

Programm Lebensgrundlage Umwelt  
und ihre Sicherung (BWPLUS)

Zwischenbericht anlässlich des  
Statusseminars des BWPLUS am 28.2. und 1.3.2001 im  
Forschungszentrum Karlsruhe

## **Spezies der KFZ-emittierten Platingruppenelemente (PGE) und ihre toxische Wirkung**

A. Hartwig<sup>1</sup>, A. Zeller<sup>1</sup>, T. Schwerdtle<sup>1</sup>, C. Menzel<sup>2</sup>, D. Stüben<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut für Lebensmittelchemie und Toxikologie, Universität Karlsruhe

<sup>2</sup>Institut für Petrographie und Geochemie, Universität Karlsruhe

Förderkennzeichen: BWB 20011

Die Arbeiten des Programms Lebensgrundlage Umwelt und ihre Sicherung werden mit  
Mitteln des Landes Baden-Württemberg gefördert

## **Spezies der KFZ-emittierten Platingruppen-elemente (PGE) und ihre toxische Wirkung**

A. Hartwig<sup>1</sup>, A. Zeller<sup>1</sup>, T. Schwerdtle<sup>1</sup>, C. Menzel<sup>2</sup>, D. Stüben<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut für Lebensmittelchemie und Toxikologie, Universität Karlsruhe

<sup>2</sup>Institut für Petrographie und Geochemie, Universität Karlsruhe

### **Summary**

During the last years, comparatively high concentrations of platinum group elements derived from automobile catalysts have been detected along high-traffic streets and in cities. Nevertheless, only little is known about their toxic potentials. Aim of this project is to investigate the bioavailability and potential genotoxic effects of platinum, palladium and rhodium compounds in mammalian cells in culture. By applying metallic platinum and palladium particles, we examined the suitability of different methods to estimate their bioavailability. The physical characteristics of the particles were evaluated by electron microscopy and X-ray diffractometry. Phagocytosis of the particles by A549 lung cells was demonstrated by light microscopy. Finally, a procedure was established to quantitate platinum- and palladium-induced DNA adducts by HR-ICP-MS. In preliminary experiments, there was a dose-dependent induction of DNA adducts after exposure of A549 cells towards both types of particles, indicating their bioavailability.

### **Zusammenfassung**

Vergleichsweise hohe Platingruppen-element-Emissionen aus Autokatalysatoren sind in den letzten Jahren entlang von Autobahnen und in Städten nachgewiesen worden, über deren Toxizität bislang nur wenig bekannt ist. Ziel der Untersuchungen im Rahmen dieses Projektes ist die Abklärung der Bioverfügbarkeit sowie eines möglichen genotoxischen Potentials von Platin-, Palladium- und Rhodiumverbindungen in Säugerzellen. Im Rahmen dieser Vorstudie sollten anhand von metallischen Platin- und Palladiumverbindungen zunächst die geplanten Methoden auf ihre Anwendbarkeit für diese Fragestellung geprüft und erste Abschätzungen über die Bioverfügbarkeit der PGE getroffen werden. Dabei wurden zunächst die Größe und physikalischen Eigenschaften der eingesetzten Partikel durch Rasterelektronenmikroskopie und Röntgendiffraktometrie bestimmt. Ihre Phagozytose durch A549 Lungenzellen konnte qualitativ durch Lichtmikroskopie nachgewiesen werden. Schließlich gelang es, eine Methode zum quantitativen Nachweis von Platin- und Palladium-induzierten DNA-Addukten mit Hilfe der HR-ICP-MS zu etablieren und es konnte in ersten Versuchen gezeigt werden, daß die Exposition von A549 Lungenzellen gegenüber metallischen Palladium- und Platinpartikeln zu einer deutlich meßbaren DNA-Adduktbildung führt. Somit muß von einer Bioverfügbarkeit der Partikel ausgegangen werden.

