



Doctoral Thesis

## Untersuchung toxischer Effekte von Luftschadstoffen mit *Drosophila melanogaster*

**Author(s):**

Wasserkort, Reinhold

**Publication Date:**

1995

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-001441006> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH Nr. 11044

**Untersuchung toxischer Effekte von Luftschadstoffen  
mit *Drosophila melanogaster***

Abhandlung zur Erlangung des Titels

DOKTOR DER NATURWISSENSCHAFTEN  
der  
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN  
HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von

**Reinhold Wasserkort**

Dipl. Biol. Universität München

geboren am 22. April 1962  
in Salzkotten, Deutschland

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. G. Benz, Referent  
Prof. Dr.Th. Koller, Korreferent  
PD. Dr. H. Burtscher, Korreferent

1995

## Zusammenfassung

Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit war die Frage, ob sich die Taufliege *Drosophila melanogaster* als Modellorganismus für die Untersuchung toxischer Wirkungen von Luftschadstoffen verwenden läßt, da ein geeigneter eukaryotischer Organismus für das Screening luftbürtiger Substanzen fehlt, insbesondere im Hinblick auf Verbrennungsaerosole. Als Bestandteil eines umfangreicheren Projektes wurden in diesem Teil Fragen bearbeitet, die die Aufnahme, Speicherung und Exkretion von Partikeln klären, sowie eine Quantifizierung dieser Vorgänge versuchen. Zudem wurden mit physiologischen Methoden nichtgenotoxische Effekte sowohl von Verbrennungsabgasen als auch von flüchtigen organischen Substanzen untersucht. Alle Experimente wurden mit adulten Fliegen durchgeführt.

Für das Studium der Aufnahme von Verbrennungspartikeln wurden Modell-aerosole aus Gold hergestellt, da sich diese elektronenmikroskopisch gut nachweisen lassen. Goldaerosole sehen mikroskopisch den Dieselrußpartikeln (DEP) sehr ähnlich. Mit Goldaerosolen exponierte *Drosophila* zeigen keine nennenswerte Aufnahme von Partikeln über das Atmungssystem, d.h. die Tracheen. Größere Partikelmengen werden dagegen oral aufgenommen und können aus dem Darm resorbiert werden. Solche Partikel ließen sich in Lipidtröpfchen von Mitteldarm- und Fettkörperzellen nachweisen. Die Quantifizierung aufgenommener Partikel erfolgte mit ICP-MS und ergab Partikelkonzentrationen zwischen 1,4 und 2,1 ng/mg. Ein größerer Teil der aufgenommenen Partikel kann mit den Faeces wieder abgegeben werden und wird nicht resorbiert.

Für einige Expositionen wurden Partikel verwendet, die zuvor mit dem PAH Perylen beschichtet wurden. Perylen ließ sich gaschromatographisch im extrahierten Fettkörper nachweisen, eine längerfristige Speicherung von Perylen erfolgt jedoch nicht.

Für die physiologischen Messungen wurde ein CO<sub>2</sub>-Respirometer konstruiert, mit dem sich die Atmung - und damit die metabolische Aktivität - sehr empfindlich nachweisen ließ. Verschiedene Experimente zeigten die Empfindlichkeit und Zuverlässigkeit des Gerätes. Versuche mit 2,4-Dinitrophenol bestätigten den Nachweis auch geringer Intoxikationen mit Hilfe der Respirometrie. Exposition adulter Fliegen mit dem kompletten Abgas eines Dieselstromgenerators für 15-50 min resultierte dagegen nicht in Änderungen der me-

tabolischen Aktivität, und Expositionen gegenüber Rußpartikeln für bis zu 7 Tagen zeigten eine signifikante Änderung gegenüber der Kontrolle erst während einer Hungerperiode. Außer diesem nur sekundär aufgetretenen Effekt konnten keine Anzeichen für eine Intoxikation auch bei stark exponierten adulten *Drosophila* gefunden werden.

Exposition von Fliegen gegenüber verschiedenen flüchtigen organischen Substanzen zeigten sehr unterschiedliche physiologische Antworten. Getestet wurden Aceton, Benzol, Ethanol, Methanol, Toluol und ortho-Xylol. Die Dämpfe aller Substanzen wirkten in höheren Konzentrationen narkotisch, alle Expositionen wurden jedoch im subletalen Bereich ausgeführt. Die Aufzeichnung der CO<sub>2</sub>-Produktion unterschiedlich exponierter Fliegen unmittelbar nach der Exposition ergab markante Unterschiede zwischen der metabolischen Aktivität während und nach der Narkose. Ein Zusammenhang mit dem Mechanismus der Narkose und dem aufgezeichneten Metabolismus scheint nicht direkt zu bestehen, d.h. der zugrundeliegende Mechanismus ist sehr viel komplexer. Verschiedene Möglichkeiten für das Entstehen solcher Antworten werden diskutiert.

## Summary

The main scope of this project was to test whether *Drosophila melanogaster* can be used as a model-organism to investigate toxic effects of air pollutants. This question raised because a suitable eucaryotic organism for the screening of airborne pollutants, especially soot particles, is lacking. As part of a more extensive project the presented work deals particularly with the uptake, storage and excretion of airborne particles. An attempt is also made to quantify these processes. In addition, using physiological methods, the effect of non-genotoxic effects of both combustion aerosols as well as volatile organic chemicals are investigated. All experiments have been performed using adult *Drosophila*.

To study the uptake of combustion aerosols, gold particles have been used as model particles for they are easily detectable in the electron microscope. Gold particles showed a close similarity to Diesel exhaust particles (DEP). Flies exposed to these particles did not show a considerable uptake via the respiratory system, e.g. the tracheal system. However, larger amounts of particles were taken up orally and were resorbed from the gut lumen. These particles were detectable in lipid droplets of cells from both the midgut and the fat body. Quantification of particles taken up by the flies was done using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) and resulted in concentrations between 1,4

and 2,1 ng/mg. A larger portion of the ingested particles could be excreted with the feces and was not resorbed.

In some experiments particles have been used to which the PAH perylene was adsorbed. Using gaschromatography, perylene could be detected in the fat body extracted from exposed flies. However, a long-term storage of perylene did not occur.

For the physiological measurements a CO<sub>2</sub>-respirometer has been constructed with which the respiration, and hence the metabolic activity, could be sensitively monitored.

Both the sensitivity and the reliability of the instrument could be demonstrated in various experiments. Using 2,4 dinitrophenol as a test substance, the detection of minor intoxications with this technique could be confirmed. Exposition of adult flies to the complete exhaust of a Diesel engine for 15 to 50 min did not result in changes of the metabolic activity. Exposition to DEP alone up to 7 days showed significant changes compared to control flies only during a subsequent period of starvation. Except these secondary induced effects no indications of an intoxication even within heavily exposed flies could be detected.

Exposition of flies to various volatile organic chemicals resulted in different physiological responses. Test substances included acetone, benzene, ethanol, methanol, toluene and ortho-xylene. The vapours of all substances had anesthetic effects in higher concentrations. All exposures were carried out within the sublethal level. The monitoring of the CO<sub>2</sub>-production of exposed flies immediately during and after anesthesia showed substantial differences in the metabolic activities reflecting exposure to different volatiles. There seems to be no direct correlation between the anesthetic potency and the observed CO<sub>2</sub> production, thus the underlying mechanism must be more complex. Some possibilities for the generation of these responses are discussed.