



Dr. Daniel Heylmann

Beste Kurzvortrag der Deutschen Gesellschaft für Toxikologie in der DGPT

Der Naturstoff Methyleugenol aktiviert die ATR-CHK1-p53 vermittelte DNA-Schadensantwort und löst den Caspase-abhängigen Zelltod aus

Daniel Heylmann, Anastasia S. Vollmer, Diana Begaliew, Simon Peter, Teodora Nikolova, Markus Christmann, Julia A. Fuhlbrueck, Simone Stegmüller, Alexander Cartus und Jörg Fahrer

Methyleugenol (ME) gehört zur chemischen Gruppe der Phenylpropanoide und ist in der Natur ein Bestandteil zahlreicher Pflanzen und Gewürze. ME kommt somit u.a. in Pesto und ätherischen Ölen, aber auch in Kosmetika und als Aromastoff vor. Nach oraler oder dermalen Aufnahme wird ME durch CYP-Enzyme in der Leber zu 1'-Hydroxy-ME (OH-ME) metabolisiert. OH-ME wird weiterhin über SULT1A1 in ein hochreaktives Carbokation umgewandelt, welches mit den Basen der DNA reagiert und DNA-Addukte bildet. Obwohl OH-ME ein bekanntes Karzinogen darstellt, ist relativ wenig über eine mögliche Aktivierung der DNA-Schadensantwort (DNA damage response, DDR) erforscht.

Diese Studie fokussiert sich auf den Effekt von OH-ME bezüglich DDR und replikativen Stress, da dieser durch DNA-Addukte hervorgerufen werden kann und mit chromosomaler Instabilität, Mutationen und der Entstehung von Krebs einhergeht. Verwendet wurden metabolisch kompetente (V79 C/S) und defiziente (V79 MZ) Hamster-Fibroblasten, Dickdarm- (HCT116) und Leberkrebszellen (HepG2).

Es konnte über massenspektroskopische Analysen gezeigt werden, dass OH-ME abhängig vom zellulären SULT1A1 Status mit der DNA hauptsächlich Guaninaddukte bildet (N²-(trans-Methylisoeugenol-3-yl)-2'-Desoxyguanosin). γ H2AX, ein Marker u.a. für replikativen Stress und die Aktivierung des DNA-Schadensensors ATR, wurde nach Behandlung mit OH-ME in den metabolisch kompetenten V79 C/S, HCT116 und HepG2 Zellen, nicht aber in metabolisch defizienten V79 MZ, induziert. Weiterhin löste OH-ME eine Aktivierung der DDR aus, die sich in den metabolisch kompetenten Zellen in einer Phosphorylierung von ATR, CHK1 und p53 offenbarte. Die pharmakologische Hemmung von ATR bewirkte eine deutliche Abnahme der OH-ME-vermittelten Aktivierung der DDR. Zusätzlich konnte mittels DNA Fiber Assay eine durch OH-ME ausgelöste Reduktion der Replikationsgeschwindigkeit und die Blockierung der Replikationsgabel festgestellt werden. Zellviabilitätsanalysen mittels MTS Assay und Zelltodmessungen nach der AnnexinV/PI- und SubG1-Methode zeigten nur geringfügig eine Abnahme der Lebensfähigkeit von V79 und HCT116 Zellen. Interessanterweise induzierte OH-ME einen signifikanten apoptotischen Zelltod von HepG2 Zellen, der mit einer Aktivierung und Spaltung der Caspasen-3 und -9 einherging. Des Weiteren löste OH-ME in HepG2 eine Akkumulation von p53 und eine Erhöhung der

Expression p53-regulierter pro-apoptischer Gene wie PUMA, NOXA und des FAS-Rezeptors aus. Im Gegenzug wurde eine Herunterregulierung anti-apoptischer Gene wie cIAP durch OH-ME beobachtet.

Zusammengefasst induziert OH-ME DNA-Addukte sowie replikativen Stress, der die Aktivierung des ATR-CHK1-p53 Signalwegs bewirkt. Insbesondere HepG2 Zellen zeigten sich äußerst sensitiv gegenüber OH-ME und leiteten einen Caspase-abhängigen, apoptotischen Zelltod ein. Zukünftige Arbeiten zielen auf relevante DNA-Reparaturwege und weitere DDR-Proteine hin, um die Mechanismen der ME-vermittelten Krebsentstehung zu verstehen.