

**ISOTHIOCYANATES, INDOLES AND ANTHOCYANIDINS AS PUTATIVE MODULATORS OF NRF2-DEPENDENT  
SIGNAL TRANSDUCTION PATHWAYS IN SKIN - STUDIES IN CULTURED FIBROBLASTS AND  
KERATINOCYTES**

M.Sc. Insa Ernst

1. Berichterstatter: Prof. Dr. G. Rimbach

Ziel des vorliegenden Dissertationsvorhabens war es, in mechanistischen Studien den Einfluss von Anthocyanen und Hydrolyseprodukten von Glucosinolaten (Isothiocyanate und Indole) auf den Transkriptionsfaktor Nrf2 in Zellen der Haut zu untersuchen. Als repräsentative Zelllinien der Dermis und der Epidermis dienten hierbei Fibroblasten (NIH3T3) und Keratinozyten (HaCaT).

Die Haut ist permanent einer Reihe exogener Stressoren wie UV-Strahlen und Schadstoffen ausgesetzt. Daher benötigt dieses Organ ein ausgeprägtes endogenes Schutzsystem, um die Zellfunktionen zu erhalten. Der Transkriptionsfaktor Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like receptor 2 (Nrf2) reguliert die Expression von antioxidativen und Phase-II-Enzymen, wie Hämoxxygenase 1 (HO-1), NAD(P)H:Chinon Oxidoreduktase 1 (NQO1) und  $\gamma$ -Glutamylcysteine Synthetase ( $\gamma$ GCS), und spielt daher eine Schlüsselfunktion im endogenen zellulären Schutzsystem.

Ein potenter Induktor von Nrf2 ist das Isothiocyanat Sulforaphan. Isothiocyanate, aber auch andere Produkte wie Indole, entstehen bei der Verarbeitung von Brassica-Gemüsen aus der hydrolytischen Spaltung von Glucosinolaten. Sulforaphan hat in der Haut bereits eine Nrf2-aktivierende Wirkung gezeigt. Eine Aktivierung von Nrf2 durch verwandte Isothiocyanate sowie zugrunde liegende, aktivierende Signalwege wurden bislang in der Haut kaum untersucht. In Studie 1 und 2 der vorliegenden Arbeit wurden daher die Effekte der Isothiocyanate Phenylethyl-, Allyl- und Butylisothiocyanat sowie der Indole Indol-3-Carbinol und 3,3'-Diindolylmethan im Hinblick auf eine Nrf2-Aktivierung in Fibroblasten analysiert. Es wurde gezeigt, dass die genannten Isothiocyanate Nrf2 aktivieren und Nrf2 Zielgene auf Protein- und mRNA-Ebene induzieren. Indol-3-Carbinol hatte keinen Effekt auf Nrf2, jedoch wurde ein moderater Effekt seines Derivats 3,3'-Diindolylmethan auf die Nrf2-Zielgenexpression gefunden. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit deuten darauf hin, dass die Elektrophilie der Isothiocyanate und Indol-Derivate die Aktivierung von Nrf2 bestimmen. Isothiocyanate und DIM aktivieren Nrf2, zum Teil, über MAPK/ERK-abhängige Signalwege. Eine Untersuchung der DNA-Methylierung der Nrf2-Zielgene HO-1 und  $\gamma$ GCS gab hingegen keinen Hinweis auf epigenetische Regulationsmechanismen.

Frühere Studien deuten darauf hin, dass die Behandlung mit Anthocyanen oxidativem Stress und Entzündungsprozessen in der Haut entgegen wirkt. Der Einfluss von Anthocyanen auf Nrf2 in Hautzellen ist bisher noch nicht systematisch untersucht worden. In Studie 3 wurde mittels Fluoreszenzmikroskopie, Durchflusszytometrie und HPLC gezeigt, dass Cyanidin, ein verbreitetes Anthocyanidin in der Ernährung des Menschen, in Keratinozyten aufgenommen wird, jedoch unter Zellkulturbedingungen instabil ist. Auf genregulatorischer Ebene reduzierte Cyanidin die Expression des Nrf2-Zielgens MRP1. In Studie 4 wurde kein Einfluss von Cyanidin auf Nrf2-Aktivität in Keratinozyten gefunden. Auch die Sulforaphan-induzierte Aktivierung von Nrf2 wurde nicht durch eine Cyanidin-Coapplikation moduliert.

Insgesamt deuten die Daten der vorliegenden Arbeit darauf hin, dass ausgewählte Abbauprodukte aus Brassica-Gemüsen antioxidative und Phase-II-Enzyme in Zellen der Haut induzieren. Zudem wurden Signalwege einer solchen Nrf2-vermittelten Zellantwort aufgezeigt. Anthocyanidine hingegen, wie am Beispiel von Cyanidin untersucht, nehmen keinen Einfluss auf Nrf2-Signalwege in Hautzellen in vitro.

Möglicherweise üben jedoch stabilere, glykosylierte, Anthocyane einen Einfluss auf die Nrf2-Aktivierung aus.