

Pharmacokinetic and toxicological aspects of aluminium

Doctoral Thesis

Author(s):

Müller, Judith Pia

Publication date:

1993

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000928593>

Rights / license:

In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

Diss. ETH Nr. 10388

PHARMACOKINETIC AND TOXICOLOGICAL ASPECTS OF ALUMINIUM

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY
ZÜRICH
for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by
JUDITH PIA MÜLLER
eidg. dipl. Apothekerin, graduate in pharmacy
born April 18, 1963
citizen of Oberrieden and Stäfa, ZH

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Ch. Schlatter, examiner
Dr. R. Knutti, co-examiner
Dr. A. Bruinink, co-examiner

Ch. Schlatter
23.2.94

Summary

Aluminium (Al), being the third most frequent element in the earth's crust, is abundant in the environment. Its presence in the diet and ambient air makes permanent exposure of humans unavoidable. There is no evidence that Al has any essential biological function. In contrast, Al may act as a potent neurotoxic agent causing neuronal dysfunction in subjects with renal impairment exposed to high Al levels. However, there is still little known about the possible risks of low levels of Al exposure in healthy individuals.

The aim of this thesis was to obtain more information as to a) the gastrointestinal absorption and urinary excretion of Al in healthy individuals at low Al exposure, b) the contribution of Al from packaging materials and cooking utensils to the normal daily Al intake, and c) neurotoxic effects of Al on brain cells in vitro.

a) Urinary Al excretion was assessed in two healthy male volunteers exposed to single oral doses of 5 and 20 mg Al administered with or without addition of citrate. Ingestion of 20 mg Al in the absence of citrate had no apparent effect on urinary Al excretion. In contrast, both subjects excreted considerably more Al in their urine following both Al doses when co-ingested with citrate than during control periods of normal dietary Al exposure.

The gastrointestinal absorption of Al in percentage of the intake level was highly dose-dependent. Absorption of 2 to 5% was observed from doses of 5 mg compared to only 1% from doses of 20 mg when Al was ingested with citrate. An estimate of 0.4-1.0% was found for the absorption of Al from the diet. No relationship could be seen between the rates of Al and creatinine excretion. On the contrary, the Al excretion rate correlated positively with the urine production rate. Correspondingly, individual urinary Al elimination was strongly influenced by fluctuations in the volume of urine excreted per time unit.

b) Migration of Al from packaging materials and cooking utensils into foods and beverages was determined at intervals during cooking or during storage by graphite furnace atomic absorption spectroscopy. High amounts of Al migrated into acidic products such as mashed tomatoes during normal processing in normal, non-coated Al pans. After 60 min cooking an Al content of 10-15 mg/kg was measured in tomato sauce. Surprisingly, the Al concentration was also increased up to 2.6 mg/L after boiling of tap water for 15 min in Al pans. Storage of Coca-Cola® in internally lacquered Al cans resulted in Al levels below

0.25 mg/L. In contrast, non-coated Al camping bottles containing lime blossom tea acidified with lemon juice released up to 7 mg Al/L within 5 days. The Al concentration in coffee was lower than that of the tap water used in its preparation, even if prepared in Al heaters.

In Switzerland, where most pans are constructed with stainless steel or teflon-coated Al, the average contribution for the use of Al utensils to the daily Al intake of 2-5 mg from the diet is estimated to be less than 0.1 mg. This low additional amount of Al might not significantly increase the risk of oral Al exposure.

c) Toxic damage of brain cells by Al is discussed as a possible factor in the development of neurodegenerative disorders in humans. In order to investigate neurotoxic effects of Al, serum-free cultures of mechanically dissociated embryonic chick (stage 28-29) forebrain, brainstem and optic tectum, and for comparison meningeal cells, were treated with Al (0-1000 μM) for 7 days. Cell viability was assessed by measuring change in medium pH, lysosomal neutral red uptake, mitochondrial thiazolylblue tetrazoliumbromide dehydrogenase activity and cellular protein content. Cell density was estimated by determination of the DNA content. The expression of cell specific markers such as neurofilament 68kD antigens (NF68kD), microtubule-associated protein type 2 (MAP2) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) were used as an index of cell-specific differentiation.

Effects of Al on viability and differentiation were found to be brain area specific with the highest sensitivity observed in optic tectum. No inhibiting effects on cell viability could be observed in cultures of forebrain and meninges in the concentration range tested. In all three brain tissue cultures, threshold levels for the reduction of cell differentiation parameters were found at lower Al concentrations ($\text{IC}_{50} > 180 \mu\text{M}$) than for the inhibition of cell viability ($\text{IC}_{50} > 280 \mu\text{M}$), indicating a specific toxic potential of Al for cytoskeletal alterations. The expression of nerve cell-specific MAP2 (the most sensitive parameter) and NF68kD antigen were inhibited at lower Al concentrations (IC_{50} 180 to 630 μM) than the astrocyte-specific GFAP antigen (IC_{50} 700 to $\gg 1000 \mu\text{M}$), demonstrating a particularly high sensitivity of neurons in comparison to astrocytes. Based on these differences in Al sensitivity observed for different cell markers in the various brain tissue cultures, the in vitro system used in the present study proved to be a suitable model to assess brain area and cell type specific neurotoxic effects of Al.