## **1 Einleitung**

Platin-, Palladium- und Rhodiumverbindungen werden aus Automobil-Katalysatoren als Metallpartikel oder Metalloxide in geringen Konzentrationen in die Umwelt freigesetzt (Wei and Morrision; Cubelic et al., 1997; LfU, 1999). Während einige Literaturdaten zur Toxikologie löslicher Platin-, Palladium- und Rhodiumkomplexe vorliegen, ist über die toxische Wirkung chronischer Expositionen gegenüber Platingruppenelementen aus Autokatalysatoren noch vergleichsweise wenig bekannt. Die Frage einer möglichen Bioverfügbarkeit von Platin aus Katalysatoren wurde von Artelt et al. (1999) untersucht. Hierbei wurde eine Modellsubstanz synthetisiert, bei der Platinpartikel  $\geq 4$  nm auf Aluminiumoxidpartikel  $\leq 5$   $\mu$ m geschichtet wurden. Diese Substanz zeigte eine nur geringe Löslichkeit in reinem Wasser, aber eine vergleichsweise hohe Löslichkeit in physiologischer, 0,9 %iger Kochsalzlösung. In anschließenden Versuchen mit Ratten, die entweder durch intratracheale Instillation oder durch Inhalation exponiert wurden, wurde u.a. beobachtet, daß bis zu 30% der inhalierten Platinpartikel bioverfügbar waren. Toxikologische Untersuchungen, wie etwa eine mögliche DNA-Bindung oder Gentoxizität, fehlen noch und sind dringend erforderlich.

Ziel der toxikologischen Untersuchungen im Rahmen dieses Projektes ist die Abklärung der Bioverfügbarkeit sowie eines möglichen gentoxischen Potentials von Platin-, Palladium- und Rhodiumverbindungen in Säugerzellen. Von besonderem Interesse sind dabei zum einen partikuläre Verbindungen, wie sie aus Katalysatoren emittiert werden, sowie die Verbindungsformen, die nach Transformationsprozessen in der Umwelt bzw. im menschlichen Organismus auftreten bzw. vermutet werden. Diese Untersuchungen sollen in potentiellen Zielzellen der toxischen Wirkung (Lungenzellen, Darmepithelzellen) sowie in reparaturkompetenten und reparaturdefekten menschlichen Fibroblasten durchgeführt werden.

Ziel der Vorstudie war es zunächst, die geplanten Methoden auf ihre Anwendbarkeit für diese Fragestellung zu überprüfen. Darüber hinaus sollte eine erste Abschätzung der Bioverfügbarkeit von Platingruppenelementen erfolgen. Von besonderer Bedeutung war dabei die Frage, ob nach Inkubation von A549 Lungenzellen mit Platin-, Palladium- oder Rhodiumverbindungen eine DNA-Bindung der jeweiligen Elemente nachgewiesen werden kann. Als Modellsubstanzen wurden metallische PGE eingesetzt; die Analyse erfolgte mit Hilfe der HR-ICP-MS.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Zellkultur**

A549 Zellen (DSM, ATCC 107) wurden in DMEM-Medium (10 % FKS, 100 U Penicillin/ml, 100  $\mu$ g Streptomycin/ml) im Brutschrank bei 37°C, 5% CO<sub>2</sub> und 100% Luftfeuchtigkeit als Monolayer kultiviert.

## 2.2 Vorbereitung der Partikel und Inkubation

Direkt vor Versuchsbeginn wurden die Partikel im Trockenschrank 30 min bei 110°C sterilisiert und eine Stammsuspension (jeweils 2-3 mg/ml autoklaviertem, bidestilliertem Wasser) 20 min in einem Ultraschallbad behandelt. Anschließend wurden logarithmisch wachsende A549 Zellen inkubiert. Nachfolgend wurden die Zellen viermal mit PBS gewaschen, abtrypsiniert und die DNA bzw. die Zellkerne wurden isoliert.

## 2.3 Bestimmung des Phagozytose-Index

Je 150.000 Zellen wurden in mit sterilen Deckgläschen bestückten Zellkulturschalen ausgesät, nach 24 h mit Platin- bzw. Palladium-Partikeln versetzt und 24 h inkubiert. Nach viermaligem Waschen mit PBS wurden die Deckgläschen entnommen, die Zellen 5 min mit Ethanol fixiert und 5 s mit Kristallviolett (0,25%ig in Methanol) angefärbt. Nach dem Aufbringen der Deckgläschen auf Objektträger wurde unter dem Lichtmikroskop ausgezählt, wieviele Zellen einen oder mehrere Partikel aufgenommen hatten. Dividiert durch die Gesamtzahl der ausgezählten Zellen ergibt dies den Phagozytose-Index.

