

## Zusammenfassung

Aluminium ist eines der häufigsten chemischen Elemente der Erde. Durch neue Erkenntnisse, aber auch gestiegene Verwendung in Lebensmitteln, Produkten und Verpackungsmaterialien ist es in den letzten Jahren vermehrt in den Fokus toxikologischer Forschung gelangt. Dennoch ist sein Gefahrenpotenzial für die menschliche Gesundheit bis heute nicht vollständig aufgeklärt und weiterhin unter Wissenschaftlern umstritten. Aluminium tritt in verschiedenen chemischen Spezies auf. Es kommt in oxidisch-mineralischer Form, in metallischer Form und in ionisch-gelöster Form vor. Die ungelösten Aluminiumspezies wurden in Form Aluminium-haltiger Nanopartikel verwendet, da dieser Größenbereich (1 - 100 nm) sich in der Forschung durch die größte Relevanz und beste Anwendbarkeit auszeichnet.

Ziel dieser Arbeit war es, die zelluläre Aufnahme und Wirkung dieser verschiedenen Aluminiumspezies anhand von humanen Intestinal- und Leberzellen *in vitro* vergleichend zu analysieren. Dabei sollten auch Umwandlungen dieser Spezies ineinander in Abhängigkeit ihrer biologisch-chemischen Umgebung untersucht werden. Auch weitere Charakterisierungsparameter wie Partikelgröße, Ionenfreisetzung und Agglomeration wurden bestimmt. Um die chemische Umgebung des Gastrointestinaltraktes zu simulieren, wurde mit den Aluminiumspezies ein artifizieller Verdau durchgeführt. Die verdauten und unverdauten Aluminiumspezies wurden in Hinblick auf ihre Charakterisierungsparameter, Ionenfreisetzung, Genregulation und toxische Wirkung verglichen. Als weiterer Teil der Arbeit erfolgte eine Untersuchung der Proteincorona der Aluminiumspezies in serumhaltigem Zellkulturmedium.

Im künstlichen Magensaft war eine Ionenfreisetzung aus Nanopartikeln festzustellen, während im Darmsaft eine Neubildung von Partikelspezies aus gelösten Ionen gezeigt werden konnte. In Zellkulturmedium erfolgte beides, sowohl Ionenfreisetzung als auch *de novo*-Entstehung nanoskaliger Partikel. Die zelluläre Aufnahme von Aluminium wurde mittels Elementanalyse und Durchflusszytometrie untersucht. Hierbei konnten Unterschiede zwischen partikulären und ionischen Spezies erkannt werden, wobei die Nanopartikel bevorzugt von Intestinalzellen aufgenommen wurden, während für ionische Spezies kaum zelluläre Aufnahme erfolgte. Was die toxikologische Wirkung hingegen betrifft, zeigten gelöste Aluminiumsalze deutlich höhere Effekte als die verwendeten nanopartikulären Spezies. Leberzellen reagierten wesentlich empfindlicher auf Aluminiumspezies als Darmzellen, wobei auch hier Effekte nur bei hohen Konzentrationen von 100 – 200 µg Al/ml gemessen werden konnten. Es wurden toxikologische Endpunkte wie Glutathionspiegel, ATP-Gehalt, mitochondriale Depolarisation, zelluläre Impedanz, Apoptose, Nekrose und Zellzyklusveränderungen untersucht. Mit einer Transkriptomanalyse wurden die Effekte der Aluminiumspezies auf die Genregulation untersucht. Hierbei wurden hauptsächlich ionen-vermittelte Effekte detektiert, die Veränderungen im Fremdstoffmetabolismus und der Metallhomöostase bewirkten.

Da die chemische Umgebung eine große Bedeutung für die Toxizität von Aluminium hat, wurden Aluminiumsalze mit verschiedenen lebensmittelrelevanten Gegenionen untersucht. Hierbei kamen auch Kombinationsexperimente zum Einsatz, bei denen eine Toxizitätssteigerung der Aluminiumspezies durch die Anwesenheit organischer und lipophiler Gegenionen gezeigt werden konnte. Im Hinblick auf die Risikobewertung konnte gezeigt werden, dass Aluminium bevorzugt in Partikelform von Zellen aufgenommen werden kann, während toxische Wirkungen eher von ionischen Spezies ausgehen und in unseren Zellmodellen nur bei hohen Einsatzkonzentrationen verzeichnet wurden. Da sich ionische und partikuläre Aluminiumspezies jedoch ineinander umwandeln können, ist eine toxikologische Betrachtung einzelner Spezies nur im Bewusstsein dieses Gleichgewichts und unter Berücksichtigung der jeweiligen biologisch-chemischen Umgebung zielführend. Die daraus resultierenden Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit sind bis heute nicht vollends absehbar. Deshalb wird Aluminium auch zukünftig einen wichtigen Schwerpunkt der Forschung und der Risikobewertung darstellen.

## Summary

Aluminum is one of the most common chemical elements in the earth crust. Due to new scientific expertise, as well as an increasing use in food, consumer products and packaging in the last centuries, it gained more attention concerning toxicological research. Nevertheless, the hazard potential of Aluminum for human health is not completely understood and disputed among scientists. Aluminum exists as different chemical species. It is found as oxides and minerals, in metallic form and in soluble, ionic form. The particulate Aluminum species were applied in the shape of Aluminum-containing Nanoparticles, because this size range ( 1 - 100 nm) shows the highest relevance for research and the best applicability.

Aim of this work was to analyze the cellular uptake and the toxicological effects of different Aluminum species on human intestinal and liver cell lines *in vitro* comparatively. Therefore, the chemical conversions of these species with regard to their chemical environment were researched. Further characterization parameters, such as size, ion release and agglomeration were determined. To simulate the conditions of the gastrointestinal tract, an artificial digestion experiment was performed. The digested and non-digested Aluminum species were compared based on their characterization parameters, ion release gene regulation and toxicological effects. Another part of this work was the determination of the protein corona in serum-containing cell culture medium.

In artificial stomach fluid, an increased ion release was detectable while there was a *de novo* formation of particles in artificial intestinal fluid. In cell culture medium both occurred: Ion release as well as *de novo* emergence of nano-scaled particles. Cellular uptake of Aluminum was investigated by element analysis as well as flow cytometry. There were differences between particulate and ionic species observable. While Nanoparticles were taken up in a certain amount, there was minor uptake of ionic species. Regarding the toxicological effects, ionic species showed stronger effects than particulate species. Liver cells appeared to be more sensitive to Aluminum species, even though effects were only determined in high concentrations of 100 – 200 µg Al/ml. Toxicological endpoints like reduced glutathione levels, ATP levels, mitochondrial depolarization, cellular impedance, apoptosis, necrosis and changes of the cell cycle were researched. The effects concerning gene regulation were determined by a transcriptome analysis. Mainly, there were effects on xenobiotic metabolism and metal ion homeostasis detected.

The chemical environment has a major influence on the toxicity of Aluminum. Therefore, we investigated different aluminum salts with regard to their counterions. In this context, combination experiments were performed, where an increased toxicity caused by Aluminum species in combination with organic and lipophilic counterions was detected.

With respect to risk assessment, we could show that Aluminum is taken up by the cells preferably as particulate species, while toxic effects appear to be mainly ion related and could only be detected at high concentrations in the applied *in vitro* models. Since ionic and particulate species have the ability to convert into one another, a toxicological investigation of individual species is only purposeful being aware of the knowledge about this fact and with regard to the respective biological and chemical environment. The resultant impact on human health is, up to now, not completely foreseeable. Therefore, Aluminum will prospectively stay in the focus of research and risk assessment in the following years.