

Hochschule für Angewandte Wissenschaften  
Hamburg

Studiengang  
Ökotrophologie

# **Möglichkeiten der Krebsprävention durch Glucosinolate in der Ernährung**

Diplomarbeit

Abgabetermin: 20. August 2009

Vorgelegt von: Lina Putri- Ayu Friedland

Betreuender Prüfer: Prof. Michael Hamm

Zweiter Prüfer: Prof. Christine Behr- Völtzer

# Inhaltsverzeichnis

<b>1.Einleitung</b> .....	6
<b>2.Sekundäre Pflanzenstoffe</b> .....	9
2.1 Biologische und chemische Bestimmung.....	9
2.1.1 Definition.....	9
2.1.2 Chemische Prozesse und Pflanzenstoffwechsel.....	10
2.1.3 Einteilung der sekundären Pflanzenstoffe.....	11
2.1.4 Konzentrationsgehalt von sekundären Pflanzenstoffen in Nahrungspflanzen.....	12
2.1.5 Bioverfügbarkeit.....	14
2.2 Gesundheitliche Aspekte.....	15
2.2.1 Auswirkungen auf den menschlichen Organismus.....	15
2.2.2 Ernährungsempfehlungen.....	19
2.2.3 Trend in der Lebensmittelindustrie- Functional Food.....	20
<b>3.Glucosinolate</b> .....	22
3.1 Biologische und chemische Bestimmung.....	22
3.1.1 Vorkommen und chemische Strukturen.....	22
3.1.2 Stoffwechsel von Glucosinolaten.....	26
3.1.3. Bioverfügbarkeit.....	28
3.1.4 Glucosinolatgehalt in Lebensmitteln.....	30
3.2 Gesundheitliche Aspekte.....	31
3.2.1 Auswirkungen von Glucosinolaten auf die Gesundheit, besonders im Rahmen der Krebsprävention.....	31
3.2.2 Entstehung von Krebs.....	32
3.2.3 Zusammenhang von Krebsentstehung und Wirkung von Glucosinolaten.....	35
<b>4.Studien</b> .....	37
4.1. Einleitung.....	37

4.2 Broccoli Consumption Interacts with GSTM1 to Perturb Oncogenic Signalling Pathways in the Prostate.....	39
4.2.1 Einleitung.....	39
4.2.2 Methodik.....	40
4.2.3 Ergebnisse.....	41
4.3 Gene Expression Profile of Primary Prostate Epithelial and Stromal Cells in Response to Sulforaphane or Iberin Exposure.....	42
4.3.1 Einleitung.....	42
4.3.2 Methodik.....	43
4.3.3 Ergebnisse.....	43
4.4. Dietary glucosinolate intake and risk of prostate cancer in the EPIC- Heidelberg cohort study.....	45
4.4.1 Einleitung.....	45
4.4.2 Methodik.....	45
4.4.3 Ergebnisse.....	46
4.5 Cruciferous vegetables, the GSTP1 Ile105Val genetic polymorphism, and breast cancer risk1–3.....	46
4.5.1 Einleitung.....	46
4.5.2 Methodik.....	47
4.5.3 Ergebnisse.....	48
4.6 Consuming Broccoli Does Not Induce Genes Associated with Xenobiotic Metabolism and Cell Cycle Control in Human Gastric Mucosa.....	49
4.6.1 Einleitung.....	49
4.6.2 Methodik.....	50
4.6.3 Ergebnisse.....	51
4.7 Induction of Detoxication Enzymes in Mice by Naturally Occurring Allyl Nitrile.....	53
4.7.1 Einleitung.....	53
4.7.2 Methodik.....	53
4.7.3 Ergebnisse.....	54
4.8 Gesamtauswertung der Studien.....	56

<b>5.Schlussfolgerung.....</b>	<b>58</b>
<b>6.Literaturverzeichnis.....</b>	<b>59</b>

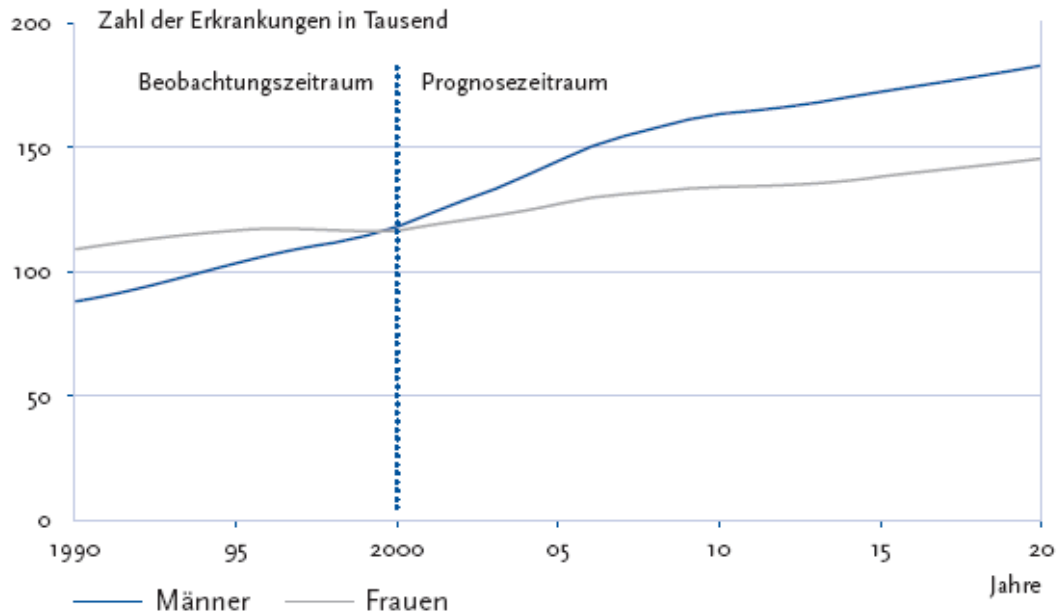
## Abbildungen und Tabellen

<b>Abbildung 1:</b> Geschätzte Anzahl jährlich neu auftretender Krebserkrankungen bei über 65- Jährigen in Deutschland, wenn das Krebsrisiko des Jahres 2000 unverändert fortbestünde.....	7
<b>Abbildung 2:</b> Grundstruktur der Glucosinolate.....	23
<b>Abbildung 3:</b> Alkenyl, Methylglucosinolat.....	24
<b>Abbildung 4:</b> Indol-3-methylglucosionlate.....	24
<b>Abbildung 5:</b> Die Hauptprodukte der Glucosinolat- Hydrolyse.....	25
<b>Abbildung 6:</b> Die Branched-Chain Aminotransferase 4 (BCAT4) katalysiert die Transaminierung von Methionin zu 4-Methylthio-2-Oxobutanoat (4MTOB).....	27
<b>Abbildung 7:</b> Drei Phasen der Krebsentstehung.....	33
<b>Abbildung 8:</b> Übersicht der in den Studien vorkommenden Glucosinolate.....	38
<b>Tabelle 1:</b> Hauptgruppen von sekundären Pflanzenstoffen.....	11
<b>Tabelle 2:</b> Geschätzte durchschnittliche tägliche Zufuhrhöhe an Sekundären Pflanzenstoffen mit einer gemischten Kost (ohne Supplemente).....	13
<b>Tabelle 3:</b> Einteilung von sekundären Pflanzenstoffen anhand ihrer relativen Bioverfügbarkeit beim Menschen.....	14
<b>Tabelle 4:</b> Mögliche Wirkungen sekundärere Pflanzenstoffe.....	16
<b>Tabelle 5:</b> Ausgewählte Glucosinolate verschiedener Pflanzen.....	22
<b>Tabelle 6:</b> Sensorische und pysiologische Wirkung des Aglukons.....	24
<b>Tabelle 7:</b> Glucosinolatgehalt in verschiedenen Kohlgemüsearten.....	30

# 1. Einleitung

In Deutschland sind neben Herz- Kreislauferkrankungen Krebserkrankungen die zweithäufigste Todesursache bei Frauen und Männern. Frauen erkranken in der Regel besonders häufig an Brustkrebs und Männer besonders häufig an Prostatakrebs. Unter Darmkrebs leiden Frauen und Männer am zweithäufigsten. Nach dem heutigen Stand der Wissenschaft und Medizin ist die Sterberate seit den 1990er Jahren zwar zurück gegangen, die Neuerkrankungsrate hat aber während dessen wieder zugenommen (*GBEB I, 2006 [Internetquelle]*). Das Robert- Koch- Institut schätzt die Zahl der Erkrankungen 2004 von Krebs in Deutschland auf insgesamt 436 500. Davon betroffen sind 239 500 Männer und 206 000 Frauen (*GBEB II, 2008, S 12 [Internetquelle]*). Das statistische Bundesamt sowie das Robert- Koch- Institut nehmen Berechnungen zufolge an, dass es bis zum Jahre 2020 einen deutlichen Anstieg der Krebserkrankungen geben wird. Hinzu kommt das es besonders in diesem Zeitraum eine stark anwachsende Zahl an älteren Menschen geben wird. Demnach würden die Krebserkrankungen bei Männern über 65 Jahren sich um 50% erhöhen, bei Frauen im selben Alter um 25% (*GBEB I, 2006 [Internetquelle]*).

**Abbildung 1.2.17:** Geschätzte Anzahl jährlich neu auftretender Krebserkrankungen bei über 65-Jährigen in Deutschland, wenn das Krebsrisiko des Jahres 2000 unverändert fortbestünde (ICD-10: C00–C97 ohne C44). Quelle: Dachdokumentation Krebs (Datenbasis: Variante 1)



**Abbildung 1:** Geschätzte Anzahl jährlich neu auftretender Krebserkrankungen bei über 65-Jährigen in Deutschland, wenn das Krebsrisiko des Jahres 2000 unverändert fortbestünde (GBEB I, 2006 [Internetquelle]).

Die WHO (Weltgesundheitsorganisation) nimmt an, dass etwa 30% der Krebserkrankungen in Deutschland auf Ernährungs- und Bewegungsgewohnheiten zurückzuführen sind, die die Erkrankungen begünstigen. Somit wäre es möglich, das Risiko der Entstehung von unterschiedlichen Krebsarten durch gezielte Verhaltensweisen zu beeinflussen und möglicherweise zu senken (DKFZ/KID [Internetquelle]).

Unter dem Aspekt, dass Krebs möglicherweise von außen steuerbar wäre, wird in dieser Arbeit insbesondere auf die Krebsprävention unter dem Einfluss von Ernährung, d.h. auf die Auswirkung der Glucosinolate auf die Senkung des Krebsrisikos, eingegangen.

Im Rahmen des Ernährungsberichtes gewannen 1996 zum ersten Mal die sekundären Pflanzenstoffe an Bedeutung. Auch in den darauf folgenden Editionen des Ernährungsberichtes 2004 (Rechkemmer; Watzl, 2004, S. 325- 346) und 2008

(*Wolfram, Watzl, 2008, S. 301- 346*) riefen die sekundären Pflanzenstoffe mit der Annahme einer präventiven Wirkungskung bei unterschiedlichen Krankheiten ein großes Interesse und weiteren Erklärungs- und Erforschungsbedarf hervor (*Rechkemmer, Watzl, 2004, S. 325*).

Unter den sekundären Pflanzenstoffen gelten insbesondere die Glucosinolate als mögliches Mittel zur Prävention von Krebsentstehung (*Stahl, Dr., Haider, Mersch-Sundermann, Gminski, 2009, Seite 74*). Allerdings lieferten zahlreiche Studien bis zum Jahr 2004 zum Teil widersprüchliche und nicht eindeutig scheinende Forschungsergebnisse. Deshalb wird weiter geforscht mit dem Ziel, die Annahme der möglichen Krebsprävention durch Glucosinolate in der Nahrung bestätigen zu können.

Im Rahmen dieser Fragestellungen (Krebserkrankungsrate, Ernährungsgewohnheiten, mögliche Präventionen durch Glucosinolate), die sich nun schon über einen längeren Zeitraum entwickelt haben, ist es Ziel meiner Arbeit, die damaligen Standpunkten der Wissenschaft mit neueren und aktuelleren Forschungsergebnissen zu ergänzen. Dabei interessiert mich im Rahmen der Ernährungswissenschaft besonders, ob und wieweit es möglich ist, im Rahmen einer gesundheitsfördernden Diät klare Ernährungsempfehlungen bezüglich des Verzehrs glucosinolathaltiger Lebensmittel zu geben.

Somit wird auf den folgenden Seiten zunächst ein Überblick über die sekundären Pflanzenstoffe gegeben, über deren Vielfalt, Funktion und Bedeutung im gesundheitlichen Sinne. Darauf folgt die Vorstellung der Glucosinolate und ihrer Bedeutung.

Desweiteren gibt die Arbeit einen kurzen Überblick zur Entstehung von Krebs, um den möglichen Zusammenhang zwischen Glucosinolaten und Krebs verständlich zu machen.

Die darauf folgende Behandlung aktueller Studien beschäftigt sich mit der Frage, inwieweit die Forschung bis heute die krebspräventive Wirkung der Glucosinolate nachweisen konnte und welche Schlussfolgerungen auf die gesunde Ernährung hieraus zu ziehen sind.



## 2. Sekundäre Pflanzenstoffe

### 2.1 Biologische und chemische Bestimmung

#### 2.1.1 Allgemeines, Definition

Der Begriff „Sekundäre Pflanzenstoffe“, im englischen „Phytochemicals“, auch unter dem Begriff bioaktive Substanzen bekannt, ist zunächst ein Sammelbegriff für Substanzen, die sehr unterschiedliche chemische Strukturen aufweisen (Watzl, 2008, S. 486; Baumann, Buri [Internetquelle]). Sie besitzen für die Pflanze wichtige Funktionen und dienen ihr primär zum Erhalt, wie zum Beispiel in der Form von Farbpigmenten als Warnsignal für Fressfeinde, aber auch als Wachstumsregulatoren, Boten- und Schutzstoffe (Groeneveld, 2007 [Internetquelle]), durch die sie sich vor mikrobiellen Angriffen sowie Fressfeinden selbst schützt (Watzl, 2008, S. 486).

Spricht man in der Ernährungs- und der Gesundheitswissenschaft über sekundäre Pflanzenstoffe, tut sich die für uns Menschen andere und bedeutende Seite der sekundären Pflanzenstoffe auf.

