

## Abstract

Risk assessment of pesticides is performed for individual substances. However, consumers are exposed to multiple residues of pesticides. To evaluate mixture effects, it is necessary to investigate molecular mechanisms of the single components. Triazoles are commonly used fungicides which occur as residues in food. In rodent studies they show hepatotoxic effects like vacuolization indicative of steatosis. In this thesis, molecular mechanisms of the triazoles propiconazole (Pi) and tebuconazole (Te) were investigated in human liver cell lines. Their hepatotoxic effects can be attributed to the activation of nuclear receptors. The aim of this work was to elucidate molecular mechanisms of triazole-mediated hepatotoxicity and to assess combination effects. As a functional endpoint, triglyceride accumulation was analyzed. Dual luciferase reporter gene assays revealed that Pi and Te are multi-receptor agonists, meaning that they are able to interact with different nuclear receptors like CAR and PXR. Both compounds induced the expression of steatosis-related genes. Results of AdipoRed assays showed triglyceride accumulation after 6 days of treatment with Pi, Te and their combination. Mathematical modeling revealed concentration-additive combination effects. Triglyceride accumulation was still induced by Pi and Te in CAR knockout, but not in PXR knockout HepaRG cells, substantiating the crucial role of PXR in steatosis induction. In summary, PXR was identified as a crucial molecular mediator of triazole-induced steatosis. Depending on the analyzed endpoint different mixture effects were observed. These data demonstrate that experimental mode of action analysis should be performed to establish safe strategies for complex mixture assessment.

## Zusammenfassung

Die Risikobewertung von Pestizidwirkstoffen erfolgt auf Einzelstoffbasis. Verbraucher sind jedoch gegenüber Mehrfachrückständen exponiert. Die molekularen Mechanismen der einzelnen Komponenten müssen untersucht werden, um Kombinationseffekte bewerten zu können. Triazole sind häufig verwendete Fungizide, die als Rückstände in Lebensmitteln auftreten. In Tierstudien zeigen sie hepatotoxische Wirkungen, wie Vakuolisierungen, die auf Steatose hindeuten. In dieser Arbeit wurden die molekularen Mechanismen der beiden Triazole Propiconazol (Pi) und Tebuconazol (Te) in menschlichen Leberzelllinien untersucht. Ihre hepatotoxischen Wirkungen werden auf die Aktivierung von Kernrezeptoren zurückgeführt. Das Ziel dieser Arbeit war es, molekulare Mechanismen der Triazol-vermittelten Hepatotoxizität aufzuklären und die Kombinationseffekte zu untersuchen. Als funktioneller Endpunkt wurde die Triglycerid-Akkumulation analysiert. Luciferase-Assays ergaben, dass Pi und Te Multi-Rezeptor-Agonisten von u.a. CAR und PXR sind. Beide Triazole induzierten die Expression von Steatose-relevanten Genen. Die Ergebnisse des AdipoRed-Assays zeigten nach 6-tägiger Behandlung eine Triglyceridakkumulation. In CAR-Knockout-HepaRG-Zellen wurde diese Akkumulation noch beobachtet, nicht jedoch in PXR-Knockout-HepaRG-Zellen, was die wichtige Rolle von PXR bei der Steatose-Induktion untermauert. Zusammenfassend wurde PXR für Triazol-induzierte steatotische Effekte als entscheidender molekularer Mediator identifiziert. Abhängig vom analysierten Endpunkt wurden unterschiedliche Mischungseffekte beobachtet. Diese Daten legen nahe, dass entsprechende experimentelle Analysen der Wirkungsweise durchgeführt werden sollten, um sichere Strategien für die Bewertung komplexer Mischungen festzulegen.