

Endotoxines: de vergeten component van fijn stof

Abbas Alloul, Sophie Van Oevelen, Stijn Wittouck

Vandaag de dag worden we steeds meer geconfronteerd met luchtvervuiling. De socio-economische gevolgen ervan zijn enorm: in een rapport gepubliceerd op 11 juli 2013 schatten onderzoekers dat er jaarlijks 2,1 miljoen mensen sterven door het inademen van fijne roetachtige deeltjes die men groepeert onder de naam “fijn stof” [1]. Deze deeltjes ontstaan vaak door toedoen van de mens; dieselmotoren, energiecentrales en verbranding van steenkool zijn belangrijke bronnen. Op de roetachtige partikels die hierdoor gevormd worden, kunnen heel wat andere schadelijke stoffen zich hechten zoals microbiële endotoxines. Dit zijn moleculen afkomstig van dode bacteriën. Ze vormen een van de vele componenten van fijn stof en zouden mee verantwoordelijk zijn voor de nefaste gezondheidseffecten die luchtvervuiling met zich meebrengt [2]. De rol van deze endotoxines is echter nog grotendeels ongekend.

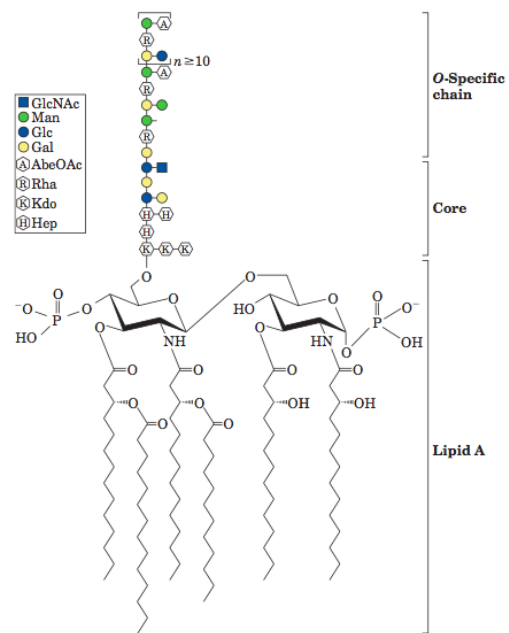
In de huidige literatuur is er veel te vinden over fijn stof en endotoxines, maar over de interactie tussen deze twee stoffen is nog zeer weinig onderzoek gebeurd. Daarom werd er in deze bachelorproef getracht om een beter beeld te krijgen van net die interactie.

1 Fijn stof schaadt je gezondheid

Fijn stof is opgebouwd uit verschillende fysische en chemische partikels. Componenten die bijna altijd voorkomen, zijn koolwaterstoffen (zoals roetpartikels) waarop metalen, ionen en organische componenten zoals endotoxines gebonden zijn. Wat belangrijk is om de gezondheidseffecten van fijn stof in te schatten is niet zozeer de hoeveelheid deeltjes, maar wel de samenstelling en de grootte ervan. De gevaarlijkste fijn stof deeltjes zijn de “ultrafijne partikels”. Dit zijn deeltjes met een diameter kleiner dan 0.1 μm . Door hun geringe grootte hebben ze een extra grote impact op onze gezondheid, doordat ze dieper in onze longen kunnen doordringen. Er bestaat een strenge wetgeving omtrent de PM waarden die niet overschreden mogen worden [3].

Een endotoxine is “een celcomponent van een micro-organisme dat onschadelijk is zolang de microbe intact blijft; maar dat de verdedigingsmechanismen van de gastheer kan overstimuleren van zodra ze wordt vrijgesteld door een gebarsten cel.” Endotoxines komen voor in de lucht als losse moleculen, maar hechten zich ook aan fijn stof deeltjes volgens een nog onbekend mechanisme.

Lipopolysacchariden (LPS) zijn het best gekende voorbeeld van endotoxines. Dit zijn componenten die terug te vinden zijn in de celwand van zoge-



Figuur 1: Overzicht van de verschillende componenten van lipopolysacchariden (LPS) [4].

naamde gramnegatieve bacteriën, een grote groep bacteriën met als typevoorbeeld de darmbacterie *Escherichia coli*. Een LPS molecule is opgebouwd uit drie basisdelen: een lipide-A gedeelte, een kerngedeelte en een O-antigeen gedeelte, zoals te zien in figuur 1.