Anders als bei den primären Pflanzenstoffen (Fette, Kohlenhydrate und Eiweiße), die dem Menschen in erster Linie als Nährstoffe dienen und am Energiestoffwechsel, sowie am Aufbau der Zelle beteiligt sind, sind die sekundären Pflanzenstoffe nicht essenziell. Sie werden zum einen auf Nebenstoffwechselwegen gebildet, deswegen „sekundär“ (Groeneveld, 2007 [Internetquelle]), und zum anderen beeinflussen sie eine große Menge der Stoffwechselläufe im menschlichen Körper (Watzl, 2008, S. 486). Trotzdem sind die sekundären Pflanzenstoffe keinesfalls im Vergleich zu den primären Pflanzenstoffen von zweitrangiger Bedeutung, da sie in der Lage sind auf den menschlichen Organismus bedeutsame Wirkungen auszuüben. Diese sind ähnlich wie die eines Heilmittels mit pharmakologischer Wirkung (Böhler [Internetquelle]).

## 2.1.2 Chemische Prozesse und Pflanzenstoffwechsel

Der Stoffwechsel primärer Pflanzenstoffe dient Pflanzen zum Bauen organischer Substanzen in Form von Kohlenhydraten, Eiweißen und Fetten. Es existiert noch keine klare Definition des Stoffwechsels sekundärer Pflanzenstoffe (Koerber,; Leitzmann, Männle, Becker, Franz, 2000, S. 71).

Zudem sind die sekundären Pflanzenstoffe nicht gleichmäßig in der Pflanze verteilt. Sie können nur in bestimmten Zellorten der Pflanze produziert werden (Raven, Evert, Eichhorn, 2006, S. 33), wobei die Ausgangssubstanz teilweise aus dem Endprodukt des Primärstoffwechsels der Pflanze stammt. (Sengbusch [Internetquelle]).

Hierzu zählen besondere Organe, Gewebe oder Zelltypen. Sie entwickeln sich zeitgleich in bestimmten Entwicklungsstadien wie der Blüte, Frucht, Samen oder auch dem Keimling. Gespeichert werden diese in sogenannten Vakuolen, welcher jedoch nicht der Ort der Synthese ihrer ist (Raven, Evert, Eichhorn, 2006, S. 33).

Sekundäre Pflanzenstoffe sind aus dem Primärstoffwechsel stammende Produkte, deren Grundsubstanz aus Kohlenhydraten, Fetten und Aminosäuren besteht (Richter, 1998, S. 4). Demnach leiten sich eine hohe Anzahl sekundärer Pflanzenstoffe aus den Aminosäuren und Nucleotiden ab, allerdings eben nicht alle. Aus diesem Grund gelten ihre chemischen Strukturen als ziemlich kompliziert. (2. Sengbusch [Internetquelle]).

Wie komplex letztendlich das Molekül des sekundären Pflanzenstoffes tatsächlich ist, ist abhängig von dem Ausmaß des Biosyntheseprozesses (1. Sengbusch [Internetquelle]).

Einige Produkte des Sekundärstoffwechsels besitzen die Fähigkeit, sich selbständig wieder abzubauen um sich dann wiederum in den Primärstoffwechsel einzuschleusen (2. Sengbusch [Internetquelle]).

Daher besteht zwischen dem Stoffwechsel primärer Pflanzenstoffe und dem Stoffwechsel sekundärer Pflanzenstoffe ein enger Zusammenhang (Strack [Internetquelle])

Beide verlaufen demnach nicht gleich, sind aber auch nicht ganz eindeutig voneinander abgrenzbar.

Man kann allerdings noch nicht eindeutig sagen, weshalb eine Pflanze eine bestimmte sekundäre Pflanzenstoffsubstanz tatsächlich bildet und des Weiteren

kennt man keine typische Zelle, die sich bestimmen lässt zur Bildung einer bestimmten Substanz (2. Sengbusch [Internetquelle]).

Anfangs wurden diese Endprodukte als Ballast der Pflanze angesehen, da die Pflanze diese Substanzen nicht ausscheiden konnte.

Heute weiß man, dass die sekundären Pflanzenstoffe eben kein Ballast der Pflanze sind und durch einen Biosyntheseweg des primären Stoffwechsels entstehen, bzw. umgewandelt werden (1. Sengbusch [Internetquelle]).

### 2.1.3 Einteilung der sekundären Pflanzenstoffe

Heute sind etwa 100 000 unterschiedliche chemische Strukturen der sekundären Pflanzenstoffe bekannt (Watzl, 2008, S. 486). Aufgrund ihrer chemische Struktur und somit auch ihrer funktionellen Eigenschaften lassen sich die sekundären Pflanzenstoffe in verschiedene Gruppen, so genannte Hauptgruppen, unterteilen.

Gruppe	Anzahl der unterschiedlichen Strukturen
Carotinoide	> 700
Saponine	Nicht bekannt
Phytosterine	> 100
Glucosinolate	> 120
Flavonoide	> 6 500
Phenolsäuren	Nicht bekannt
Protease- Inhibitoren	Nicht bekannt
Phytoöstrogen: Isoflavonoide	> 870
Phytoöstrogen: Lignane	Nicht bekannt
Monoterpene	Nicht bekannt
Sulfide	Nicht bekannt

**Tabelle 1:** Hauptgruppen von sekundären Pflanzenstoffen (Rechkemmer, Watzl, 2004, S. 325)

Wie man aus der Tabelle entnehmen kann, besitzen einige Hauptgruppen, wie zum Beispiel die Carotinoide, eine ziemlich hohe Anzahl an unterschiedlichen Strukturen.

Diese variieren in ihren einzelnen Verbindungen mit ihrer hinsichtlich ihrer Struktur sehr stark.

Ebenfalls sekundäre Pflanzenstoffe sind Chlorophyll und Phytinsäure, sie lassen sich auf Grund ihrer chemischen Struktur nicht in die Hauptgruppen in der obigen Tabelle zuordnen (*Rechkemmer, Watzl, 2004, S. 325*).

#### **2.1.4 Konzentrationsgehalt von sekundären Pflanzenstoffen in den Nahrungspflanzen**

Die in den Pflanzen enthaltene Konzentration an sekundären Pflanzenstoffe ist sehr gering (*Groeneveld, 2007 [Internetquelle]*).

Diese Konzentration ist auch deshalb kritisch zu betrachten, weil der Gehalt an sekundären Pflanzenstoffen, der sich tatsächlich in der Nahrungspflanze befindet, von unterschiedlichen Faktoren abhängig ist. Variiert wird dieser durch die ökologischen- und die genetischen Bedingungen, die Lagerung und die Verarbeitung der Pflanze (*Rechkemmer, Watzl, 2004, S. 326*). Der Gehalt und die Konzentration sind vor allem von dem Reifegrad sowie vom Sonnenlicht abhängig. Ein Kopfsalat hat zum Beispiel eine 3- 5 mal höhere Konzentration an sekundären Pflanzenstoffen, wenn er im August statt im April geerntet wird (*Böhler [Internetquelle]*).

Somit können große Unterschiede bezüglich der Qualität und des Gehalts der sekundären Pflanzenstoffe innerhalb einer Pflanzenart auftreten. Folgen davon sind, dass dadurch nicht nur der Gehalt in der Nahrungspflanze schwer festzulegen ist, sondern auch die Menge der Aufnahme. Ein weiterer Punkt ist, dass durch die o.g. Bedingungen die funktionelle Eigenschaft des Lebensmittels beeinflusst wird, wie zum Beispiel das antioxidative Potential.

So können z. B die Anbaubedingungen sowie die Sorte die antioxidative Kapazität eines Brokkoli um 350% variieren lassen.

Das sind Gründe, warum nur wenige verlässliche Daten über die tägliche Zufuhr von sekundären Pflanzenstoffen existieren (*Rechkemmer, Watzl, 2004, S. 326*). Man schätzt, dass der Mensch durchschnittlich etwa 5 000- 10 000 unterschiedliche sekundäre Pflanzenstoffe durch seine Nahrung aufnimmt (*Watzl, 2008, S. 486*). Dies entspricht einer Zufuhr von ca. 1,5 g am Tag, die natürlich abhängig von der Menge der pflanzlichen Kost ist (*Groeneveld, 2007 [Internetquelle]*), welche bei Vegetariern deutlich höher ist (*Watzl, 2008, S. 486*).

Die folgende Tabelle zeigt die durchschnittliche Aufnahme einzelner Gruppen von sekundären Pflanzenstoffen bei einer gemischten Kost:

Gruppe	mg/ Tag
Carotinoide	5- 6
Saponine	< 15
Phytosterine	170- 440
Glucosinolate	< 50
Phenolsäuren	200- 300
Flavonoide	50- 100
Phytoöstrogene	< 5
Monoterpene	< 2
Sufide	Nicht bekannt

**Tabelle 2:** Geschätzte durchschnittliche tägliche Zufuhrhöhe an Sekundären Pflanzenstoffen mit einer gemischten Kost (ohne Supplemente) (*Rechkemmer, Watzl, 2004, S. 326*)

Es wird versucht, durch Züchtung und biotechnischen Maßnahmen den Gehalt der sekundären Pflanzenstoffe in Nahrungspflanzen zu erhöhen. Laut des Ernährungsberichtes 2004 ist es in Laborexperimenten gelungen, den Flavonolgehalt in Tomaten um ein 60- faches zu steigern. Beim Brokkoli ist durch Zucht eine 100- fach höhere Wirkung an Glucosinolatgehalt im Gegensatz zu konventionellem Brokkoli erreicht worden (*Rechkemmer, Watzl, 2004, S. 326*).

Weiter sind die sekundären Pflanzenstoffe verantwortlich für die natürlichen Farb-, Duft- und Geschmacksstoffe in den Pflanzen, welche der Mensch wahrnimmt.

Beispiele sind:

- die Farbe (Carotinoide, Flavonoide), welche die Frucht der Pflanze rot, gelb und blau färben
- - der Geruch (Sulfide) zum Beispiel bei einer Zwiebel, entsteht durch die schwefelhaltigen Verbindungen
- der „typische“ Geschmack (Glucosinolate oder Isothiocyanate), welche besonders bei Kohlarten, Meerrettich und Senf auftreten (*Groeneveld, 2007 [Internetquelle]*).

Durch diese Sinneswahrnehmungen wird dem Lebensmittel Attraktivität verliehen und erhöht bei uns Menschen den Genuss des Verzehens.

### 2.1.5 Bioverfügbarkeit

Im Jahre 1996 wurde erstmals die gesundheitliche Bedeutung der sekundären Pflanzenstoffe durch nationale und internationale Forschungsinstitute im Rahmen eines Ernährungsberichtes dargelegt. (s. o.) Dabei wurde deutlich, dass die Bioverfügbarkeit der sekundären Pflanzenstoffe abhängig von ihrer chemischen Struktur ist (Rechkemmer, Watzl, 2004, S. 326).

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Bioverfügbarkeit der sekundären Pflanzenstoffe im menschlichen Körper.

**Tabelle 3:** Einteilung von sekundären Pflanzenstoffen anhand ihrer relativen Bioverfügbarkeit beim Menschen (Rechkemmer, Watzl, 2004, S. 327)

<b>Bioverfügbarkeit*</b>		
<b>hoch (&gt; 15%)</b>	<b>mittel (3- 15%)</b>	<b>niedrig (&lt; 3%)</b>
Carotinoide**	Phytosterine	Carotinoide***
Glucosinolate	Phenolsäuren	Saponine
Flavonoide****		Anthocyane
Phytoöstrogene		Flavone
Monoterpene		
Sulfide		

\*Bioverfügbarkeit der nativen Verbindungen; \*\*aus erhitzten Lebensmitteln; \*\*\*aus unerhitzten Lebensmitteln, \*\*\*\*Flavonoide ohne Anthocyane und Flavone

Neue Erkenntnisse zeigen, wie hoch die Bioverfügbarkeit bei den Flavonoiden und Glucosinolaten ist.

Die Glucosinolate, unter anderem in Form von Senf oder Meerrettich, zeigen eine Bioverfügbarkeit von fast 100%.

Flavonoide sind in Schokolade enthalten und nach dem Verzehr etwa 30 Minuten später im Blut festzustellen.

Allgemein lässt sich sagen, solange Gemüse oder Obst in rohem Zustand verzehrt wird, besitzt es eine Bioverfügbarkeit von durchschnittlich etwa 61% (Wolfram, Watzl, 2008, S. 335).

Auch wenn im Rahmen von Interventionsstudien die Wirkung sekundärer Pflanzenstoffe auf die Gesundheit des Menschen bisher kaum untersucht worden ist, zeigen Kurzzeit-Studien, dass sekundäre Pflanzenstoffe bei verschiedenen biochemischen und physiologischen Prozessen bezüglich dessen zu Veränderungen geführt haben (Watzl, 2008, S. 486) und für die menschliche Gesundheit unterschiedliche Eigenschaften besitzen (Wolfram, Watzl, 2008, S. 342- 344).

Dies lenkt den Blick auf die gesundheitlichen Aspekte dieser Stoffe

## 2.2 Gesundheitliche Aspekte

### 2.2.1 Geltungen auf den menschlichen Organismus

Anders als bei Vitaminen, die für den menschlichen Körper bekanntlich essenziell sind, wobei eine zu geringe Aufnahme hier einen Mangel wie Avitaminose auslösen kann, ist ein Mangel bei sekundären Pflanzenstoffen anders wahrzunehmen. Der Mangel wirkt sich so aus, dass man wesentlich anfälliger für einige chronische Krankheiten ist, wie zum Beispiel für die Entstehung von Krebs oder Herz- Kreislauf-Störungen (Böhler [Internetquelle]).

Epidemiologische Studien haben gezeigt, dass bei einem hohen Obst und Gemüseverzehr das Risiko für bestimmte Tumore sinkt. Dies gilt zum Beispiel für Tumore, die im Bereich des Magen- Darm- Traktes, der Lunge und des Mund-/ Rachenraumes entstehen können. Weiter gibt es einen Zusammenhang zwischen dem Verzehr von Tomaten und Brust- und Prostatakrebs (Watzl, S.1[Internetquelle]). Somit besitzen sekundäre Pflanzenstoffe die Eigenschaft, bei ihrer Aufnahme für den Menschen in vaskulärer-, antikanzerogener- und neurologischer Wirkung von unterschiedlicher gesundheitlicher Bedeutung zu sein (Rechkemmer, Watzl, 2004, S. 328).