Zusammenfassung

Aluminium (Al) ist das dritthäufigste Element der Erdkruste und in der Umwelt ubiquitär vorhanden. Sein natürliches Vorkommen in Luft und Nahrung macht die ständige Exposition des Menschen unvermeidlich. Al hat keine nachweisbaren biologischen Funktionen. Im Gegenteil, es kann als potentes neurotoxisches Agens wirken und in stark exponierten Personen mit renaler Insuffizienz zu neuronalen Störungen führen. Ueber das mögliche Risiko tiefer Al-Exposition in gesunden Individuen ist dagegen noch wenig bekannt. Das Ziel dieser Dissertation war, mehr über a) die gastrointestinal Al-Absorption und -Urinausscheidung in gesunden Personen mit tiefer Al-Exposition, b) den Beitrag von Al aus Verpackungsmaterialien und Kochgeräten zur täglichen Aufnahme sowie c) die neurotoxischen Effekte von Al auf Hirnzellen *in vitro* zu erfahren.

a) In zwei gesunden männlichen Probanden wurde die Al-Urinausscheidung nach oralen Dosen von 5 und 20 mg Al mit oder ohne Citrat bestimmt. In Abwesenheit von Citrat hatte die Einnahme von 20 mg Al keinen Einfluss auf die Al-Urinausscheidung. Bei gleichzeitiger Gabe von Citrat hingegen stieg letztere in beiden Personen und bei beiden Al-Dosen, im Vergleich zu Kontrollperioden normaler Belastung durch die Nahrung, deutlich an.

Die gastrointestinale Absorption von Al, in Prozent der eingenommenen Menge, war stark dosisabhängig. Eine Absorption von 2 bis 5% wurde beobachtet von Dosen à 5 mg, im Gegensatz zu nur 1% von Dosen à 20 mg Al bei Verabreichung von Al mit Citrat. Die Absorption von in der Nahrung vorhandenem Al wurde auf 0.4-1.0% geschätzt. Zwischen den Ausscheidungsraten von Al und Kreatinin konnte kein Zusammenhang festgestellt werden. Die Al-Ausscheidungsrate korrelierte dagegen mit der Urinproduktionsrate. Entsprechend wurde die individuelle Al-Elimination via Urin stark durch Schwankungen in der pro Zeiteinheit ausgeschiedenen Urinvolumina beeinflusst.

b) Die während des Kochens und der Lagerung von Lebensmitteln und Getränken in Al-Verpackungsmaterialien und -Kochgeräten auftretende Migration von Al wurde mittels Graphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie (GFAAS) bestimmt. Saure Produkte wie pürierte Tomaten lösten bei üblicher Zubereitung in normalen, unbeschichteten Al-Pfannen grosse Mengen an Al heraus und zeigten nach einer Kochzeit von 60 min einen Al-Gehalt von 10-15 mg/kg auf. Erstaunlicherweise wurde auch durch Kochen von Leitungswasser

während 15 min eine Al-Konzentration von 2.6 mg/L erreicht. Lagerung von Coca-Cola® in Al-Dosen mit lackierter Innenseite ergab Al-Gehalte unter 0.25 mg/L. Aus unbeschichteten Al-Feldflaschen hingegen löste zitronensafthaltiger Lindenblütentee innert 5 Tagen bis zu 7 mg Al/L heraus. In Kaffee wurden selbst bei der Verwendung von Geräten mit Al-Heizelementen geringere Al-Konzentrationen gemessen als im verwendeten, erhitzten Leitungswasser. Für die Schweiz, wo heute allerdings vorwiegend Pfannen aus Chromstahl oder beschichtetem Al verwendet werden, schätzen wir den durchschnittlichen Beitrag zur täglichen, nahrungsbedingten Al-Aufnahme von 2 bis 5 mg durch den Gebrauch von Al-Geräten auf weniger als 0.1 mg.

c) Die Untersuchung neurotoxischer Effekte von Al in vitro wurde in serumfreien Zellkulturen von Hühnerembryonen durchgeführt. Mechanisch dissoziierte Zellen von Vorderhirn, Hirnstamm, Optischem Tectum, und zum Vergleich von Meninges, wurden während 7 Tagen mit Al (0-1000 μM) behandelt. Die Vitalität der Zellen wurde durch Messung der pH-Änderung im Medium, der lysosomalen Neutralrot-Aufnahme, der mitochondrialen MTT-Aktivität sowie des zellulären Proteingehaltes bestimmt. Die Zelldichte wurde mittels DNA-Messungen abgeschätzt. Ferner diente die Exprimierung zellspezifischer Antigene wie NF68kD, MAP2 und GFAP als Index für die zellspezifische Differenzierung.

Effekte von Al auf Zellvitalität und -differenzierung waren spezifisch für bestimmte Hirnregionen, wobei das Optische Tectum die höchste Empfindlichkeit zeigte. Die Vitalität in Kulturen von Vorderhirn und Meninges wurde im getesteten Konzentrationsbereich nicht gehemmt. Schwellenwerte für die Reduktion von Zelldifferenzierungsparametern waren in allen drei Hirngewebskulturen tiefer ($\text{IC}_{50} > 180 \mu\text{M Al}$) als für die Hemmung der Zellvitalität ($\text{IC}_{50} > 280 \mu\text{M Al}$), was auf eine spezifische toxische Wirkung von Al auf das Zytoskelett hinwies. Die Exprimierung der nervenzellspezifischen MAP2 (sensitivster Parameter) und NF68kD Antigene wurde durch tiefere Al-Konzentrationen gehemmt (IC_{50} 180 bis 630 μM) als diejenige des astrozyten-spezifischen GFAP Antigens (IC_{50} 700 bis »1000 μM), was eine speziell hohe Empfindlichkeit von Neuronen im Vergleich zu Astrozyten deutlich machte. Aufgrund der beobachteten unterschiedlichen Al-Sensitivität verschiedener Zellmarker in verschiedenen Hirngewebskulturen zeigte sich das in dieser Studie angewendete in vitro-System als brauchbares Modell für die Untersuchung hirnregion- und zelltypspezifischer neurotoxischer Effekte von Al.