Het lipide-A gedeelte is opgebouwd uit vetzuren en is verantwoordelijk voor de immuunreactie van ons lichaam.

Endotoxines worden dikwijls vergeten wanneer men de gezondheidseffecten van fijn stof onderzoekt. Een review studie uit 2011 over de rol van endotoxines in de toxiciteit van fijn stof concludeert nochtans dat veel ontstekingsveroorzakende effecten van fijn stof te wijten zijn aan endotoxines in dat fijn stof, en dan vooral in PM₁₀ [2]. Daarom is het van vitaal belang dat men bij het opmeten van luchtvervuiling niet enkel kijkt hoeveel fijn stof er in de lucht hangt, maar ook naar de hoeveelheid endotoxines die de fijn stof deeltjes bevatten.

2 Ons onderzoek: de afbraak van endotoxines

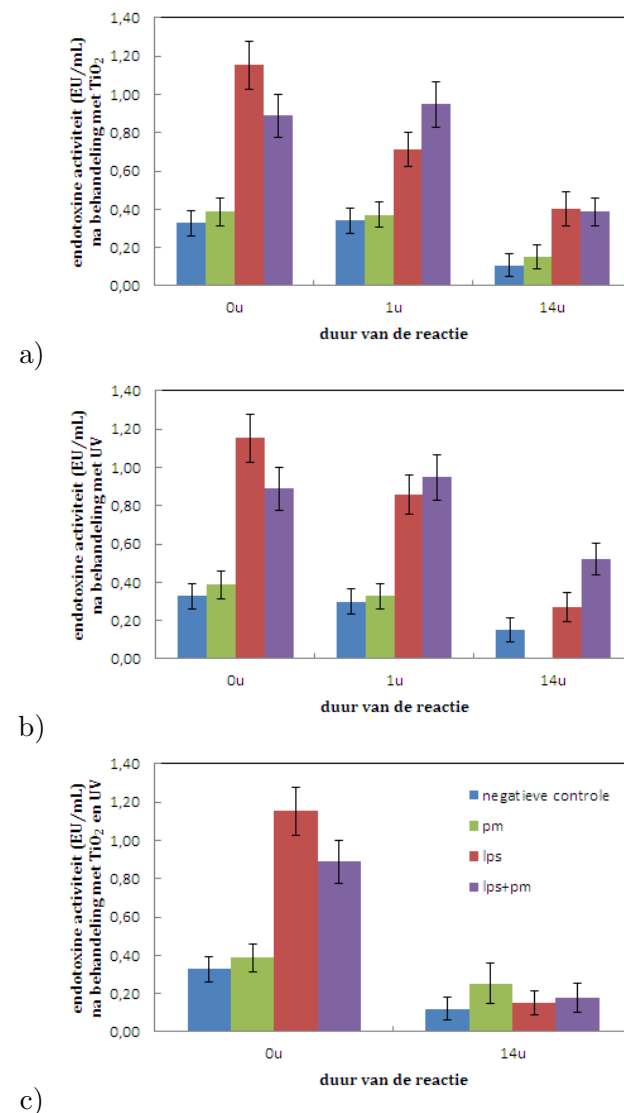
Een mogelijke oplossing om de schadelijke effecten van endotoxines te beperken is een manier vinden om ze te neutraliseren. Fotokatalyse lijkt hiervoor een veelbelovende techniek.

In fotokatalyse wordt steeds gebruik gemaakt van een katalysator. Dat is een stof die deelneemt aan de reactie maar er niet in verbruikt wordt. Om endotoxines af te breken kan men gebruik maken van titaniumdioxide (TiO₂) in de vorm van kleine korreltjes als katalysator. Onder invloed van bestraling met UV-licht kunnen elektronen in het TiO₂ geëxciteerd worden. Doordat de elektronen naar een hoger energieniveau getild worden, ontstaan er “elektron-gaten” waarin elektronen kunnen springen van stoffen uit de nabije omgeving, bijvoorbeeld water of zuurstof. Door elektronen af te staan worden deze stoffen omgevormd tot zogenaamde radicalen: zeer agressieve stoffen die in het wilde weg reageren met zowat alles wat ze tegenkomen. Deze radicalen zorgen dan voor de afbraak van organische componenten zoals endotoxines, of gasen zoals NO_x uit de omgeving [5, 6].