### Vaskuläre Effekte

In Humanstudien wurde fest gestellt, dass durch eine flavonoidreiche Kost die Konzentration des Flavonoid im Blutplasma steigt, welches verantwortlich für die Erweiterung der Blutgefäße ist.

Des weiteren kann durch eine hohe Aufnahme von Flavonoiden, in diesem Fall Quercetin, dies Einfluss auf den Blutdruck haben.

Eine Placebo- Kontroll- Studie hat gezeigt, dass nach einer vierwöchigen Supplementierung von Flavonolen diese Einfluss nicht nur die Absenkung des Blutdrucks hat, sondern auch auf die Blutplättchenaggregation hat, also die Verheilung von offenen Wunden unterstützt wird. Gleichzeitig wird durch die Hemmung der Blutplättchenaggregation das Thromboserisiko um bis zu 53% gesenkt. Dies ergaben experimentelle Daten einer prospektiven Studie.

Der Zusammenhang bestand hier bei einer regelmäßigen Aufnahme von 3- 5 Portionen Obst und Gemüse pro Tag.

Tierversuche belegen, dass bestimmte Obst- und Gemüsearten, bzw. deren sekundäre Pflanzenstoffe, die Fähigkeit besitzen, die kognitiven Fähigkeiten positiv zu beeinflussen (Wolfram, Watzl, 2008, S. 342- 343).

Des weiteren haben In- Vitro- Studien gezeigt, dass sekundäre Pflanzenstoffe außerdem noch eine entzündungshemmende Wirkung besitzen (Wolfram, Watzl ,2008, S.344).

### Antikanzerogene Effekte

Dass sekundäre Pflanzenstoffe möglicherweise eine antikanzerogene Wirkung besitzen, ist ansatzweise erforscht.

Die folgende Tabelle liefert einen Überblick, laut welcher Art von Forschungsstudien welche sekundären Pflanzenstoffe eine potentielle antikanzerogene Wirkungen auf den menschlichen Körper möglicherweise ausüben können.

<b>SPS</b>	<b>Art der Studie</b>	<b>Beobachtungen und Annahmen</b>
Flavonoide , genauer Flavonen und Flavonolen	Retrospektive Fall- Kontroll- Studie, basierend auf aktuellen USDA- Daten	13 bis 46 % vermindertes Risiko bei Brustkrebs, bei Verzehr von einem Apfel oder einer halben Tasse schwarzen oder grünen Tee.



Flavonoide , genauer Anthocyanen, Flavonen, Flavonolen und Isoflavonen	Retrospektive Fall- Kontroll- Studie, basierend auf aktuellen USDA- Daten	Vermindertes Risiko bei Dickdarmkrebs
Carotinoide	Prospektive Studie	Frauen mit erfolgreich behandeltem Brustkrebs weisen einen höheren Plasma- Carotinoid-Wert auf. Damit verringert sich das Risiko eines Wiederauftretens um 43% im Vergleich zu Frauen, die niedrige Caritinoid- Werte besitzen.
Sulfide	8 europäische Fall- Kontroll- Studien	Täglich mehr als 1 Portion von Zwiebeln und Knoblauch (Hauptträger der Sulfide) sollen möglicherweise das Krebsrisiko um 88% verringern.
Glucosinolate	Fall- Kontroll- Studie bei Frauen mit und ohne Brustkrebs	Messen von Isothiocyanatgehalt im Urin: Gruppe mit dem höchsten Gehalt an Isothiocyanat hatte ein um 50% vermindertes Risiko im Vergleich zu dem niedrigsten Gehalt.
Glucosinolate	Fall- Kontroll- Studie	Genetische Polymorphismen haben bei einem hohen Verzehr von Kohlgemüse eine verminderte Risikowirkung.
Lignane und Isoflavone	Fall- Kontroll- Studie (1)	Eine hohe Plasmakonzentration verringert das Adenomrisiko um 47%
Lignane und Isoflavone	Fall- Kontroll- Studie (2)	Eine erhöhte Lignanzufuhr verringert das Risiko an Dickdarmkrebs um 29%. Ebenfalls bei den Isoflavonen
Lignane und Isoflavone	Prospektiven Studie (3)	Bei einer hohen Lignanzufuhr postmenopausalen Frauen sank das Brustkrebsrisiko auf 17%

**Tabelle 4:** Mögliche Wirkungen sekundärer Pflanzenstoffe (*Rechkemmer, Watzl, 2008, S. 337*).

Ebenfalls wirken die sekundären Pflanzenstoffe Isoflavonide und Lignane im Hormonstoffwechsel und sind somit auch in der Lage, Tumore, die hormonabhängig sind, in ihrer Entstehung zu beeinflussen (Watzl, S. 1-2 [Internetquelle]).

Da sich die Angaben der Isoflavone in den einzelnen Studien in ihrer Zufuhr sich bis zu ein 200-faches unterscheiden, ist die derzeitige Datenlage für Brust- und Prostatakrebs noch nicht aussagekräftig und bleibt weiterhin widersprüchlich. Ebenso besteht die Möglichkeit, dass die präventive Wirkung von der jeweiligen Isoflavonquelle abhängig ist.

Auch hinsichtlich ihrer Prävention im Bereich klimakterischer Beschwerden und auf Grund einer Meta- Analyse wird die Bedeutung der Isoflavone weiterhin diskutiert und derweil noch als nicht überzeugend eingestuft (Rechkemmer, Watzl, 2008, S.342).

### Neurologischen Wirkungen

Eine prospektive Studie hat diese an teilnehmenden Personen im Alter von 65 Jahren ebenfalls bestätigt.

Hierbei war zu beobachten, dass bei den Personen, die eine Flavonoidzufuhr in einem Zeitraum von 10 Jahren von etwa 18- 37mg am Tag zu sich nahmen, langsamer an kognitiven Fähigkeiten verloren, ganz im Gegensatz zu den Teilnehmern, die eine tägliche Flavonoidzufuhr von 0- höchstens 19 mg am Tag erhielten, bzw. zu sich nahmen. Auch wurde zu Beginn der Studie festgestellt, dass die Teilnehmer, die mit der höheren Zufuhr an Flavonoiden, schon vorher bessere kognitive Fähigkeiten besessen haben. Es wird eben somit vermutet, dass bestimmte sekundäre Pflanzenstoffe für diese Wirkung verantwortlich sind (Wolfram, Watzl, 2008, S. 338).

Trotz dessen ist die letztendliche Schutzwirkung der sekundären Pflanzenstoffe von der genetisch- bedingten Enzymausstattung abhängig. Und dies ist eben bei jedem einzelnen Menschen individuell (Watzl, S.2 [Internetquelle]).

## 2.2.2 Ernährungsempfehlungen

Bei der Aufnahme von sekundären Pflanzenstoffen ist derzeit noch keine Zufuhrempfehlung möglich. Es ist zwar so, dass einzelne sekundäre Pflanzenstoffe nach wissenschaftlichen Einschätzungen das Risiko der Entstehung verschiedener Krankheiten senken, dies aber nicht von den bislang durchgeführten Studien vollständig bestätigt wird. Daher gilt weiter die Empfehlung einer reichhaltigen Kost an Obst und Gemüse, etwa 650g am Tag (*Wolfram, Watzl, 2008, S. 346*). Davon ca. 400g Gemüse und ca. 250g Obst (*Watzl, S.2 [Internetquelle]*). Dies entspricht den Empfehlungen der DGE, 5 Portionen Obst und Gemüse. Auch ist hier gemeint, 3 Portionen Gemüse und 2 Portionen Obst (*DGE, 2005 [Internetquelle]*).

Empfohlen wird hier bei vor allem eine Vielfalt in der Auswahl der pflanzlichen Lebensmittel. Grund dafür ist, dass ein breit gefächertes Spektrum der sekundären Pflanzenstoffe verzehrt werden soll. Auch wird auf in Vollkorn und Hülsenfrüchten enthaltene sekundäre Pflanzenstoffe hingewiesen. Diese enthalten gerade bei Vollkorn laut epidemiologischen Studien eine zunehmende protektive Wirkung bezüglich des Krebsrisikos (*Watzl, S. 2-3 [Internetquelle]*).

Wie im oberen Abschnitt schon einmal angesprochen, ist der Konzentrationsgehalt der sekundären Pflanzenstoffe abhängig von der Sonne und dem Reifegrad. Somit bietet sich an, regionale Einkäufe zu tätigen, also bevorzugt das Obst und Gemüse zu konsumieren, welches aus der Region stammt und nicht ganz so frühzeitig geerntet werden muss, um in den Supermarkt zu gelangen (*Böhler [Internetquelle]*).

Eine immer wieder gern genannte Ernährungsform ist die Mediterrane Ernährung, die aus einem hohen Anteil aus Obst, Gemüse, Hülsenfrüchten und Cerialien besteht und einen angemessenen Verzehr von Milchprodukten, Fisch und Alkohol beinhaltet. Das Besondere an dieser Form der Ernährung ist die Nährstoffzusammensetzung, sowie der hohe Gehalt an Polyphenolen, welche vor der Entstehung von Alzheimer schützen (*Eckert, 2008, S. 480*).

Ein Problem, welches während des Verbrauches, bzw. des Konsums der Nahrungspflanze entstehen kann, ist die Art der Verarbeitung. Denn häufig liegen die sekundären Pflanzenstoffe im äußeren Schalenbereich. Werden die Schalen bei der Zubereitung entfernt, gehen dadurch besonders die Flavonoide verloren (*Böhler*

[Internetquelle]). Dies hat zur Folge, dass das Lebensmittel in dem Moment an ernährungsphysiologischer Qualität verliert

Allerdings besteht auch die Möglichkeit, dass bei Verlust an sekundären Pflanzenstoffen die Pflanze selber in der Lage ist, diese sozusagen nach zu produzieren, also neu zu bilden. Dabei wird bei Verlusten das Pflanzengewebe durch Stressfaktoren stimuliert, welches zur Folge hat, dass sich die Anzahl der Polyphenole vermehrt. Hier ist jedoch die Voraussetzung, dass der Stoffwechsel der betroffenen Pflanze noch aktiv ist, sonst kann das Ganze leider nicht funktionieren. (Böhler [Internetquelle]).

Aber Vorsicht, sekundäre Pflanzenstoffe können auch negative Wirkungen hervorrufen. Studien belegen, dass Beta- Carotin in isolierter Form von Supplementen, besonders Asbestarbeiter und starke Raucher ein erhöhtes Krebsrisiko tragen (BfR, 2005, S.1-2 [Internetquelle]).

Wird beta- Carotin in Verbindung mit Vitamin A konsumiert, kann dies zu einem Verlust der Schutzwirkungen der sekundären Pflanzenstoffe im Obst und Gemüse kommen, allerdings nur bei prädisponierten Personen, die im vorherigen Absatz erwähnt wurden (Watzl, S.2 [Internetquelle]).

Ein weiteres Problem sind die durch Phytosterine angereicherten Lebensmittel, wie zum Beispiel Margarine und Milchprodukte, die eine Cholesterin senkende Wirkung versprechen (Meißner, 2008 [Internetquelle]), Functional Food. Ein zu hoher Konsum dieser sekundären Pflanzenstoffe kann möglicherweise das Risiko von Atherosklerose erhöhen. Wissenschaftlich ist dies allerdings noch nicht vollständig geklärt (Wolfram, Watzl, 2008, S. 345).

### **2.2.3 Trend in der Lebensmittelindustrie**

Functional Food. Der Trend in der Lebensmittelindustrie in Bezug auf sekundäre Pflanzenstoffe geht vor allem in Richtung „funktionelle Lebensmittel“. Das bedeutet, dass versucht wird, Lebensmittel mit sekundären Pflanzenstoffen anzureichern (wie oben schon genannt) (Wolfram, Watzl, 2008, S. 346). Ein bekanntes Produkt, welches mit sekundären Pflanzenstoffen angereichert wurde, ist das Produkt Becel. Becel enthält 8% pflanzliche Sterine, die cholesterinsenkend wirken. Wirken tut dies

allerdings nur dann, wenn dieses Produkt über einen längeren Zeitraum konsumiert wird (Böhler [Internetquelle]).

Wie ebenfalls oben schon einmal angesprochen, könnte bei einer Mehrzahl ähnlicher Produkte die Gefahr einer Überdosierung entstehen, wenn zum Beispiel vorzugsweise immer derselbe sekundäre Pflanzenstoff in vielen unterschiedlichen Lebensmitteln als Zusatz eingesetzt wird. Folgen einer Überdosierung können zum heutigen Zeitpunkt noch nicht abgeschätzt werden, da noch nicht alle relevanten sekundären Pflanzenstoffe identifiziert sind, sowie ihre Wirkungen noch nicht ausreichend erforscht wurden (Wolfram, Watzl, 2008, S. 345).

Auf jeden Fall zu berücksichtigen ist, dass einerseits die Wirksamkeit eines Produktes gegeben sein sollte, andererseits aber die Gefahr einer Überdosierung durch das Verzehren unterschiedlicher angereicherter Produkte auszuschließen ist (Böhler [Internetquelle]).

Eine Alternative zu so genanntem Functional Food ist, dass man statt dessen zu frischer ballaststoffreicher Pflanzenkost greift, die diese sekundären Pflanzenstoffe in natürlicher Weise besitzt (Böhler [Internetquelle]).

### 3. Glucosinolate

#### 3.1 Biologische und chemische Bestimmung

##### 3.1.1 Vorkommen und chemische Strukturen

Glucosinolate kommen in Nahrungspflanzen aus der Familie der Kreuzblütler vor (Brassicaceae). (Watzl, 2001, S. 330). Dies betrifft vor allem das Kohlgemüse wie Weißkohl, Rotkohl, Grünkohl, Wirsing, Rosenkohl und Blumenkohl, Kohlrabi, Kohlrübe, aber auch Brokkoli, Kresse, Senf, Rucola, Radischen, Meerrettich und Raps. Alle diese Pflanzen zählen zu der Familie der Kreuzblütler (Schmanke, 2005, S. 276).

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick, in welchen Verbindungen, bzw. chemischen Strukturen Glucosinolate in unterschiedlichen Nahrungspflanzen vorkommen.