## 2.4 DNA-Isolierung

Die Isolierung der DNA basiert auf einer modifizierten Methode nach Sambrook et al.(1998). Die abtrypsinierten Zellen ( $3 - 6 \times 10^6$ ) wurden in eiskalter TBS-Lösung (0,0027 M KCl, 0,137 M NaCl, 0,025 M Tris-Base, pH 7,4) aufgenommen, gezählt und 4 min bei 1300 rpm (4°C) zentrifugiert. Nach einem erneuten Wasch- und Zentrifugationsschritt wurde das Zellpellet vorsichtig in 100 µl TE-Puffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8) aufgenommen und die Zellsuspension nach Zugabe von 900 µl Extraktionspuffer (10 mM Tris-HCl, pH 8, 0,1 M EDTA, 20 µg/ml RNase (DNase-frei), 0,5 % SDS) 1 h bei 37°C inkubiert. Nach Zugabe von Proteinase K (Endkonzentration 100 µg/ml) und 3 h Inkubation im Wasserbad bei 50°C wurde die Lösung zunächst auf Raumtemperatur abgekühlt. Zur Abtrennung der DNA von den Proteinen wurde die Lösung mit 1 Vol einer Mischung aus trisgepuffertem Phenol, Chloroform und Isoamylalkohol (25:24:1) versetzt, geschüttelt und danach zur Phasentrennung mit 10000g bei RT 10 min zentrifugiert. Mit der oberen wässrigen Phase wurde die Phenol-Chloroform-Isoamylalkohol-Extraktion ein- bis zweimal wiederholt, bis keine Interphase mehr beobachtet wurde. Zur vollständigen Entfernung des Phenols aus der wässrigen Phase schloß sich eine Extraktion mit Chloroform-Isoamylalkohol (24:1) analog der Phenol-Chloroform-Isoamylalkohol-Extraktion an. Nachfolgend wurde die DNA durch Zugabe von 0,2 Vol 10 M Ammoniumacetatlösung zur wässrigen DNA-Lösung und 2 Vol Ethanol (absolut) ausgefällt und 12 h bei -18°C aufbewahrt. Nach 10 min Zentrifugation bei 6000g (4°C) wurde das DNA-Pellet vorsichtig in 70%igem Ethanol aufgenommen und anschließend erneut bei 6000g (4°C) 10 min zentrifugiert. Dieser Waschschrift wurde viermal wiederholt. Zuletzt wurde das gereinigte DNA-Pellet in einem definierten Volumen bidest. Wasser aufgenommen und die Konzentration wurde photometrisch

anhand der Absorption bei 260 nm bestimmt. Der Quotient  $A_{260}/A_{280}$  gibt Aufschluß über die Reinheit der DNA.

## 2.5 Isolierung der Zellkerne

Ca.  $4 \times 10^6$  abtrypsinierte Zellen wurden 1 min mit 10900g bei RT zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen, die Zellen in 2 ml Zellkernpuffer (10 mM Tris- HCl, pH 7,5, 3 mM  $MgCl_2$ , 10 mM NaCl) gut gemischt und erneut 1 min mit 10900 g bei RT zentrifugiert. Nach der Wiederholung des vorangegangenen Schrittes wurde das Zellpellet in 1 ml kaltem 0,5%igem NP 40 aufgenommen, 5 min inkubiert, gemischt und mit 1 ml Zellkernpuffer eine Zellkernsuspension hergestellt. Nach dem Zählen in einem Casy-Zellanalysegerät (Schärfe Systeme, Reutlingen) wurden die Zellkerne 3 min bei 10900 g bei 4°C abzentrifugiert.

## 2.6 Quantifizierung der PGE-DNA-Addukte durch HR-ICP-MS

### *Mikrowellenaufschluß (MW) als Probenvorbereitung für die HR-ICP-MS*

Die in 600 µl bidest. Wasser aufgenommenen DNA-Proben wurden zusammen mit 1 ml  $H_2O_2$  (30 % v/v, suprapur, Merck) und 1 ml  $HNO_3$  (65 % v/v, subboiled aus  $HNO_3$  65% v/v p.a. Merck) mittels einer Mikrowelle (Microwave Laboratory Systems MLS 1200 Mega 240-T, Leutkirch) innerhalb von 30 min aufgeschlossen. Anschließend wurden die MW-Aufschlußgefäße mit bidest. Wasser gründlich ausgespült, die Aufschlußlösungen in einen Glaskolben überführt und auf ein definiertes Volumen von 10 ml aufgefüllt, um die hohen Säurekonzentrationen zu reduzieren (Zimmermann et al. 2001, Menzel et al. 2001).