In dit onderzoek werd gekeken of het mogelijk was om in water opgeloste vrije en PM-gebonden endotoxines te neutraliseren d.m.v. fotokatalyse met TiO₂ en UV-licht. Er werden oplossingen bereid met enkel fijn stof (PM), enkel endotoxine (LPS) en een combinatie van beide (LPS+PM). Om te controleren of deze stoffen niet gewoon spontaan afgebroken worden na lange duur, werd telkens vergeleken met zuivere bufferoplossing.

Uit de resultaten (zie figuur 2) bleek duidelijk dat de endotoxines die gebonden waren op fijn stof moeilijker werden afgebroken dan de vrije endotoxines. Ook leek de aanwezigheid van fijn stof de biologische activiteit van de endotoxines te verminderen.

De behandeling met TiO₂ in combinatie met UV-licht leek het meest efficiënt om endotoxines te neutraliseren, omdat zowel de katalysator TiO₂ als de UV-stralen nodig zijn voor het fotokatalytisch proces. De afbraak was zo effectief dat er na veertien uur nog maar even weinig biologische activiteit werd opgemeten als in de controle zonder PM of LPS.



Figuur 2: Endotoxine activiteit na 0 uur en 14 uur behandeling met TiO₂ korrels (a), UV-licht (b) en TiO₂ in combinatie met UV (c). Als negatieve controle werd buffer gebruikt.

3 Een mogelijk bindingsmodel tussen fijn stof en endotoxines

Onze uitdaging na de eigenlijke experimenten was om een bindingsmodel te vinden tussen PM en LPS dat zowel de vaststelling kan verklaren dat PM-gebonden LPS minder gemakkelijk wordt afgebroken, als de vaststelling dat PM-gebonden LPS minder biologisch actief is. Daarom hebben

wij als bindingsmodel (figuur 3) voorgesteld dat de endotoxines met hun lipide-A gedeelte naar de PM-deeltjes toe gebonden zijn. Op die manier is het reactieve deel minder beschikbaar om ons immuunsysteem te prikkelen, en wordt het ook moeilijker afgebroken. De vraag is dan of dit model veralgemeend kan worden voor andere vormen van PM en endotoxine dan de onderzochte vormen, alsook naar andere omgevingen dan de vloeibare fase waarin het onderzoek gebeurde. Deze binding en interactie is van groot belang om te weten of het biologisch actieve deel (lipide-A) nog beschikbaar is bij inademing ervan. Enkel op die manier kunnen de gezondheidseffecten beter voorspeld of gereduceerd worden.



Figuur 3: Het verwachte bindingsmodel tussen fijn stof (PM) en endotoxines: het lipide-A gedeelte van de endotoxines wordt afgeschermd door het fijn stof.