Trivialname	Chemisch bestimmende Strukturkomponente	Vorkommen
<b>Alkylglucosinolate</b>		
Glucoraphanin	4-Methylsulfinyl-3-butylen	Brokkoli, Rettich
Glucoiberin	3-Methylsulfinylpropyl	Weißkohl, Blumenkohl, Kohlrübe, Brokkoli
<b>Alkenylglucosinolate</b>		
Sinigrin	2-Propenyl	Rosenkohl, Senf
Progoitrin	2-Hydroxy-3-butenyl	Weißkohl, Rosenkohl, Kohlrübe
<b>Arylglucosinolate</b>		
Gluconastortiin	Phenetyl	Kohlrübe, Brunnenkresse
Glucotropaeloin	Benzyl	Garten- und Kapuzinerkresse
<b>Indolylglucosinolate</b>		
Glucobrassicin	3-Indolmethyl	Kohlrabi, Rettich, Blumenkohl, Rosenkohl
Neoglucobrassicin	N-Methoxy-3-Indolmethyl	Kohlrübe, Rettich, Senf

**Tabelle 5:** Ausgewählte Glucosinolate verschiedener Pflanzen (Watzl, 2001, S. 331).

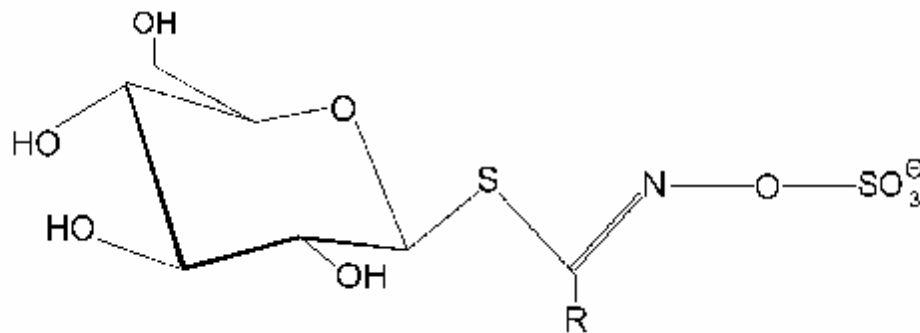
Der sekundäre Pflanzenstoff, hier das Glucosinolat, verleiht den Nahrungspflanzen den Geschmack, den wir Menschen als jeweils typisch für das betreffende Gemüse empfinden.

Wie in Abschnitt 3 schon angesprochen, dient das Glucosinolat der Pflanze zur Abwehr gegen Fressfeinde und Krankheiten (*Groeneveld, 2007 [Internetquelle]*).

Die grundlegende chemische Struktur aller Glucosinolate besteht aus stabilen Molekülen, die eine gemeinsame Grundstruktur besitzen.

Ein Glucosinolat besteht aus:

- einer Glucoseeinheit
- einer Sulfatgruppe und
- einer schwefelhaltigen Gruppierung mit einem Aglukonrest.

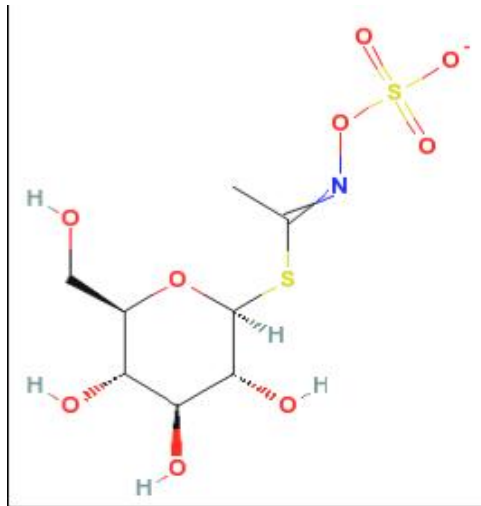


**Abbildung 2:** Grundstruktur der Glucosinolate (*Watzl, 2001, S. 330*)

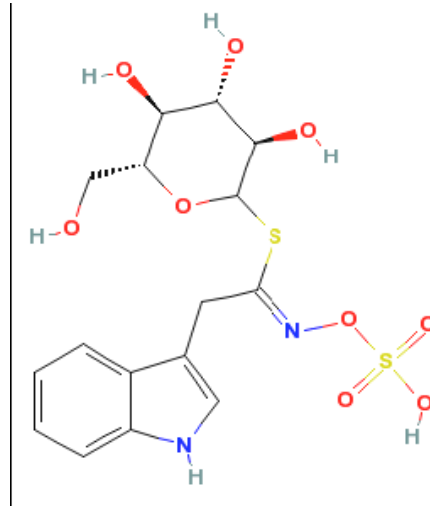
In der Regel besitzen solche Verbindungen bestimmte Zuckerreste, d.h. sie sind glykosyliert. Ein Nebeneffekt besteht darin, dass die Wasserlöslichkeit dabei zunimmt. Der hierbei nun zuckerfreie Anteil dieser Substanz wird als Aglukonrest bezeichnet (*Sengbusch [Internetquelle]*).

Heute existieren etwa 120 unterschiedliche Glucosinolatstrukturen. Das ist die Anzahl an Glucosinolatstrukturen, die wissenschaftlich identifiziert sind. Ihre Unterscheidungsmerkmale ergeben sich lediglich aus der Beschaffenheit der Aglukonreste. Diese Aglukonreste weisen in der Regel eine Alkyl-, Alkenyl-, Aryl oder Indolylstruktur auf.

Zwei Beispiele:



**Abbildung 3:** Alkenyl, Methylglucosinolat  
(TU- Dresden, Glucosinolate, S.6 [Internetquelle])



**Abbildung 4:** Indol-3-methylglucosionlate

Die Eigenschaft des Aglukonrestes spielt für die sensorischen und physiologischen Wirkungen eine entscheidende Rolle.

Aglukonrest	Sensorische und physiologische Wirkung
Allylthiocyanat	schärfe (z.B. bei Senf und Merrettich)
Sinigrin	bitterer Geschmack (z.B. bei Rosenkohl)
Progoitrin	bitterer Geschmack

**Tabelle 6:** Sensorische und pysiologische Wirkung des Aglukons (Watzl, 2001, S. 330;  
Grafik: Verfasser)

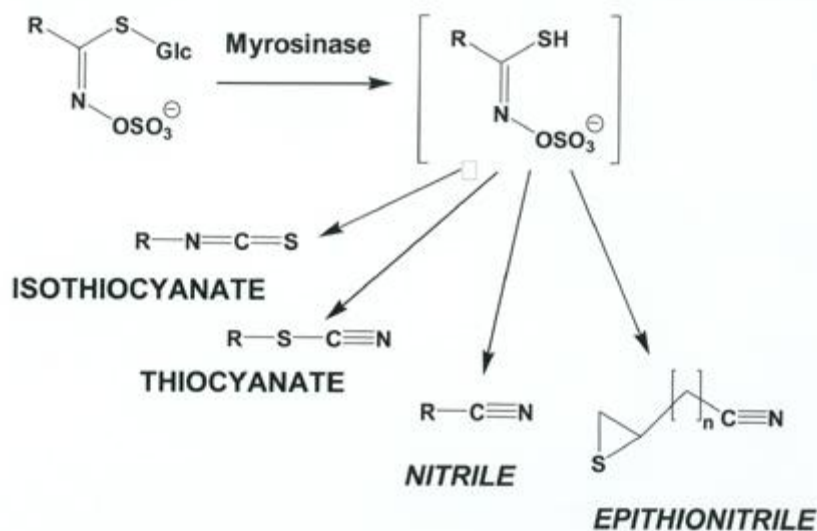
Damit das Endprodukt der Glucosinolate, die sogenannten Senföle entsteht, muss in der Pflanze zuvor ein chemischer Prozess ablaufen.

In der Pflanze liegt ein Enzym vor, die Myrosinase oder auch  $\beta$  - Thioglucosidase, welches räumlich von den Glucosinolaten getrennt liegt. (Watzl, 2001, S. 330). Sie wird in speziellen sogenannten Myrosinzellen gespeichert im Gegensatz zu den Glucosinolaten, die in sogenannten S - Zellen gelagert werden (1. Wittstock, Falk, Burow, Reichelt, Gershenzon, 2004, S. 2 [Internetquelle]). Das Enzym Myrosinase ist verantwortlich für die Spaltung der Glucosinolate.

Durch mechanische Wirkungen von außen, wie Schneiden oder Zerkauen (Watzl, 2001, S. 330) oder aber auch durch das Anfressen durch Insekten (1. Wittstock, Falk,



Burow, Reichelt, Gershenzon, 2004, S. 2 [Internetquelle]) an der jeweiligen Nahrungspflanze, wird die räumliche Spaltung wieder aufgehoben (*Dr. oec. troph. Bernd Watzl, 2001, S. 330*). Dadurch kommen die in der Pflanze noch getrennten Glucosinolate und die Myrosinase in Kontakt und hydrolysieren zu einer Vielzahl von Stoffen, wie zum Beispiel die Isothiocyanate (Senföle), Thiocyanate und Nitrile (1. Wittstock, Falk, Burow, Reichelt, Gershenzon, 2004, S. 2 [Internetquelle]), die gleichzeitig die Hauptprodukte der Glucosinolate- Hydrolyse sind.



**Abbildung 5:** Die Hauptprodukte der Glucosinolat- Hydrolyse (2. Wittstock, Falk, Burow, Reichelt, Gershenzon, 2004- Urheber: Max- Planck- Institut für chemische Ökologie/ Gershenzon [Internetquelle])

Allein das Kontaktieren beider Substanzen ist der Auslöser des typischen Senfgeschmackes (1. Wittstock, Falk, Burow, Reichelt, Gershenzon, 2004, S. 2 [Internetquelle]). Während dieser Hydrolyse, wird ein enzymatischer Abbau ausgelöst, bei dem äquivalente Mengen an Glucose, Sulfat und dem jeweiligen Aglukon entstehen.

Unterdessen wirkt das Vitamin C als Coenzym, vermutlich durch die Bereitstellung einer nukleophilen katalytischen Gruppe. Aus dem nun instabilen Aglukon bilden sich primär die Isothiocyanate, welche unter dem Begriff der Senföle zusammengefasst werden. Weitere Abbauprodukte des instabilen Aglukons sind Thiocyanate und Nitrile. Bilden sich dabei die Isothiocyanate aus Indolylglucosinolaten, sind diese

chemisch eher instabil und zersetzen sich zu Indol-3-Carbinol und weiteren Indolverbindungen

Welche Glucosinolatderivate letztendlich aber in der Pflanze entstehen, sind von Faktoren wie Temperatur, pH - Wert, Lagerung und Konservierungsverfahren der jeweiligen Pflanze abhängig.

Ist der pH - Wert neutral, werden zum größten Teil Isothiocyanate gebildet. Liegt der pH - Wert eher im sauren Bereich, bilden sich vorrangig Nitrile (Watzl, 2001, S. 330).

### 3.1.2 Stoffwechsel von Glucosinolaten

Während es im Abschnitt 2, sekundäre Pflanzenstoffe, Unterpunkt 2.1.2, chemische Prozesse und Pflanzenstoffwechsel, um den allgemeinen Verlauf des Biosyntheseweges sekundärer Pflanzenstoffe ging, geht es in diesem Abschnitt speziell um den Biosyntheseweg von Glucosinolaten. Wie schon erfahren, entstehen sekundäre Pflanzenstoffe durch weitere Synthesen des Primärstoffwechsels.

Glucosinolate leiten sich aus unterschiedlichen Aminosäuren ab.

Die folgende Darstellung bezieht sich speziell auf Glucosinolate, die einen Kohlenwasserstoffrest besitzen, sogenannte aliphatische Glucosinolate. Sie soll der Veranschaulichung der relevanten Vorgänge dienen. Die aliphatischen Glucosinolate werden hauptsächlich mit Methionin synthetisiert (Binder, 2008 [Internetquelle]).

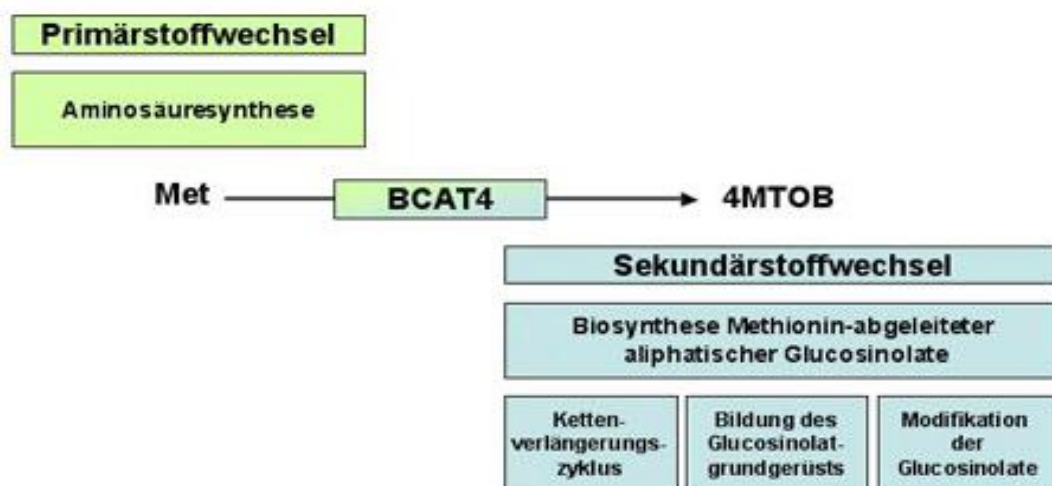
Methionin ist eine essentielle schwefelhaltige Aminosäure (Vitalstofflexikon [Internetquelle]). Aktiviert wird diese Synthese durch eine Transaminierungsreaktion (Binder, 2008 [Internetquelle]), bei der sich eine Aminosäure einer  $\alpha$ - Aminogruppe auf eine  $\alpha$ - Ketosäure verschiebt, wobei aus der Aminosäure eine  $\alpha$ - Ketosäure wird und der vorherigen  $\alpha$ - Ketosäure eine Aminosäure (Gasteiger, Schunk, 2000 [Internetquelle]). In diesem Fall verschiebt sich die Aminosäure auf die Ketosäure 4-Methylthio-2-Oxobutanoat (4MTOB). Dies ist die Schnittstelle, in der der Primärstoffwechsel zum Sekundärstoffwechsel übertritt und somit der primäre Aminosäuremetabolismus in die sekundäre Glucosinolatbiosynthese übergeht.

