheit der Schüler rückgeschlossen werden. Allerdings kann durch den Vergleich der Innenraumstäube mit denen der Außenluft eine relative Bewertung dieser beiden Probengruppen vorgenommen werden. In diesem Sinne kann festgestellt werden, dass die Staubproben der Klassenzimmer eine veränderte elementare Zusammensetzung, eine größere zytotoxische Wirkung, ein größeres inflammatorisches Potential ein höheres Risiko für die Blutgerinnung und eine größere allergene Wirkung haben und dabei in durchschnittlich 5,5-fach höherer Konzentration vorliegen als die jeweiligen Stäube der Außenluft (Tabelle 9). Der einzige Effekt, der stärker durch Außenluftstäube ausgelöst wurde, war die Induktion von CYP1A1, der sich allerdings stark relativiert, wenn die

Konzentrationsunterschiede an PM₁₀ in und außerhalb der Klassenzimmer mit berücksichtigt werden.

Alles in Allem scheint also PM₁₀ aus Klassenzimmern für die Schüler ein relativ höheres Potential zur Gesundheitsschädigung zu haben als PM₁₀ der Außenluft. Ob dies allerdings auch zu einem konkret erhöhten Risiko für die Gesundheit von Schülern und Lehrern führt, sollte mittels Untersuchungen an den Schülern bzw. Lehrern selbst ermittelt werden. Um im vornherein ein mögliches Gesundheitsrisiko zu vermeiden, wird empfohlen, die PM₁₀-Belastung in Klassenzimmer durch verstärktes Lüften und verbesserte Reinigung zu senken. Insbesondere eine bessere Reinigung der Schulräume hatte sich in einer Pilotstudie [112] bereits als wirksam erwiesen.

Tabelle 9: Zusammenfassender Vergleich von PM₁₀ der Klassenzimmer und der Außenluft

	PM ₁₀ der Klassenzimmer	PM ₁₀ der Außenluft
Konzentrationen	121 µg/m ³	22 µg/m ³
Zusammensetzung	Mehr silikatische und organische Partikel	Mehr sulfatische Partikel
Zytotoxizität	1. Leichte Zytotoxische Wirkung auf Keratinozyten, 2. Leichte CYP2B6, CYP3A4-vermittelte Zytotoxizität	Keine Zytotoxizität
Genexpression	Proinflammatorische Zytokine	Fremdstoffmetabolismus (insbesondere CYP1A1)
Allergenität	1. Keine adjuvanten Effekte, 2. Fel d 1 in 4 von 12 Klassenzimmern, 3. Basophilenaktivierung	1. Keine adjuvanten Effekte, 2. kein Fel d 1, 3. keine Basophilenaktivierung

7. Zusammenfassung

Feinstäube der Außenluft sind mit einer großen Zahl an Erkrankungen, insbesondere der Atemwege und des Herzkreislaufsystems, assoziiert. Aber nicht nur in der Außenluft, sondern auch in geschlossenen Räumen liegen oft hohe Konzentrationen an Feinstaub vor und obwohl wir uns zu ca. 85% der Zeit in Innenräumen aufhalten und somit der Großteil der Feinstaubexposition in Innenräumen stattfindet, ist die Bedeutung dieser Innenraumpartikel für die Gesundheit noch kaum erforscht.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden nun die Konzentration, die elementare Zusammensetzung und die gesundheitliche Bedeutung von Feinstäuben aus Grundschulklassenzimmern untersucht und mit der Konzentration, Zusammensetzung und Wirkung von Stäuben der Außenluft verglichen. Dazu wurden sieben Grundschulen im Großraum München für jeweils vier Wochen und ausschließlich während der Unterrichtszeiten beprobt.

Die Feinstaubbelastung war in jeder Schule und jedem Klassenzimmer im Vergleich zur Außenluft deutlich erhöht. Sie lag im Durchschnitt bei $121 \mu\text{g}/\text{m}^3$ und damit 5,5-fach über der Konzentration in der Außenluft ($22 \mu\text{g}/\text{m}^3$, $p < 0,001$).

Die Unterschiede in der Zusammensetzung der Innenraum- und Außenluftstäube sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

	Innen	Außen	Signifikanz
Silikate	36%	14%	$p < 0,001$
Organische Partikel	29%	21%	$p < 0,05$
Ca-Carbonate	12%	4%	$p < 0,05$
Ca-Sulfate	4%	38%	$p < 0,01$
PAHs gesamt	8,30 ng/mg	16,66 ng/mg	n.s.
PAHs Winter	11,39 ng/mg	29,21 ng/mg	$p < 0,01$
Endotoxine	128,5 EU/mg	13,4 EU/mg	$p < 0,001$
Fel d 1	1,10 ng/mg	0,04 ng/mg	n.s.

Eine zytotoxische Wirkung wurde in unserem Testsystem ausschließlich durch PM_{10} -Proben der Klassenzimmer festgestellt. Zum einen konnte hier eine direkte zytotoxische Wirkung auf primäre humane Keratinozyten, zum anderen eine durch CYP2B6, CYP3A4 und teilweise durch CYP1A1 vermittelte Zytotoxizität in der

Hamsterlungenfibroblasten-Zelllinie V79 gemessen werden. Außenstäube wirkten in den getesteten Konzentrationen von maximal 10 µg/ml (6 µg/cm³) nicht zytotoxisch. Genomweit wirkte sich eine Exposition gegenüber PM₁₀ auf die Expression von Genen aus, die bei der Inflammation (z.B. CCL20, CXCL1, CXCL2, CXCL3, IL6, IL8) oder im Fremdstoffmetabolismus (z.B. CYP1A1, CYP1B1) eine Rolle spielen. Die inflammatorischen Gene wurden weit stärker durch die Innenraumfeinstäube induziert, was zum Teil auf einen erhöhten Endotoxingehalt dieser Proben zurückgeführt werden konnte. Die Gene des Fremdstoffmetabolismus wurden dagegen stärker durch die Außenluftstäube induziert, wofür insbesondere im Fall von CYP1A1 eine Korrelation mit dem PAH-Gehalt der Stäube ermittelt werden konnte ($r^2=0,75$).

Ein adjuvanter Effekt auf die Gräser- und Birkenpollenallergen-induzierte Basophilenaktivierung wurde weder durch Innenraum-, noch durch Außenluftpartikel gefunden. Allerdings lösten die PM₁₀-Proben der Klassenzimmer, in denen das Katzenallergen Fel d 1 nachgewiesen wurde, eine Aktivierung basophiler Granulozyten von Spendern, die auf Katzenallergen sensibilisiert waren, aus.

Feinstäube aus Grundschulklassenzimmern zeigten somit eine wesentlich veränderte Zusammensetzung, ein höheres zytotoxisches, inflammatorisches und allergenes Potential als Feinstäube der Außenluft. Somit verursachten sie mit Ausnahme der erhöhten PAH-Gehalte und der stärkeren Induktion des Fremdstoffmetabolismus auf der Ebene von in-vitro-Experimenten eine größere Zahl an gesundheitsschädigenden Wirkungen als Feinstäube der Außenluft. Darüberhinaus war die Exposition gegenüber PM₁₀ in den Klassenzimmern 5,5 mal höher als in der umgebenden Außenluft, für die in der Europäischen Union der Grenzwert von 50 µg/m³ gilt. Die hier vorgestellten in-vitro-Experimente legen nahe, dass Feinstäube aus Grundschulklassenzimmern durchaus ein Potential zur Gefährdung der Gesundheit von Schülern und Lehrern besitzen und dass dringender Handlungsbedarf besteht, das daraus resultierende Gesundheitsrisiko für diese Bevölkerungsgruppe zu ermitteln. Um im vornherein ein mögliches Gesundheitsrisiko zu vermeiden, wird empfohlen, die PM₁₀-Belastung in Klassenzimmer durch verstärktes Lüften und verbesserte Reinigung zu senken. Diese Maßnahmen erwiesen sich in einer Pilotstudie [112] bereits als wirksam.

8. Abstract (Zusammenfassung auf Englisch)

Outdoor particulate (PM) matter is associated with a wide range of health effects, especially on the respiratory tract and on the cardiovascular system. Outdoor air, but also indoor air can contain high PM concentrations and as we spend at least 85% of our time indoors, a good portion of the individual exposure to particulate matter takes place indoors. However, the impact of indoor particles on human health has been poorly studied.

We analyzed PM from elementary school classrooms regarding its elemental composition and impact on human health and compared it with the composition and effects of simultaneously sampled outdoor air PM. Samples were taken in seven elementary schools in and around Munich for four weeks each and only during teaching ours.

PM₁₀ concentrations in all classrooms of every school were on average 5.5 fold higher than in the outdoor air (121 µg/m³ vs.22 µg/m³).

The difference in composition between indoor and outdoor PM is given below:

	Indoor	Outdoor	Significance
Silicates	36%	14%	p<0.001
Organic particles	29%	21%	p<0.05
Ca-carbonates	12%	4%	p<0.05
Ca-sulfates	4%	38%	p<0.01
PAHs total	8.30 ng/mg	16.66 ng/mg	n.s.
PAHs winter	11.39 ng/mg	29.21 ng/mg	p<0.01
Endotoxins	128.5 EU/mg	13.4 EU/mg	p<0.001
Fel d 1	1.10 ng/mg	0.04 ng/mg	n.s.

Cytotoxic effects were only found after incubation with classroom PM₁₀. A direct cytotoxic effect on primary human keratinocytes was detected. In addition cytotoxicity after metabolic activation by CYP2B6, CYP3A4, and partly by CYP1A1 in hamster lung fibroblast V79 cells. Outdoor PM₁₀ did not exert any cytotoxicity in all tested concentrations (up to a maximum of 10 µg/ml and 6 µg/cm²).

A genome wide analysis revealed that exposure to PM₁₀ induces an expression of inflammatory genes (e.g. CCL20, CXCL1, CXCL2, CXCL3, IL6, IL8) and enzymes of

the metabolism of xenobiotics (e.g. CYP1A1, CYP1B1). Inflammatory genes were much stronger induced by classroom PM₁₀, which could result from a higher endotoxin content in these samples. Metabolism of xenobiotics was stronger induced by outdoor PM₁₀. Especially the induction of CYP1A1 was correlated with PAH content of PM₁₀ samples ($r^2=0.75$).

An adjuvant effect on grass and birch pollen allergen induced basophil activation was neither found after incubation with indoor nor with outdoor PM₁₀. However, classroom PM₁₀ samples that contained the major cat allergen Fel d 1 caused an activation of basophil granulocytes from donors that were sensitized against cat allergen.

Altogether PM₁₀ of elementary school classrooms had a substantial different elementary composition, a higher cytotoxic, inflammatory, and allergenic potential than outdoor PM₁₀ when tested at equal concentrations. Thus with the exception of PAH content and induction of xenobiotic metabolism classroom PM₁₀ caused more in vitro health effects than outdoor PM₁₀. In addition, real life PM₁₀ exposure in classrooms was 5.5 times higher than in the outdoor air, where it is regulated to a maximum of 50 µg/m³ by European law. These in vitro data suggest that classroom PM₁₀ exhibits a potential health effect in schoolchildren and teachers and that there is a need to determine the resulting health risk for this population group. To avoid such risk, we suggest to reduce the burden of PM₁₀ in classrooms by increased ventilation and cleaning. In a pilot study [112], these actions proved to be successful.

IV. Literaturverzeichnis

1. WHO, *Health Aspects of Air Pollution with Particulate Matter, Ozone and Nitrogen Dioxide; Report on a WHO Working Group*. 2003.
2. Brunekreef, B. and S.T. Holgate, *Air pollution and health*. Lancet, 2002. 360(9341): p. 1233-42.
3. Englert, N., *Fine particles and human health--a review of epidemiological studies*. Toxicol Lett, 2004. 149(1-3): p. 235-42.
4. Englert, N., *[Effects of fine particular matter pollution on mortality and life expectancy]*. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz, 2007. 50(1): p. 112-8.
5. Valberg, P.A., *Is PM more toxic than the sum of its parts? Risk-assessment toxicity factors vs. PM-mortality "effect functions"*. Inhal Toxicol, 2004. 16 Suppl 1: p. 19-29.
6. Ezzati, M., et al., *Selected major risk factors and global and regional burden of disease*. Lancet, 2002. 360(9343): p. 1347-60.
7. WHO, *World Health Report 2002*. World Health Organization, 2002.
8. Morgenstern, V., et al., *Atopic diseases, allergic sensitization, and exposure to traffic-related air pollution in children*. Am J Respir Crit Care Med, 2008. 177(12): p. 1331-7.
9. Mattenklott, M. and N. Höfert, *Stäube an Arbeitsplätzen und in der Umwelt - Vergleich der Begriffsbestimmungen*. Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft, 2009. 69(4): p. 127-129.
10. *Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit*. Available from: http://www.lgl.bayern.de/gesundheit/umweltmedizin/doc/feinstaub_begriffe.pdf.
11. Umweltbundesamt. *Feinstaubbelastung in Deutschland*. 2009; Available from: <http://www.umweltdaten.de/publikationen/fpdf-l/3565.pdf>.
12. Dagher, Z., et al., *Activation of different pathways of apoptosis by air pollution particulate matter (PM2.5) in human epithelial lung cells (L132) in culture*. Toxicology, 2006. 225(1): p. 12-24.
13. de Kok, T.M., et al., *Toxicological assessment of ambient and traffic-related particulate matter: a review of recent studies*. Mutat Res, 2006. 613(2-3): p. 103-22.
14. Katsouyanni, K., et al., *Confounding and effect modification in the short-term effects of ambient particles on total mortality: results from 29 European cities within the APHEA2 project*. Epidemiology, 2001. 12(5): p. 521-31.

15. Atkinson, R.W., et al., *Acute effects of particulate air pollution on respiratory admissions: results from APHEA 2 project. Air Pollution and Health: a European Approach.* Am J Respir Crit Care Med, 2001. 164(10 Pt 1): p. 1860-6.
16. Peters, A., et al., *Increased plasma viscosity during an air pollution episode: a link to mortality?* Lancet, 1997. 349(9065): p. 1582-7.
17. Peters, A., et al., *Particulate air pollution is associated with an acute phase response in men; results from the MONICA-Augsburg Study.* Eur Heart J, 2001. 22(14): p. 1198-204.
18. Peters, A., et al., *Increases in heart rate during an air pollution episode.* Am J Epidemiol, 1999. 150(10): p. 1094-8.
19. Peters, A., et al., *Air pollution and incidence of cardiac arrhythmia.* Epidemiology, 2000. 11(1): p. 11-7.
20. Peters, A., et al., *Increased particulate air pollution and the triggering of myocardial infarction.* Circulation, 2001. 103(23): p. 2810-5.
21. Ackermann-Lieblich, U., et al., *Lung function and long term exposure to air pollutants in Switzerland. Study on Air Pollution and Lung Diseases in Adults (SAPALDIA) Team.* Am J Respir Crit Care Med, 1997. 155(1): p. 122-9.
22. Zemp, E., et al., *Long-term ambient air pollution and respiratory symptoms in adults (SAPALDIA study). The SAPALDIA Team.* Am J Respir Crit Care Med, 1999. 159(4 Pt 1): p. 1257-66.
23. Braun-Fahrlander, C., et al., *Respiratory health and long-term exposure to air pollutants in Swiss schoolchildren. SCARPOL Team. Swiss Study on Childhood Allergy and Respiratory Symptoms with Respect to Air Pollution, Climate and Pollen.* Am J Respir Crit Care Med, 1997. 155(3): p. 1042-9.
24. Finkelstein, M.M., M. Jerrett, and M.R. Sears, *Traffic air pollution and mortality rate advancement periods.* Am J Epidemiol, 2004. 160(2): p. 173-7.
25. Finkelstein, M.M., M. Jerrett, and M.R. Sears, *Environmental inequality and circulatory disease mortality gradients.* J Epidemiol Community Health, 2005. 59(6): p. 481-7.
26. Slama, R., et al., *Traffic-related atmospheric pollutants levels during pregnancy and offspring's term birth weight: a study relying on a land-use regression exposure model.* Environ Health Perspect, 2007. 115(9): p. 1283-92.
27. Gilliland, F.D., *Outdoor air pollution, genetic susceptibility, and asthma management: opportunities for intervention to reduce the burden of asthma.* Pediatrics, 2009. 123 Suppl 3: p. S168-73.
28. Becker, S., J.M. Soukup, and J.E. Gallagher, *Differential particulate air pollution induced oxidant stress in human granulocytes, monocytes and alveolar macrophages.* Toxicol In Vitro, 2002. 16(3): p. 209-18.

29. Spurny, K.R., *On the physics, chemistry and toxicology of ultrafine anthropogenic, atmospheric aerosols (UAAA): new advances*. Toxicol Lett, 1998. 96-97: p. 253-61.
30. Rahman, I. and W. MacNee, *Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation*. Eur Respir J, 2000. 16(3): p. 534-54.
31. Shukla, A., et al., *Inhaled particulate matter causes expression of nuclear factor (NF)-kappaB-related genes and oxidant-dependent NF-kappaB activation in vitro*. Am J Respir Cell Mol Biol, 2000. 23(2): p. 182-7.
32. Ghio, A.J., et al., *Biologic effects of oil fly ash*. Environ Health Perspect, 2002. 110 Suppl 1: p. 89-94.
33. Osornio-Vargas, A.R., et al., *Proinflammatory and cytotoxic effects of Mexico City air pollution particulate matter in vitro are dependent on particle size and composition*. Environ Health Perspect, 2003. 111(10): p. 1289-93.
34. Driscoll, K.E., *TNFalpha and MIP-2: role in particle-induced inflammation and regulation by oxidative stress*. Toxicol Lett, 2000. 112-113: p. 177-83.
35. Schins, R.P.F., et al., *Cytotoxic and Inflammatory Effects of Coarse and Fine Particulate Matter in Macrophages and Epithelial Cells*. Ann Occup Hyg, 2002. 46(suppl_1): p. 203-206.
36. Pozzi, R., et al., *Inflammatory mediators induced by coarse (PM_{2.5-10}) and fine (PM_{2.5}) urban air particles in RAW 264.7 cells*. Toxicology, 2003. 183(1-3): p. 243-54.
37. Tao, F., B. Gonzalez-Flecha, and L. Kobzik, *Reactive oxygen species in pulmonary inflammation by ambient particulates*. Free Radic Biol Med, 2003. 35(4): p. 327-40.
38. Jimenez, L.A., et al., *PM(10)-exposed macrophages stimulate a proinflammatory response in lung epithelial cells via TNF-alpha*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2002. 282(2): p. L237-48.
39. Fujii, T., et al., *Particulate matter induces cytokine expression in human bronchial epithelial cells*. Am J Respir Cell Mol Biol, 2001. 25(3): p. 265-71.
40. van Eeden, S.F., et al., *Cytokines involved in the systemic inflammatory response induced by exposure to particulate matter air pollutants (PM(10))*. Am J Respir Crit Care Med, 2001. 164(5): p. 826-30.
41. Hetland, R.B., et al., *Release of inflammatory cytokines, cell toxicity and apoptosis in epithelial lung cells after exposure to ambient air particles of different size fractions*. Toxicol In Vitro, 2004. 18(2): p. 203-12.
42. Li, N., et al., *Use of a stratified oxidative stress model to study the biological effects of ambient concentrated and diesel exhaust particulate matter*. Inhal Toxicol, 2002. 14(5): p. 459-86.

43. Brown, R.K., et al., *Pulmonary dysfunction in cystic fibrosis is associated with oxidative stress*. Eur Respir J, 1996. 9(2): p. 334-9.
44. Heunks, L.M. and P.N. Dekhuijzen, *Respiratory muscle function and free radicals: from cell to COPD*. Thorax, 2000. 55(8): p. 704-16.
45. Kato, M., et al., *Ability of polymorphonuclear leukocytes to generate active oxygen species in children with bronchial asthma. Use of chemiluminescence probes with a Cypridina luciferin analog and luminol*. Int Arch Allergy Appl Immunol, 1991. 95(1): p. 17-22.
46. Fubini, B. and A. Hubbard, *Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) generation by silica in inflammation and fibrosis*. Free Radic Biol Med, 2003. 34(12): p. 1507-16.
47. Dellinger, B., et al., *Role of free radicals in the toxicity of airborne fine particulate matter*. Chem Res Toxicol, 2001. 14(10): p. 1371-7.
48. Valavanidis, A., et al., *Electron paramagnetic resonance study of the generation of reactive oxygen species catalysed by transition metals and quinoid redox cycling by inhalable ambient particulate matter*. Redox Rep, 2005. 10(1): p. 37-51.
49. de Kok, T.M., et al., *Genotoxicity and physicochemical characteristics of traffic-related ambient particulate matter*. Environ Mol Mutagen, 2005. 46(2): p. 71-80.
50. Hsiao, W.L., et al., *Cytotoxicity of PM(2.5) and PM(2.5--10) ambient air pollutants assessed by the MTT and the Comet assays*. Mutat Res, 2000. 471(1-2): p. 45-55.
51. Tong, Y., et al., *Study of the toxicological mechanism of acidified aerosols*. Biol Trace Elem Res, 2002. 85(2): p. 149-56.
52. Massolo, L., et al., *Assessment of mutagenicity and toxicity of different-size fractions of air particulates from La Plata, Argentina, and Leipzig, Germany*. Environ Toxicol, 2002. 17(3): p. 219-31.
53. Muller, A., et al., *Assessment of toxicity and mutagenicity in air particulate matter from an urban industrial area in the coast of the Rio de la Plata*. Environ Toxicol, 2001. 16(2): p. 151-7.
54. Binkova, B., et al., *Biological activities of organic compounds adsorbed onto ambient air particles: comparison between the cities of Teplice and Prague during the summer and winter seasons 2000-2001*. Mutat Res, 2003. 525(1-2): p. 43-59.
55. Schober, W., et al., *Organic extracts of urban aerosol (< or =PM2.5) enhance rBet v 1-induced upregulation of CD63 in basophils from birch pollen-allergic individuals*. Toxicol Sci, 2006. 90(2): p. 377-84.