Zur Kalibrierung der HR-ICP-MS („Axiom“, VG Elemental, Großbritannien) wurde eine externe Kalibrierung mit interner Standardisierung gewählt, indem aus einer zertifizierten PGE-Multielementstandardlösung (Konzentration 10 µg/ml, SOL#3, SPEX-CERTI Prep. Inc., USA) eine 5 ng/ml Zwischenlösung eingestellt wurde. Aus dieser Zwischenlösung wurden Kalibrierungslösungen (Volumen 5 ml) mit Konzentrationen von 10, 25, 50, 100 und 250 pg/ml angesetzt. Zusätzlich wurden 50 µl aus einer 1 ng/ml In (verdünnt aus einer 1000 µg/ml-Standardlösung, Alfa Morton Thiokol, Inc.) zu jeder Meßlösung als interner Standard pipettiert. Sämtliche Verdünnungen wurden mit 1 % v/v  $HNO_3$  (subboiled Qualität)/ 1 % v/v  $H_2O_2$  (suprapur) vorgenommen, um die Matrix der Kalibrationslösungen an die der Aufschlußlösungen anzugleichen. Um den Einfluß möglicher Interferenzen abzuschätzen, wurden zusätzlich bei jeder Messung die für PGE typischen Störelemente (Cl, Cu, Zn, Sr, Zr, Cd, Hf) aufgenommen. Zur Reinigung der MW-Gefäße wurden 3 Aufschlüsse nur mit den Aufschlußreagenzien durchgeführt. Sonstige Gefäße wurden direkt vor Gebrauch 3 mal mit 1 % v/v  $HNO_3$  und anschließend 3 mal mit bidest. Wasser gespült.

### *Veraschung als Probenvorbereitung für die HR-ICP-MS*

Zur Vorbereitung der Analyse wurde die DNA erneut in Ethanol ausgefällt und insgesamt viermal gewaschen. Anschließend wurde das DNA-Pellet bei RT 4 h getrocknet, mit 200 µl frisch angesetzter Aufschlußlösung (1 Teil HNO<sub>3</sub> 65% v/v suprapur + 1 Teil H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 % v/v p.a.) versetzt, vorsichtig gemischt, 1 h bei RT stehengelassen und dann über Nacht bei 85°C bei geöffnetem Reaktionsgefäß verascht. Unmittelbar vor der ICP-MS-Messung wurde die veraschte DNA in 2 ml 1 % v/v HNO<sub>3</sub> (subboiled) aufgenommen und gemessen. Sämtliche Gefäße, die mit der später eingesetzten Aufschlußlösung in Kontakt kommen, wurden zur Vermeidung von Kontaminationen mit 0,2%iger HNO<sub>3</sub> gespült. Die Kalibrierungslösungen und der interne Standard wurden wie oben beschrieben angesetzt.

## **3 Ergebnisse und Diskussion**

### **3.1 Auswahl, Charakterisierung und Aufbereitung der Edelmetallpulver**

Die verwendeten elementaren PGE-Partikel haben laut Hersteller (Alfa Aesar®, Johnson Matthey GmbH, Karlsruhe) folgende Charakteristika:

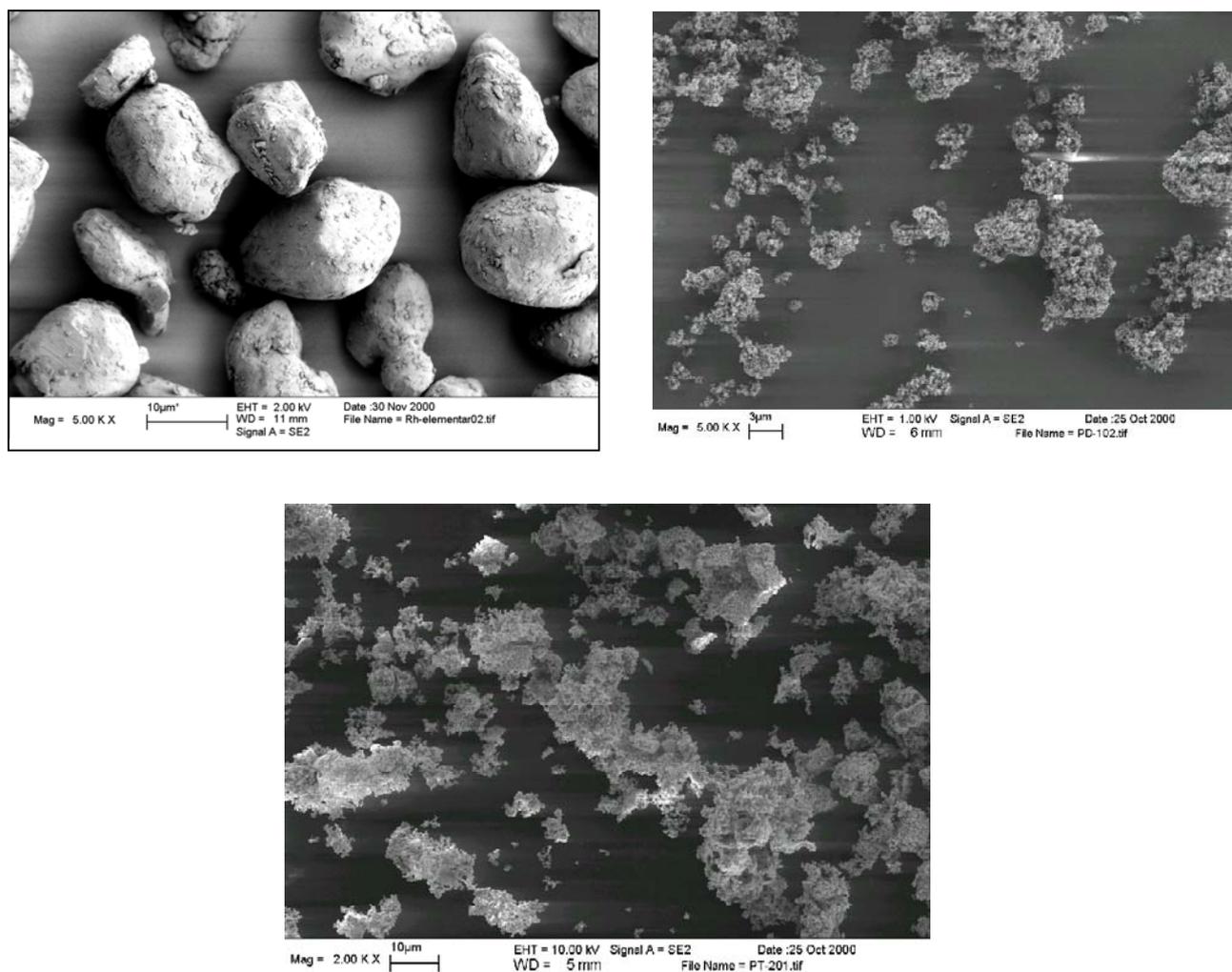
- Rhodium (Rh): Korngröße < 44 µm, 99.95 % (metals basis), Menge 0.5 g
- Palladium (Pd): Korngröße 0.25 – 0.5 µm, 99.95 % (metals basis), Menge 1 g
- Platin (Pt): Korngröße 0.2 – 1.6 µm, 99.9 % (metals basis), Menge 1 g

Da die Phagozytose und Wirkung der elementaren PGE-Partikel auf die Zellen stark abhängig von Korngröße und Kristallinität sind, wurde mittels rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen die Korngrößenverteilung und anhand der Röntgendiffraktometrie die Kristallinität der Partikel überprüft.

#### **3.1.1. Rasterelektronenmikroskopie**

Zur Probenvorbereitung wurden die PGE-Partikel mit Gold bedampft. Die einzelnen Aufnahmen der reinen, elementaren PGE-Partikel sind in Abbildung 1 dargestellt. Die Korngrößen verteilen sich bei den Pd-Partikeln in einem Bereich deutlich < 0,5 µm, wobei sich Einzelkörner oft zu größeren Aggregaten von > 10 µm zusammenballen. Bei den Pt-Partikeln sind ähnlich große Zusammenballungen zu beobachten, die sich aus Einzelkörnern von < 0,5 µm bilden. Die Größe der Pt-Körner liegt deutlich unterhalb von 0,5 µm, d.h. kleiner als die vom Hersteller angegebenen Werte. Die Korngröße von Rh wird durch den Hersteller mit < 44 µm deklariert, was weder den aus Autokatalysatoren emittierten Partikeln entspricht noch eine Aufnahme in die Zelle ermöglicht. Daher wurde das Rh-Pulver mit einem Achat-Handmörser feiner zermahlen. Nach dem Zermahlen lag die Korngröße der Rh-Partikel jedoch immer noch im Bereich von 15-20 µm. Daher wurden im Rahmen

