

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	IV
1 Einleitung	1
1.1 Chemische Kanzerogenese und Fremdstoffmetabolismus.....	1
1.2 Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe	2
1.3 Niedermolekulare aromatische Kohlenwasserstoffe	6
1.4 Glutathionkonjugation und Mercaptursäurebildung	7
1.5 ABC-Transporter.....	8
1.6 Beeinflussung des Fremdstoffmetabolismus.....	9
1.7 Caco-2-Zellen.....	11
1.8 Massenspektrometrie.....	12
2 Zielsetzung	18
3 Material und Methoden	21
3.1 Material	21
3.1.1 Geräte	21
3.1.2 Chemikalien	22
3.1.3 Referenzsubstanzen	23
3.1.4 Arbeitslösungen.....	23
3.2 Zellkultur.....	23
3.2.1 Kultivierung	23
3.2.2 Inkubationen von Caco-2-Zellen.....	24
3.2.3 Induktion des Fremdstoffmetabolismus.....	24
3.2.4 Inhibierung von Transportproteinen.....	25
3.3 Methodvalidierung	25
3.4 Bestimmung von BPD-SG-Konjugaten	27
3.5 Bestimmung von DBPD-SG-Konjugaten	30
3.6 Bestimmung von BcPheD-SG-Konjugaten.....	32
3.7 Bestimmung von DB[a,l]P-Metaboliten	34
3.8 Bestimmung von B[a]P-Metaboliten	36
3.9 Bestimmung von B[c]Phe-Metaboliten.....	38
3.10 Bestimmung von Mercaptursäuren	40
3.11 Statistik.....	42

4	Ergebnisse	43
4.1	Glutathion-Analytik mittels LC-MS/MS	43
4.2	Benzo[<i>a</i>]pyren	45
4.2.1	BPD-SG-Bestimmung mittels LC-MS/MS	45
4.2.1.1	Qualitativer Nachweis von BPD-SG	46
4.2.1.2	Quantitative Bestimmung von BPD-SG	47
4.2.1.3	Bildung der BPD-SG-Konjugate und Transport ins Medium	54
4.2.1.4	Induktion des Transportes der BPD-SG-Konjugate	57
4.2.1.5	Inhibition des Transportes der BPD-SG-Konjugate	59
4.2.1.6	Inkubationen der Caco-2-Zellen mit BPDE	60
4.2.2	Bestimmung von B[<i>a</i>]P-Metaboliten mittels HPLC-FL	62
4.2.2.1	Bildung der B[<i>a</i>]P-Metaboliten und Transport ins Medium	62
4.2.2.2	Induktion des Transportes der B[<i>a</i>]P-Metaboliten	64
4.2.2.3	Qualitativer Nachweis von BPD-SG-Konjugaten	66
4.3	Dibenzo[<i>a,l</i>]pyren	66
4.3.1	DBPD-SG-Bestimmung mittels LC-MS/MS	66
4.3.1.1	Qualitativer Nachweis von DBPD-SG	66
4.3.1.2	Quantitative Bestimmung von DBPD-SG	67
4.3.1.3	DBPD-SG-Bildung aus <i>syn</i> -DBPDE	68
4.3.1.4	Bildung der DBPD-SG-Konjugate und Transport ins Medium	69
4.3.1.5	Transport der DBPD-SG-Konjugate im Transwell TM -System	71
4.3.2	Bestimmung von DB[<i>a,l</i>]P-Metaboliten mittels HPLC-UV	73
4.3.2.1	Konjugationsformen der vorliegenden Metaboliten	74
4.3.2.2	Bildung der DB[<i>a,l</i>]P-Metaboliten	75
4.3.2.3	Induktion des Transportes der DB[<i>a,l</i>]P-Metaboliten	76
4.3.2.4	Inhibition des Transportes der DB[<i>a,l</i>]P-Metaboliten	77
4.3.2.5	Qualitativer Nachweis von DBPD-SG-Konjugaten	78
4.4	Benzo[<i>c</i>]phenanthren	79
4.4.1	BcPheD-SG-Bestimmung mittels LC-MS/MS	79
4.4.1.1	Qualitativer Nachweis von BcPheD-SG	79
4.4.1.2	Quantitative Bestimmung von BcPheD-SG	86
4.4.1.3	Bildung der BcPheD-SG-Konjugate und Transport ins Medium	88
4.4.1.4	Inkubationen der Caco-2-Zellen mit BcPheDE	89
4.4.2	Bestimmung von B[<i>c</i>]Phe-Metaboliten mittels HPLC-UV	91
4.4.2.1	Bildung der B[<i>c</i>]Phe-Metaboliten und Transport ins Medium	91
4.4.2.2	Qualitativer Nachweis von BcPheD-SG-Konjugaten	93
4.5	Mercaptursäure-Analytik im Urin mittels LC-MS/MS	94
4.5.1	Bestimmung von Mercaptursäuren in Nichtraucher- und Raucher-Urinen	98

5	Diskussion	101
5.1	LC-MS/MS-Methodenetablierung für die Bestimmung der GSH-Konjugate	101
5.2	LC-MS/MS-Methodenetablierung für die Bestimmung der Mercaptursäuren	116
6	Zusammenfassung/Summary	120
7	Literaturverzeichnis	124
8	Abbildungsverzeichnis	135
9	Tabellenverzeichnis	137
10	Anhang	138