

Samenvatting

In opdracht van de dienst Milieu & Gezondheid van het departement LNE hebben Vito en UA een pilootproject voor effectgerichte metingen in omgevingslucht uitgevoerd. Het doel was de toepasbaarheid van effectgerichte metingen voor beoordeling van de luchtkwaliteit in Vlaanderen te evalueren. Een geïntegreerd biologisch meetnet zou de verspreiding en blootstelling aan schadelijke stoffen met risico's voor de volksgezondheid in kaart kunnen brengen. Gezondheidsklachten of ziektepatronen die in verband gebracht worden met luchtpollutie zijn ondermeer kanker, cardiovasculaire ziekten, astma en allergieën en fertiliteitsproblemen. Dit werd uitvoerig beschreven in de literatuurstudie die aan huidig project voorafging (Witters et al., 2005). Er werden daarom voor het pilootproject *in vitro* screening methoden geselecteerd met eindpunten als mutageniciteit, immunotoxiciteit, endocriene verstoring en cytotoxiciteit. Op basis van verkregen resultaten kan relevante informatie met betrekking tot het schadelijke karakter van omgevingslucht en potentiële gezondheidsschade door luchtvervuiling ingewonnen worden.

In een eerste fase werd de logistieke organisatie van monsternames afgestemd met het bestaande PAK-meetnet van de Vlaamse Milieumaatschappij. In een tweede fase werden methoden voor monsterbehandeling en toepassing van biologische testen op hetzij organische extracten, hetzij partikelfractie van luchtmonsters geoptimaliseerd. Een derde fase betrof de meetcampagne, gespreid over een gans jaar en over drie meetplaatsen in Vlaanderen met diverse aard van luchtvervuiling zijnde Zelzate, Borgerhout en Aarschot.

In een laatste fase werden de verkregen resultaten geïnterpreteerd en geëvalueerd in functie van tijd, locatie en variaties van meteorologische omstandigheden enerzijds, en in relatie tot pollutiegegevens anderzijds.

Er werden in deze studie een industriële site (Zelzate), een stedelijke site (Borgerhout) en een landelijke site (Aarschot) bemonsterd. Tijdens de periode september 2006 tot september 2007 werden per locatie 32 luchtstalen (TSP= Total suspended matter) geïncubated op filters gebruikmakend van de hoog volume bemonsteringsstations van VMM (Digitel). Van een vierde deel van de filter werden de stofdeeltjes verzameld via wassen en het overige deel van de filter werd geëxtraheerd om specifiek de organische componenten te weerhouden. Afhankelijk van het testsysteem en het eindpunt, werden of de partikels of de organische extracten toegevoegd en de toxicologische responsen gemeten.

De cytotoxische (niet specifieke celschade) en immunotoxische (inflammatoire) effecten van de partikelfractie (TSP) van de bemonsterde filters werd gemeten in 3 representatieve humane cellijnen (de alveolaire A549 cellijn, de bronchiale Beas-2B epitheliale cellijn en de macrofagen THP-1 cellijn). Significante variaties in cytotoxiciteit tussen de dagen werden gemeten in de THP-1 en de Beas-2B cellijn. Voor deze laatste werden de hoogste signalen gemeten in stalen uit Zelzate. In parallel werd een inflammatoire respons in de cellijnen aangetoond via meting van cytokineproductie. Het inflammatoir potentieel van de partikels uit het stedelijk gebied Borgerhout bleek hoger dan deze van de partikels uit de andere locaties. De immunologische responsen bleken eerder op te treden in stalen van het voorjaar, en konden niet volledig toegeschreven worden aan de aanwezigheid van endotoxines op de partikels. De hoeveelheid zwevend stof bleek verband te houden met de intensiteit van de cytotoxische en inflammatoire respons, terwijl ook de chemische samenstelling bijdraagt tot het gemeten toxisch effect van de TSP. Tot slot werd een positieve correlatie aangetoond tussen de omgevingstemperatuur en het cytotoxisch en inflammatoir potentieel.

Mutagene effecten werden waargenomen in de *Salmonella* mutageniciteit test (Ames) na blootstelling aan organische extracten. Significante variaties tussen de staalnamedagen werden gezien voor de drie locaties. Statistische evaluatie met een combinatie van de gegevens voor locatie en tijd toonde significant verhoogde mutagene activiteit in stalen van de industriële locatie Zelzate. Zowel de totale hoeveelheid zwevend stof, als de aard van de organische belading op de partikels bleken bepalend te zijn voor de intensiteit van de mutagene respons.

De significante inducties van verschillende merkers van de Cat-tox assay toonden een verhoogde stressrespons na blootstelling aan organische extracten van een dagequivalent lucht. Zowel de merkers voor DNA-schade als deze voor inductie van de receptor die stoffen met dioxine-achtige werking kan binden, bleken gecorreleerd met verschillende chemische parameters zoals totale hoeveelheid PAKs, organische koolstof en PM10 gemeten in de luchtstalen. Deze bevindingen duiden op potentieel verhoogde DNA-schade na blootstelling aan deze luchtstalen.

Met behulp van de MELN assay, een humane reporter cellijn die getransformeerd werd met de humane oestrogen receptor, werd de aanwezigheid van stoffen met oestrogene activiteit in organische extracten van luchtfilters aangetoond. Globaal werden er geen verschillen in activiteit gemeten tussen de locaties, terwijl voor alle locaties het winterseizoen de hoogste oestrogene activiteit opleverde. De gemeten oestrogene activiteit was positief gecorreleerd met de temperatuur, terwijl er een omgekeerde significante relatie met totale PAKs en carcinogene PAKs werd gevonden. Gezien het diverse spectrum aan hormoonverstorende stoffen, welke a priori niet in het huidige meetnet lucht gemeten worden, kan de MELN biotest een toegevoegde waarde bieden om schadelijke extracten op te sporen.

De resultaten toonden aan dat de batterij van testen inderdaad vervuilde luchtstalen herkent. Het toxicologische profiel met diverse eindpunten gemeten voor elk van de stalen per locatie en per tijdstip werd in kaart gebracht. De herkomst van stalen, de periode van monsternamen en de meteorologische condities bleken de toxische respons van bemonsterde luchtstalen te beïnvloeden. Het bleek slechts in beperkte mate mogelijk om de waargenomen toxicologische effecten eenvoudig te verklaren door de aanwezigheid van de componenten die chemisch gemeten werden. Het is algemeen aanvaard dat de klassieke chemische analyses binnen het meetnet lucht de gekende luchtpolluenten op een gevoelige en accurate wijze detecteren. De beperking ligt echter in het aantal gemeten polluenten en het ontbreken van informatie over de gezamenlijke toxicologische activiteit (additief, synergistisch,...) van gekende en niet-geïdentificeerde stoffen. Een effectgerichte meetstrategie, zoals beschreven in dit project, komt hieraan tegemoet door integratie van chemische analyse met *in vitro* toxiciteitstesten representatief voor specifieke werkingsmechanismen van stoffen.

De resultaten binnen dit pilootproject lieten toe aanbevelingen te formuleren voor een effectgericht meetnet in Vlaanderen. Dergelijk meetnet verdient afstemming met bestaande meetnetten lucht en geplande Vlaamse humane biomonitoringstudies.