Die darauffolgende Synthese wird in drei Phasen unterteilt:

1. Kettenverlängerungszyklus
2. Bildung des Glucosinolatgrundgerüsts
3. Modifikation der Glucosinolate.

In der Phase des Kettenverlängerungszyklus verlängert sich die Ketosäure 4MTOB um eine Methylgruppe zu 5-Methylthio-2-Oxopentanoat (5MTOP). Erfolgt nun eine Transaminierungsreaktion, kann das 5MTOP zu Methionin - Deivat überführt werden und verlässt dadurch den Kettenverlängerungszyklus, um diesen tatsächlich zu beenden oder aber wieder in den Kettenzyklus einzutreten, einfach oder mehrfach.

Durch das Durchlaufen des Kettenzyklus' entstehen somit Methionin - Derivate. Die besitzen, abhängig von der Häufigkeit des Durchlaufens eines, bzw. mehrerer Kettenzyklen eine unterschiedlichen Anzahl von C- Atomen. Diese Methionin-Derivate sind nun Ausgangssubstrate für die zweite Phase der Synthese, Bildung des Glucosinolatgerüsts. Dieses Glucosinolategerüst modifiziert sich in Phase drei. Durch die hohe Anzahl unterschiedlicher Ausgangssubstrate durch den Kettenzyklus entsteht ein breites Spektrum an unterschiedlicher Zusammensetzung in den jeweiligen glucosionlathaltigen Nahrungspflanzen. Sind die Glucosinolate dann fertig gestellt, werden sie in den Vakuolen, zentral gelegene Zellsafträume in den Pflanzenzellen (*Mineralienatlas [Internetquelle]*) eingelagert und gespeichert.



**Abbildung 6:** Die Branched-Chain Aminotransferase 4 (BCAT4) katalysiert die Transaminierung von Methionin zu 4-Methylthio-2-Oxobutanoat (4MTOB). Damit steht dieses

Enzym am Übergang zwischen Primär- und Sekundärstoffwechsel (*Binder, 2008 [Internetquelle]*).

Wie die Abbildung zeigt, befindet sich das Enzym BCAT4, Branched-Chain Aminotransferase 4, an der Übergangsstelle vom primären Stoffwechsel zum sekundären Stoffwechsel. Das Enzym BCAT4 ist mit 6 Genen kodiert und hat in der Regel die Aufgabe sich an der Synthese von verzweigten Aminosäuren (Valin, Leucin und Isoleucin) zu beteiligen. Bei einem Protein des BCAT4 zeigt sich, dass es bei der Umsetzung von Methionin eine stärkere Wirkung besitzt (Effizienz). Bei BCAT4 Untersuchungen wurde festgestellt, dass besonders nach Verletzungen der Pflanze dieses Enzym aktiviert wird. Würde das Gen für BCAT4 nicht aktiv sein, wäre die Anhäufung von den aliphatischen Glucosinolaten um die Hälfte verringert. Ebenso würde sich in den Pflanzen bestehendes Methionin um einiges verstärkt anreichern (*Binder, 2008 [Internetquelle]*).

### **3.1.3 Bioverfügbarkeit**

Isothiocyanate, die sogenannten Senföle und Thiocyanate sind fettlöslich. Aufgrund dessen haben sie im Darm eine hohe Bioverfügbarkeit. Pharmakokinetische Studien haben gezeigt, dass diese Glucosinolatderivate besonders gut im oberen Gastrointestinaltrakt absorbiert werden. Denn schon 2 Stunden nach der Aufnahme der glucosinolathaltigen Lebensmittel lag eine höhere Konzentration im Blut vor. Weiter ist in Gewebeskulturuntersuchungen festgestellt worden, dass durch einen passiven Transport die Glucosinolate von der muskosalen Seite des intestinalen Dünndarmepithels zu der serosalen Seite gelangen. Ist hierbei der Vorgang der Absorption beendet, wird das Isothiocyanat mit Glutathion konjugiert, aus dem folglich und zum größten Teil N-Acetylcysteinderivate (Mercaptursäuren) entstehen (*Watzl, 2001, S. 330*)

Glutathion ist eine wasserlösliche zelluläre Antioxidans, die in der Leber gebildet wird und zugleich ein wichtiger Enzymfaktor des menschlichen Körpers ist. Sie liegt in reduzierter (GSH) und oxidierte Form (GSSG) vor. Antioxidativ wirkt dabei allerdings ausschließlich das GSH. Dieses besteht aus einem Tripeptid, welches aus drei Aminosäuren besteht: Glutaminsäure, Glycin und Cystein (*IMD [Internetquelle]*).

Die N-Acetylcysteinderivate spalten sich im Harn zum Teil wieder. Somit wird aus N-Acetylcysteinderivaten wieder Isothiocyanat und N-Acetylcystein bzw. N-Acetylkonjugat, welches ausgeschieden wird.

Laut einer Humanstudie wurde bei Personen, die regelmäßig grünes Gemüse essen, eine Isothiocyanatkonzentration von 11 uM gemessen (Quelle s. u.).

Glucosinolatderivate besitzen des weiteren die Fähigkeit nicht nur über den schon oben genannten oberen Gastrointestinaltrakt in den Körper zu gelangen, sondern auch über den Leber- Darm- Kreislauf, den sogenannten enteroheptischen Kreislauf, absorbiert zu werden. Innere Organe, wie Leber, Niere, und die intestinale Mucosa, bestehen aus einer ziemlich hohen Gewebskonzentration, bei der ebenfalls eine nennenswerte Konzentration von Isothiocyanaten gemessen wurde.

In vitro wurde das Zusammenspiel, der Einfluss der Menge und die Abhängigkeit zwischen Isothiocyanaten und Glutathion mit dem Ziel einer intrazellulären Aufnahme dargestellt.

Voraussetzung einer hohen Aufnahme von Isothiocyanaten ist, dass zunächst eine hohe Konzentration an Isothiocyanat vorhanden sein muss, da sonst die Aktivität des Entgiftungsenzyms, Phase-II-Enzym, nicht eintreten kann. Weiter muss neben der nun bestehenden hohen Isothiocyanatkonzentration ebenfalls eine hohe Glutathionkonzentration vorhanden sein, da Isothiocyanat nur dann in der Zelle aufgenommen werden kann, wenn es sich vorab mit dem Glutathion konjugiert. Dabei ist die Glutathion-S-Transferase (GST) M1-1 besonders effizient (Watzl, 2001, S. 331). Laut dem Ernährungsbericht 2008 liegen derzeit neben neuen Erkenntnissen zu den Flavonoiden auch neue Erkenntnisse über die Glucosinolate in ihrer Zufuhr und Bioverfügbarkeit vor. Bei Senf oder auch Meerrettich ist eine Bioverfügbarkeit des Isothiocyanat von fast 100% erfasst worden. Allerdings sank die Bioverfügbarkeit von erhitztem Gemüse auf 61%. Man kann keine allgemeinen Aussagen über die Beeinflussung des Glucosinolatgehaltes bei erhitztem Gemüse machen, da dies abhängig ist von der Art und Dauer der Zubereitung des jeweiligen Kohlgemüses. Da sich die Glucosinolate beim Kochen vom Lebensmittel lösen und somit ins Kochwasser gelangen, kann sich der Gehalt, je nachdem ob das Kochwasser mit verwendet wird oder nicht, von um 20%- 80% bei einem Lebensmittels verringern. (Wolfram, Watzl, 2008, S. 335). Zudem wird durch das mechanische Bewegen des Pflanzengewebes, wie Raspeln oder Kauen, die Bioverfügbarkeit verstärkt.

In dem Fall, wenn die Glucosinolate nicht durch pflanzliche Myrosinasen, also ungespalten in den Dickdarm des Menschen gelangen, besitzt der menschliche Darm die Eigenschaft, diese durch bakterielle Myrosinasen zu spalten und somit auf diesem Wege zu absorbieren.

Dies gilt allerdings nicht, wenn der menschliche Körper unter einer Antibiotikabehandlung steht, da diese die Aktivität der bakteriellen Myrosinasen so gut wie komplett hemmt (Watzl, 2001, S. 331).

### 3.1.4 Glucosinolatgehalt in Lebensmitteln

Es gibt Brassica- Arten, bei denen die Trockenmasse etwa 1% des Glucosinolatgehaltes ausmacht. Dies ist jedoch von den einzelnen Sorten abhängig. Ein Beispiel hierfür wäre Brokkoli.

→ 100g frischer Brokkoli besitzt einen Glucosinolatgehalt von 50- 100 mg.

→ 100g Brokkolisprossen besitzen eine 10 - 100fach höhere Menge an Glucosinolatgehalt.

Die folgende Tabelle gibt den Glucosinolatgehalt bei verschiedenen Kohlarten ( $\mu\text{mol/g}$ Trockenmasse) an.

Kohlgemüse	$\mu\text{mol/g TM}$
Brokkoli	12,8 (6,6-35,6)
Rosenkohl	25,1 (11,6-36,9)
Weißkohl	10,9 (8,1-41,2)
Blumenkohl	15,1 (10,0-21,1)
Grünkohl	15,0 (12,1-17,3)

**Tabelle 7:** Glucosinolatgehalt in verschiedenen Kohlgemüsearten ( $\mu\text{mol/g}$  Trockenmasse) [Kushad et al. 1999] (Watzl, 2001, S. 331)

Im Allgemeinen ist es so, dass der Glucosinolatgehalt in Nahrungspflanzen von Wachstum und Reife bestimmt wird. Je reifer das Gemüse ist, desto weniger Glucosinolate besitzt die Pflanze noch. Auch das vorkommende Glucosinolat in Wildpflanzen kann im Vergleich zu Züchtungen das 1000-fache an Gehalt übersteigen. Das ist der Grund, warum Träger der Glucosinolate in Wildform

hinsichtlich ihrer potentiell antikanzerogenen Wirkung genutzt werden, um den Gehalt in Neuzüchtungen zu steigern.

In Tierversuchen hat sich gezeigt, dass sich im Kochwasser, bzw. in den durch das Erhitzen entstehenden Indolverbindungen nur eine geringere antikanzerogene Wirkung aufweisen lässt, als in rohem glucosinolathaltigem Gemüse (*Watzl, 2001, S. 330*).

## 3.2 Gesundheitliche Aspekte

### 3.2.1 Auswirkungen von Glucosinolaten auf die Gesundheit, besonders auf die Krebsprävention

Den Glucosinolaten, wie zum Beispiel dem Brokkoli, wird besonders ihre möglicherweise antikanzerogene Wirkung nachgesagt, trotz noch nicht ausreichender wissenschaftlicher Nachweise (*Schreiner, Krumbein, Smetanska, Knorr, 2009, S. 1-2 [Internetquelle]*). Es gibt viele epidemiologische Studien, in denen ein Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Kohlgemüsearten und dem Risiko von Dickdarmkrebs und unterschiedlichen Tumorarten beobachtet worden ist. In einer Studie wurde festgestellt, dass bei einer hohen Aufnahme von Brokkoli das Dickdarmkrebsrisiko gesenkt wurde, aber nur in dem Fall, wenn die jeweiligen Personen einen bestimmten Genotyp, den GSTM1-Null, aufweisen. Dieser Genotyp ist an der Konjugation der Isothiocyanate mit Glutathion beteiligt und besitzt in seiner Eigenschaft die Fähigkeit, die Resorption der Isothiocyanate zu verlangsamen. Dies wurde durch Beobachtungen der Isothiocyanatkonzentration der Ausscheidungen festgestellt. Dies betrifft ca. 50% der Menschen.

Außerdem wurden 1960 erstmals die antikanzerogenen Wirkungen bezüglich der Abbauprodukte der Glucosinolate anhand experimenteller Tierversuche nachgewiesen. Grund für die Annahme einer antikanzerogenen Wirkung war, dass zunächst einmal das Isothiocyanat Einfluss auf das frühe wie auch auf das spätere Stadium der Kanzerogenese nehmen konnte. Die Effektivität war allerdings abhängig von der spezifischen Struktur des Isothiocyanats, sowie von dem Zeitpunkt der Verabreichung des Karzinogens. Diese Beobachtungen wurden in Bezug auf Speiseröhre, Brust, Leber und Lunge gemacht. Allerdings wurden diese Wirkungen

beim Menschen und bezogen auf Tumorentstehung bislang noch nicht untersucht. (Watzl, 2001, S. 331).

Glucosinolate besitzen also Eigenschaften, die möglicherweise zur Prävention von Krebserkrankungen eingesetzt werden könnten.

Es könnten jedoch eventuell auch unerwünschte Wirkungen begünstigt werden. Es wird angenommen, dass zum Beispiel das Progoitin, welches aus Isothiocyanaten oder Thiocyanaten mit zusätzlich einer Seitenkette mit  $\beta$ -Hydroxyalkenyl besteht, die Entstehung eines Kropfes fördert. Diese Substanz steht in direkter Konkurrenz mit dem Jod, welches wichtig ist zur Synthese von Schilddrüsenhormonen und für die Einlagerung in die Schilddrüse. Wird zu wenig Jod in die Schilddrüse eingelagert, reagiert die Schilddrüse mit einem aktiven Zellwachstum, welches den Kropf bildet. Bis heute haben allerdings noch keine epidemiologischen Studien darauf hingewiesen, dass Glucosinolate tatsächlich die Entstehung eines Kropfes verursachen könnten. Weitere Annahmen sind, dass neben einer unzureichenden Versorgung mit Jod eine sehr große Menge an glucosinolathaltigen Lebensmitteln zu sich genommen werden müsste, wie zum Beispiel 400g Weißkohl, 2kg Chinakohl oder 2,8kg Rettich täglich, damit eine solche Reaktion auftreten würde (Watzl, 2001, S. 333).

Gemäß der Fragestellung dieser Arbeit richtet sich das Interesse im Folgenden auf die Krebsprävention durch Glucosinolate.

### **3.2.2 Entstehung von Krebs**

Die Entstehung von Krebs wird grob in drei Phasen unterteilt, der

1. Initiationsphase (Entstehung)
2. Promotionsphase
3. Progressionsphase.

Diese Phasen beschreiben eine kontinuierliche Sammlung genetischer oder biochemischer Zellschäden (Gerhäuser, Frank, Scherf, Heiss, Gamal Eldeen, Xie, Bertl, Sittimonchai, Merkel, Klimo, Knauft, Vogt, 2000/2001, S. 7 [Internetquelle]).