-
56. Schober, W., et al., *Environmental polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) enhance allergic inflammation by acting on human basophils*. Inhal Toxicol, 2007. 19 Suppl 1: p. 151-6.
 57. WHO, *WHO Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide, Global update 2005*. World Health Organisation, 2006.
 58. EU, *Richtlinie 1999/30/EG über Grenzwerte für Schwefeldioxid, Stickstoffdioxid und Stickstoffoxide, Partikel und Blei in der Luft*. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften, 1999.
 59. Klepeis, N.E., et al., *The National Human Activity Pattern Survey (NHAPS): a resource for assessing exposure to environmental pollutants*. J Expo Anal Environ Epidemiol, 2001. 11(3): p. 231-52.
 60. Krause, C. and C. Schulz, *Aufenthaltszeiten der deutschen Bevölkerung im Innenraum, im Freien, im Straßenverkehr*. Umweltmed Forsch Prax, 1998. 3(4): p. 249.
 61. Umweltbundesamt, *Gesundheitliche Bedeutung von Feinstaub in der Innenraumluft*. Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz, 2008. 51: p. 1370-1378.
 62. Fromme, H., et al., *Elemental carbon and respirable particulate matter in the indoor air of apartments and nursery schools and ambient air in Berlin (Germany)*. Indoor Air, 2005. 15(5): p. 335-41.
 63. Fromme, H., et al., *Particulate matter in the indoor air of classrooms--exploratory results from Munich and surrounding area*. Atmospheric Environment, 2007. 41(4): p. 854-866.
 64. Janssen, N.A.H., et al., *Assessment of exposure to traffic related air pollution of children attending schools near motorways*. Atmospheric Environment, 2001. 35(22): p. 3875-3884.
 65. Stranger, M., S.S. Potgieter-Vermaak, and R. Van Grieken, *Comparative overview of indoor air quality in Antwerp, Belgium*. Environ Int, 2007. 33(6): p. 789-97.
 66. Avigo, D., Jr., et al., *Particulate matter analysis at elementary schools in Curitiba, Brazil*. Anal Bioanal Chem, 2008. 391(4): p. 1459-68.
 67. Mitchell, C.S., et al., *Current state of the science: health effects and indoor environmental quality*. Environ Health Perspect, 2007. 115(6): p. 958-64.
 68. Koenig, J.Q., et al., *Pulmonary effects of indoor- and outdoor-generated particles in children with asthma*. Environ Health Perspect, 2005. 113(4): p. 499-503.
 69. Monn, C. and S. Becker, *Cytotoxicity and induction of proinflammatory cytokines from human monocytes exposed to fine (PM2.5) and coarse*

- particles (PM10-2.5) in outdoor and indoor air.* Toxicol Appl Pharmacol, 1999. 155(3): p. 245-52.
70. Long, C.M., et al., *A pilot investigation of the relative toxicity of indoor and outdoor fine particles: in vitro effects of endotoxin and other particulate properties.* Environ Health Perspect, 2001. 109(10): p. 1019-26.
 71. Baek, S.O., et al., *A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Sources, fate and behavior* Water, Air, & Soil Pollution 1991. 60(3-4): p. 279-300.
 72. HelmholtzZentrumMünchen, *Human-Biomonitoring: Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK).* Informationsstelle Humanbiomonitoring, 2008.
 73. Maliszewska-Kordybach, B., *Sources, Concentrations, Fate and Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in the Environment. Part A: PAHs in Air.* Polish Journal of Environmental Studies, 1999. 8(3): p. 131-136.
 74. Mastral, A.M. and M.a.S. CallÃ©n, *A Review on Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Emissions from Energy Generation.* Environmental Science & Technology, 2000. 34(15): p. 3051-3057.
 75. Nikolaou, K., P. Masclet, and G. Mouvier, *Sources and chemical reactivity of polynuclear aromatic hydrocarbons in the atmosphere -- A critical review.* Science of The Total Environment, 1984. 32(2): p. 103-132.
 76. Hecht, S.S., et al., *Analysis of phenanthrene and benzo[a]pyrene tetraol enantiomers in human urine: relevance to the bay region diol epoxide hypothesis of benzo[a]pyrene carcinogenesis and to biomarker studies.* Chem Res Toxicol. 23(5): p. 900-8.
 77. Buters, J.T.M., *Phase I Metabolism.* Helmut Greim and Robert Snyder: Toxicology and Risk Assessment: A Comprehensive Introduction, 2008.
 78. Efferth, T., *Molekulare Pharmakologie und Toxikologie.* Springer-Verlag, 2006.
 79. Garfinkel, D., *Studies on pig liver microsomes. I. Enzymic and pigment composition of different microsomal fractions.* Arch Biochem Biophys, 1958. 77(2): p. 493-509.
 80. Klingenberg, M., *Pigments of rat liver microsomes.* Arch Biochem Biophys, 1958. 75(2): p. 376-86.
 81. Omura, T. and R. Sato, *The Carbon Monoxide-Binding Pigment of Liver Microsomes. I. Evidence for Its Hemoprotein Nature.* J Biol Chem, 1964. 239: p. 2370-8.
 82. Brown, C.M., B. Reisfeld, and A.N. Mayeno, *Cytochromes P450: a structure-based summary of biotransformations using representative substrates.* Drug Metab Rev, 2008. 40(1): p. 1-100.
 83. Lewis, D.F., *57 varieties: the human cytochromes P450.* Pharmacogenomics, 2004. 5(3): p. 305-18.

84. Guengerich, F.P., *Cytochromes P450, drugs, and diseases*. Mol Interv, 2003. 3(4): p. 194-204.
85. Danielson, P.B., *The cytochrome P450 superfamily: biochemistry, evolution and drug metabolism in humans*. Curr Drug Metab, 2002. 3(6): p. 561-97.
86. Werck-Reichhart, D. and R. Feyereisen, *Cytochromes P450: a success story*. Genome Biol, 2000. 1(6).
87. Jaenicke, R., *Abundance of cellular material and proteins in the atmosphere*. Science, 2005. 308(5718): p. 73.
88. Womiloju, T.O., et al., *Methods to determine the biological composition of particulate matter collected from outdoor air*. Atmospheric Environment, 2003. 37(31): p. 4335-4344.
89. Peccia, J., et al., *A role for environmental engineering and science in preventing bioaerosol-related disease*. Environ Sci Technol, 2008. 42(13): p. 4631-7.
90. WHO, *Removing Obstacles to Healthy Development: World Health Organization Report on Infectious Diseases*. WHO/CDS/99.1, 1999.
91. Craun, G.F., et al., *Outbreaks in drinking-water systems, 1991-1998*. J Environ Health, 2002. 65(1): p. 16-23, 28; quiz 31-2.
92. Mead, P.S., et al., *Food-related illness and death in the United States*. Emerg Infect Dis, 1999. 5(5): p. 607-25.
93. Ring, J., *Weißbuch der Allergie in Deutschland*. 2004, München: Urban und Vogel, Medien und Medizin Verlagsgesellschaft.
94. Galli, S.J., M. Tsai, and A.M. Piliponsky, *The development of allergic inflammation*. Nature, 2008. 454(7203): p. 445-54.
95. Galli, S.J., *Allergy*. Curr Biol, 2000. 10(3): p. R93-5.
96. Janeway, C.A., et al., *Immunologie*. Spektrum Akademischer Verlag, 2002. 5. Auflage.
97. Traidl, C., et al., *Disparate cytotoxic activity of nickel-specific CD8+ and CD4+ T cell subsets against keratinocytes*. J Immunol, 2000. 165(6): p. 3058-64.
98. Schober, W., et al., *Metabolic activation of phenanthrene by human and mouse cytochromes P450 and pharmacokinetics in CYP1A2 knockout mice*. Chem Biol Interact. 183(1): p. 57-66.
99. Buters, J.T., C.D. Schiller, and R.C. Chou, *A highly sensitive tool for the assay of cytochrome P450 enzyme activity in rat, dog and man. Direct fluorescence monitoring of the deethylation of 7-ethoxy-4-trifluoromethylcoumarin*. Biochem Pharmacol, 1993. 46(9): p. 1577-84.

100. Symons, A.M. and L.J. King, *Inflammation, reactive oxygen species and cytochrome P450*. *Inflammopharmacology*, 2003. 11(1): p. 75-86.
101. Fleming, I., et al., *Endothelium-derived hyperpolarizing factor synthase (Cytochrome P450 2C9) is a functionally significant source of reactive oxygen species in coronary arteries*. *Circ Res*, 2001. 88(1): p. 44-51.
102. McClintick, J.N. and H.J. Edenberg, *Effects of filtering by Present call on analysis of microarray experiments*. *BMC Bioinformatics*, 2006. 7: p. 49.
103. Thum, T., et al., *Expression of xenobiotic metabolizing enzymes in different lung compartments of smokers and nonsmokers*. *Environ Health Perspect*, 2006. 114(11): p. 1655-61.
104. Bleck, B., et al., *Diesel exhaust particle-exposed human bronchial epithelial cells induce dendritic cell maturation and polarization via thymic stromal lymphopoietin*. *J Clin Immunol*, 2008. 28(2): p. 147-56.
105. Thorley, A.J., et al., *Primary human alveolar type II epithelial cell CCL20 (macrophage inflammatory protein-3alpha)-induced dendritic cell migration*. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2005. 32(4): p. 262-7.
106. Ma, Q., *Induction and superinduction of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-rho-dioxin-inducible poly(ADP-ribose) polymerase: role of the aryl hydrocarbon receptor/aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator transcription activation domains and a labile transcription repressor*. *Arch Biochem Biophys*, 2002. 404(2): p. 309-16.
107. Gosselink, J.V., et al., *Differential Expression of Tissue Repair Genes in the Pathogenesis of COPD*. *Am J Respir Crit Care Med*.
108. Myllärniemi, M., et al., *Gremlin-mediated decrease in bone morphogenetic protein signaling promotes pulmonary fibrosis*. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008. 177(3): p. 321-9.
109. Wang, M. and P. Liang, *Interleukin-24 and its receptors*. *Immunology*, 2005. 114(2): p. 166-70.
110. Katagiri, C., et al., *Up-regulation of serpin SCCA1 is associated with epidermal barrier disruption*. *J Dermatol Sci*. 57(2): p. 95-101.
111. Janssen, N.A., et al., *Childhood exposure to PM10: relation between personal, classroom, and outdoor concentrations*. *Occup Environ Med*, 1997. 54(12): p. 888-94.
112. Twardella, D., et al., *[Reduction of exposure to particulate matter in classrooms by improved cleaning: extent of exposure and results of a pilot study in Bavaria]*. *Gesundheitswesen*, 2009. 71(2): p. 70-6.
113. Oberdorster, G., E. Oberdorster, and J. Oberdorster, *Concepts of nanoparticle dose metric and response metric*. *Environ Health Perspect*, 2007. 115(6): p. A290.

114. Stoeger, T., et al., *Inflammatory response to TiO₂ and carbonaceous particles scales best with BET surface area*. Environ Health Perspect, 2007. 115(6): p. A290-1; author reply A291-2.
115. Wittmaack, K., *In search of the most relevant parameter for quantifying lung inflammatory response to nanoparticle exposure: particle number, surface area, or what?* Environ Health Perspect, 2007. 115(2): p. 187-94.
116. Janssen, N.A., et al., *Mass concentration and elemental composition of PM₁₀ in classrooms*. Occup Environ Med, 1999. 56(7): p. 482-7.
117. Subramanian, R., H. Fordsmand, and H. Paulapuro, *Precipitated calcium carbonate (PCC) - cellulose composite fillers: Effects of PCC particle structure on the production and properties of uncoated fine paper*. BioRes., 2007. 2(1): p. 91-105.
118. Fox, K., et al., *Human K10 epithelial keratin is the most abundant protein in airborne dust of both occupied and unoccupied school rooms*. J Environ Monit, 2008. 10(1): p. 55-9.
119. Seagrave, J., et al., *Lung toxicity of ambient particulate matter from southeastern U.S. sites with different contributing sources: relationships between composition and effects*. Environ Health Perspect, 2006. 114(9): p. 1387-93.
120. Sillanpää, M., et al., *Chemical composition and mass closure of particulate matter at six urban sites in Europe*. Atmospheric Environment, 2006. 40(Supplement 2): p. 212-223.
121. Imrich, A., M. Taylor, and L. Kobzik, *Fluorescence-based microplate bioassay for tumor necrosis factor*. J Immunol Methods, 1998. 212(1): p. 109-12.
122. Zhang, Y., et al., *Source apportionment of in vitro reactive oxygen species bioassay activity from atmospheric particulate matter*. Environ Sci Technol, 2008. 42(19): p. 7502-9.
123. Peng, R.D., et al., *Emergency admissions for cardiovascular and respiratory diseases and the chemical composition of fine particle air pollution*. Environ Health Perspect, 2009. 117(6): p. 957-63.
124. Graff, D.W., et al., *Assessing the role of particulate matter size and composition on gene expression in pulmonary cells*. Inhal Toxicol, 2007. 19 Suppl 1: p. 23-8.
125. Watterson, T.L., et al., *Effects of PM_{2.5} collected from Cache Valley Utah on genes associated with the inflammatory response in human lung cells*. J Toxicol Environ Health A, 2007. 70(20): p. 1731-44.
126. Karoly, E.D., et al., *Up-regulation of tissue factor in human pulmonary artery endothelial cells after ultrafine particle exposure*. Environ Health Perspect, 2007. 115(4): p. 535-40.

127. Omura, S., E. Koike, and T. Kobayashi, *Microarray analysis of gene expression in rat alveolar epithelial cells exposed to fractionated organic extracts of diesel exhaust particles*. *Toxicology*, 2009. 262(1): p. 65-72.
128. Ovrevik, J., et al., *Cytokine and chemokine expression patterns in lung epithelial cells exposed to components characteristic of particulate air pollution*. *Toxicology*, 2009. 259(1-2): p. 46-53.
129. Sama, P., et al., *The cellular and genomic response of an immortalized microglia cell line (BV2) to concentrated ambient particulate matter*. *Inhal Toxicol*, 2007. 19(13): p. 1079-87.
130. Kim, S., et al., *Comparative analysis of AhR-mediated TCDD-elicited gene expression in human liver adult stem cells*. *Toxicol Sci*, 2009. 112(1): p. 229-44.
131. Denison, M.S., et al., *Ligand binding and activation of the Ah receptor*. *Chem Biol Interact*, 2002. 141(1-2): p. 3-24.
132. van Berlo, D., et al., *Comparative evaluation of the effects of short-term inhalation exposure to diesel engine exhaust on rat lung and brain*. *Arch Toxicol*. 84(7): p. 553-62.
133. Ito, T., et al., *Organic Chemicals Adsorbed onto Diesel Exhaust Particles Directly Alter the Differentiation of Fetal Thymocytes Through Arylhydrocarbon Receptor but Not Oxidative Stress Responses*. *J Immunotoxicol*, 2006. 3(1): p. 21-30.
134. Stiborova, M., et al., *The environmental pollutant and carcinogen 3-nitrobenzanthrone and its human metabolite 3-aminobenzanthrone are potent inducers of rat hepatic cytochromes P450 1A1 and -1A2 and NAD(P)H:quinone oxidoreductase*. *Drug Metab Dispos*, 2006. 34(8): p. 1398-405.
135. Saxon, A. and D. Diaz-Sanchez, *Air pollution and allergy: you are what you breathe*. *Nat Immunol*, 2005. 6(3): p. 223-6.
136. Instanes, C., et al., *Allergens and endotoxin in settled dust from day-care centers and schools in Oslo, Norway*. *Indoor Air*, 2005. 15(5): p. 356-62.
137. Kim, J.L., L. Elfman, and D. Norback, *Respiratory symptoms, asthma and allergen levels in schools--comparison between Korea and Sweden*. *Indoor Air*, 2007. 17(2): p. 122-9.
138. Jalava, P.I., et al., *Heterogeneities in inflammatory and cytotoxic responses of RAW 264.7 macrophage cell line to urban air coarse, fine, and ultrafine particles from six European sampling campaigns*. *Inhal Toxicol*, 2007. 19(3): p. 213-25.
139. Doherty, S.P., et al., *Detection of changes in alveolar macrophage iron status induced by select PM2.5-associated components using iron-response protein binding activity*. *Inhal Toxicol*, 2007. 19(6-7): p. 553-62.

V. Danksagung

An erster Stelle möchte ich Frau Prof. Dr. Behrendt, der ehemaligen Leiterin des ZAUM – Zentrum Allergie und Umwelt und Mitinitiatorin des PAMINA-Projektes, für das entgegengebrachte Vertrauen, die langjährige Unterstützung und umfassende Förderung, die Anleitung zum exakten wissenschaftlichen Arbeiten und Präsentieren und nicht zuletzt für ihre enorme Herzlichkeit und Begeisterungsfähigkeit danken. Herrn Prof. Dr. Schmidt-Weber, dem jetzigen Leiter des ZAUM, danke ich für die weitere Unterstützung dieser Arbeit und den sehr guten kollegialen Umgang miteinander. Desweiteren möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Parlar für die Betreuung der Dissertation von Seiten der Fakultät WZW bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Buters für die hervorragende wissenschaftliche Betreuung dieser Arbeit, die vielen intensiven Diskussionen, für Lob, Kritik und Ermutigung, aber auch das Überlassen von großen Freiheiten in der Bearbeitung des Themas. Neben ihm stand auch Herr PD Dr. Schober als sehr hilfreicher Ansprechpartner zur Verfügung, wofür ich ihm hier ausdrücklich danken möchte. Ganz wesentliche Unterstützung erhielt ich bei der EDX-Analyse von Frau Dr. Weichenmeier, die sich eigens für das PAMINA-Projekt in diese Methodik einarbeitete, den Großteil der Partikelanalysen durchführte und dabei ihre langjährige Erfahrung in der Elektronenmikroskopie mit einbrachte. Dafür ganz herzlichen Dank.

Allen Mitarbeitern des ZAUM möchte ich für die angenehme Arbeitsatmosphäre und die kritische Diskussion meiner Arbeit im institutsinternen Seminar danken. Vor allem zu Beginn meiner Arbeit am ZAUM erhielt ich von vielen Kollegen/-innen wertvolle Hilfe, um mich im Laboralltag zurechtzufinden. Besonders hervorheben möchte ich in diesem Zusammenhang die Unterstützung durch Frau Dr. Daniela Rödl und Frau Gudrun Pusch, die darüber hinaus auch einige Messungen der Basophilenaktivierung und einige Kontroll-PCRs für mich durchführte. Die beiden eben genannten und Frau Renate Effner unterstützten mich zudem bei der Betreuung von Praktikanten. Desweiteren erhielt ich von Frau Prof. Dr. Traidl-Hoffmann und Mitarbeitern primäre humane Keratinozyten. Die Kooperation mit PD Dr. Pfab ermöglichte es mir, an primäre humane Leukozyten zu gelangen. Vielen herzlichen Dank für all dies.

Allen PAMINA-Partnern danke ich für die konstruktiven Beratungen in den regelmäßigen Projekttreffen, ohne die diese Arbeit nicht hätte durchgeführt werden können. Für die Projektkoordination danke ich Herrn PD Dr. Fromme vom Sachgebiet Umweltmedizin des Bayerischen Landesamtes für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit. Für die Organisation und Durchführung der Probenahmen in den Schulen und die Bereitstellung der Partikelproben danke ich Herrn Dipl.-Ing. Dietrich und Frau Nachtmann. Für die Bestimmung der Endotoxine danke ich Dr. Schierl vom Institut für Arbeits- und Umweltmedizin der LMU und Mitarbeitern.

Weitere Kooperationen erwiesen sich als sehr sinnvoll. So wurden von Prof. Dr. Lang und Dr. Mages an der Affymetrix Core Facility des Institutes für medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene der TU München die Messungen der Microarrays für die genomweite Genexpressionsanalyse durchgeführt. Von Frau Dr. Lintelmann wurden am Institut für Ökologische Chemie am Helmholtz Zentrum München PAHs in den Staubproben gemessen. Von Dr. Fernández-Caldas und Mitarbeitern der Firma Allergy Innovations wurde das Katzenallergen Fel d 1 bestimmt. Auch Ihnen gilt mein herzlicher Dank.

Eine für mich persönlich sehr wichtige Rolle in dieser Doktorandenzeit mit allen ihren Höhen und Tiefen spielte Frau Christine Huber. Ich sag einfach mal: Danke!

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meiner Familie, Helga, Thomas, Katharina, Susanne und Bernhard, dafür bedanken, dass sie meinen Weg auf vielfältige Weise unterstützt und mir in manchen schwierigen Situationen den nötigen Halt gegeben haben. Euch widme ich diese Arbeit.

