

## Curcumin, genistein and allyl isothiocyanate as potential inducers of paraoxonase-1 – Studies in cultured hepatocytes and laboratory rodents

MSc Charlotte Schrader

1. Berichterstatter: Prof. Dr. G. Rimbach

Paraoxonase-1 (PON1) ist ein Enzym, das hauptsächlich in der Leber synthetisiert wird. PON1 zirkuliert im Plasma gebunden an HDL und verhindert die Oxidation von LDL. Ein hoher PON1-Status könnte mit einem reduzierten Risiko an kardiovaskulären Erkrankungen zu erkranken verbunden sein. Neben genetischen sowie Lebensstil-Faktoren determinieren möglicherweise auch Nahrungs- und pharmakologische Faktoren den PON1-Status. Zu den Nahrungsfaktoren, die den PON1-Status modulieren können, gehören Fette und Fettsäuren, antioxidativ wirksame Vitamine sowie Polyphenole und polyphenolreiche Lebensmittel. Das Ziel dieser Arbeit war es, die Frage zu beantworten, ob Curcumin, Genistein und Isothiocyanate, die bisher noch nicht als PON1-Modulatoren beschrieben wurden, PON1 in kultivierten Zellen *in vitro* und in Labornagern *in vivo* zu induzieren vermögen.

Mit Hilfe eines Luziferase-Reporter-Gen-Assays haben wir die Fähigkeit von Curcumin untersucht, PON1 in kultivierten Huh7-Zellen zu induzieren. Curcumin ( $\geq 10 \mu\text{mol/l}$ ) induzierte dosisabhängig die PON1-Transaktivierung in Huh7-Zellen. Die Supplementation von weiblichen B6F3C1-Mäusen mit Curcumin über die Diät (500 mg/kg Diät für 2 Wochen) führte jedoch zu keinem Anstieg der hepatischen PON1-mRNA- und PON1-Protein-Konzentrationen. Im Plasma von 12 Stunden genücherten Mäusen war kein Curcumin detektierbar. Folglich ist Curcumin in der Lage, PON1 in kultivierten Zellen *in vitro* zu induzieren, jedoch nicht in der Leber von Mäusen *in vivo*, was wahrscheinlich auf seine geringe Bioverfügbarkeit zurückzuführen ist.

Desweiteren haben wir die Fähigkeit von strukturell verwandten Isothiocyanaten untersucht, PON1 in kultivierten Hepatozyten zu induzieren. Allyl-Isothiocyanat ( $\geq 2,5 \mu\text{mol/l}$ ), Phenylethyl-Isothiocyanat und Sulforaphan, jedoch nicht Butyl-Isothiocyanat, führten zu einer dosis-abhängigen Induktion der PON1-Transaktivierung in Huh7-Zellen *in vitro*. Die Allyl-Isothiocyanat vermittelte Induktion der PON1 wurde durch den selektiven PPAR $\gamma$ -Antagonist T0070907 gehemmt. Allyl-Isothiocyanat wurde in einem folgenden *in vivo*-Studie in Mäusen eingesetzt, um seine Fähigkeit zu untersuchen, PON1 zu induzieren. Im Gegensatz zu den Ergebnissen in kultivierten Hepatozyten führte die Supplementation von Allyl-Isothiocyanat (15 mg/kg Körpergewicht für 1 Woche) zu keinem Anstieg der PON1-mRNA und -Protein-Spiegel in der Leber von Mäusen. Dies lässt darauf schließen, dass Allyl-Isothiocyanat ein potenter Induktor der PON1 *in vitro* ist, nicht aber in der Leber von Mäusen *in vivo*.

Darüber hinaus haben wir mit Hilfe des Reporter-Gen-Assays verschiedene Flavonoide hinsichtlich ihres Potenzials untersucht, PON1 in Huh7-Hepatozyten in der Zellkultur zu induzieren. Genistein ( $\geq 5 \mu\text{mol/l}$ ) war das potenteste Flavonoid in Bezug auf die Induktion der PON1, gefolgt von Daidzein, Luteolin, Isorhamnetin und Quercetin. Andere Flavonoide wie Naringenin, Cyanidin, Malvidin und Catechin induzierten PON1 nicht oder nur gering. Die Genistein-vermittelte Induktion der PON1-Transaktivierung wurde teilweise durch den Estrogen-Rezeptor-Inhibitor Fulvestrant sowie durch den Antagonisten des Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor 7-Ketocholesterol gehemmt. Im Gegensatz zu Genistein war der Genistein-Metabolit Genistein-7- $\beta$ -D-glucuronid ein schwacher Induktor der PON1-Transaktivierung. Dementsprechend führte Genistein in der Nahrung von wachsenden Ratten (2 g/kg Diät) zu keinem Anstieg der PON1-mRNA- und -Protein-Spiegel in der Leber. Daher scheint Genistein ein potenter Induktor der PON1 in kultivierten Zellen *in vitro* zu sein, nicht jedoch in Ratten *in vivo*.

Insgesamt zeigen diese Daten deutlich, dass Ergebnisse bezüglich der Induktion von PON1 durch sekundäre Pflanzenstoffe, die in der Zellkultur generiert wurden, immer in adäquaten

Modellen *in vivo* verifiziert werden müssen. Die Diskrepanz zwischen unseren Zellkultur-Daten und den Daten aus den Versuchen mit Labornagern bezüglich der PON1-Induktion könnte auf die geringe Bioverfügbarkeit der Testsubstanzen *in vivo* zurückzuführen sein.