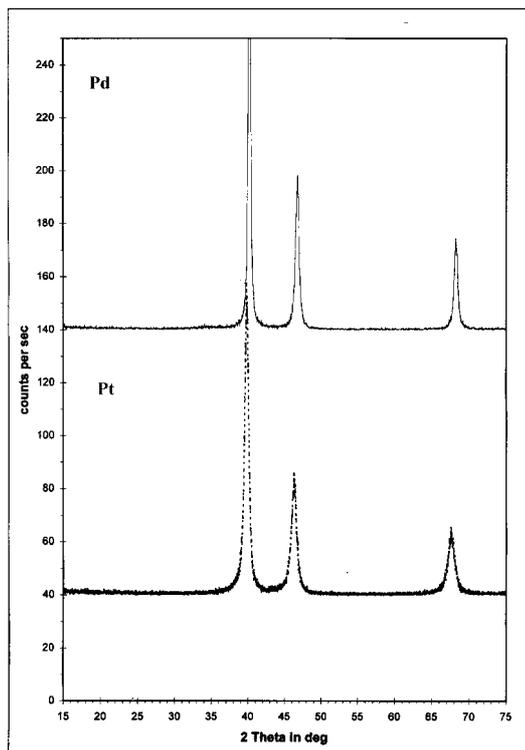
dieser Vorstudie zunächst Versuche mit den Pd- und Pt-Partikeln durchgeführt, da deren Korngrößen in derselben Größenordnung liegen wie die vom Abgaskatalysator emittierten Partikel.



**Abbildung 1:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der PGE-Partikel. Oben links: Rh, oben rechts: Pd, unten: Pt. Die feinen Blättchen auf den Rh-Partikeln stammen vom Bedampfen mit Gold

### 3. 1.2 Röntgendiffraktometrie

Mit Hilfe der Röntgendiffraktometrie wurden die beiden Edelmetalle Platin und Palladium eindeutig identifiziert und deren hohe Kristallinität, ausgedrückt durch die scharfen, kaum geweiteten Peakformen, nachgewiesen (Abbildung 2).



**Abbildung 2:** Röntgendiffraktometrische Aufnahmen der elementaren PGE-Partikel.

### 3.2 Lichtmikroskopische Bestimmung der Phagozytose von partikulärem Platin und Palladium

Die Phagozytose der Partikel erfolgt in Vakuolen, die lichtmikroskopisch bei 1000-facher Vergrößerung nach Färbung mit Kristallviolett nachgewiesen werden können. Nach der Inkubation der Zellen war zunächst das oben bereits beschriebene Zusammenlagern der Platinpartikel im Lichtmikroskop zu beobachten. Sowohl Platin- als auch Palladium-Partikel lagerten sich an die Zellmembran an und einzelne phagozytierte Partikel waren zu erkennen. Jedoch war eine quantitative Erfassung der Phagozytose nicht möglich, da die Unterscheidung zwischen an der Cytoplasmamembran angehefteten und phagozytierten Partikeln schwierig ist. Der Nachweis der Phagozytose soll daher durch Elektronenmikroskopie erfolgen.

### 3.3 Cytotoxizität der Partikel

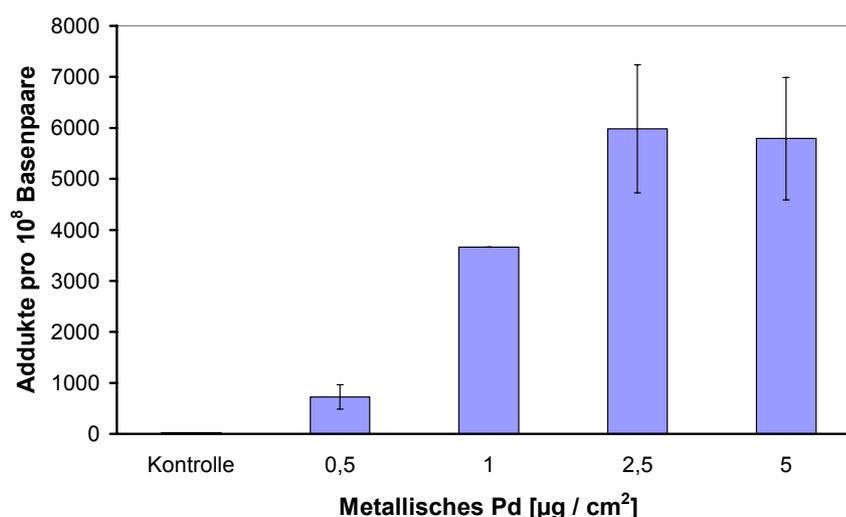
Als Parameter für die Cytotoxizität der Partikel wurde sowohl die Koloniebildungsfähigkeit als auch die Membranintegrität getestet. Hierbei zeigten sich bei Konzentrationen bis zu  $10 \mu\text{g} / \text{cm}^2$  kaum Effekte; lediglich die Membranintegrität war im Fall von Palladium-Partikeln geringfügig herabgesetzt (Daten nicht gezeigt).