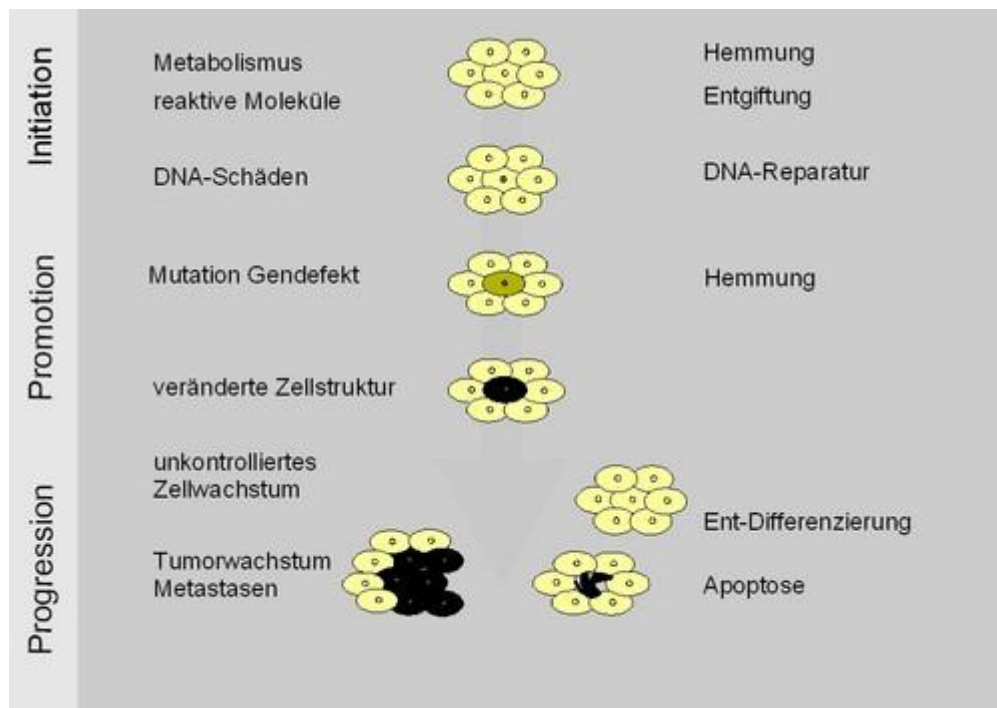
Der Auslöser von Krebserkrankungen beruht in der Regel auf Erkrankungen des Erbguts (Gabbert [Internetquelle]), und zwar in Form von DNA- Schäden (Gerhäuser,



Frank, Scherf, Heiss, Gamal Eldeen, Xie, Bertl, Sittimonchai, Merkel, Klimo, Knauft, Vogt, S. 7 [Internetquelle]).

Die folgende Abbildung gibt einen ersten Überblick zur Entstehung von Krebs. Hier werden die einzelnen Phasen der Krebsentstehung bildlich dargestellt.

Links von den Zellen, die auf der Abbildung sind, wird die Entstehungsursache von Krebszellen benannt. Die rechte Seite hingegen zeigt die Art der Funktionsweise des körpereigenen Abwehrsystems bei geschädigten Zellen.



**Abbildung 7:** Drei Phasen der Krebsentstehung (Agrinova [Internetquelle])

Es gibt eine Vielzahl unterschiedlicher Krebsarten, die von dem Wachstum und Ort der jeweiligen Zelle bestimmt wird. (Gabbert [Internetquelle]). Auf Grund genetischer Veränderungen entsteht eine unkontrolliert wachsende Tumorzelle. Besonders drei bestimmte Gene verändern sich bei der Entstehung bzw. Entwicklung von Krebs. Diese werden als Onkogene, Tumorsuppressor- Gene und Reperaturgene bezeichnet.

Zwischen den Onkogenen und den Tumorsuppressor- Genen besteht ein enger Zusammenhang. Beide kommen in allen gesunden Zellen des menschlichen Körpers vor. Die Onkogene haben die Aufgabe, das Zellwachstum zu regulieren (Proliferation). Gleichzeitig fördern sie das Zellwachstum. Die Tumorsuppressor- Gene hingegen tragen die Verantwortung für die Zellreifung (Differenzierung) und

hemmen das Zellwachstum im Gegenzug. In dem Moment, wo das Gleichgewicht dieses Zusammenspiels unterbrochen wird und keine Balance zwischen den beiden Gegenspielern vorhanden ist, beginnt ein unkontrolliertes Wachstum der Zelle. Wird dieses nicht vom eigenen Körper wieder gestoppt, besteht die Gefahr des Heranwachsens eines Tumors.

Im Folgenden werden die einzelnen Phasen der Krebsentstehung im Einzelnen erläutert.

### 1. Initialphase

In der Initialphase, bzw. Initiationsphase, wird ein Stoff beispielsweise durch die Nahrung aufgenommen, der möglicherweise das Potential besitzt eine Schädigung der Zellen zu verursachen (*Rechkemmer, 2000, S. 40*).

Spricht man von Karzinogene, den Krebserzeugern, unterscheidet man zwischen:

- **chemische Substanzen**, wie zum Beispiel Tabakrauch, der aus mehreren einzelnen chemischen Einzelverbindungen besteht, die wissenschaftlich erwiesen krebserzeugend sind, wie Nitrosamine, Benzol und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe.

- **Viren**, wie zum Beispiel der Gebärmutterhalskrebs, der durch eine bestimmte Gruppe humanen Papillomaviren entsteht.

- **Strahlen**, wie zum Beispiel das Melanom (schwarzer Hautkrebs), der unter starker Sonneneinstrahlung erzeugt wird, oder auch Leukämie, welche durch radioaktive Strahlung verursacht werden kann (*Gabbert [Internetquelle]*).

Die Aufgabe des Reperaturgens ist es nun, diesen Schaden zu erkennen und zu beheben. Allerdings besteht immer die Möglichkeit, dass das Reperaturgen ebenfalls geschädigt werden kann. Die Folge davon wäre, dass eine Anhäufung genetischer Schäden entsteht und dies zur Entwicklung mehrerer Tumore führen kann. Zwar besitzt der Körper noch ein weiteres Sicherheitssystem, die sogenannte Apoptose, bei der die Zelle die Information zum Zelltod bekommt um nicht reparierbare Schäden bei der Zellteilung nicht weiter zu geben. Dennoch besteht die Möglichkeit, dass selbst dieses System eine Schädigung besitzt und somit trotz dessen ein Tumorschutz nicht 100% gewährleistet wäre.

In der Krebsentstehungsphase gelingt es dem Körper allerdings nicht, den Schäden auslösenden Stoff zu entgiften. Er kann demnach nicht unschädlich gemacht werden und agiert direkt oder als Stoffwechselprodukt mit der DNA (*Rechkemmer, 2000, S. 40*).

## 2. Promotionsphase

Die Promotions- oder auch Latenzphase beschreibt den Zeitraum, in dem es dem Körper durch eigene Reparatur oder Apoptose nicht gelingt, geschädigte Zellen zu entsorgen. Die Folge ist: Die abnormalen Zellen bleiben bestehen und besitzen die Fähigkeit sich enorm schnell zu teilen und somit sich zu verbreiten. Es liegt ein beschleunigtes Zellwachstum vor

Es entwickelt sich die erste Vorstufe von Krebs.

## 3. Progressionsphase

Bei der Progressions- bzw. Manifestationsphase wird der Tumor bösartig und tendiert dazu sich auf andere Organe und Gewebe auszubreiten (*Rechkemmer, 2000, S. 40*).

Nach dem heutigen wissenschaftlichen Kenntnisstand weiß man, dass 5 - 10% der Krebserkrankungen genetisch bedingt sind, d.h. dass hier die Auslösungen für eine Tumorenstehung leichter gegeben sind. Dies betrifft vor allem Krebsarten wie den Dickdarmkrebs, Brustkrebs und Eierstockkrebs (*Gabbert [Internetquelle]*).

### **3.2.3 Zusammenhang zwischen Krebsentstehung und Wirkung von Glucosinolaten**

Die entsprechende Wirkungsweise der Glucosinolate wird angenommen wie folgt:

Es wird angenommen, dass die Glucosinolate die Eigenschaft besitzen, das Phase-I-Enzym sowie das Phase-II-Enzym zu beeinflussen. Dies findet in der Initiationsphase der Krebsentstehung statt. Dabei hemmen die Glucosinolate das Phase-I-Enzym und aktivieren gleichzeitig das Phase-II-Enzym. Das Phase-II-Enzym gilt als Indikator der antikanzerogenen Wirkung. Auch können die Glucosinolate in die Phase der Proliferation selektiv eingreifen. Das Glucosinolat, genauer das Sulforaphan, besitzt

hier die Eigenschaft, den Zellen einen Zellzyklusstop und auch die Information der Apoptose zu induzieren.

Desweiteren besitzt das Glucosinolat die Fähigkeit den Östrogenstoffwechsel zu beeinflussen. Dies könnte somit bei hormonabhängigen Tumorarten wie im Brust- oder Prostatabereich von Bedeutung sein. Die Annahme dafür basiert darauf, dass das Indol-3-Carbinol, eine Zersetzung instabiler Indolylglucosinolate, eine phytoöstrogene Wirkung besitzt, d.h. es sind zwar keine richtigen Östrogene vorhanden, es liegen allerdings enge strukturelle Ähnlichkeiten vor, die ebenfalls eine östrogene Wirkung haben. In-vitro Versuche haben gezeigt, dass das Indol-3-Carbinol in der Lage ist, das Wachstum von Brustkrebszellen zu hemmen (Watzl, 2001, S.333).

## 4. Studien

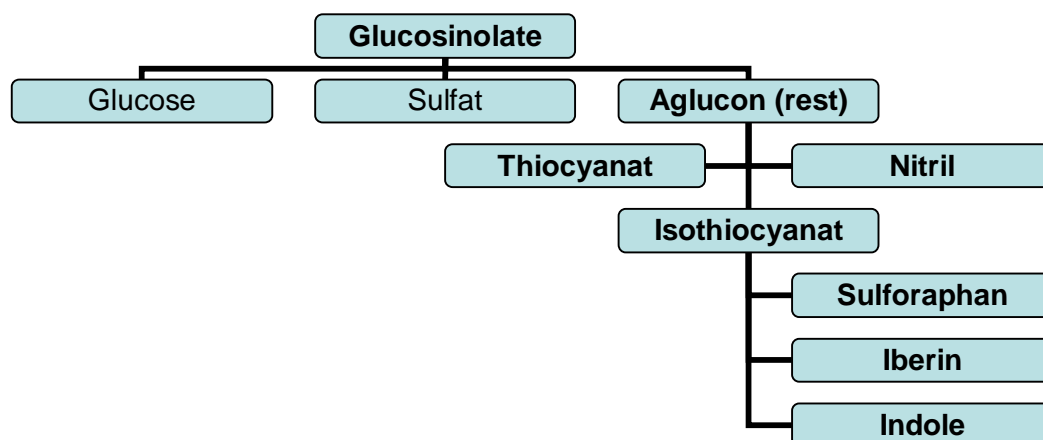
### 4. 1 Einleitung

Die im Folgenden dargestellten Studien, die ab dem Jahr 2004 erarbeitet wurden, beziehen sich auf ganz unterschiedliche Untersuchungsschwerpunkte. Dennoch können sie einen Einblick darüber geben, wie der Stand der wissenschaftlichen Erkenntnisse bezüglich der Glucosinolate im Zusammenhang mit Krebs derzeit ist. Studien vor 2004 haben sich in ihren Ergebnissen oftmals widersprochen, ergaben somit noch keine klare Aussage. Wie der heutige Stand ist und was sich in den letzten Jahren in der Wissenschaft getan hat, wird im Folgenden dargestellt.

Die Studien befassen sich alle mit der primären Fragestellung, ob Glucosinolate die Eigenschaft besitzen, das Risiko von Krebs beeinflussen zu können. Sie unterscheiden sich in ihrer Schwerpunktsetzung wie folgt: Während sich die ersten drei Studien mit dem Untersuchungsgebiet der Prostata auf jeweils unterschiedlichen Untersuchungsebenen beschäftigen, geht es bei der vierten Studie um die möglichen Auswirkungen von Glucosinolaten in Bezug auf Brustkrebs. Die fünfte Studie beschäftigt sich mit dem Gewebe der Magenschleimhaut und die sechste Studie beschäftigt sich mit mehreren Krebsarten gleichzeitig.

Wie zuvor angesprochen unterscheiden sich die Studien nicht nur bezüglich der Krebsart, sondern auch bezüglich unterschiedlicher Spaltungsprodukte des Glucosinolates.

Die folgende Darstellung soll einen Überblick darüber geben, welche Glucosinolate genau in den einzelnen Studien untersucht wurden und in welchem Verhältnis die Spaltungsprodukte zur Ausgangssubstanz Glucosinolat stehen. Hierbei sollen die fett gedruckten Glucosinolate die kennzeichnen, welche in den Studien untersucht worden sind.



**Abbildung 8:** Übersicht der in den Studien vorkommenden Glucosinolate (*Grafik: Verfasser*)

**Studie 1** bezieht sich zwar auf den gesamten Begriff des Glucosiolates, speziell von Brokkoli und Erbsen, konzentriert sich aber ausschließlich auf die DNA, genauer GSTM1, bei Personen die die Diagnose HGPIN besitzen. Hierbei unterlagen die Teilnehmer in regelmäßigen Abständen einer Gewebsentnahme.

**Studie 2** untersuchte im Gegensatz zur Studie 1 nicht die gesamten Glucosinolate, sondern konzentrierte sich ausschließlich auf Iberin und Sulforaphan (Produkte der Isothiocyanate) aus Brokkoli im Zusammenhang mit entnommenen vergrößerten gutartigen Prostatazellen. Desweiteren wurden in dieser Studie nur einmalig von den Teilnehmern Gewebeproben entnommen, die im Labor auf die entsprechenden Substanzen hin untersucht wurden.

**Studie 3** bezieht sich ebenfalls wie Studie 1 auf die gesamten Glucosinolate. Allerdings werden hier nur gegenwärtige Ernährungsaufzeichnungen schon bestehenden vergleichbaren Daten gegenübergestellt.

Die **Studie 4** beschäftigt sich mit dem Risiko von Brustkrebs. Hier werden die Isothiocyanate unter den Aspekten der Lebensumstände, der genetischen DNA und der Aufnahme von Isothiocyanaten durch die Ernährung untersucht.

In der **Studie 5** geht es um den Bereich der Magenschleimhaut. Hier werden primär die Genexpressionen der Teilnehmer bei unterschiedlichen Konzentrationen von Iberin aus Brokkoli beobachtet.