VI. Anhang

Verzeichnis der Tabellen:

Tabelle 1: Richt- und Grenzwerte für Feinstaub in der Außenluft	10
Tabelle 2: Charakterisierung der Probanden für den Basophilenaktivierungstest	28
Tabelle 3: Charakterisierung der beprobten Schulen	29
Tabelle 4: Chemische Bibliothek der Partikeltypen.....	42
Tabelle 5: Endotoxin- und Fe d 1-Gehalt der Staubproben.....	46
Tabelle 6: Häufigste Genfunktionen der regulierten Gene.....	54
Tabelle 7: Auswahl der Gene für weitere Analysen	56
Tabelle 8: Bestätigung der Ergebnisse der genomweiten Analyse.....	57
Tabelle 9: Zusammenfassender Vergleich von PM ₁₀ der Klassenzimmer und der Außenluft	80

Verzeichnis der Abbildungen:

Abbildung 1: Konventionen definierter Staubfraktionen.....	3
Abbildung 2: Verursacher der Emissionen von Feinstaub in Bayern.....	8
Abbildung 3: Strukturen der 16 EPA <i>priority</i> PAHs	14
Abbildung 4: Katalytischer Zyklus der Cytochrome P450	18
Abbildung 5: Vereinfachtes Schema des FcεRI-Signalweges in Mastzellen.....	20
Abbildung 6: PM ₁₀ -Belastung der beprobten Schulen und Wohnungen	37
Abbildung 7: Geometrischer Durchmesser der Innenraum- bzw. Außenluftpartikel .	39
Abbildung 8: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines im Innenraum A) und eines an der Außenluft B) beprobten Filters der EDX-Analyse.....	39
Abbildung 9: Periodensystem.....	39
Abbildung 10: Durchschnittliche elementare Partikelzusammensetzung.....	40
Abbildung 11: Zusammensetzung der Innenraum- und Außenluftstäube.....	43
Abbildung 12: Zusammensetzung der Innenraumstäube der verschiedenen Schulen	43
Abbildung 13: Zusammensetzung der Außenluftstäube der verschiedenen Schulen	44
Abbildung 14: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen typischer Innenraumpartikel und typischer Außenluftpartikel.....	44

Abbildung 15: PAH-Konzentrationen in den PM ₁₀ -Proben.....	45
Abbildung 16: Zytotoxizität von PM ₁₀ der A) Außenluft und B) Innenraumluft in A549-Zellen und Keratinozyten	48
Abbildung 17: Zytotoxizität der Innenraumstäube (10 µg/ml) der verschiedenen Klassenzimmer in Keratinozyten	48
Abbildung 18: Zytotoxizität nach metabolischer Aktivierung von Außenluftstaubkomponenten.....	49
Abbildung 19: Zytotoxizität nach metabolischer Aktivierung von Innenraumstaubkomponenten.....	49
Abbildung 20: CYP1A1-vermittelte Zytotoxizität durch PM ₁₀ von 3 der 12 Klassenzimmer.....	50
Abbildung 21: Zytotoxizität der Innenraumstäube (10 µg/ml) der verschiedenen Klassenzimmer in Keratinozyten nach metabolischer Aktivierung durch CYP2B6 ...	50
Abbildung 22: Vergleich der CYP2B6-vermittelte Zytotoxizität durch Stäube aus Innenräumen von Schulen und Wohnungen.....	51
Abbildung 23: Inhibierung der CYP-vermittelten Zytotoxizität durch N-Actetylcystein (NAC).....	52
Abbildung 24: Genomweit über 5-fach induzierte Gene; GS IT Raum 2 und außen	54
Abbildung 25: Genomweit 3-5-fach induzierte Gene; GS IT Raum 2 und außen	55
Abbildung 26: Korrelation der Geninduktionswerte der genomweiten Analyse (Affymetrix) und der PCR-Analyse (LDA); jeweils PM ₁₀ von Schule IT (Raum 2 und außen)	58
Abbildung 27: Über 4-fach induzierte Gene bei der PCR-Analyse	60
Abbildung 28: 3-4-fach induzierte Gene bei der PCR-Analyse	60
Abbildung 29: 2-3-fach induzierte Gene bei der LDA-Analyse.....	61
Abbildung 30: 1-2-fach induzierte Gene bei der LDA-Analyse.....	61
Abbildung 31: Zeitlicher Verlauf der Geninduktion als Verhältnis der Induktion zum frühen (4h) und späten (24h) Zeitpunkt	63
Abbildung 32: Spezifität der Geninduktionen für Innenraum- oder Außenluftproben	64
Abbildung 33: Genregulatorisches Potential der Außenluftstäube.....	65
Abbildung 34: Genregulatorisches Potential der Innenraumstäube.....	65
Abbildung 35: Qualität der Korrelation von Genexpression und LPS-Gehalt der Staubproben	66

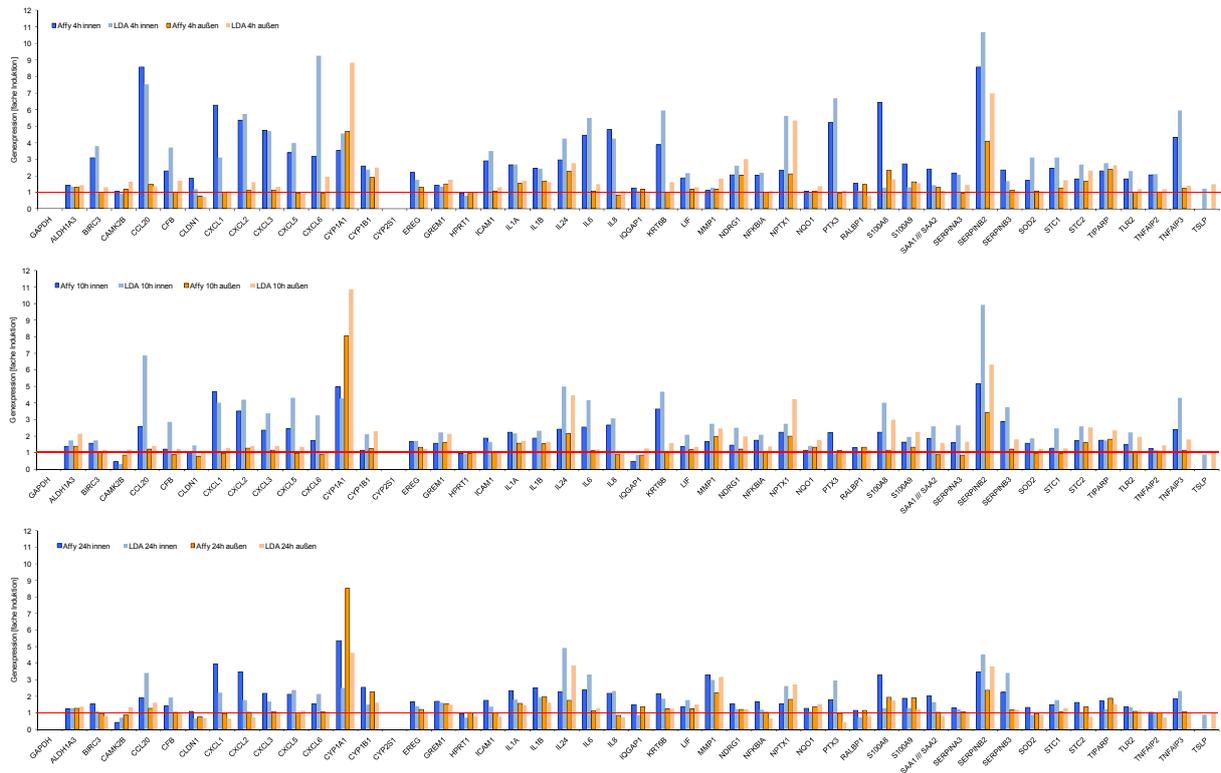
Abbildung 36: Qualität der Korrelation von Genexpression und PAH-Gehalt der Staubproben	67
Abbildung 37: Korrelation der CYP1A1-Induktion mit dem PAH-Gehalt der Staubproben	67
Abbildung 38: Effekt der Innen- und Außenluftstäube auf die allergeninduzierte Basophilenaktivierung	69
Abbildung 39: Aktivierung basophiler Granulozyten von Katzenallergikern durch Innen- und Außenluftstäube	69
Abbildung 40: Aktivierung basophiler Granulozyten eines auf Katzenallergen monosensibilisierten Spenders und Fel d 1-Gehalt der entsprechenden Innenraum- und Außenluftstäube	70

Beschreibung der Gene der real-time PCR-Analyse:

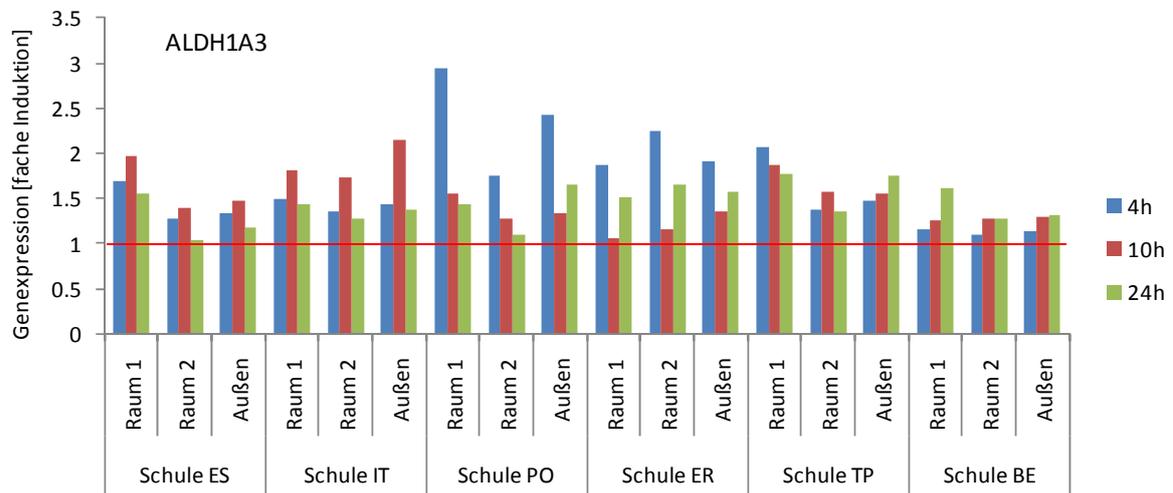
Symbol	Vollständiger Name	Funktion / Prozess
GAPDH	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Energiestoffwechsel (NCBI Entrez Gene Summary); hier: <i>house keeping</i> Gen
ALDH1A3	aldehyde dehydrogenase 1 family, member A3	Detoxifizierung von Aldehyden (NCBI Entrez Gene Summary)
BIRC3	baculoviral IAP repeat-containing 3	Inhibition der Apoptose (NCBI Entrez Gene Summary)
CAMK2B	calcium/calmodulin-dependent protein kinase II beta	Calcium-Signalgebung (NCBI Entrez Gene Summary)
CCL20	chemokine (C-C motif) ligand 20	DC-Rekrutierung in der Lunge (Thorley 2005) [105]
CFB	complement factor B	Komplementaktivierung (NCBI Entrez Gene Summary)
CLDN1	claudin 1	Komponente von <i>tight junctions</i> (NCBI Entrez Gene Summary)
CXCL1	chemokine (C-X-C motif) ligand 1 (melanoma growth stimulating activity, alpha)	Chemotaxis von Neutrophilen (Onishi 2010)
CXCL2	chemokine (C-X-C motif) ligand 2	Chemotaxis von Neutrophilen (Onishi 2010)
CXCL3	chemokine (C-X-C motif) ligand 3	Chemotaxis von Neutrophilen (NCBI Entrez Gene Summary)
CXCL5	chemokine (C-X-C motif) ligand 5	Aktivierung von Neutrophilen (NCBI Entrez Gene Summary)
CXCL6	chemokine (C-X-C motif) ligand 6 (granulocyte chemotactic protein 2)	Chemotaxis von Neutrophilen (NCBI Entrez Gene Summary)
CYP1A1	cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1	Monoxygenierung von Fremdstoffen (NCBI Entrez Gene Summary)
CYP1B1	cytochrome P450, family 1, subfamily B, polypeptide 1	Monoxygenierung von Fremdstoffen (NCBI Entrez Gene Summary)
CYP2S1	cytochrome P450, family 2, subfamily S, polypeptide 1	Monoxygenierung von Fremdstoffen (NCBI Entrez Gene Summary)
EREG	epiregulin	Epidermaler Wachstumsfaktor (NCBI Entrez Gene Summary)
GREM1	gremlin 1, cysteine knot superfamily, homolog (<i>Xenopus laevis</i>)	Induktion der pulmonalen Fibrose (Myllärniemi 2008) [108]
HPRT1	hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1	Generierung von Purin (NCBI Entrez Gene Summary); hier: <i>house keeping</i> Gen
ICAM1	intercellular adhesion molecule 1 (CD54), human rhinovirus receptor	Zelladhäsion, Leukozytenmigration (NCBI Entrez Gene Summary)
IL1A	interleukin 1, alpha	Inflammation, Fieber, Apoptose, Proliferation (NCBI Entrez Gene Summary)
IL1B	interleukin 1, beta	Inflammation, Apoptose, Zytokin-vermittelte Signalwege, Wundheilung (NCBI Entrez Gene Summary)
IL24	interleukin 24	Wundheilung, IL10-Familie (Wang 2005) [109]
IL6	interleukin 6 (interferon, beta 2)	Inflammation, Akute-Phase-Reaktion (NCBI Entrez Gene Summary)
IL8	interleukin 8	Inflammation, Chemotaxis von Neutrophilen (NCBI Entrez Gene Summary)
IQGAP1	IQ motif containing GTPase activating protein 1	Zellbewegung, Zell-Zell-Adhäsion, Proliferation, Differenzierung (Brown 2006)
KRT6B	keratin 6B	Ektodermentwicklung (NCBI Entrez Gene Summary)
LIF	leukemia inhibitory factor (cholinergic differentiation factor)	Inflammation, Zytokin der IL6-Familie (NCBI Entrez Gene Summary)
MMP1	matrix metalloproteinase 1	Abbau der extrazellulären Matrix, <i>tissue</i>

	(interstitial collagenase)	<i>remodelling</i> (NCBI Entrez Gene Summary) [107]
NDRG1	N-myc downstream regulated gene 1	Stressantwort, Hydrolase (NCBI Entrez Gene Summary) (Degranulierung von Mastzellen)
NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	LPS-induzierte Signalgebung (NCBI Entrez Gene Summary)
NPTX1	neuronal pentraxin I	Toxin-bindendes Protein (NCBI Entrez Gene Summary)
NQO1	NAD(P)H dehydrogenase, quinone 1	Fremdstoffmetabolismus, Reduktion von Quinonen, Antwort auf oxidativen Stress (NCBI Entrez Gene Summary)
PTX3	pentraxin-related gene, rapidly induced by IL-1 beta	Innate Immunität: <i>pattern recognition receptor</i> für Bakterien, Pilze, Viren; Inflammation; Matrixdeposition, Angiogenese; Fertilität (Garlanda 2009)
RALBP1	raIA binding protein 1	Transporter für Glutathionkonjugate (Awasthi 2008)
S100A8	S100 calcium binding protein A8	Anti-inflammatorisch; indiziert in chronischer Bronchitis und cystischer Fibrose (Nacken 2003)
S100A9	S100 calcium binding protein A9	Anti-inflammatorisch; indiziert in chronischer Bronchitis und cystischer Fibrose (Nacken 2003)
SAA1 /// SAA2	serum amyloid A1 /A2	Akute-Phase-Reaktion, Chemotaxis von Makrophagen, Lymphozyten und Neutrophilen (NCBI Entrez Gene Summary)
SERPINA3	serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 3	Inflammation, Akute-Phase-Reaktion (NCBI Entrez Gene Summary), Lungenfunktion (Lindmark 1990)
SERPINB2	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 2	Inhibitor der Fibrinolyse, erhöhte Blutgerinnung (Buryru 2003), Wundheilung (NCBI Entrez Gene Summary)
SERPINB3	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3	Atemwegsinflammation in Asthma (Izuhara 2005), Epidermale Barrierestörung (Katagiri 2010) [110]
SOD2	superoxide dismutase 2, mitochondrial	Antwort auf oxidativen Stress, Oxidoreduktion (NCBI Entrez Gene Summary)
STC1	stanniocalcin 1	Inhibition der Transmigration von Makrophagen und T-Zellen (Chakraborty 2007)
STC2	stanniocalcin 2	Wachstumshemmung (NCBI Entrez Gene Summary)
TIPARP	TCDD-inducible poly(ADP-ribose) polymerase	Dioxin-induzierte Modulation der Proteinfunktion durch Ribosylierung (Ma 2002)[106]
TLR2	toll-like receptor 2	Erkennung von gram-positiven Bakterien und Hefen (NCBI Entrez Gene Summary)
TNFAIP2	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 2	Zelldifferenzierung (NCBI Entrez Gene Summary)
TNFAIP3	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 3	Begrenzung der Inflammation (NCBI Entrez Gene Summary)
TSLP	thymic stromal lymphopoietin	Induktion der Freisetzung T-Zell attraktiver Zytokine, Begünstigung der Reifung CD11c+ Dendritischer Zellen (NCBI Entrez Gene Summary)

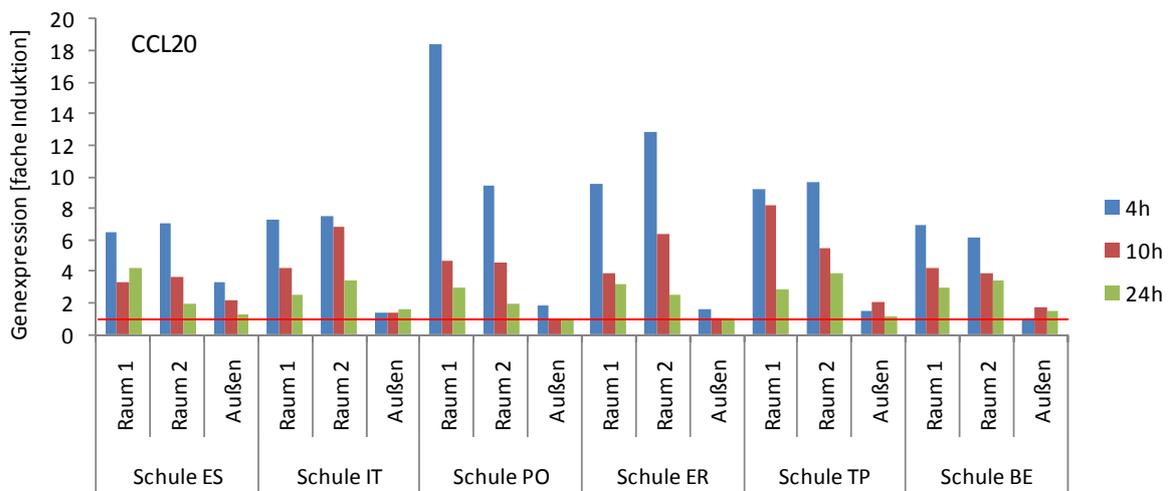
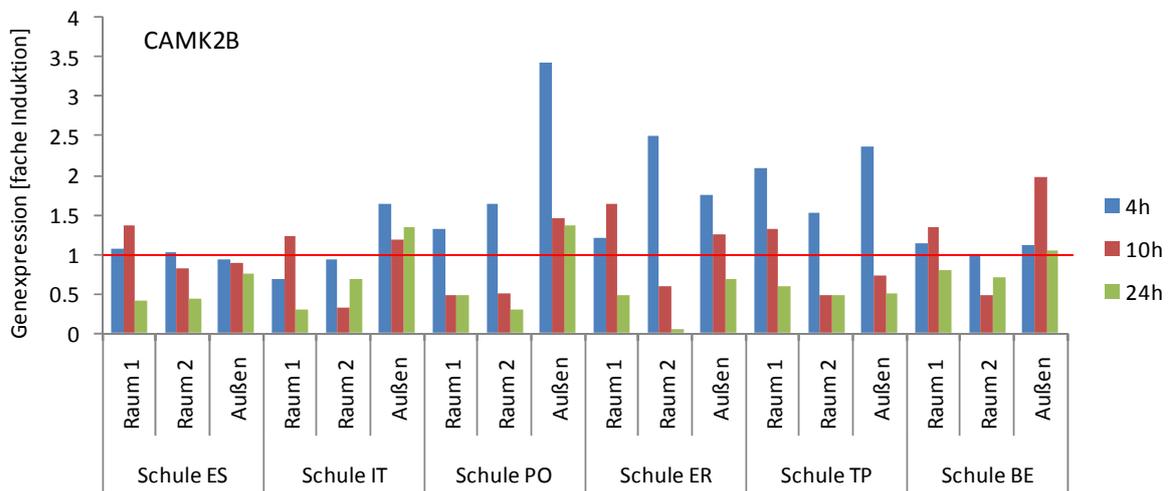
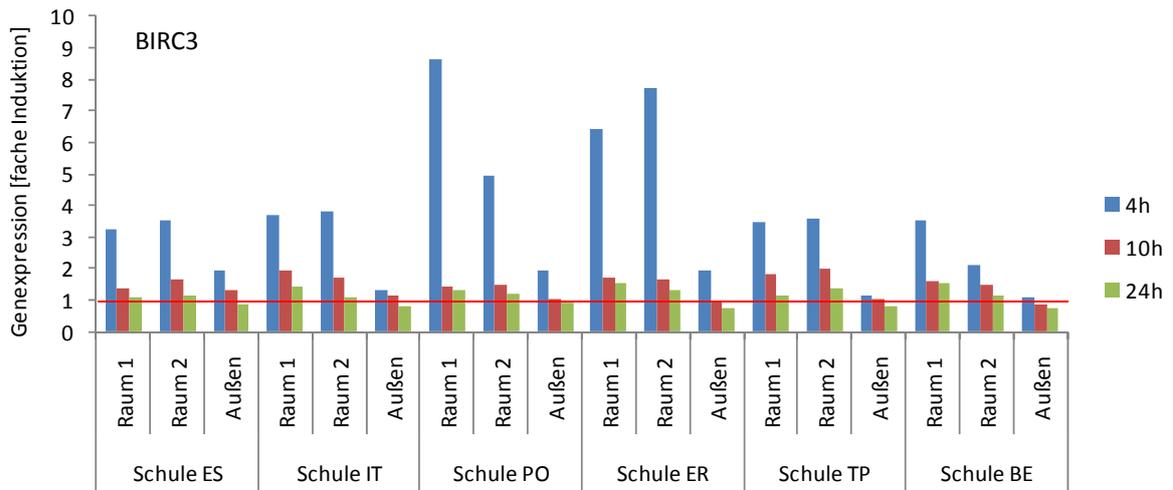
Vergleich der Genexpressionsanalyse mit Microarray und real-time-PCR:



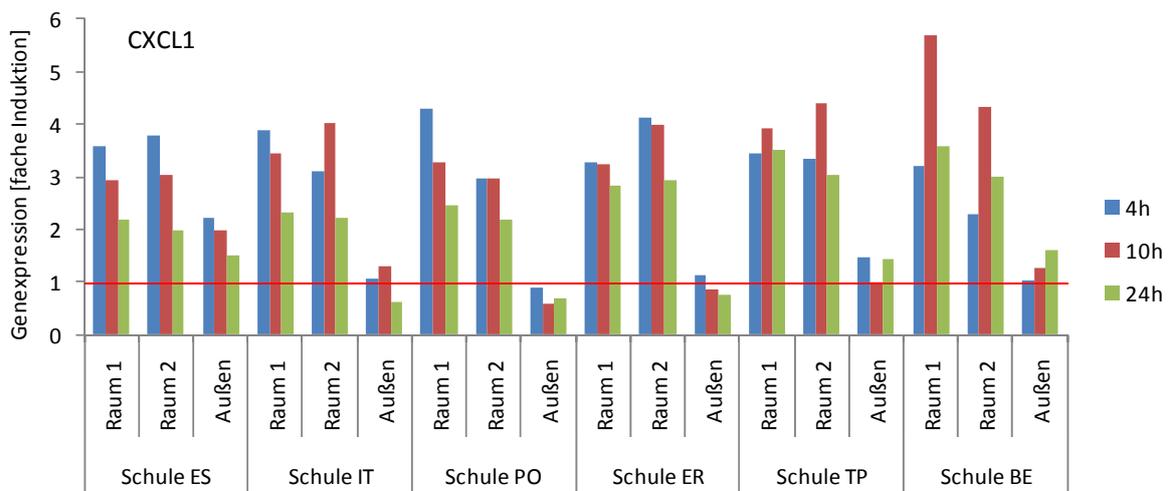
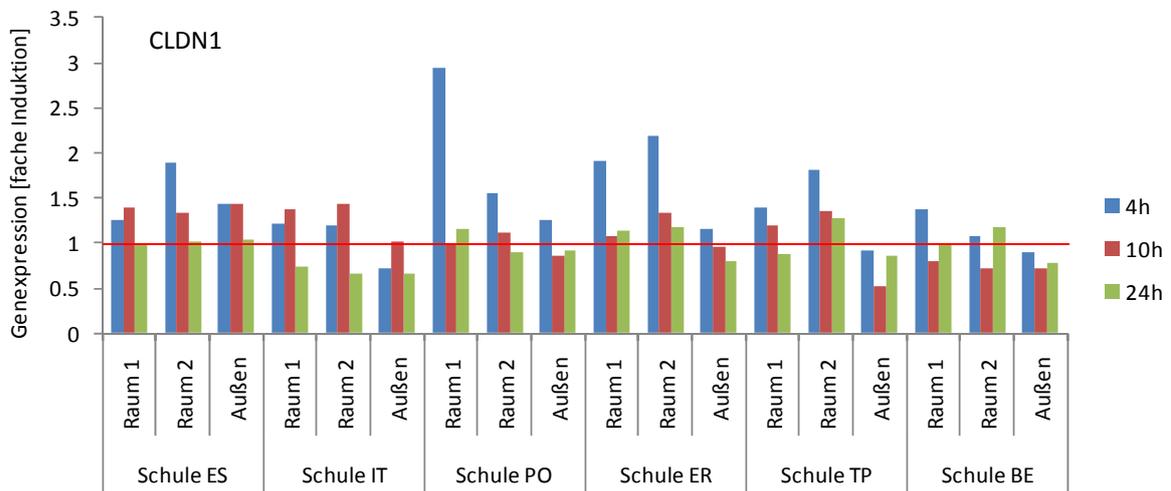
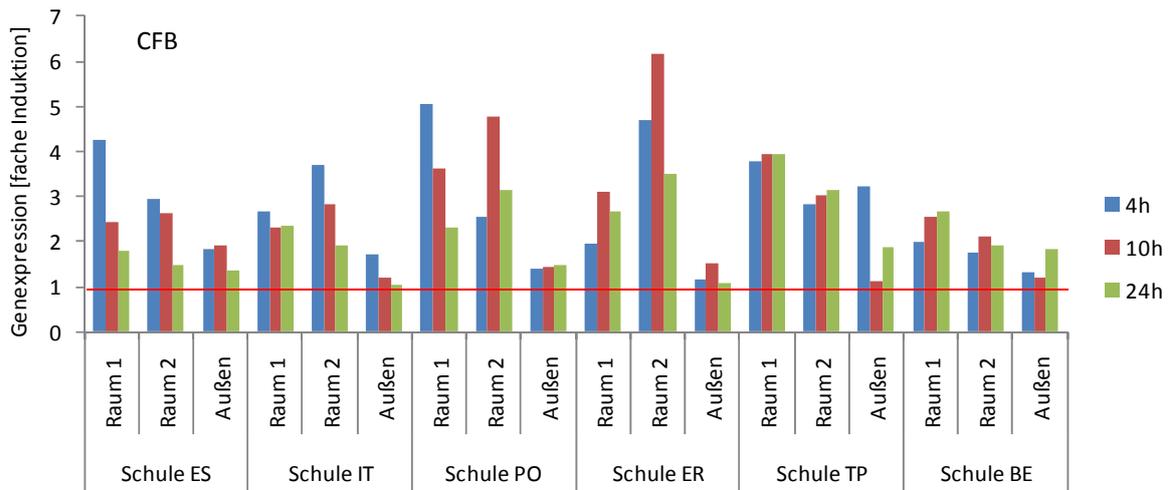
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen:



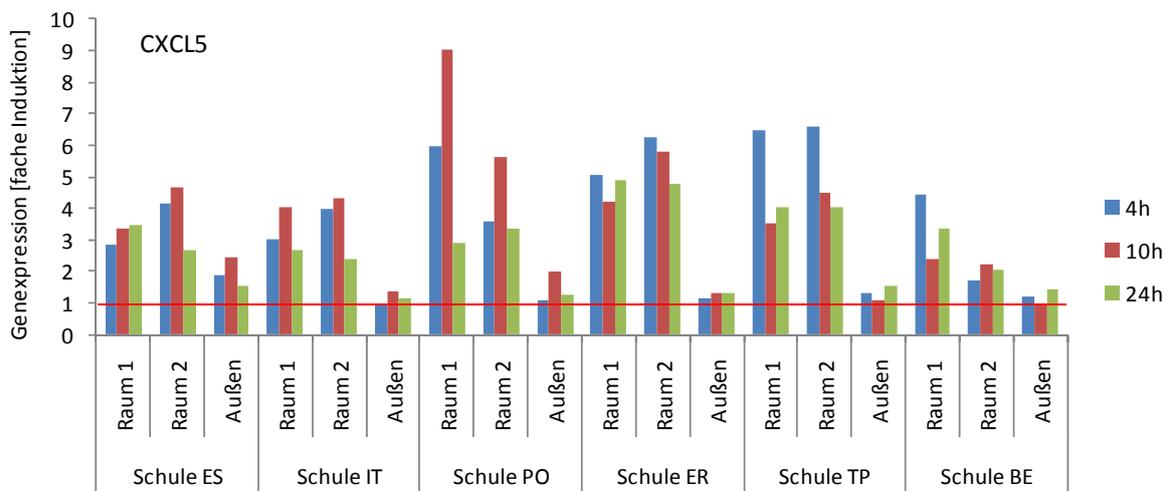
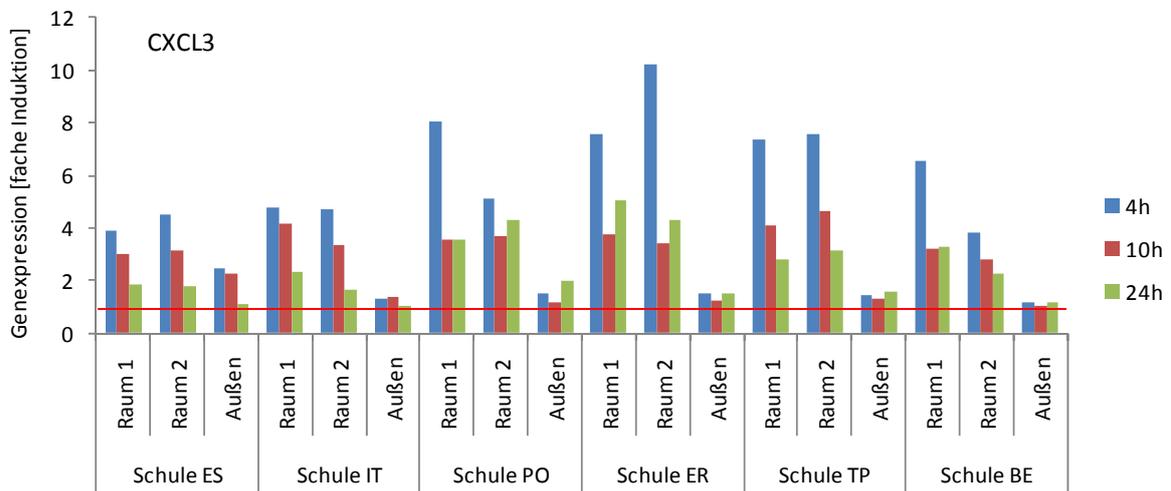
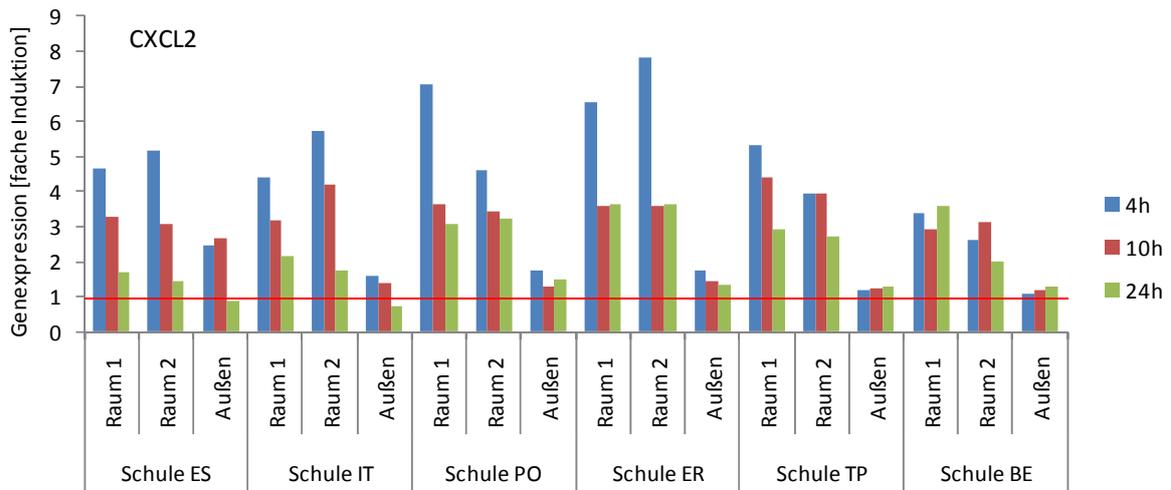
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen (Fortsetzung):



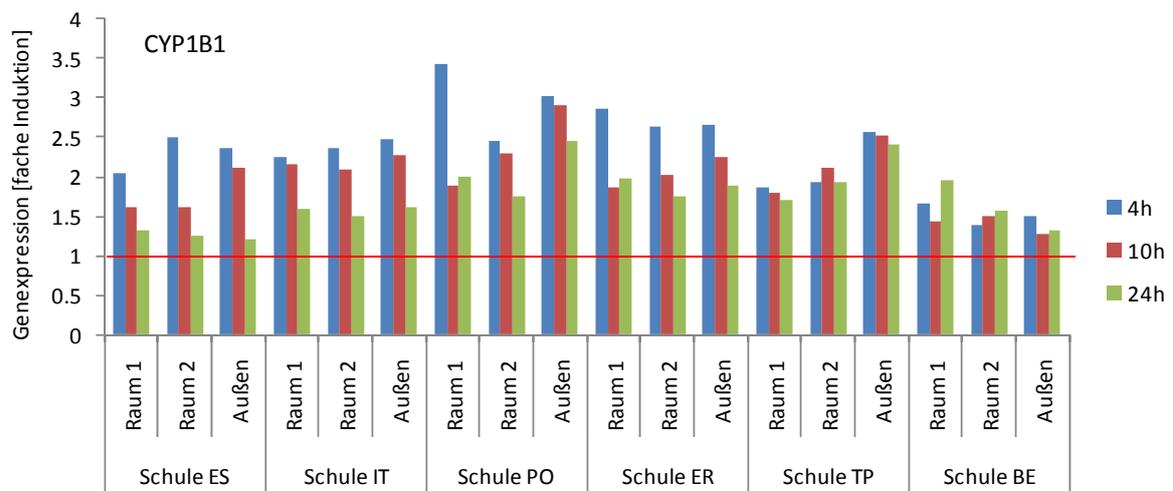
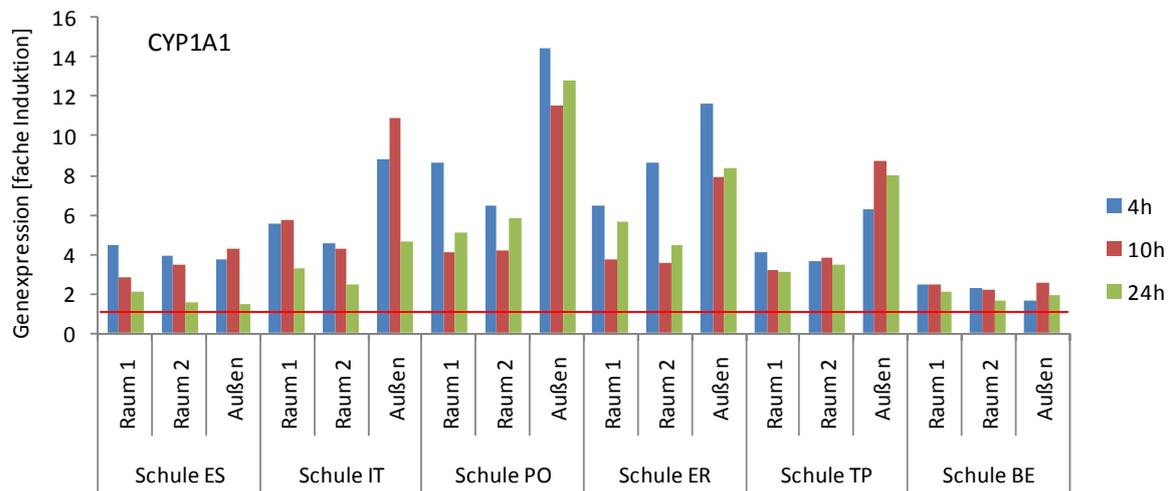
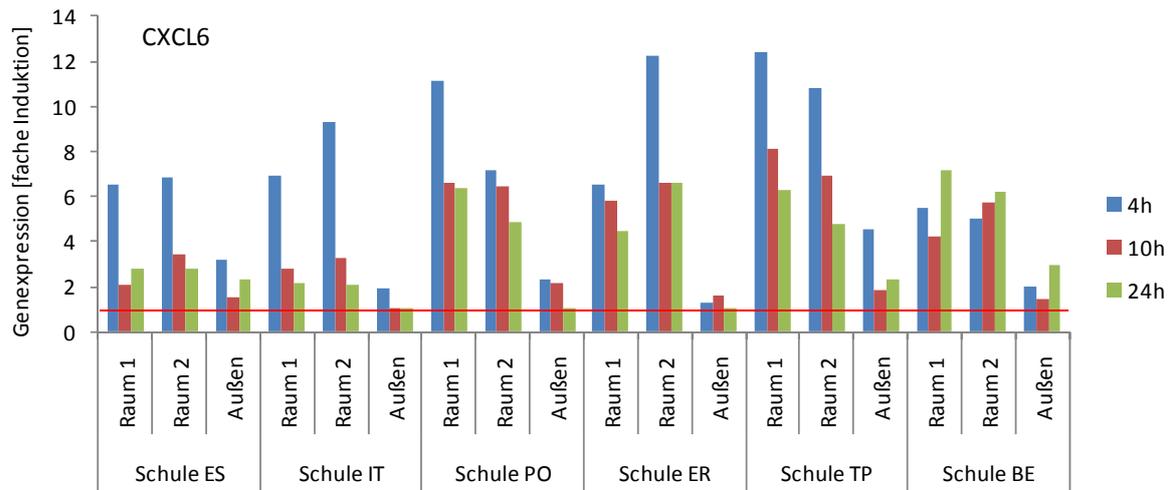
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen (Fortsetzung):



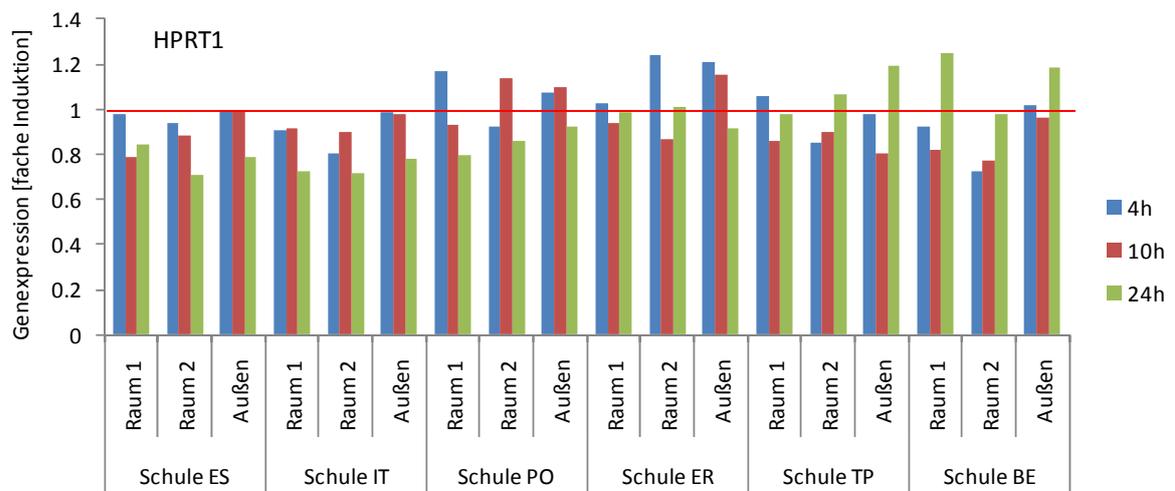
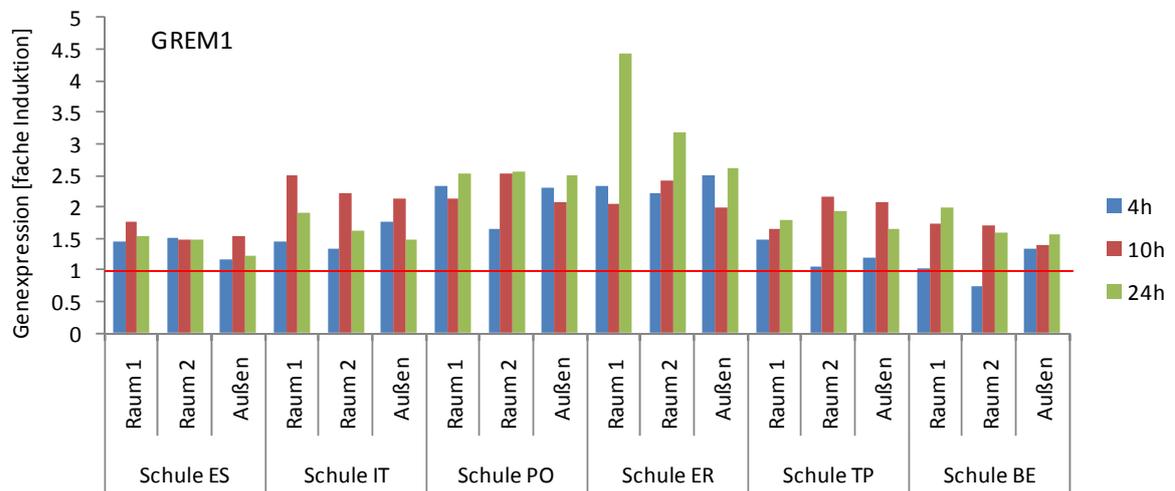
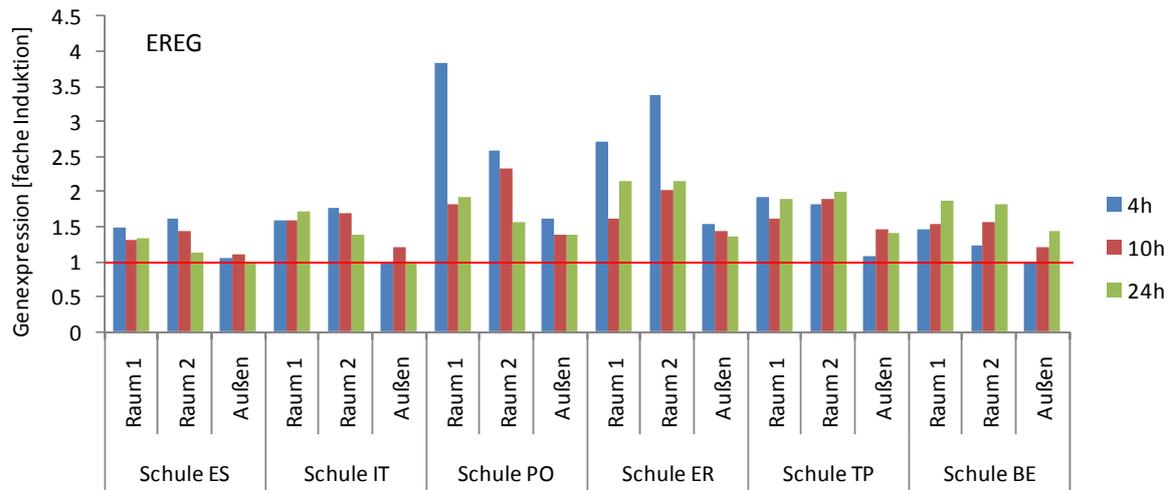
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen (Fortsetzung):