### 3.4 Analyse der Platin- und Palladiumgehalte im Zellkern nach Inkubation von A549 Zellen

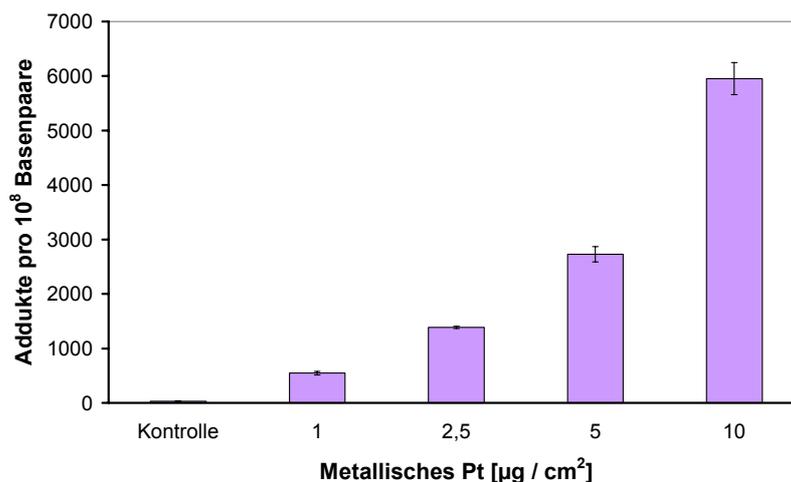
Zur Analyse der Platin- und Palladiumgehalte im Zellkern wurden die A549 Zellen zunächst 24 h mit den jeweiligen Partikeln inkubiert und die Zellkerne wurden wie beschrieben isoliert. Dabei zeigte sich jedoch, daß eine quantitative Abtrennung der an den Zellen haftenden Partikel bei dieser Methode nicht möglich war, da die Zellkernpellets der mit Palladium und Platin inkubierten Zellen nach der Isolierung im Gegensatz zu den Zellkernpellets der nicht inkubierten Zellen deutlich grau gefärbt waren. Eine Veraschung der Proben und anschließende ICP-MS-Messung wurde daher nicht durchgeführt.

### 3.5 Analyse der DNA-Gehalte an Platin und Palladium nach Inkubation von A 549 Zellen

Zunächst wurden logarithmisch wachsende A549 Zellen 24 h mit den Platin- oder Palladium-Partikeln inkubiert und die DNA wurde wie beschrieben isoliert. Für die Analyse der Metallgehalte durch die HR-ICP-MS wurden ein Mikrowellenaufschluß und die Veraschung durch Säure/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miteinander verglichen. Dabei zeigte sich, daß sowohl Platin- als auch Palladiumaddukte an der DNA nachweisbar waren. Allerdings erwies sich der Mikrowellenaufschluß als nicht gut geeignet, da zum einen die Proben stärker verdünnt werden mußten und so die Empfindlichkeit des Nachweises reduziert war. Darüber hinaus zeigten die Kontrollen zu hohe Meßwerte; dieses war trotz intensiven Spülens auf eine Kontamination der Gefäße zurückzuführen. Demgegenüber lieferte der parallel getestete Säureaufschluß wesentlich reproduzierbarere Ergebnisse, was auch durch die Benutzung von Einmalgefäßen bedingt ist. Insgesamt liegt die Nachweisgrenze der Methode nach diesen ersten Versuchen bei ca. 1 Addukt pro 10<sup>7</sup> Basenpaaren. Sowohl im Fall von Palladium als auch von Platin zeigte sich ein dosisabhängiger Anstieg von DNA-Addukten (Abbildungen 3 und 4). Ob es sich hierbei um ein Resultat der Phagozytose der Partikel handelt, soll in weiteren Versuchen insbesondere auch anhand der Kinetik der DNA-Bindung untersucht werden.



**Abbildung 3:** Induktion von DNA-Addukten nach Inkubation von A549 Zellen mit partikulärem Palladium, nachgewiesen durch HR-ICP-MS. Bei den mit Fehlerbalken dargestellten Adduktzahlen handelt es sich um Mittelwerte aus Dreifachbestimmungen +/- SD.



