



# Abschlussbericht

zum Forschungsprojekt

**„Charakterisierung von Arsenolipiden: Wirkmechanismus, Metabolismus und Lokalisation in menschlichen Leberzellen sowie Untersuchungen zur zerebralen Neurotoxizität“**

**Förderungszeitraum:** 01. November 2014 – 31. Oktober 2016

**vorgelegt durch:** Sandra Marie Müller

**Betreuerin:** Prof. Dr. Tanja Schwerdtle

**Institut für Ernährungswissenschaft, Abteilung Lebensmittelchemie, Universität Potsdam**

## 1. Allgemeine Angaben

### ANTRAGSTELLERIN

Sandra Marie Müller  
Institut für Ernährungswissenschaft, Abteilung Lebensmittelchemie, Universität Potsdam

### THEMA DES PROJEKTES

Charakterisierung von Arsenolipiden: Wirkmechanismus, Metabolismus und Lokalisation in menschlichen Leberzellen sowie Untersuchungen zur zerebralen Neurotoxizität

### BERICHTS- UND FÖRDERUNGSZEITRAUM

2 Jahre (01.11.2014 – 31.10.2016)

### PUBLIKATIONSLISTE

#### PUBLIKATIONEN

F. Ebert, M. Thomann, B. Witt, **S. M. Müller**, S. Meyer, T. Weber, M. Christmann, T. Schwerdtle  
Evaluating long-term cellular effects of the arsenic species thio-DMA<sup>V</sup>: qPCR-based gene expression as screening tool, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2016; 37, 78-84

S. Meyer, G. Raber, F. Ebert, L. Leffers, **S. M. Müller**, M. S. Taleshi, K. A. Francesconi, T. Schwerdtle  
*In vitro* toxicological characterisation of arsenic-containing fatty acids and three of their metabolites, *Toxicology Research*, 2015; 6, 1023-1033

#### POSTERPRÄSENTATIONEN

**45. Deutscher Lebensmittelchemikertag (LChG/GDCh), 12. – 14. September 2016, Freising-Weihenstephan, Deutschland**

**S. M. Müller**, F. Ebert, J. Bornhorst, H.-J. Galla, G. Raber, K. A. Francesconi, T. Schwerdtle  
„Beeinflussen Arsenolipide die physiologischen Barrieren des Gehirns?“

**31. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Mineralstoffe und Spurenelemente e.V. (GMS), 15. – 16. Oktober 2015, Nuthetal (Potsdam), Deutschland**

**S. M. Müller**, F. Ebert, H.-J. Galla, K. A. Francesconi, T. Schwerdtle  
„Characterization of arsenolipids and their metabolites: influence on the blood-liquor and blood-brain barrier“

**44. Deutscher Lebensmittelchemikertag (LChG/GDCh), 14. – 16. September 2015, Karlsruhe, Deutschland**

**S. M. Müller**, F. Ebert, H.-J. Galla, J. Bornhorst, K. A. Francesconi, T. Schwerdtle  
„Charakterisierung von Arsenolipiden und deren Metaboliten: Einfluss auf die Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke“

**28. Tagung der Gesellschaft für Umwelt- und Mutationsforschung e.V. (GUM), 4. – 6. März 2015, Düsseldorf, Deutschland**

F. Ebert, S. Meyer, B. Witt, **S. M. Müller**, M. Christmann, K. A. Francesconi, T. Schwerdtle  
„Toxicological characterisation of arsenic-containing hydrocarbons: molecular mechanisms“

## VORTRÄGE

**4. Young Scientist Workshop der Gesellschaft für Umwelt- und Mutationsforschung e.V. (GUM), 11. Oktober 2016, München-Neuherberg, Deutschland**

**S. M. Müller**, F. Ebert, J. Bornhorst, H.-J. Galla, K. A. Francesconi, T. Schwerdtle  
“Effects of arsenolipids on the blood-liquor and blood-brain barrier”

**32. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Mineralstoffe und Spurenelemente e.V. (GMS), 13. – 15. Oktober 2016, Berlin-Marienfelde, Deutschland**

**S. M. Müller**, F. Ebert, J. Bornhorst, H.-J. Galla, K. A. Francesconi, T. Schwerdtle  
“Effects of arsenolipids on the blood-liquor and blood-brain barrier”

In sämtlichen Publikationen und Präsentationen wurde der Heinrich-Stockmeyer-Stiftung für ihre freundliche Unterstützung gedankt. Die Posterbeiträge als Erstautor und Publikationen sind dem Bericht angehängt.