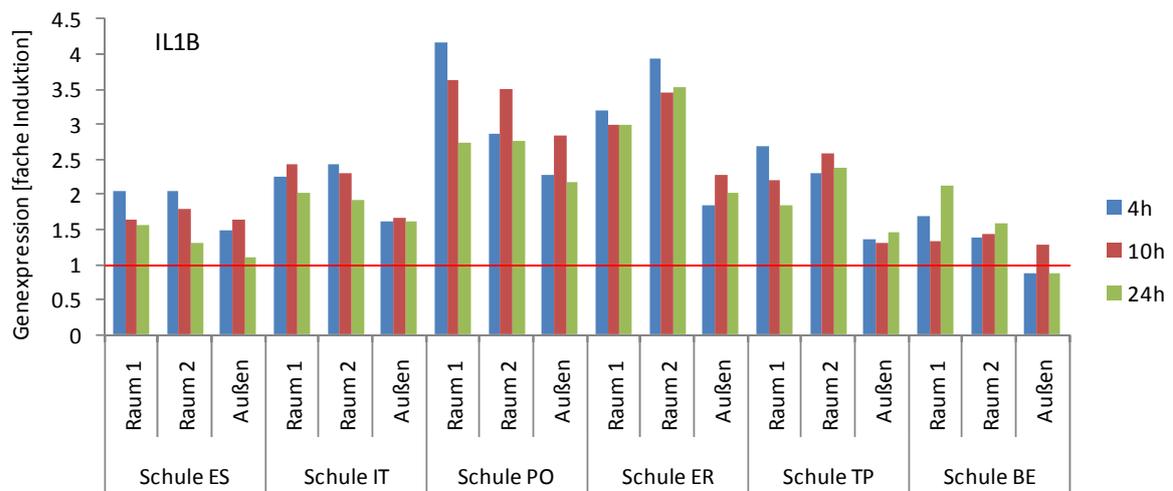
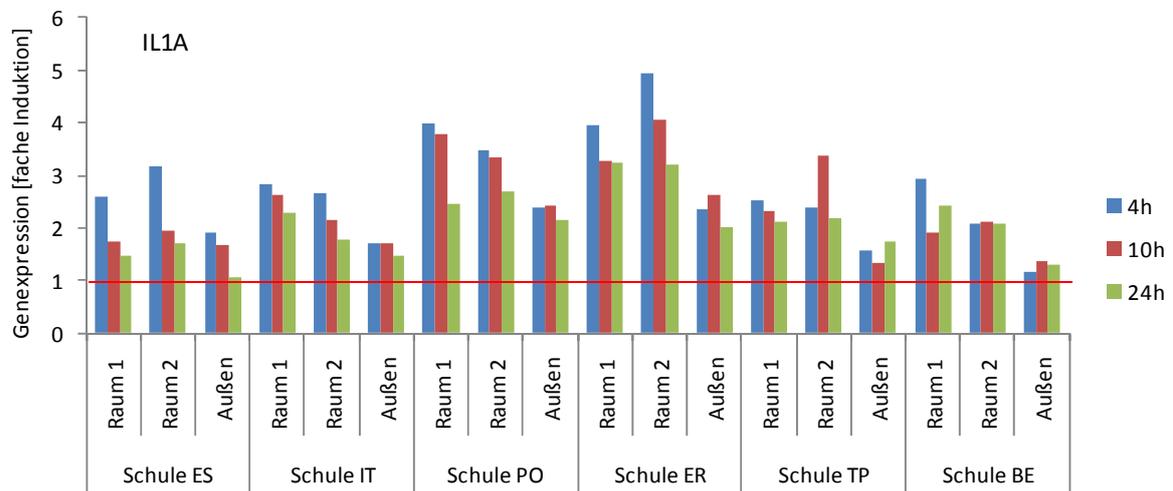
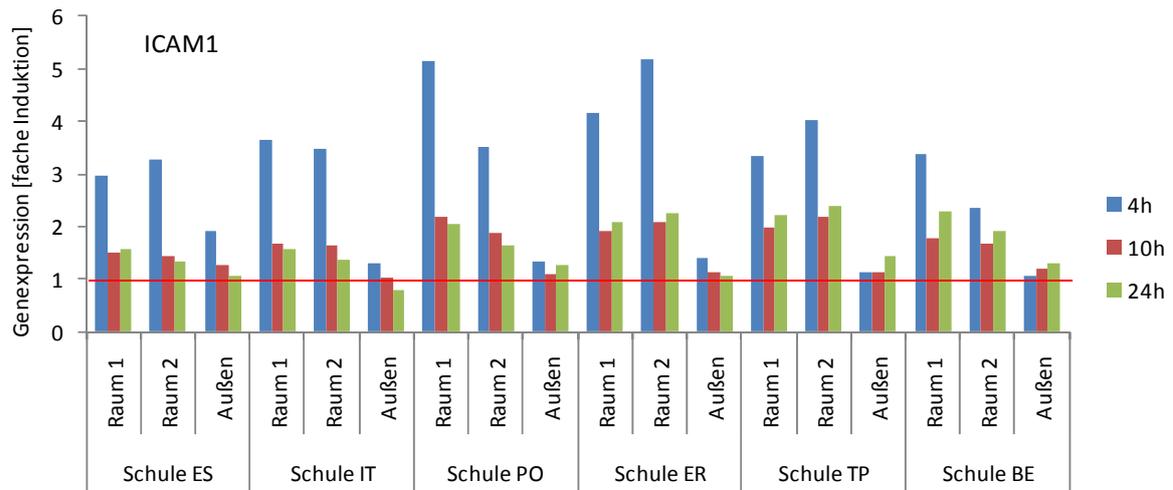
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen (Fortsetzung):



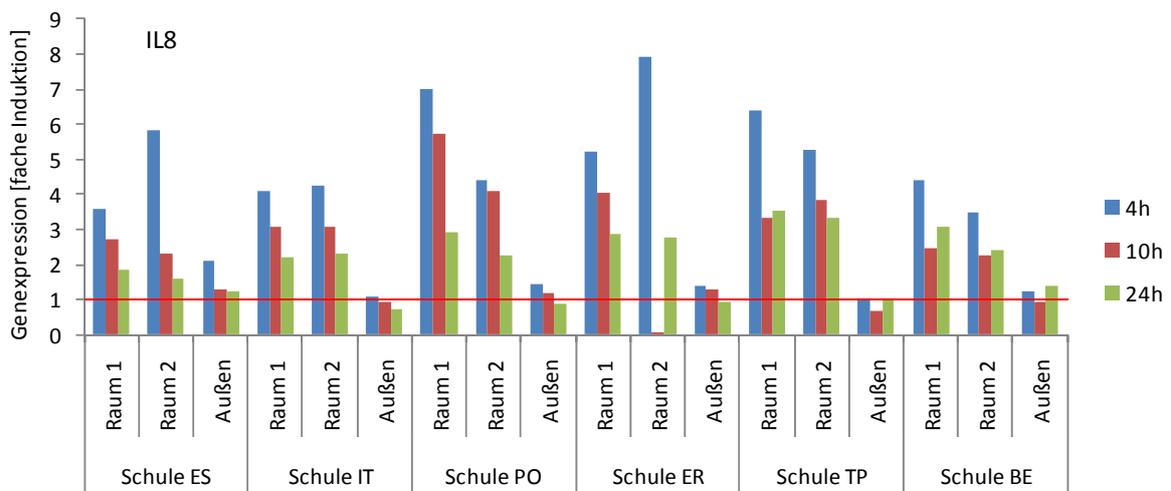
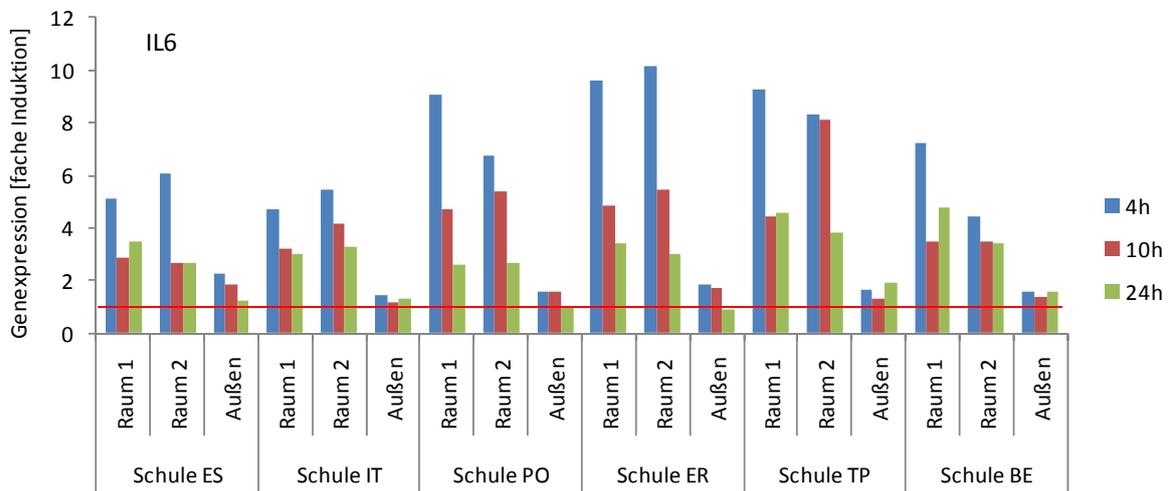
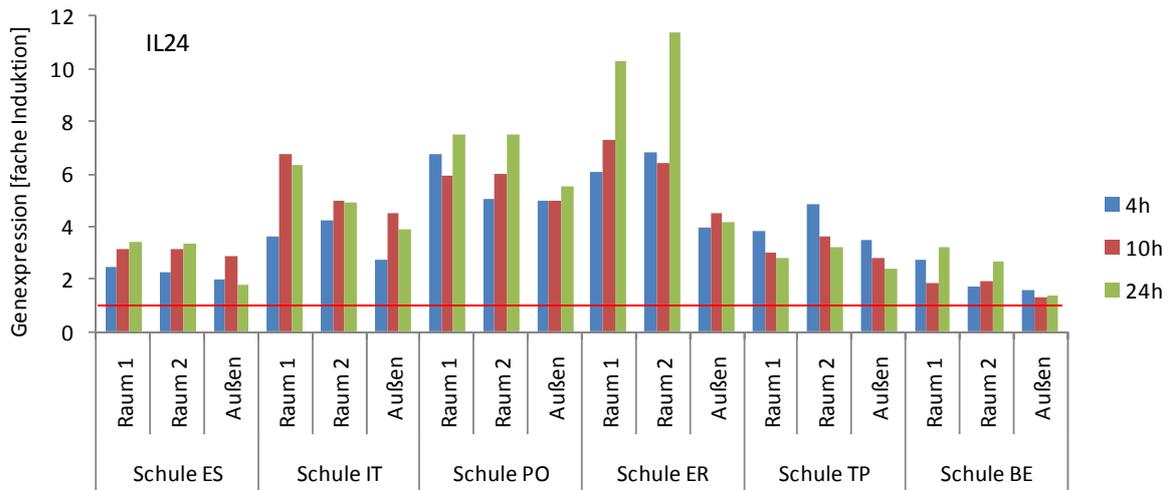
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen (Fortsetzung):



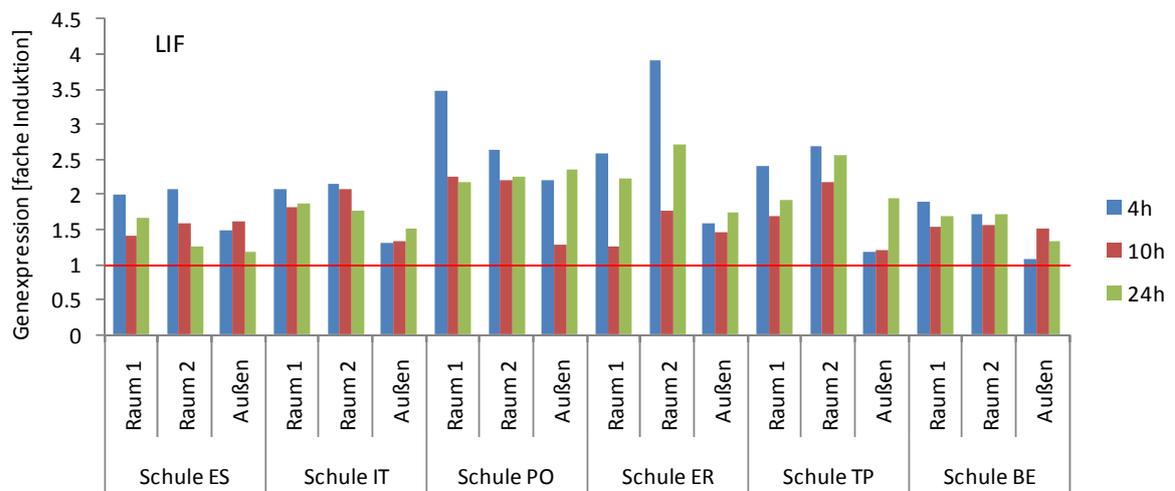
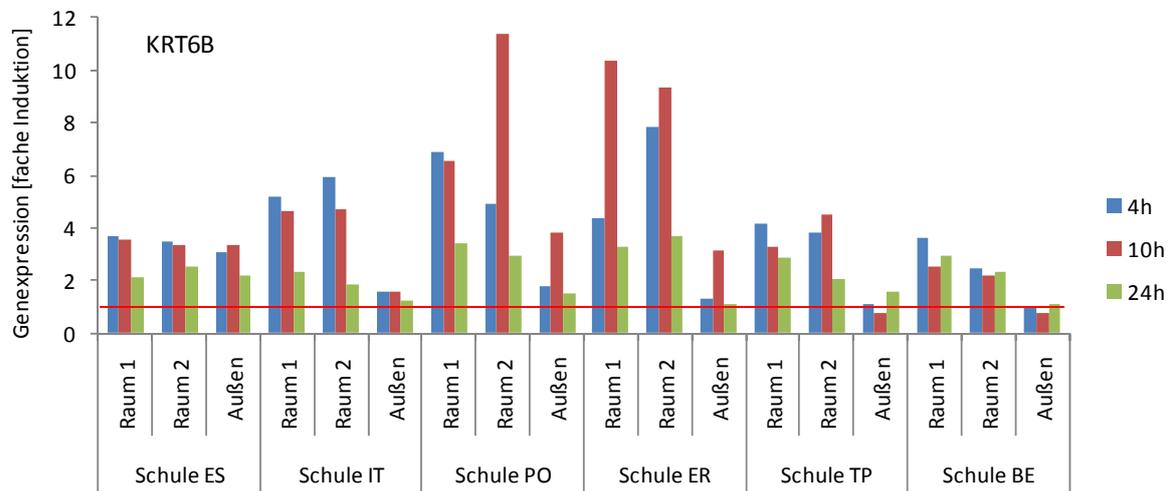
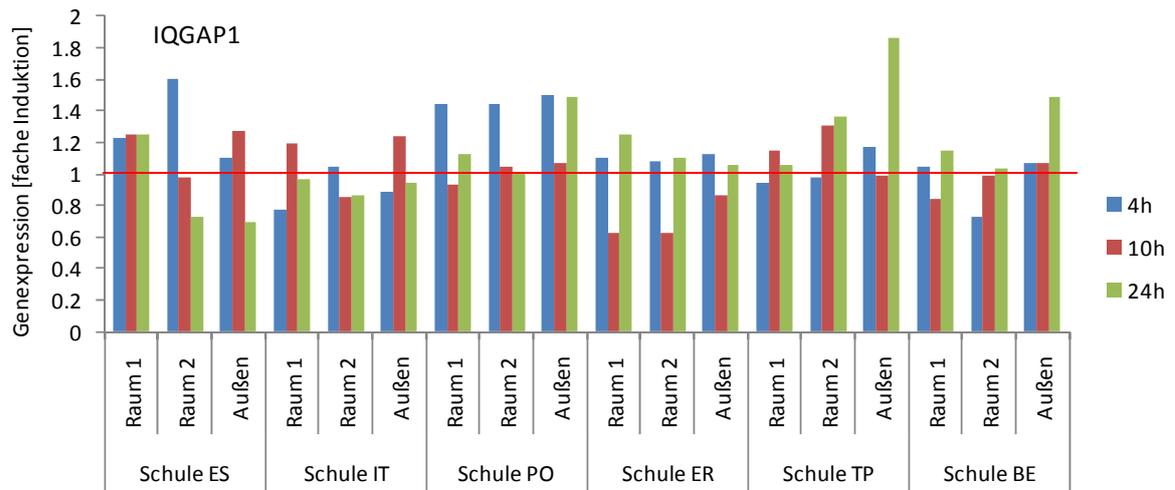
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen (Fortsetzung):



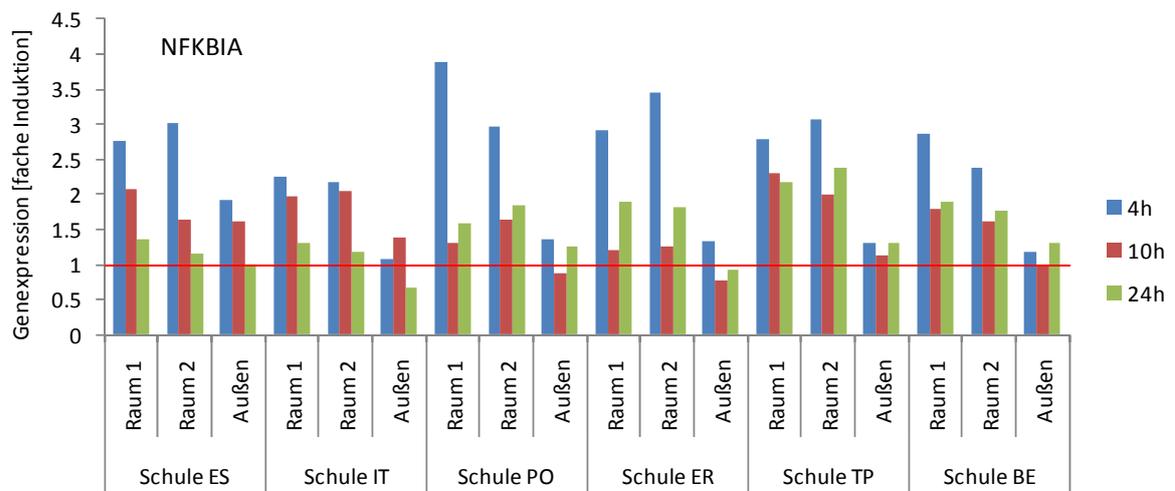
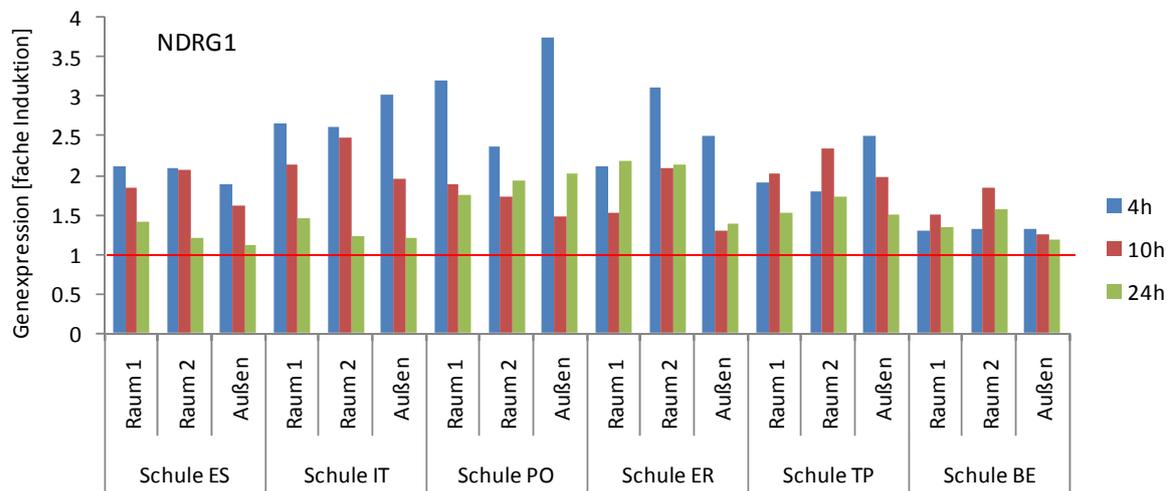
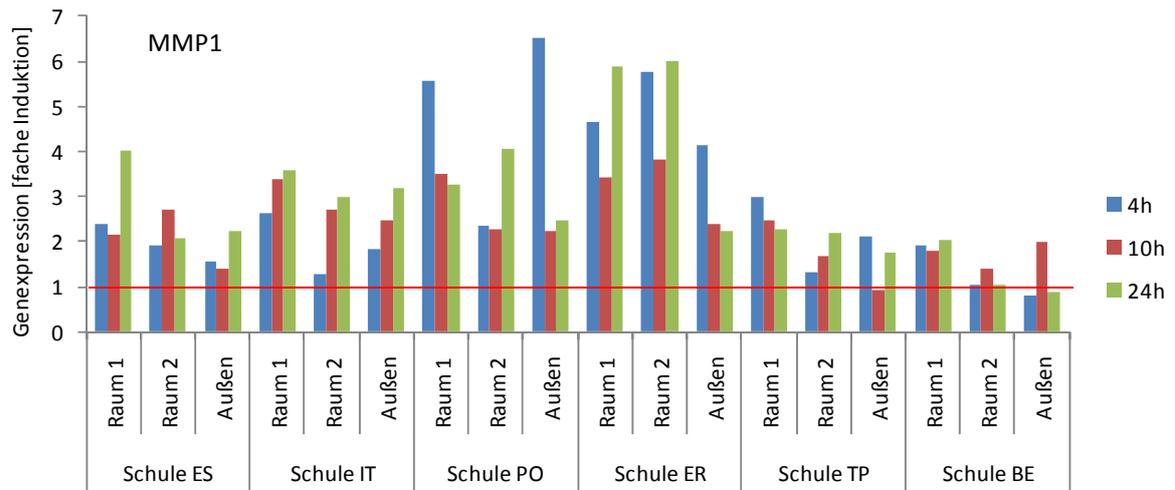
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen (Fortsetzung):