**Abbildung 4:** Induktion von DNA-Addukten nach Inkubation von A549 Zellen mit partikulärem Platin, nachgewiesen durch HR-ICP-MS. Bei den mit Fehlerbalken dargestellten Adduktzahlen handelt es sich um Mittelwerte aus Dreifachbestimmungen  $\pm$  SD.

#### 4 Zusammenfassende Bewertung und Ausblick

Ziel dieser Vorstudie war eine erste Abklärung der Bioverfügbarkeit der aus Autokatalysatoren freigesetzten PGE. Dabei wurde bereits ein breites Spektrum an Methoden auf ihre Eignung für diese Fragestellung untersucht. So gelang die mineralogische Charakterisierung partikulärer Platin-, Palladium- und Rhodium-Partikel mittels Elektronenmikroskopie und Röntgendiffraktometrie. Ferner wurde ein Testsystem etabliert, mit dessen Hilfe DNA-PGE-Gehalte reproduzierbar nachgewiesen werden konnten. Dieses umfaßt die Isolierung der DNA aus exponierten Zellen, einen geeigneten Säureaufschluß und schließlich den Nachweis durch HR-ICP-MS. Erste Ergebnisse zeigen meßbare dosisabhängige DNA-Adduktzahlen sowohl für Platin- als auch für Palladiumpartikel. Diese Befunde sind neu und deuten darauf hin, daß elementare PGE-Partikel bioverfügbar sind; unklar ist bislang, ob die Aufnahme auf Phagozytose oder auf die partielle Lösung der Partikel in biologischen Flüssigkeiten zurückzuführen ist. Somit bieten die bisherigen Versuche eine geeignete Grundlage, die im Antrag beschriebenen Untersuchungen zur Cytotoxizität, Phagocytose, Gentoxizität, DNA-Reparatur und PGE-Mobilität weiterzuführen. Äußerst wichtig sind dabei insbesondere entsprechende Versuche mit den eingangs erwähnten Platin-beschichteten Aluminiumoxid-Partikeln, die uns bereits vom Fraunhofer Institut für Toxikologie und Aerosolforschung, Hannover, zur Verfügung gestellt wurden. Darüber hinaus hat sich seit Antragstellung die Möglichkeit eröffnet, die Platin-induzierten DNA-Addukte mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern näher zu charakterisieren und sie mit den DNA-Schäden zu vergleichen, die durch cytostatische Platinverbindungen induziert werden. Entsprechende Experimente sind in Kooperation mit Herrn PD Dr. Jürgen Thomale, Universität Essen, geplant, dessen Arbeitsgruppe erstmals die Herstellung für die jeweiligen DNA-Schäden spezifischer Antikörper gelungen ist.

## Referenzen

- Artelt, S., Creutzenberg, O., Kock, H., Levsen, K., Nachtigall, D., Heinrich, U, Rühle, T. and Schlegel, R. (1999) Bioavailability of fine dispersed platinum as emitted from automotive catalytic converters: a model study. *Sci. Total Environ.*, 228, 219 – 242.
- Cubelic, M., Peccoroni, R, Schäfer,J., Eckhardt, J.-D., Berner, Z. and Stüben, D. (1997) Verteilung verkehrsbedingter Edelmetallimmissionen im Straßenrandbereich. *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung* 9 (5), 249 – 258.
- LfU (1999) Wirkungen von Emissionen des Kfz-Verkehrs auf die Pflanzen und die Umwelt. Literaturstudie
- Menzel, C.M., Berner, Z. and Stüben, D. (2001) Coupling SEC to ICP-MS to investigate the speciation of platinum group elements in environmental samples. *Geostandards Newsletter*, in press
- Sambrock, Fritsch, Maniatis (1989) *Molecular cloning*, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Wei, C. and Morrison, G.M. (1994) Platinum analysis and speciation in urban gullypots. *Analytica Chimica Acta*, 284, 587 – 592.
- Zimmermann, S. Menzel, C.M., Berner, Z., Eckhardt, J. D., Stüben, D., Alt, F., Messerschmidt, J., Taraschewski, H. and Sures, B. (2001) Trace analysis of platinum in biological samples: a comparison between high solution ICP-MS and adsorptiv cathodic stripping voltammetry using different digestion methods. *Analytica chimica acta*, 439, 203-209.