Bei **Studie 6** geht es nicht wie in den vorherigen Studien nur um einen bestimmten Krebs, sondern es werden hier mehrere Krebsformen gleichzeitig untersucht. Hauptgegenstand dieser Studie ist das Nitril (Agluconrest des Glucosinolates) im Zusammenhang mit verschiedenen Gewebearten von Mäusen.

Von diesen Studien ist darüber Aufschluss zu erwarten, ob und in welchem Maße einzelne Spaltungsprodukte von Glucosinolaten einen günstigen, d.h. krebspräventiven Einfluss auf die biochemischen Prozesse im Körper haben.

Der Schwerpunkt liegt dabei auf den Ergebnissen der Untersuchungen, da eine genauere Darstellung der äußerst komplexen biochemischen und medizinischen Untersuchungen und Analysen den Rahmen dieser ernährungswissenschaftlichen Arbeit sprengen würde.

## 4.2 Broccoli Consumption Interacts with GSTM1 to Perturb

### Oncogenic Signalling Pathways in the Prostate

*(Traka, Gasper, Melchini, Bacon, Needs, Frost, Chantry, Jones, Ortori, Barrett, Ball, Mills, Mithen [Internetquelle])*

Durchführung der Studie: April 2005- April 2007

#### 4.2.1 Fragestellung

Ein Team von britischen Forschern des Institutes für Lebensmittel - Forschung hat in den Universitätskrankenhäusern in Norwich und Norfolk (England) eine Studie durchgeführt, die Informationen über den Zusammenhang zwischen einer Brokkoli- und Erbsen reichen Kost und Prostatagenen, insbesondere im Hinblick auf den Genotyp GSTM1 liefern sollte.

Die Einteilung der Teilnehmenden in Gruppen bezüglich des Brokkoli- bzw. Erbsenkonsums wurde durch ein Auswahlverfahren nach dem Zufallsprinzip entschieden.

Die Teilnehmer dieser Studie mussten männlich sein, zwischen 57 bis 70 Jahre alt und die Diagnose HGPIN besitzen, was einen hohen Grad der Vorstufe von

Prostatakrebs bedeutet (*DKDpiN [Internetquelle]*). Dabei befanden sich 20 Männer, die diese Studie ohne Zwischenfälle beenden konnten.

Die Durchführung der Studie fand vom April 2005 bis April 2007 statt, wobei der in der Studie erfasste tatsächliche Konsum von Brokkoli oder Erbsen sich über einen Zeitraum von 12 Monaten erstreckte.

Die für die Studie nötigen medizinischen Eingriffe wurden von Fachärzten der Urologie in den jeweiligen Universitätskliniken durchgeführt.

#### **4.2.2 Methodik**

Die Teilnehmer hatten die Aufgabe, je nach Gruppeneinteilung, 400g Brokkoli bzw. Erbsen pro Woche zusätzlich zu der normalen Ernährung zu verzehren. Um einen vergleichbaren Glucosinolatgehalt unter den Teilnehmern zu gewährleisten, bekamen die Teilnehmer ihr Gemüse alle vom gleichen Hersteller tiefgekühlt geliefert. Zusätzlich wurden die Teilnehmer mit einem Dampfkochtopf ausgestattet, wobei ihnen gezeigt wurde, wie sie ihre Gemüse bezogen auf die Garzeit zubereiten sollten.

Zur weiteren Kontrolle mussten die Teilnehmer während der Studie wöchentlich ihren Verzehr von Brokkoli oder Erbsen durch Kontrollhäkchen und in Form eines Ernährungstagebuches aufzeichnen. Zusätzlich wurden die Teilnehmer in einem Abstand von 2 Wochen regelmäßig telefonisch kontaktiert und zur Befolgung der Ernährungsanweisungen befragt. Anhand der jeweiligen Ernährungstagebücher wurde nach 6 Monaten und nach den medizinischen Eingriffen die Nährstoffzusammensetzung bei beiden Gruppen im Vergleich analysiert.

Bei den medizinischen Eingriffen wurden die spezifischen Stufen der Antigene im Prostataplasma (PSA) gemessen, und zwar vor Beginn der Studie, nach 6 Monaten und nach 12 Monaten. Im gleichen Zeitabstand unterlagen die Teilnehmer einer Untersuchung eines transrektalen Ultraschalls (TRUS) und einem operativen Eingriff der transurethralen Prostata Resektion (TURP). Hierbei wurden ebenfalls vor der Studie, nach 6 Monaten und nach 12 Monaten Gewebeproben entnommen.

Um den Genotyp GSTM1 zu ermitteln, wurde die DNA von dem Blut extrahiert oder alternativ Gewebeproben entnommen und genauestens mit einer Vielzahl von biochemischen Verfahren analysiert.



### 4.2.3 Ergebnisse

Die Auswertung der aus der Studie hervorgegangenen Daten lieferte im Zusammenhang mit den chirurgischen Eingriffen eine Gegenüberstellung der Gene, die zu den verschiedenen Kontrollzeitpunkten entnommen worden waren. Dabei zeigte sich, dass es weder einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Ernährungsweise (Erbsen und Brokkoli) und dem Genotyp GSTM1 gab, noch gleichmäßige Veränderungen in den PSA- Stufen nach 6 und nach 12 Monaten. Beim Vergleichen der Genprofile der Männer, die sich in der Brokkoli- Gruppe befanden und die den Genotyp GSTM1 besaßen, genauer GSTM1 positiv oder GSTM1 null, fanden sich Unterschiede in den Prostatagen-Expressionen. Ebenfalls traten Unterschiede hinsichtlich dieses Genotyps bei der erbsenreichen Kostform auf, sie waren aber deutlich geringer.

Hinsichtlich des Genotyps GSTM1 positiv im Zusammenhang mit einer brokkolireichen Kost lagen nach 6 und nach 12 Monaten mehr Veränderungen, aber ausschließlich in den androgenen Rezeptoren vor, als in der Vergleichsgruppe mit erbsenreichen Kost. Die durch den Brokkoli betroffenen veränderten Gene haben Auswirkungen auf unterschiedliche Signalleitungen, wie das Insulin, das Signalmolekül TGF $\beta$  und die Leitung des EGF- Rezeptors, ein Wachstumsfaktor.

Zusammenfassend lässt sich sagen: Es konnten keine konsistenten Veränderungen in den PSA- Plasmastufen über die 12 Monate beobachtet werden, dennoch zeigten sich Veränderungen in den Prostatagenexpressionen, besonders in der Brokkoli- Gruppe. Es gibt also Hinweise darauf, dass Brokkoli möglicherweise durch die Veränderungen der androgenen Rezeptoren, die in engem Zusammenhang mit den Signalleitungen stehen, das Krebsrisiko bei Prostatakrebs senkt.

Dabei spielte der Zusammenhang zwischen Genotyp und Glukosinolatgehalt eine bedeutende Rolle, wobei Brokkoli aufgrund seines höheren Glukosinolatgehalts eine deutlichere Wirkung zeigte als Erbsen.

### 4.3 Gene Expression Profile of Primary Prostate Epithelial and Stromal Cells in Response to Sulforaphane or Iberin Exposure (Chambers, Bacon, Kemsley, Mills, Ball, Mithen, Traka [Internetquelle])

#### 4.3.1 Fragestellung

Prostatakrebs ist eine der am häufigsten auftretenden inneren Krebsarten bei Männern. Wie bereits dargelegt, haben epidemiologische Studien gezeigt, dass der Verzehr von Kohlgemüse das Risiko der Krebsart möglicherweise senken kann. Hierbei spielen die aus dem Brokkoli stammenden Isothiocyanate eine wichtige Rolle. Dabei ist das Sulfarophan, welches aus den Brokkoliköpfen stammt, die bisher am häufigsten untersuchte Verbindung in Bezug auf die gesundheitlichen Auswirkungen (erhöht die Aktivierung des Phase 2 Enzyms, Hemmung des Phase 1 Enzyms, Unterdrückung des Zellzyklus, Aktivierung der Apoptose und Hemmung der Angiogenese). Bezüglich der Wirksamkeit des Iberin, eine ebenfalls in Brokkoli vorkommende Verbindung und Hauptstoff aus den Keimen des Brokkoli, gibt es im Gegensatz zum Sulforaphan deutlich weniger Studien.

Vorherige Studien haben verdeutlicht, dass die Karzinogenese meist aus einer komplexen Wechselwirkung zwischen Epithelzellen und Stroma (Bindegewebszellen) besteht. Aus diesem Grund wäre es wichtig zu verstehen, wie der Zusammenhang zwischen diätischen Maßnahmen und den dadurch entstehenden Veränderungen der Gen-Expression ist.

In dieser Studie wurden primäre, gutartige Prostata-Zellen benutzt, um die chemopräventiven eher als die chemosuppressiven Mechanismen der Sulforaphane und Iberine zu verstehen.

In dieser Studie sollten zunächst die gesamten Gen-Expressions-Profile der Prostatahyperplasie (gutartige vergrößerte Prostata, anhand von entnommenen Primär- und Bindegewebszellen sowie Epithelzellen gutartiger Herkunft analysiert werden. Diese sollten nach dem Kontakt mit in dem Brokkoli vorkommenden Glucosiolaten, genauer Isothiocyanate Sulforaphan und Iberin, miteinander verglichen werden. Hierbei sollten mögliche Veränderungen festgestellt werden.

Die medizinische Durchführung dieser Studie fand in Norfolk und Norwich (England) in den jeweiligen Universitätskrankenhäusern statt.

### **4.3.2 Methodik**

Zunächst wurde den Patienten durch eine transurethrale Resektion (TURP) Prostatagewebe entnommen, das gutartig vergrößert war. Daraus wurde ein Extrakt hergestellt. Dieser Extrakt wurde im weiteren Verlauf nach Beifügen von weiteren unterschiedlichen Substanzen, mehrmals inkubiert, zentrifugiert und am Ende von jedem Durchgang wurden die Epithelzellen herausgefiltert. Desweiteren wurde die Reinheit der Primärzellen bestimmt. Dabei zeigte sich, dass die primären Bestände der Zelltypen Markierungen besaßen.

Um die Epithelzellen und die Bindegewebszellen zu prüfen, wurden Zellenrentabilitätstests durchgeführt, bei denen die Zellen entweder mit Iberin oder Sulforaphan behandelt wurden. Durch das Einsetzen des CalcuSyn Statistik- Paket (Biosoft, UK), konnte der Prozentsatz der kontrollierten Zellen, sowie die Hälfte der maximalen Hemmkonzentration kalkuliert werden. Davon wurden nun die Primärzellen und das Gewebe der RNA wieder extrahiert, wobei die gesamte RNA im späteren Verlauf quantifiziert und auf ihre Qualität geprüft wurde. Diese Daten wurden am Ende der Durchführung mittels eines GenChip Scanners ausgewertet. Verglichen wurden diese Daten nur mit den Studien, die ebenfalls denselben GenChip Scanner zur Auswertung ihrer Daten benutzt hatten.

### **4.3.3 Ergebnisse**

Die Abgleichung der erhobenen Daten mit früheren Studien zeigte eine relativ hohe Übereinstimmung. Abweichungen wurden zu 39% auf Unterschiede in der experimentellen Anordnung in den Laboratorien, die Herkunft der Zellen oder die Art und Weise der Sortierung zurückgeführt. Dabei gab es bisher mehr Untersuchungen von spezifischen Bindegewebszellen als von spezifischen Epithelzellen (40:18).

Eine interessante Erkenntnis zeigte sich im Vergleich der Epithelzellen und der Bindegewebszellen. Es zeigte sich, dass eine deutliche Veränderung in den Epithelzellen durch Sulforaphan hervorgerufen wurde, während das Iberin einen höheren Einfluss auf die Bindegewebszellen hatte.

Somit scheint nicht nur das Sulforaphan eine Wechselwirkung mit den Prostatazellen zu verursachen, sondern auch das Iberin. Eine weitere Auswirkung der beiden Isothiocyanate war es, dass sie den xenobiologischen Stoffwechsel auslösten.

Es zeigte sich, dass die Epithelzellen schon bei einer niedrigen Konzentration von Sulforaphan wie auch Iberin eine erhöhte Lebensfähigkeit besitzen. Diese Wirkungen konnten allerdings nicht bei den Bindegewebszellen beobachtet werden (s.o), deswegen sind in diesem Falle weitere detaillierte Studien notwendig, um dies bestimmen zu können.

Neben den eben dargestellten Erkenntnissen ging es in der Untersuchung um andere wichtige Gene, die in der Risikosenkung von Krebs eine interessante Rolle spielen.

Das PLAGE1 zum Beispiel ist ein Gen, das die Kontrolle über die Apoptose und den Zellzyklus hat, und somit die Aktivität des wachsenden Tumors hemmen kann. Durch die Zufuhr von Sulfarophan und Iberin wurde die Aktivität dieses Gens höher reguliert, und zwar mittels der Bindegewebszellen der Prostata. Dies gilt ebenso für weitere potentiell tumorfördernde Gene wie IFITM1, ein Interferon- induziertes transmembran Protein1, CSPG2, ein Versican/Antigen, und das VIM Gen in den Epithelzellen.

Diese Ergebnisse der Studie verdeutlichen die komplexen Zusammenhänge zwischen menschlichen Geweben und einer Einwirkung von Substanzen aus der alltäglichen Nahrung, wie hier die Isothiocyanate, was wiederum neue Hypothesen für viele weitere Studien mit sich bringt.

## 4.4. Dietary glucosinolate intake and risk of prostate cancer in the EPIC-Heidelberg cohort study

*(Steinbrecher, Nimptsch, Hüsing, Rohrmann, Linseisen [Internetquelle])*

Durchführung der Studie: Es wird kein genaues Start- und Enddatum, da die Studie eine Kohortenstudie ist, eine sogenanntes Kontinuum (Zeitraum in der die einzelnen Personen beobachtet wurden;

Rekrutierung der Kohorte: 1994- 1998, die darauffolgende follow- up Zeit betrug 9,4 Jahre

### 4.4.1 Fragestellung

Vor dem Hintergrund, dass sich in vorherigen Tier- und Zellstudien die Glucosinolate als möglicherweise Krebs vorbeugend erwiesen haben, auch wenn bisherige epidemiologische Studien inkonsistente Ergebnisse bezüglich des Verbrauchs von Kreuzblütlergemüse zeigten, soll in dieser prospektiven Kohortstudie die Verbindung zwischen Daten über die Aufnahme von Glucosinolaten, den Daten von glucosinolatehaltigen Lebensmitteln und dem Risiko von Prostatakrebs verglichen werden.