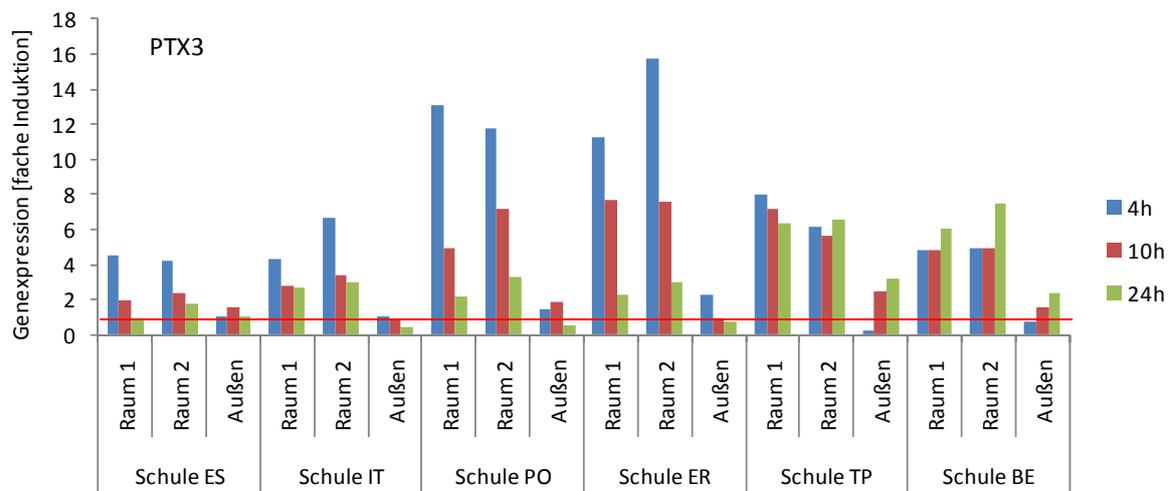
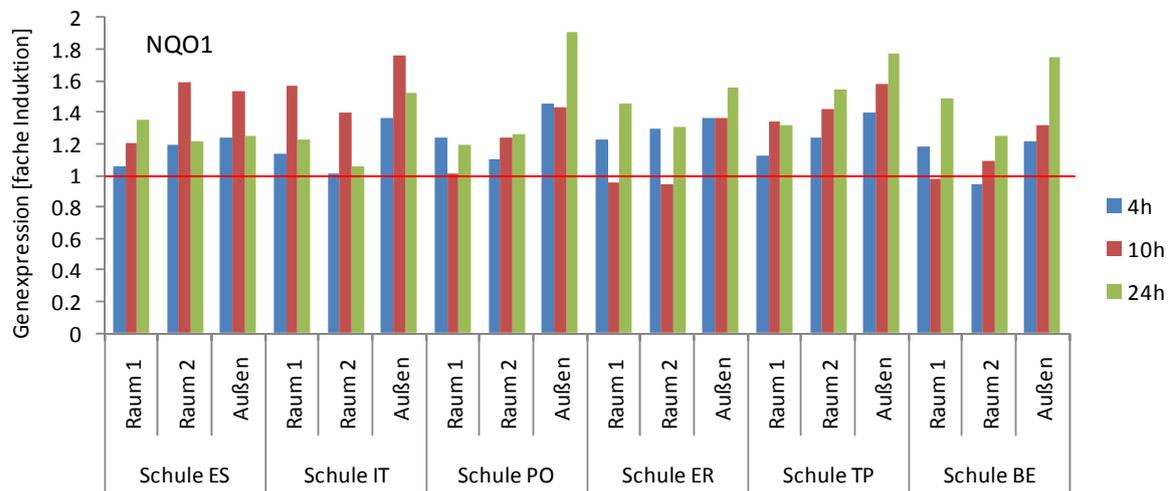
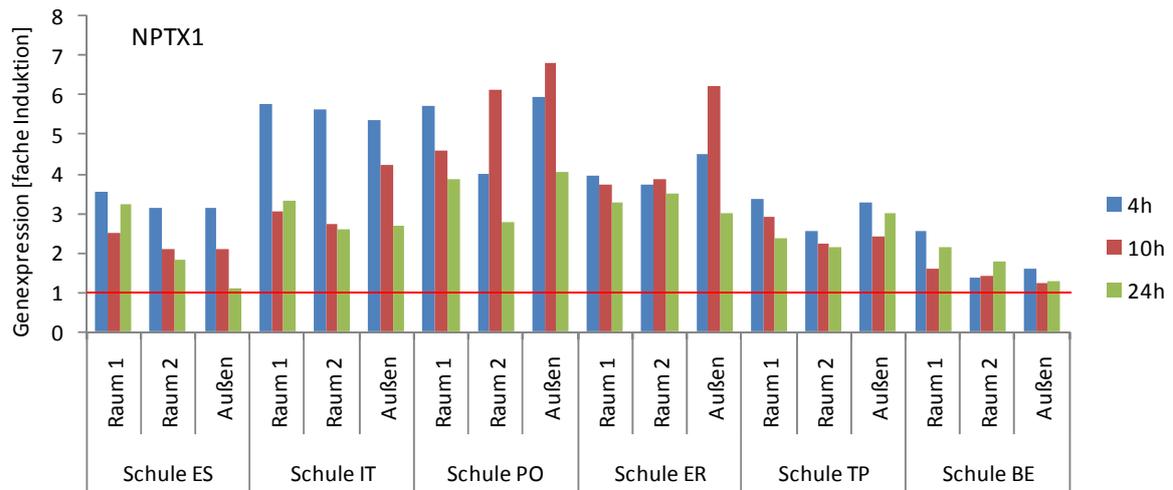
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen (Fortsetzung):



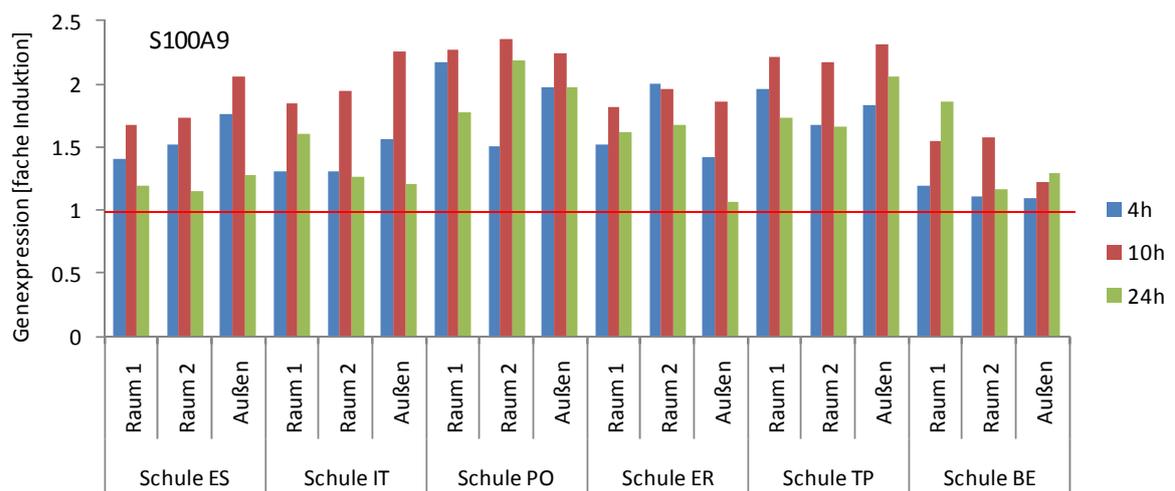
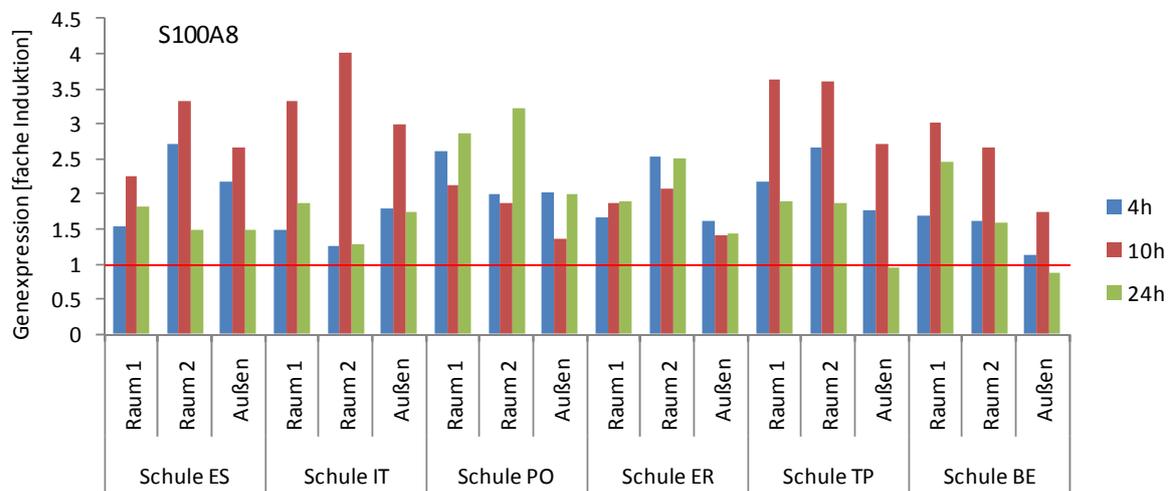
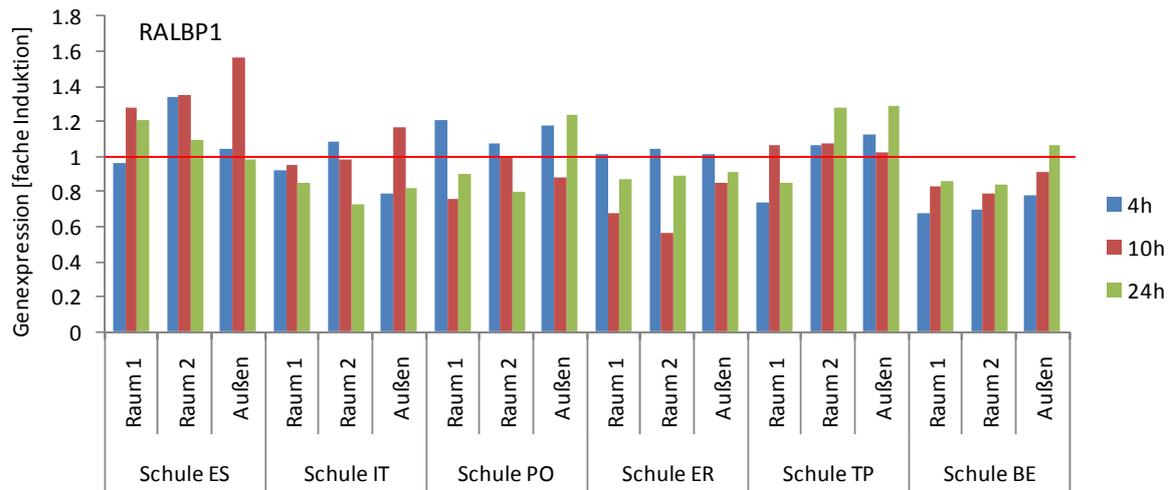
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen (Fortsetzung):



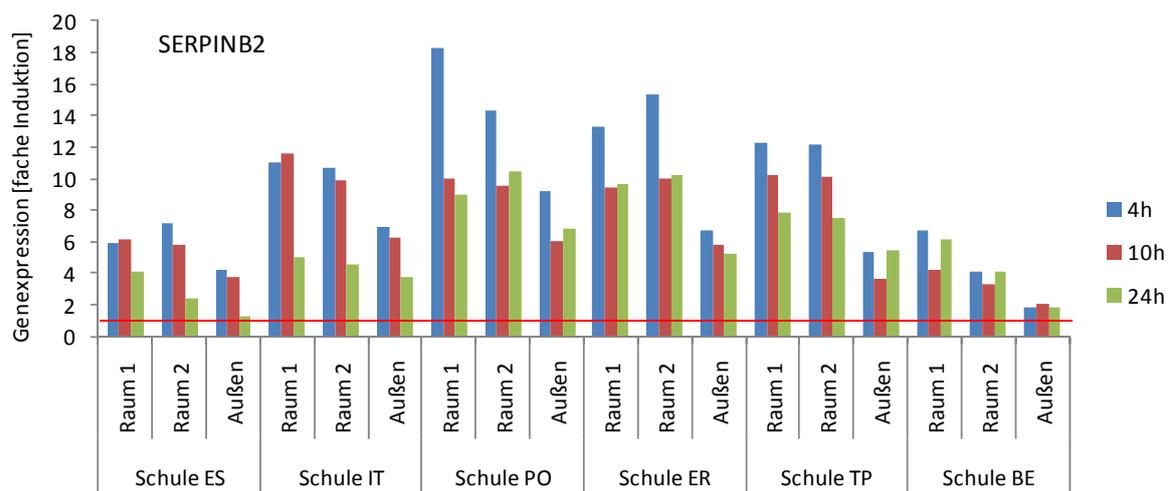
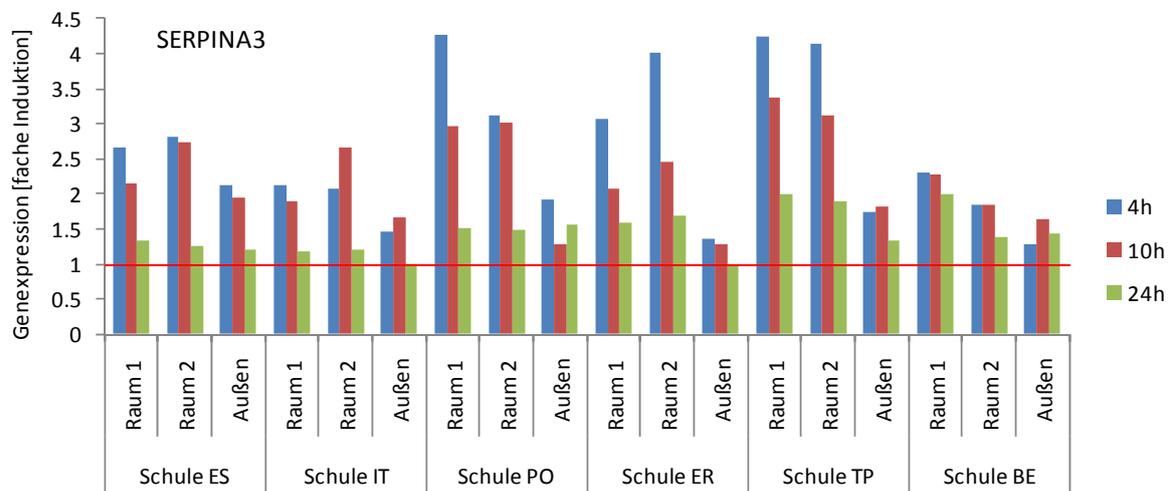
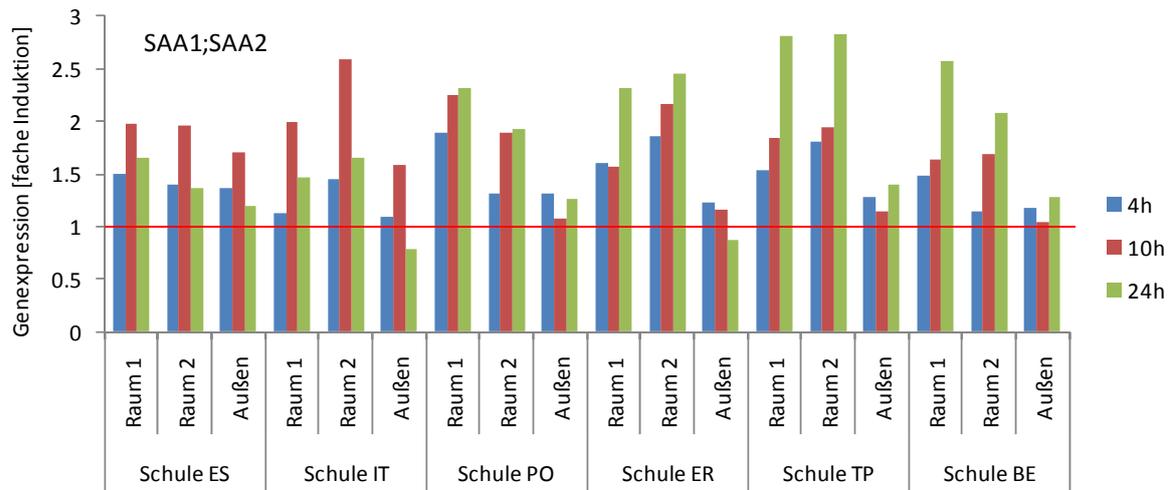
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen (Fortsetzung):



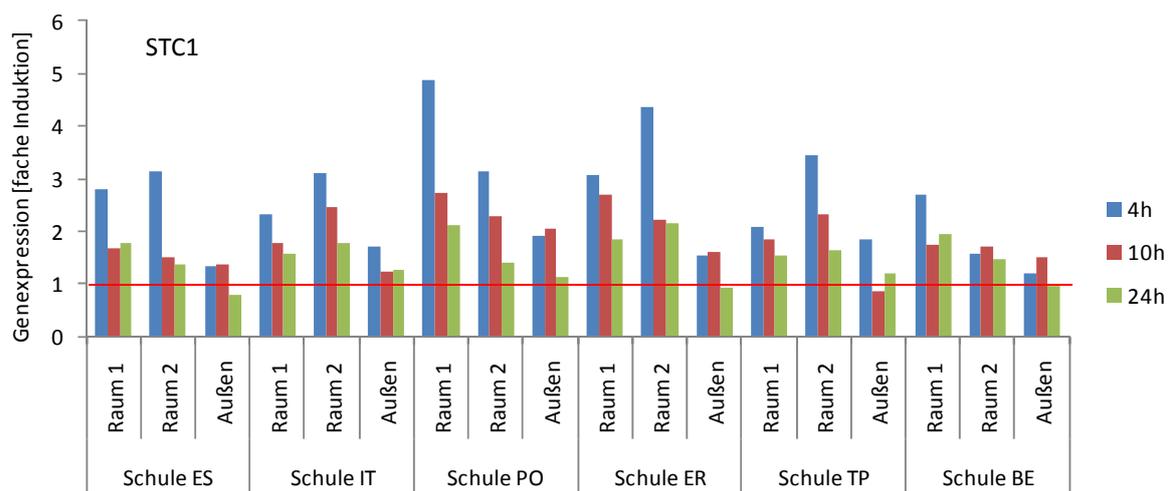
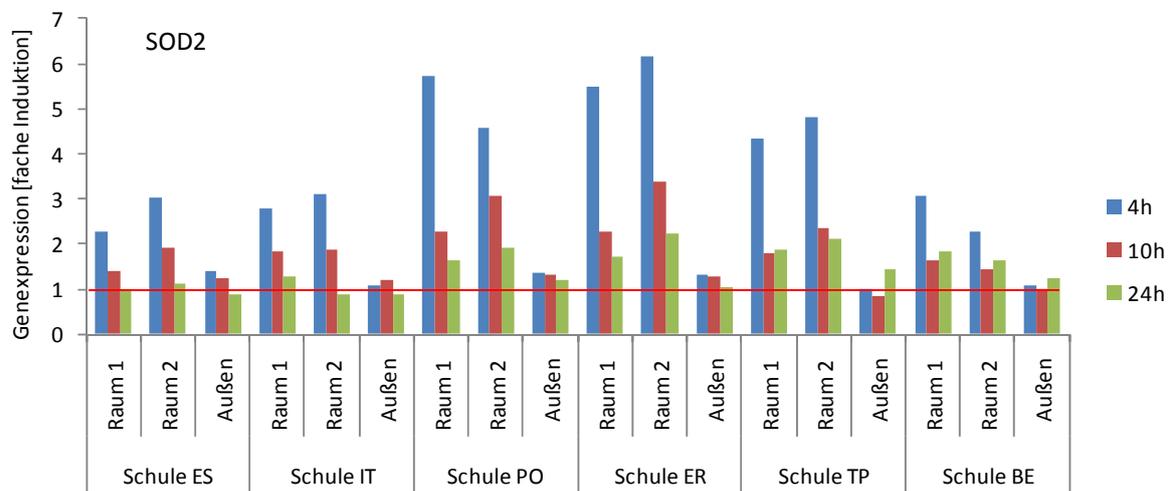
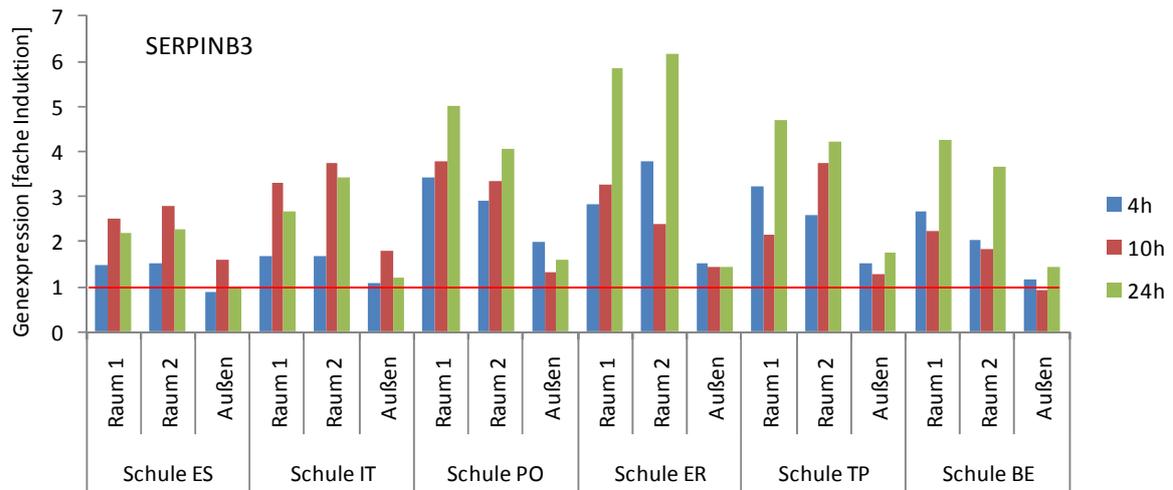
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen (Fortsetzung):