**AUSZEICHNUNGEN**

Oktober 2016: Young Investigator Award 2016 anlässlich der 32. Jahrestagung der Gesellschaft für Mineralstoffe und Spurenelemente e.V. in Berlin

## Zusammenfassung

Die aktuelle Gesetzeslage sieht in bestimmten Lebensmitteln lediglich Höchstgehalte für anorganisches Arsen vor, nicht jedoch für organische Arsenverbindungen. Zu diesen organischen Arsenverbindungen gehören auch fettlösliche Arsenspezies, sogenannte Arsenolipide. Dies liegt unter anderem in der unzureichenden Datenlage betreffend ihrer Toxizität begründet, sodass bislang keine adäquate Risikobewertung durchgeführt werden konnte. Vor allem Seafood, also marine Lebensmittel wie Fisch, Krustentiere, Muscheln und Algen, stellt die Hauptexpositionsquelle für Verbraucher dar.

Im Rahmen des Promotionsprojektes wurden hochrein synthetisierte Arsenolipide, darunter arsenhaltige Kohlenwasserstoffe (AsHC 332, 360, 444) und arsenhaltige Fettsäuren (AsFA 388, 362) sowie deren Metaboliten (thio-/oxo-Dimethylarsenoylpropionsäure, Dimethylarsinsäure), unter Zuhilfenahme unterschiedlicher *in vitro*-Systeme untersucht und mit der toxischen Referenzsubstanz Arsenit ( $iAs^{III}$ ) verglichen. Im Fokus stand der Einfluss von Arsenolipiden auf die beiden protektiven Barriersysteme unseres Gehirns: die Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke. Für die Untersuchung wurden porcine Blutkapillarendothelzellen (PBCECs) und porcine choroidale Plexusepithelzellen (PCPECs) aus dem Gewebe von Schlachttieren frisch isoliert und *in vitro* kultiviert. Die Zytotoxizitätsuntersuchungen ergaben nach 48-stündiger Inkubation mit den Testsubstanzen, dass die AsHCs in lebensmittelrelevanten Konzentrationen hinsichtlich ihrer toxischen Wirkung am potentesten sind und im Falle der PBCECs eine bis zu 5-fach höhere Toxizität aufweisen als die Referenzkomponente  $iAs^{III}$ . In einer weiteren Untersuchung wurden die *in vivo*-Bedingungen von Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke durch den Einsatz von Transwell®-Filtereinheiten imitiert und die Barriereintegrität durch Messung des transendothelialen elektrischen Widerstands (TEER) impedanzspektroskopisch über die gesamte Versuchszeit hinweg überwacht. Hier führte die Inkubation mit AsHCs sogar in subzytotoxischen Konzentrationen zum Zusammenbruch der *in vitro*-Blut-Hirn-Schranke. In Konzentrationen, die die Barriereintegrität nicht beeinflussten, konnte mittels hochsensitiver ICP-MS/MS-Messung ein signifikanter Transfer der AsHCs über die Blut-Hirn-Schranke festgestellt werden, sodass anschließende Untersuchungen zur Neurotoxizität nötig sind. Im Laufe des Projektes konnten zudem wichtige Erkenntnisse über die *in vitro*-Hirn-Schranken zur Eignung als Tierversuchersatzmodelle gewonnen werden.

Bezüglich ihres molekularen Wirkmechanismus und der intrazellulären Lokalisation in menschlichen Leberzellen konnten wir für AsHC 332 und AsHC 360 ausgeprägte Differenzen zur Referenzsubstanz  $iAs^{III}$  identifizieren, die aktuell weiter aufgeklärt werden.

Dieses Promotionsprojekt wurde durch die Heinrich-Stockmeyer Stiftung gefördert.

This study was financed by the Heinrich-Stockmeyer Foundation.