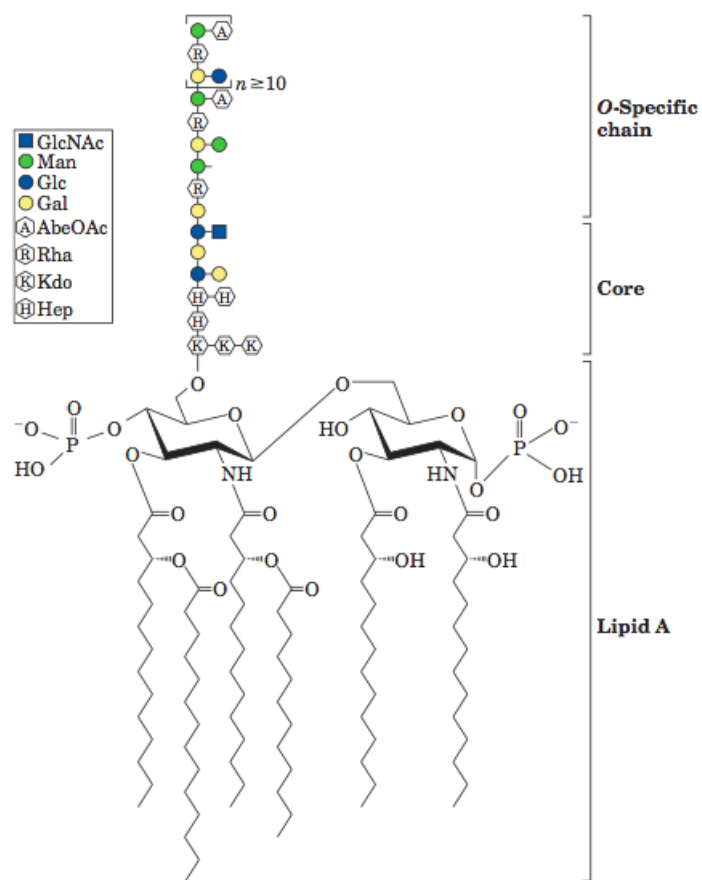
4 Toekomstperspectieven

Dit onderzoek toont aan dat fijn stof een mogelijk neutraliserend effect kan hebben op de activiteit van endotoxines. Verder onderzoek naar de interactie tussen beide is dus cruciaal. Wat bijvoorbeeld nog onduidelijk blijft, is of de endotoxines die gebonden zijn aan fijn stof al dan niet beter in het lichaam opgenomen kunnen worden dan de vrije endotoxines. Ook kan een beter inzicht in de interactie tussen endotoxines en fijn stof op termijn leiden tot het ontwikkelen van efficiëntere neutralisatietechnieken voor PM-gebonden endotoxines, bijvoorbeeld in ventilatiesystemen of op specifieke coatings van gebouwen.

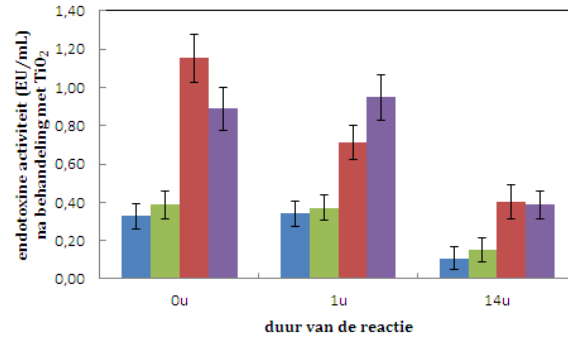
Referenties

- [1] J. J. W. Raquel A Silva. Global premature mortality due to anthropogenic outdoor air pollution and the contribution of past climate change. [Http://iopscience.iop.org/1748-9326/8/3/034005/article](http://iopscience.iop.org/1748-9326/8/3/034005/article).
- [2] C. Degobbi, P. H. N. Saldiva, et al. Endotoxin as modifier of particulate matter toxicity: a review of the literature. *Aerobiologia*, 2011. 27(2):97–105.
- [3] URL <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs313/en/>.
- [4] D. L. Nelson and M. M. Cox. *Lehninger Principles of Biochemistry*. W. H. Freeman, 2008. ISBN 071677108X.
- [5] URL <http://www.elment.nl/nl/techniek/fotokatalyse>.
- [6] K. W. Kolasinski. *Surface science*. WILEY, 2012.

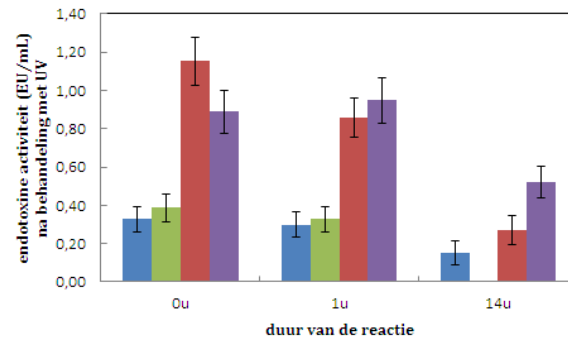
Gebruikte figuren:



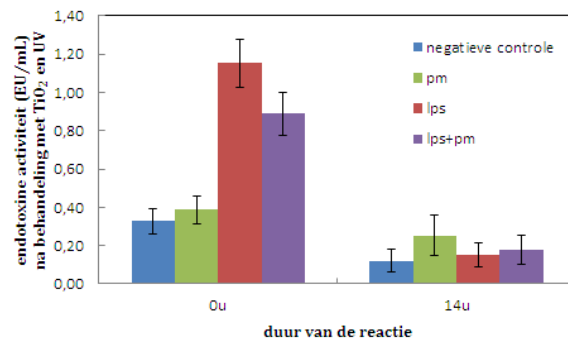
Figuur 4: Overzicht van de verschillende componenten van lipopolysacchariden (LPS) [4].



a)



b)



c)

Figuur 5: Endotoxine activiteit na 0 uur en 14 uur behandeling met TiO₂ korrels (a), UV-licht (b) en TiO₂ in combinatie met UV (c). Als negatieve controle werd buffer gebruikt.



Figuur 6: Het verwachte bindingsmodel tussen fijn stof (PM) en endotoxines: het lipide-A gedeelte van de endotoxines wordt afgeschermd door het fijn stof.