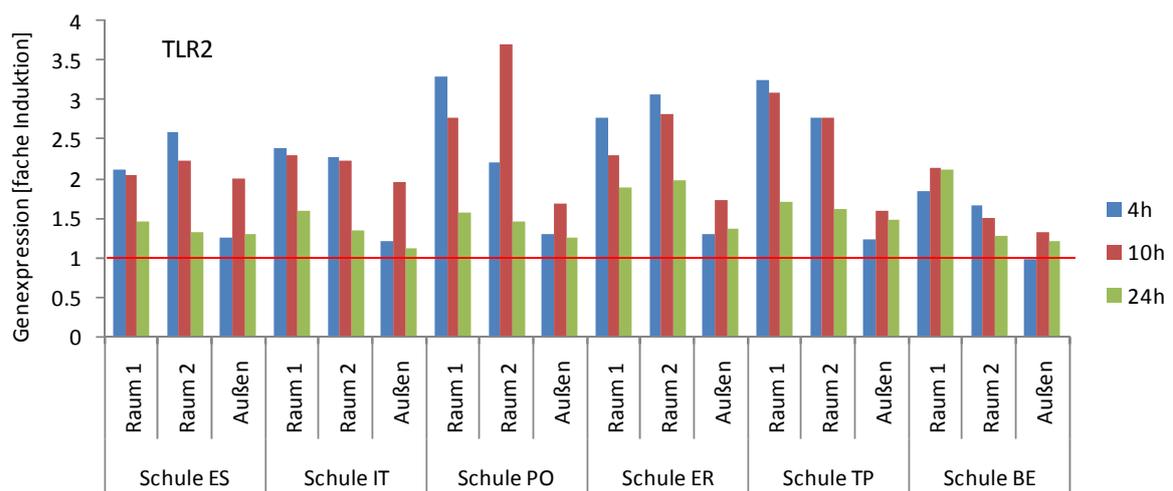
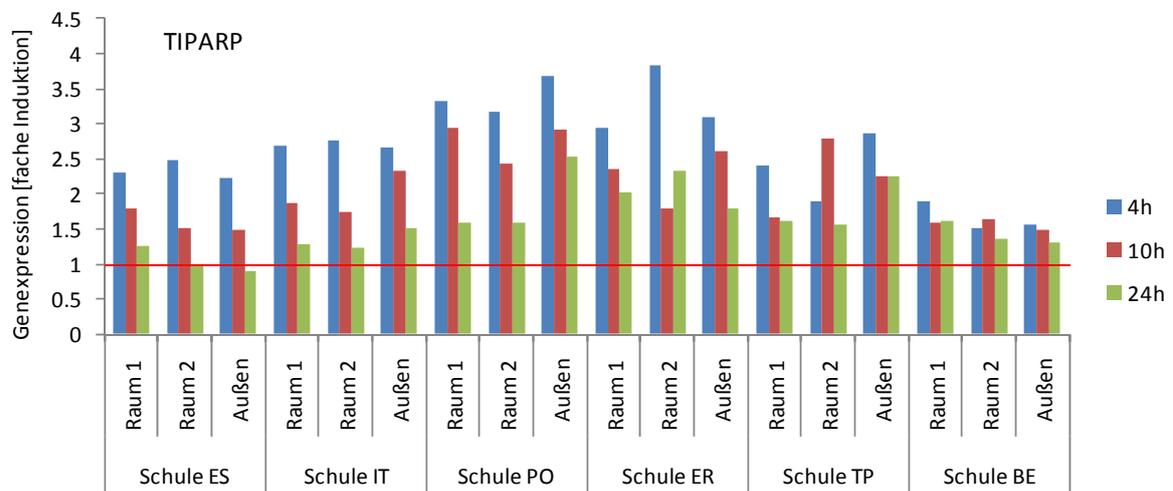
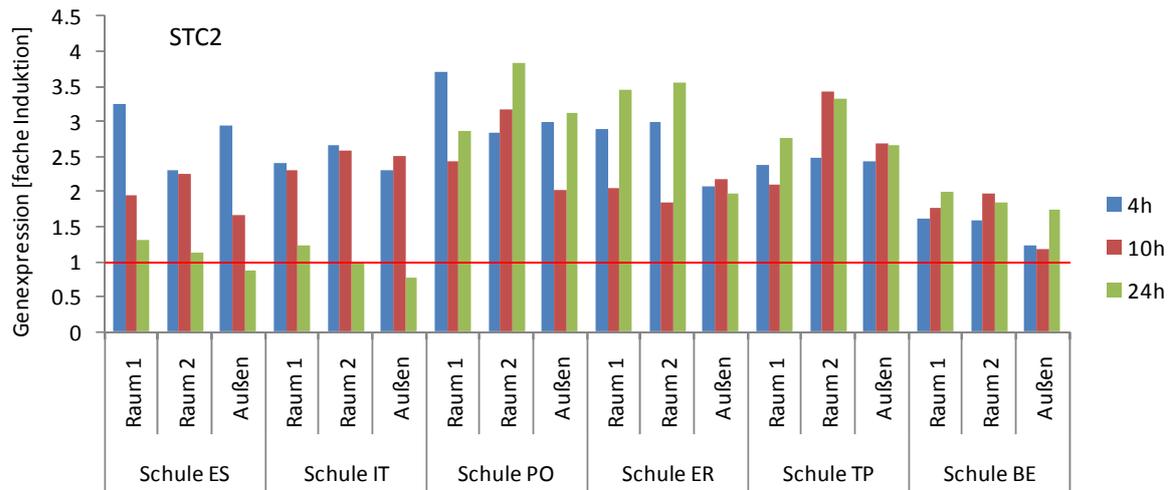
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen (Fortsetzung):



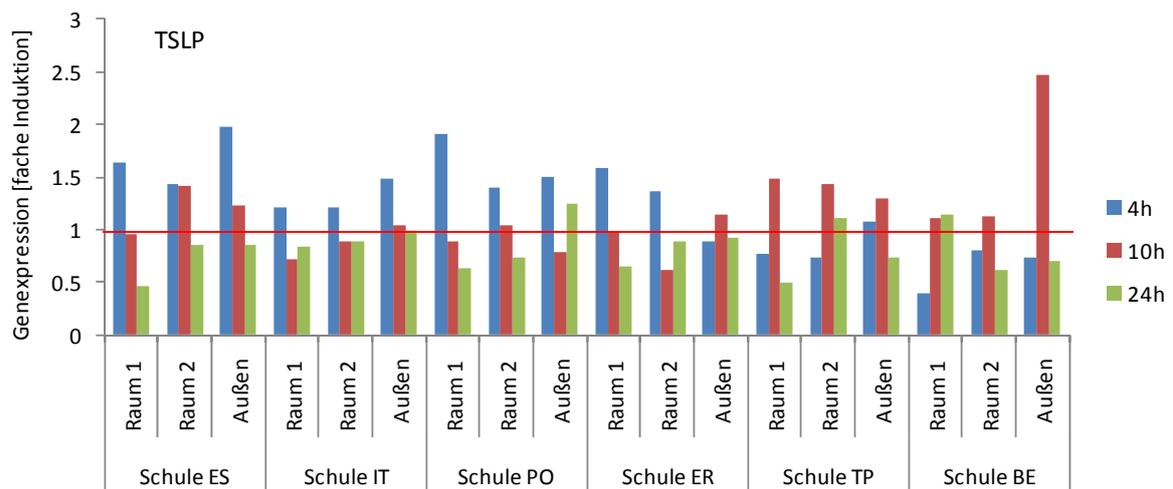
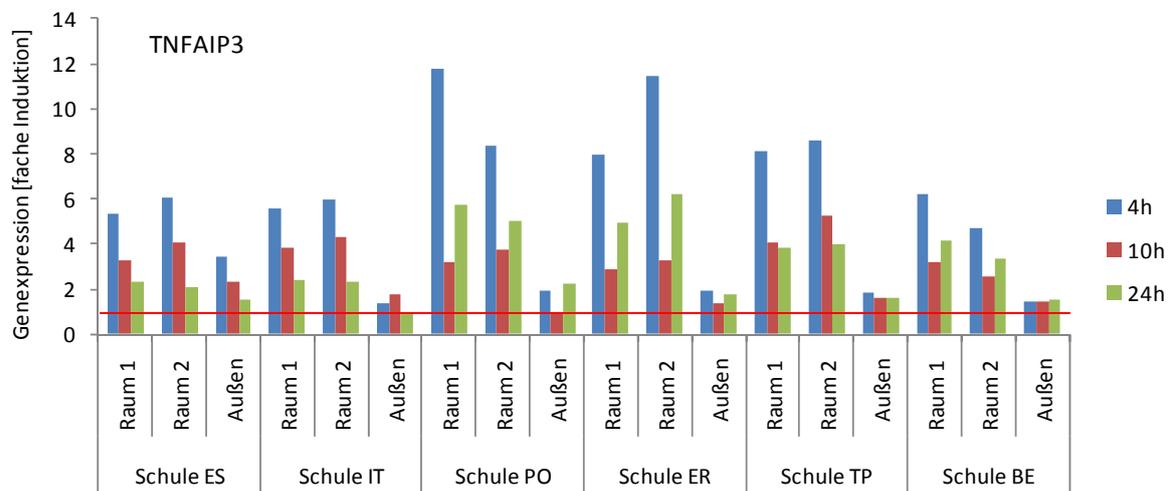
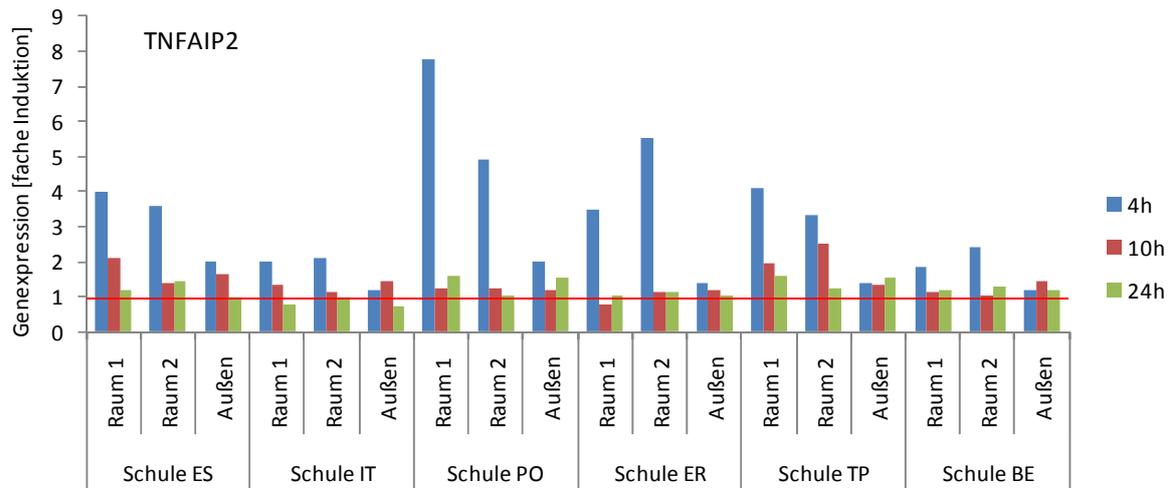
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen (Fortsetzung):



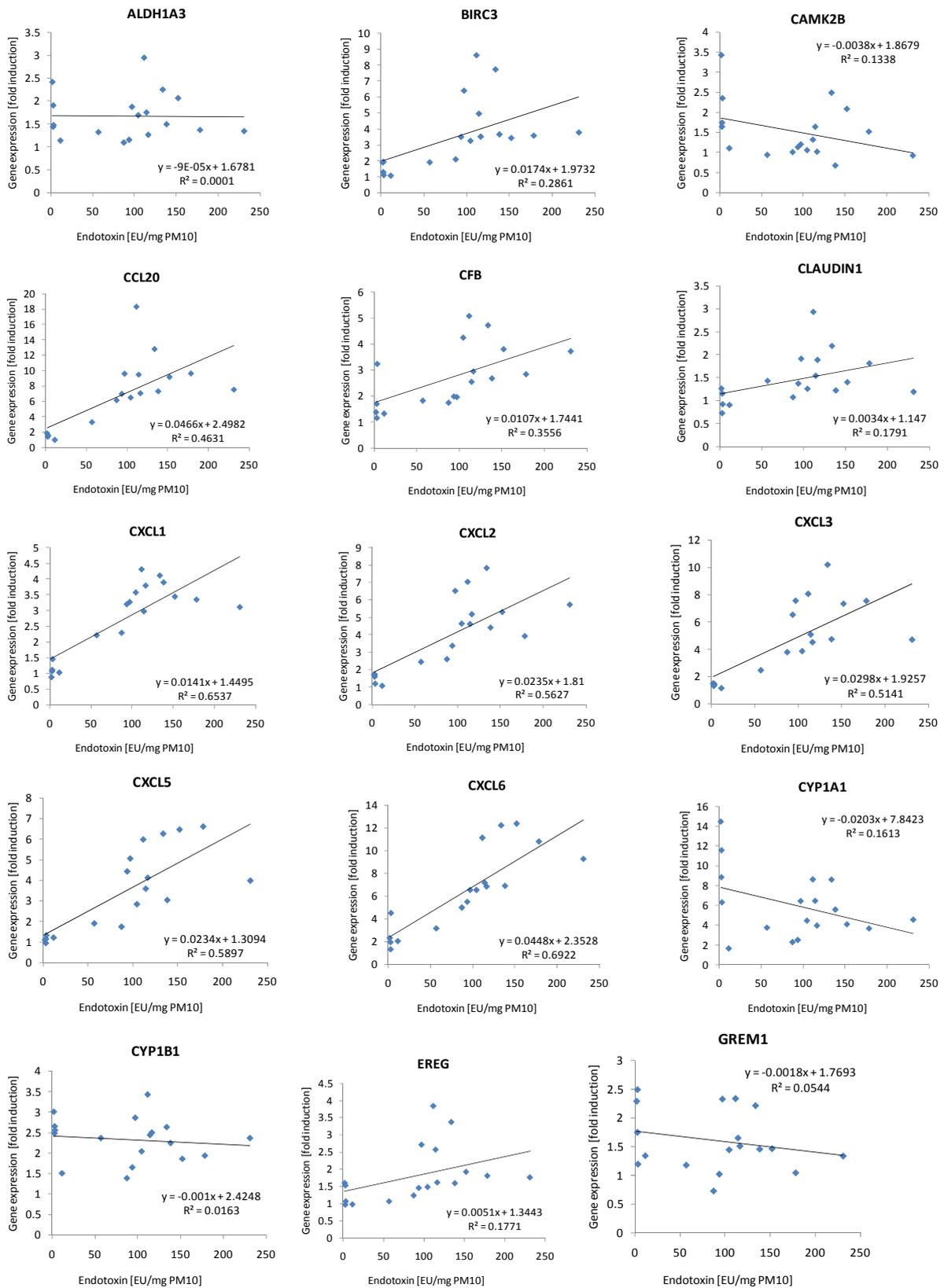
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen (Fortsetzung):



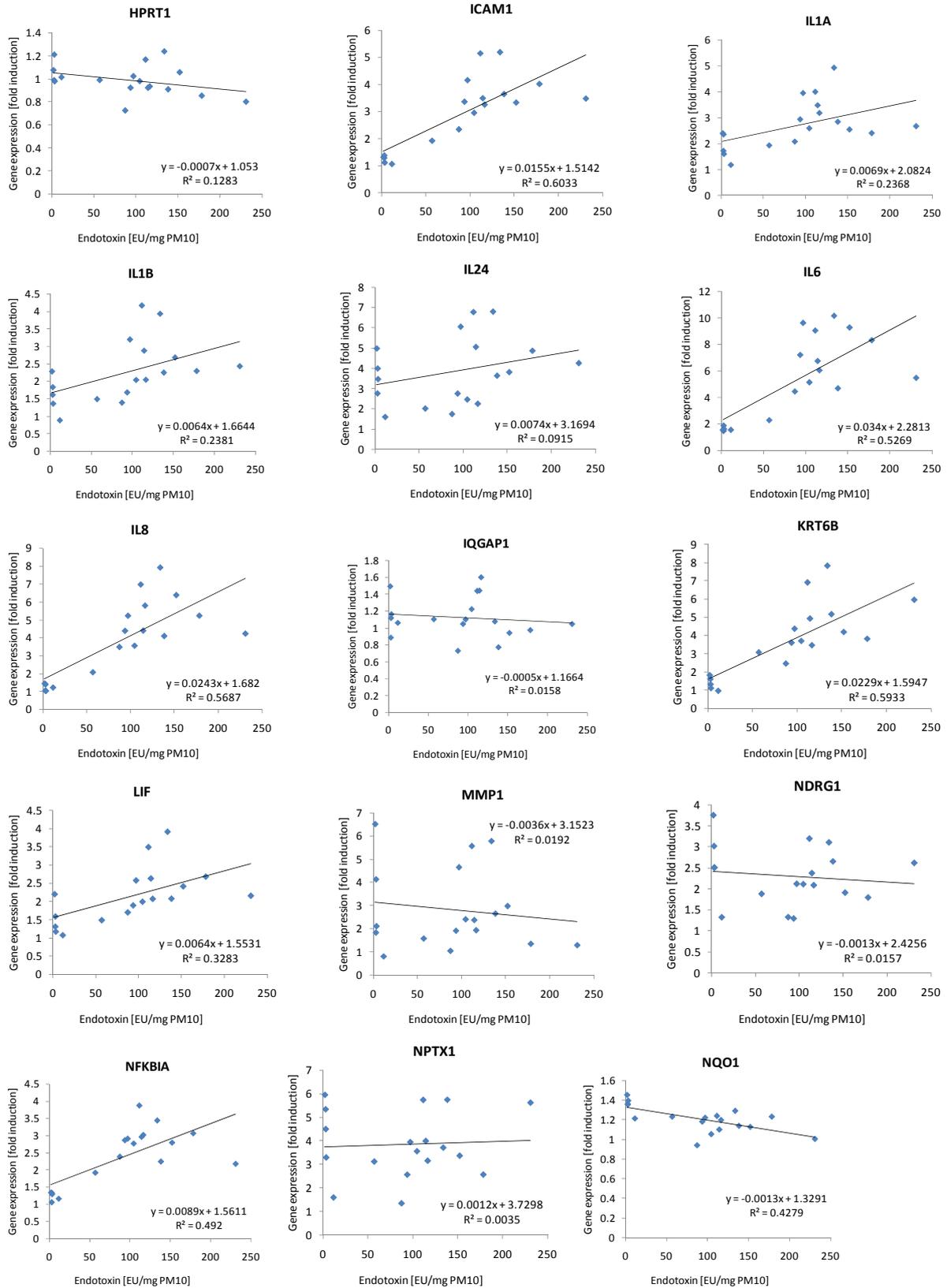
Einzelwerte der real-time PCR-Analysen (Fortsetzung):



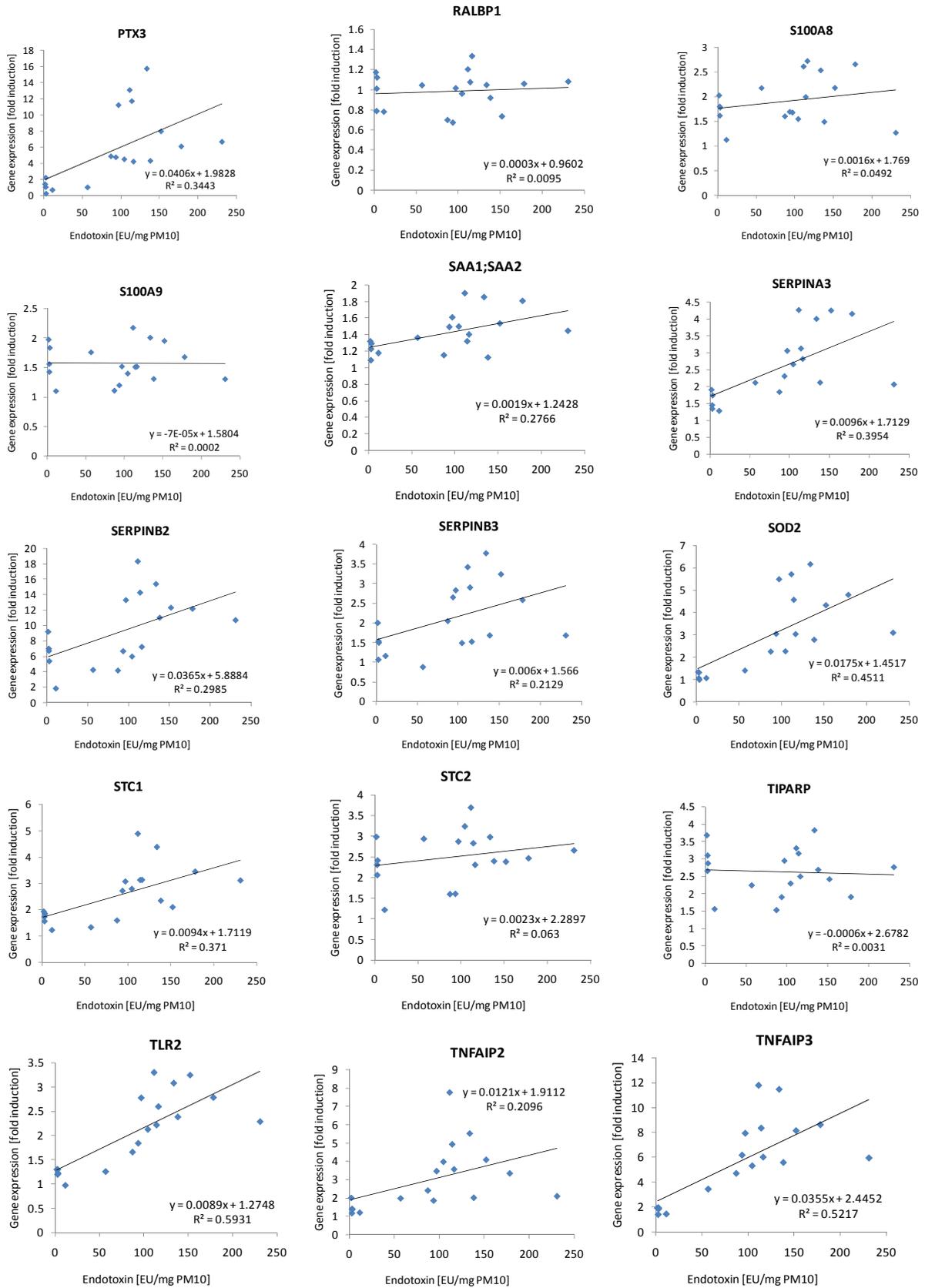
Korrelationsanalysen der Genexpression und des Endotoxingehalts:



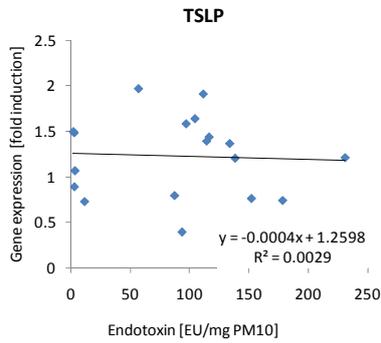
Korrelationsanalysen der Genexpression und des Endotoxingehalts (Fortsetzung):



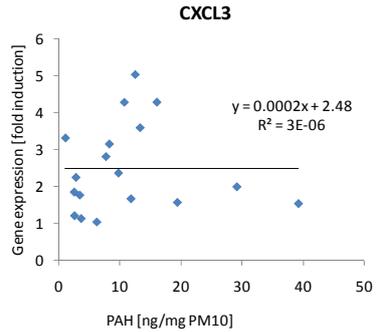
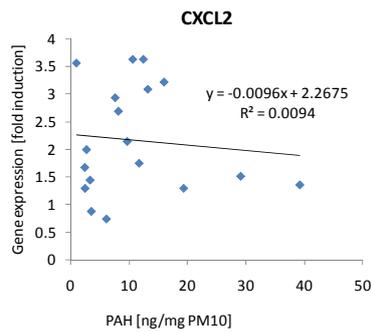
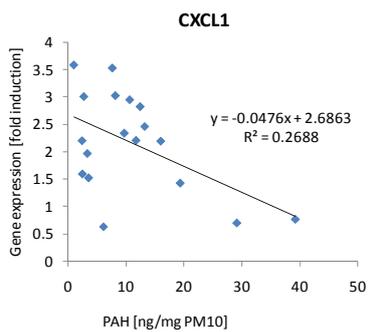
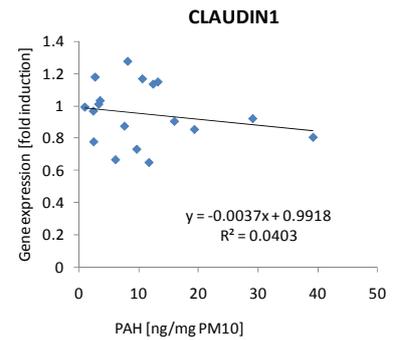
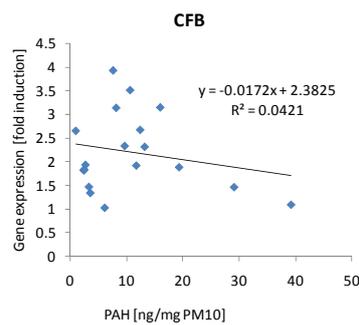
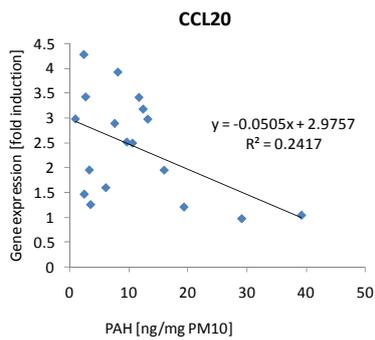
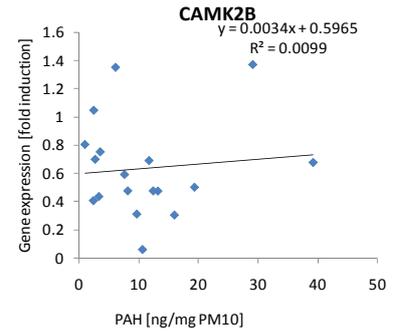
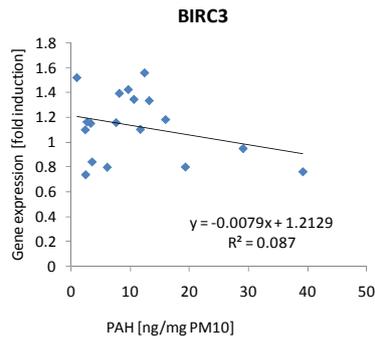
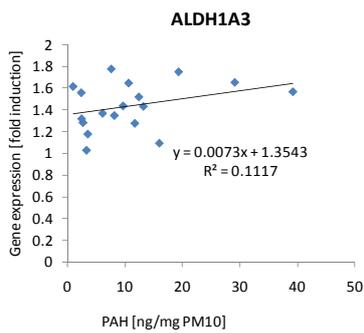
Korrelationsanalysen der Genexpression und des Endotoxingehalts (Fortsetzung):



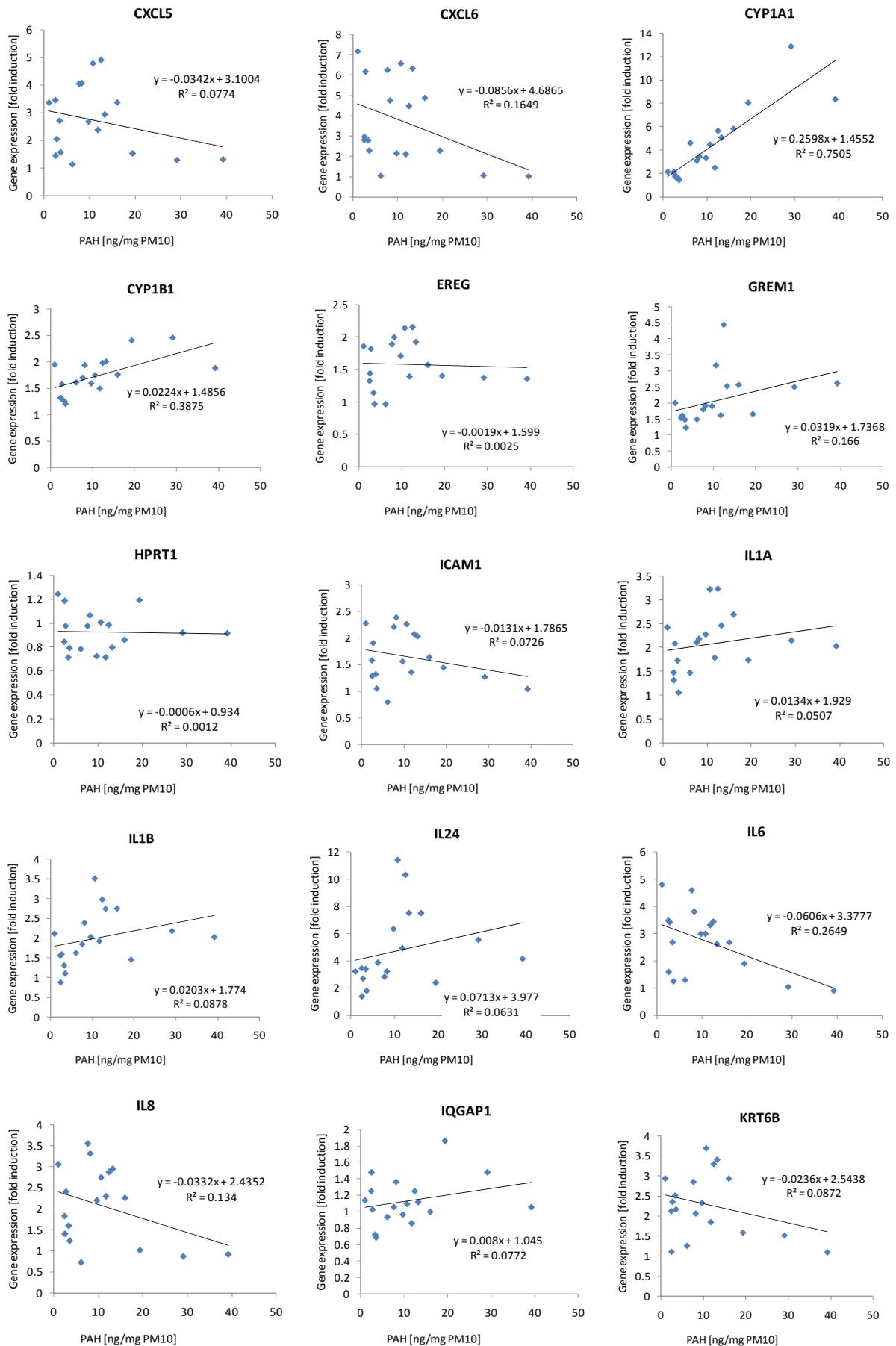
Korrelationsanalysen der Genexpression und des Endotoxingehalts (Fortsetzung):



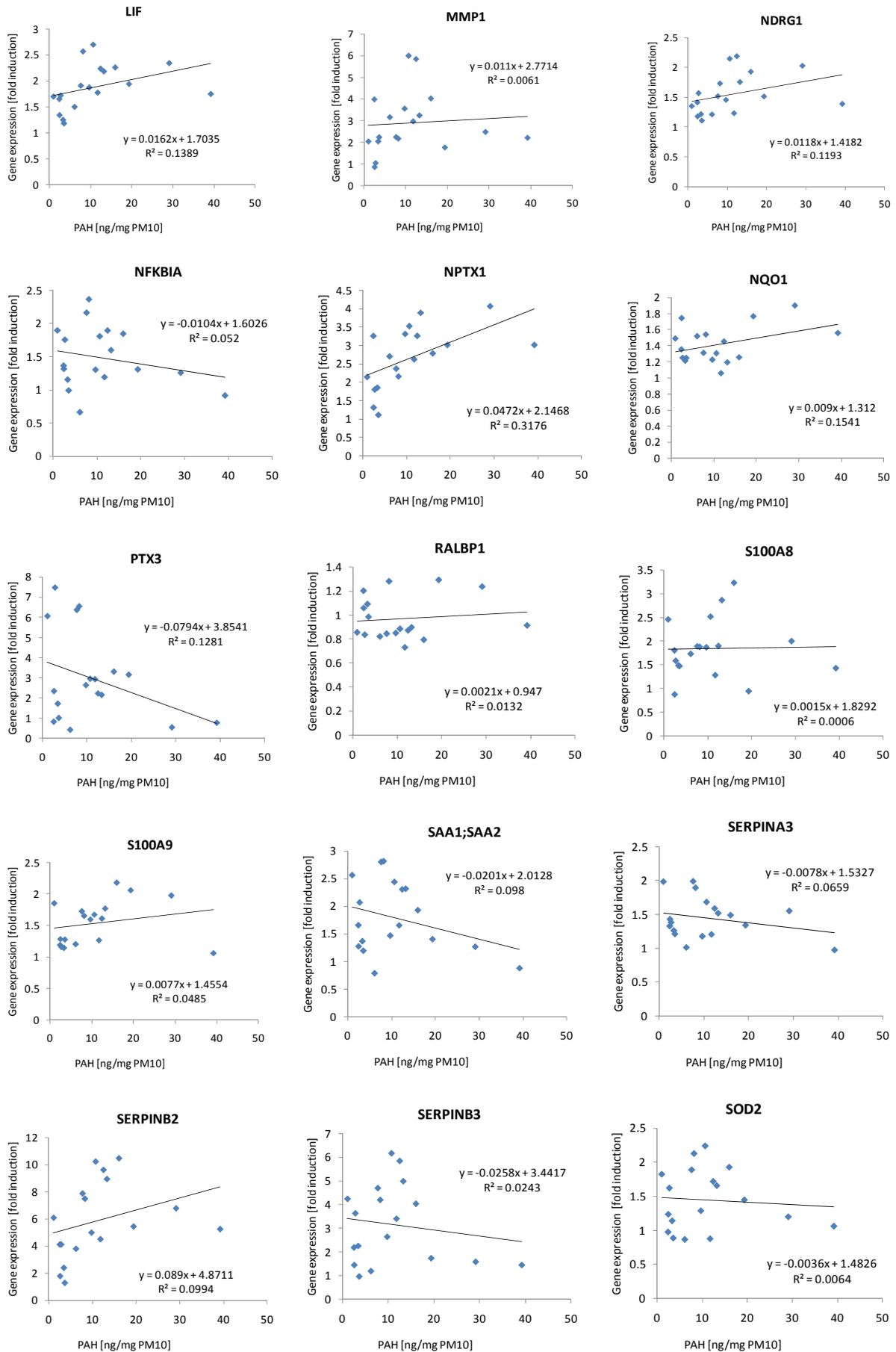
Korrelationsanalysen der Genexpression und des PAH-Gehalts:



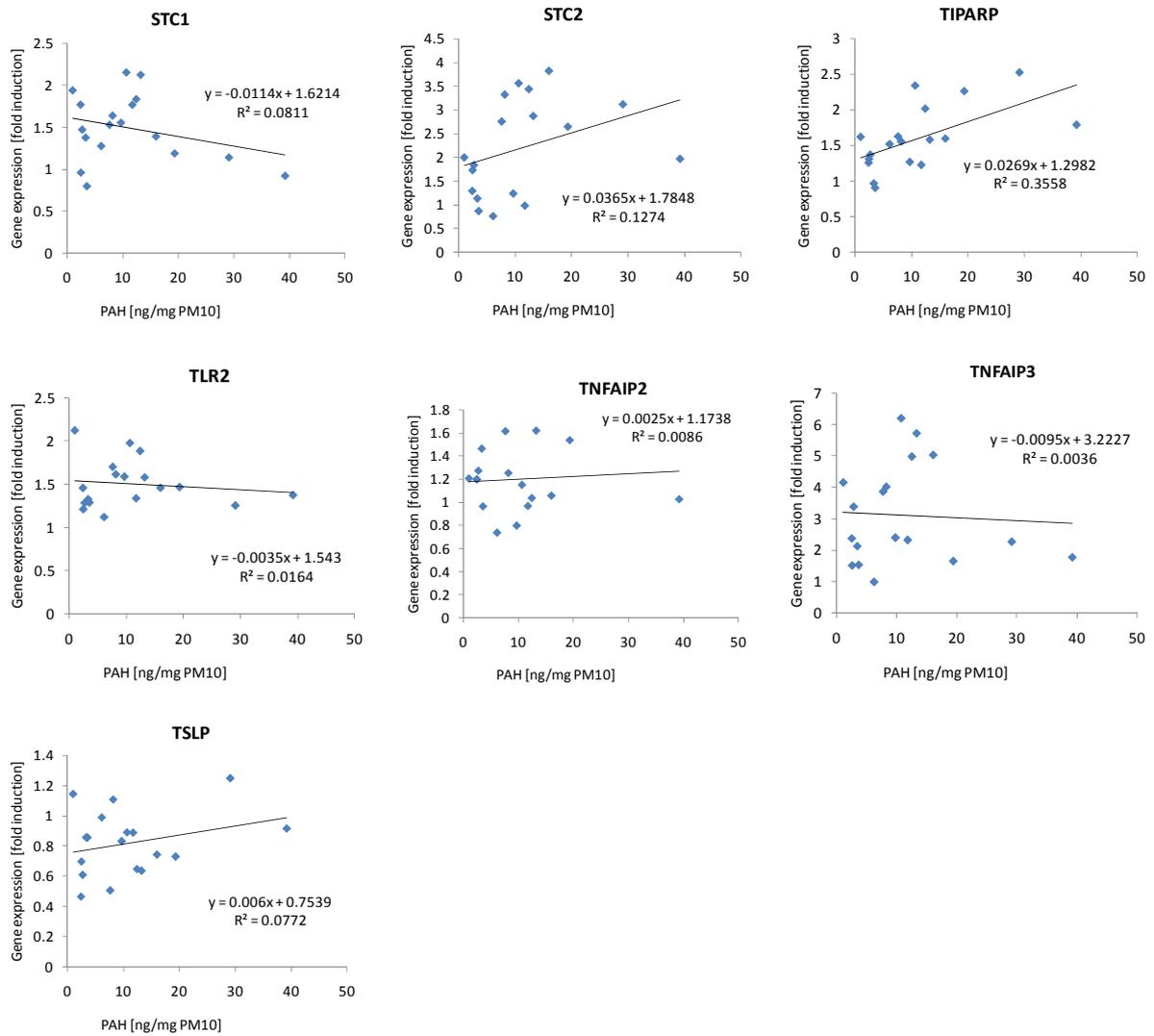
Korrelationsanalysen der Genexpression und des PAH-Gehalts (Fortsetzung):



Korrelationsanalysen der Genexpression und des PAH-Gehalts (Fortsetzung):



Korrelationsanalysen der Genexpression und des PAH-Gehalts (Fortsetzung):



Konzentrationen der einzelnen PAHs in den Staubproben:

Probe Substanz	ES 1 ng/mg	ES 2 ng/mg	ES Außen ng/mg	IT 1 ng/mg	IT 2 ng/mg	IT Außen ng/mg
Baa	0,09	0,07	0,12	0,29	0,37	0,22
Cry	0,17	0,18	0,25	0,3	0,39	0,24
Bep	0,25	0,37	0,4	0,7	1,32	0,68
Bbf	0,27	0,5	0,45	1,35	1,69	0,73
Bkf	0,11	0,21	0,17	0,63	0,75	0,31
Bap	0,38	0,37	0,42	1,35	1,55	0,86
Db	0,05	0,12	0,13	0,18	n.d.	0,2
Bgh	0,37	0,49	0,57	2,25	2,59	1,24
Ind	0,37	0,51	0,56	1,71	1,89	0,94
Cor	0,42	0,57	0,55	0,97	1,22	0,76
Summe	2,48	3,39	3,62	9,73	11,77	6,18

Probe Substanz	PO 1 ng/mg	PO 2 ng/mg	PO Außen ng/mg	ER 1 ng/mg	ER 2 ng/mg	ER Außen ng/mg
Baa	0,66	0,98	1,31	0,49	0,42	1,64
Cry	0,78	1,19	1,50	0,66	0,61	1,95
Bep	1,54	1,85	2,24	1,23	1,17	4,39
Bbf	1,88	2,28	4,62	1,83	1,48	5,68
Bkf	0,84	1,1	1,87	0,77	0,62	2,38
Bap	1,77	1,98	3,6	1,67	1,45	4,63
Db	0,24	0,22	0,29	0,22	0,19	0,28
Bgh	2,44	2,82	7,04	2,6	2,13	9,24
Ind	1,89	2,33	5,39	1,78	1,65	6,38
Cor	1,22	1,27	1,24	1,22	0,96	2,61
Summe	13,26	16,02	29,10	12,47	10,68	39,18

Probe Substanz	TP 1 ng/mg	TP 2 ng/mg	TP Außen ng/mg	BE 1 ng/mg	BE 2 ng/mg	BE Außen ng/mg
Baa	0,27	0,36	0,63	0,02	0,02	0,05
Cry	0,31	0,43	0,69	0,08	0,11	0,14
Bep	0,75	0,83	2,04	0,19	0,95	0,28
Bbf	1,12	1,18	2,45	0,11	0,2	0,29
Bkf	0,47	0,53	1,04	0,06	0,05	0,07
Bap	1,07	1,07	2,33	0,05	0,12	0,21
Db	n.d.	n.d.	0,17	n.d.	n.d.	0
Bgh	1,45	1,6	5	0,17	0,42	0,53
Ind	1,29	1,29	3,5	0,38	0,39	0,51
Cor	0,95	0,93	1,51	n.d.	0,52	0,46
Summe	7,68	8,22	19,36	1,06	2,78	2,54

Konzentrationen der einzelnen PAHs in den Staubproben (Fortsetzung):

Abkürzungen:

Benzo[<i>a</i>]anthracen	Baa	Chrysen	Cry
Benzo[<i>e</i>]pyren	Bep	Benzo[<i>b</i>]fluoranthen	Bbf
Benzo[<i>k</i>]fluoranthen	Bkf	Benzo[<i>a</i>]pyren	Bap
Dibenzo[<i>a,h</i>]anthracen	Dbba	Benzo[<i>g,h,i</i>]perylene	Bghi
Indeno[123- <i>c,d</i>]pyren	Ind	Coronen	Cor

VII. Lebenslauf

Name: Jürgen Sebastian Öder
Geburtstag /-ort: 09.09.1980 in Fürth (Bayern)
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

Promotion

2006-heute Promotion am Zentrum Allergie und Umwelt der Technischen Universität München und des Helmholtz Zentrum München unter der Leitung von Prof. Dr. Behrendt (bis 03/2010) und Prof. Dr. Schmidt-Weber (seit 4/2010); wissenschaftlicher Mitarbeiter im Bereich Molekulare Toxikologie und Expositionsforschung

Thema der Dissertation: Gesundheitliche Bedeutung von Feinstäuben aus Grundschulklassenzimmern

Weiterbildung

Seit 2008 Weiterbildung zum „Fachtoxikologen DGPT“ der deutschen Gesellschaft für experimentelle und klinische Pharmakologie und Toxikologie (DGPT)

Hochschulausbildung

2004-2006 Studium der Biologie an der Technischen Universität München; Abschluss: Master of Science (M.Sc.)
2003-2004 Studium der Biologie an der Technischen Universität München; Abschluss: Bachelor of Science (B.Sc.)
2001-2004 Studium der Biologie an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg; Vordiplom

Schulbildung

1994-2000 Gymnasium Fridericianum Erlangen; Abschluss: Abitur
1991-1994 Carl-von-Linde Gymnasium Kempten
1987-1991 Grundschule Hegge