Hieran haben sich 11 405 Männer beteiligt. Die Laufzeit dieser Studie betrug 9,4 Jahre, innerhalb derer 328 Fälle von Prostatakrebs aufgetreten sind.

Dies ist bislang die erste prospektive Studie, in der mit den Daten von individuell konsumierten Glucosinolaten gearbeitet wurde.

### 4.4.2 Methodik

Um die Ernährungsgewohnheiten der Teilnehmer hinsichtlich ihrer Glucosinolateaufnahme zu ermitteln, mussten die Teilnehmer einen Fragebogen ausfüllen. Dieser wurde in eine bestimmte Datenbank aufgenommen, um mit einem speziellen Datenverarbeitungsprogramm die einzelnen von den Teilnehmern verzehrten Glucosinolate herausfiltern zu können.

Der Grad des Prostatakrebsrisikos wurde mit Hilfe des Cox Porportional Hazard Modells (HR) bestimmt. Dieses Modell ist eine Regressionsmethode zu Analyse von Überlebensdaten *(A. Ziegler, S. Lange, R. Bender, 2007 [Internetquelle])*.

### 4.4.3 Ergebnisse

Anhand der Ernährungsfragebögen zeigte sich, dass die Glucosinolataufnahme der Teilnehmer durchschnittlich bei 7,9 mg/Tag lag. Dabei wurde deutlich, dass das Risiko von Prostatakrebs während des Untersuchungszeitraums der Glucosinolataufnahme zurück ging. Demzufolge gab es einen umgekehrt proportionalen Zusammenhang zwischen dem Konsum von Glucosinolaten und Prostatakrebs. Allerdings zeigte sich unter den Nebengruppen, dass die aliphatischen Glucosinolate am deutlichsten diesen Zusammenhang aufweisen. Stratifizierte (geschichtete) Analysen von Tumorstufen und -Graden wiesen auf einen inversen Zusammenhang von lokalisierten Krebs und Krebs niederer Stufe hin.

Somit zeigt diese Studie einen inversen Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Glucosinolaten und dem Risiko von Prostatakrebs.

## 4.5 Cruciferous vegetables, the GSTP1 Ile105Val genetic polymorphism, and breast cancer risk 1–3

*(Lee, Fowke, Lu, Ye, Zheng, Cai, Gu, Gao, Zheng [Internetquelle])*

Durchführung der Studie: April 2002- Februar 2005

### 4.5.1 Fragestellung

In Bezug darauf, dass den Isothiocyanaten eine Brustkrebsrisiko senkende Eigenschaft zugesagt wird, sind die bisherigen Studien teilweise widersprüchlich. Es scheint, als wäre das Brustkrebsrisiko vom Stoffwechsel abhängig. Welche Rolle der Genotyp GSTP1 dabei spielt, ist bisher noch unklar. Klar ist allerdings, dass spezifische Substrate des GSTP1 (Glutathin-S-Transferase) in sich differenziert. Dieser Genotyp GSTP1 lässt sich in ihren Allelen unterscheiden: Val/Val, Val/Ile und Ile/Ile.

Drei frühere Studien berichten über eine Reaktion des Genotyp GSTP1 auf Brassica hinsichtlich Brustkrebs. Dabei wurde der Zusammenhang zwischen GSTP1 Ile 105 Val und der Aufnahme von Brassica bisher nicht erforscht.

Das Ziel dieser vorliegenden Studie war es nun, die Auswirkungen von Brassica auf GSTP1 Ile 105 Val bezogen auf das Brustkrebsrisiko zu untersuchen, um neue wissenschaftliche Erkenntnisse zu gewinnen.

Diese Studie ist eine Fall- Kontroll- Studie, die in Shanghai (China) durchgeführt wurde, auch titulierte als die Shanghai- Brustkrebs- Studie (SBCS). Diese fand im Zeitraum April 2002 bis Februar 2005 statt. Insgesamt waren 1997 Krebsfälle an der Studie beteiligt, sowie 1918 Personen einer Kontrollgruppe.

Untersucht werden sollten drei Aspekte: die Auswirkung der Lebensumstände, des genetischen Materials und der Zufuhr von Glukosinolaten auf das Brustkrebsrisiko.

1996- 1998 wurde schon einmal eine Shanghai- Brustkrebs- Studie durchgeführt. Damals hatten sich 1556 Frauen an der Studie beteiligt. Um die beiden Studien zu unterscheiden, werden sie im folgenden Text als BSCS I und BSCS II bezeichnet.

#### **4.5.2 Methodik**

Durch ein schnelles Fall- Erhebungssystem wurden zunächst Brustkrebsfälle bei Frauen im Alter zwischen 25 und 64 Jahren in der Shanghaibevölkerung verzeichnet. Im Vergleich zu der SBCS I waren die Teilnehmer der SBCS II insgesamt gebildeter, etwas älter und mehr Beteiligte befanden sich wahrscheinlich schon in der Zeit nach der Menopause. Zudem wurde die Altersspanne auf 20 bis 70 Jahre erweitert, was der Grund für die unterschiedliche Teilnehmerzahl von SBCS II und SBCS I ist.

Um detaillierte Auskünfte über die Lebensumstände der Teilnehmer zu erhalten und damit herauszufinden, ob die Lebensumstände sich auf ein Krebsrisiko auswirken, wurden Fragebögen eingesetzt und damit Daten wie z.B. über Menstruation und Fortpflanzung, Einnahme von Hormonen, Ernährungsgewohnheiten, Erkrankungen, körperliche Aktivitäten, Tabak- und Alkoholkonsum, mögliche Krebsvererbung, derzeitigen Bauch- und Hüftumfang sowie die Beanspruchung durch Sitzen oder Stehen gewonnen.

Die genetische DNA wurde wie bei SBCS I bei den Teilnehmern durch eine Zellentnahme aus dem Mundraum und ein folgendes Extrahieren festgestellt und entsprechend protokolliert.

Um den Ernährungszustand der Probanden beurteilen zu können, wurden die Teilnehmer in regelmäßigen Abständen dazu befragt, wie viel Gramm von Brassica sie in ihrer normalen Ernährungsform konsumierten. Hierzu wurden 5 Brassica, wie Senfkohl, Grünkohl, Chinakohl, Blumenkohl und Weißrüben bei dem Fragebogen zusätzlich gelistet. Aus diesen Informationen wurde der durchschnittliche Verzehr von Brassica in g/Tag bestimmt. Um darüber hinaus die Aufnahme der Isothiocyanate abschätzen zu können, wurden die bisher veröffentlichten Konzentrationsgehalte von Isothiocyanaten in kochendem Wasser zu Hilfe genommen.

### 4.5.3 Ergebnisse

Bezüglich der Lebensumstände zeigten sich Unterschiede zwischen den untersuchten Fällen und der Kontrollgruppe, und zwar in den Bereichen Bildung, Vererbung, Eintritt der Menstruation, Menopause, Dauer des pränatalen Wachstums, Verhältnis von Bauch und Hüfte, körperliche Bewegung, Konsum von rotem Fleisch, Geflügel und Fisch.

Was die Essgewohnheiten betrifft, zeigten sich folgende Ergebnisse: Besonders bei Frauen **nach** der Menopause steht das Brustkrebs- Risiko im Zusammenhang mit dem Konsum von Glucosinolaten. Rübenkonsum wird bei Frauen **vor** der Menopause mit einem gesenkten Brustkrebsrisiko in Zusammenhang gebracht, während wiederum Chinakohl bei Frauen **nach** der Menopause das Risiko von Brustkrebs senkt.

Die Auswertungen der Aufnahme von Senfkohl (bok choy) zeigen, dass diese in Zusammenhang mit einem gesenkten Brustkrebsrisiko bei Frauen **nach** der Menopause gebracht wird.

Die Untersuchung des genetischen Materials zeigte folgendes:

Das GSTP1 Val Allel war häufig unter der Kontrollgruppe zu finden, und zwar zu 18.4%. Der Genotyp GSTP1 Val/Val wird mit einem verringerten Risiko von Brustkrebs in Zusammenhang gebracht. Der Genotyp GSTP1 x war nur von Bedeutung bei Frauen **nach** der Menopause.

Einen bedeutsamen Zusammenhang hatte schon die SBCS I zwischen dem Genotyp GSTP1 Val/Val und dem Risiko von Brustkrebs aufgezeigt. Dieser Zusammenhang ließ sich auch in der SBCS II feststellen, war aber nicht signifikant.



Es zeigte sich, dass trotz einer gesenkten Aufnahme von Brassica ein 1,74-fach verringertes Krebsrisiko besteht, wenn der Genotyp Val/Val vorliegt. Hingegen hatten Frauen mit dem Genotyp Ile/Ile oder Ile/Val trotz hohem Konsum von Brassica ein höheres Risiko.

Dieser Zusammenhang von Genotyp GSTP1 und Konsum von Brassica schien überwiegend bei Frauen **vor** der Menopause von Bedeutung, obwohl die Tests hinsichtlich dieser Beeinflussung keine signifikanten Ergebnisse zeigten.

Die untersuchten Auswirkungen von geschätzten Isothiocyanaten, bzw. Konsum von Brassica ohne Senfkohl auf GSTP1 Ile 104 Val zeigten ähnliche Ergebnisse.

Dieses Ergebnis, dass der Genotyp GSTP1 Val/Val möglicherweise das Brustkrebsrisiko senkt, weist Ähnlichkeiten mit andere Studien und bisherigen Analysen auf.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Verzehr von Glukosinolaten sich nur im Zusammenhang mit dem bestimmten Genotyp GSTP1 VAL/VAL günstig auf ein Senken des Krebsrisikos auswirkt.

## 4.6 Consuming Broccoli Does Not Induce Genes Associated with Xenobiotic metabolism and Cell Cycle Control in Human Gastric Mucosa

*(Gasper, Traka, Bacon, Smith, Taylor, Hawkey, Barrett, Mithen [Internetquelle])*

Durchführung der Studie: 8. Januar- 19. Mai 2004

### 4.6.1 Fragestellung

Anknüpfend an eine frühere Studie, in der der Metabolismus von Sulforaphan nach Konsum von hohen und gewöhnlichen Konzentrationen von Glucosinolaten beobachtet wurde, wird diese Studie überprüfen, ob sich die Genexpression der menschlichen Magenschleimhaut nach hohem und normalem Verzehr von Brokkoli, genauer dem Suforaphan, verändert.

An der Studie haben 7 Männer und 9 Frauen im Alter von 18- 46 Jahren teilgenommen. Medizinische Eingriffe fanden im Queen´s Medical Center im Universitätskrankenhaus Nottingham NHS Trust statt. Vor Beginn der Studie wurde

bei den Teilnehmern ein vollständiges Blutbild gemacht, Leberwerte, Harnstoff, Elektrolyte und die Glukose im nüchternen Zustand gemessen.

Teilnehmer, die schwanger waren, rauchten, Nahrungsergänzungsmittel zu sich nahmen oder bei denen eine langfristige Krankheit diagnostiziert wurde, durften an dieser Studie nicht teilnehmen.

#### **4.6.2 Methodik**

Am Tag vor der Studie wurden den Teilnehmern in nüchternem Zustand Gewebeproben der Magenschleimhaut entnommen. Diese waren Bestandteil späterer Analysen. Zudem nahmen die Teilnehmer 24 Stunden vor dem Eingriff keine Lebensmittel zu sich, bei denen sie wussten, dass diese Glucosinolate bzw. Isothiocyanate enthielten, sowie keine würzigen Speisen und Alkohol.

Die Teilnehmer bekamen unterschiedliche Suppen von je 150 ml zum Verzehr vorgesetzt, zum einen eine Brokkolisuppe, die eine hohe Konzentration von Sulforaphan hatte und eine Brokkolisuppe, die eine normale Konzentration von Sulforaphan hatte. Die Konzentrationen von Sulforaphan in den Suppen unterschieden sich um ein Dreifaches. Nach dem Verzehr sollte bei bestimmten Teilnehmern eine Spülung mit Wasser folgen.

Um nun die Veränderungen der Genexpressionen beurteilen zu können, wurden den Probanden 6 Stunden nach dem Verzehr der Brokkolisuppe Gewebeproben entnommen, die unter anderem genotypisiert wurden.

Desweiteren wurden jeweils nach dem Verzehr Blut- und Urinproben für eine weitere Stoffwechselanalyse entnommen

.

Zur Analyse der Daten wurde zum einen die real-time RT-PCR Analyse angewandt, sowie zur statistischen Analyse mit Microarray Daten eine bestimmte DNA Chip Analyse Software eingesetzt.

Bei der real- time PCR- Analyse wurde vor jeder und nach 6 Stunden jeder Test- Mahlzeit drei bestimmte Gene untersucht:

- GCLM
- Tr 1
- p21.

Bei der Auswertung und dem Vergleich der statistischen Analysen der Microarray Daten ergab sich eine sehr komplexe Interpretation der Proben, aufgrund dessen war es nötig, eine weitere Analyse zum biologischen Prozess der Genprofile durchzuführen, die Onto- Express- Analyse.

#### **4.6.3 Ergebnisse**

##### Ontologische Analyse

Die ontologische Analyse ergab, dass die Brokkolisuppe mit der höheren Konzentration die Oxidoreduktase aktivierte. Die Standart Brokkolisuppe aktivierte den Transkriptionsfaktor. Grund dafür schien die molekulare Funktion zu sein. Veränderungen der Genexpression waren weitaus mehr bei dem *median FDR* mit Wasser zu finden.

Zudem zeigte sich, dass das Gen Cryptochrome nach allen Interventionen überregulierte.

Weiter wurden vier Gene von beiden Brokkolisuppen unterdrückt/ gehemmt:

- MAXdimerisation Protein 1
- Thyrotrophic embryonic Faktor
- Helix-loop-helix domain class B2 und
- Der nukleare Rezeptor der Untergruppe D2

Bei Zugabe von Wasser zeigten sich hierbei keine Veränderungen.

##### Real- time RT-PCR- Analyse

Die Untersuchung in der Methodik genannten Gene zeigten mehr Übereinstimmungen, als bei der Microarray- Analyse. Besonders zeigten sich signifikante Veränderungen in den Expressionen bei den Genen GCLM und Tr 1, nach Konsum der hoch konzentrierten Brokkolisuppe. Das Gen p 21 zeigte bei beiden Brokkolisuppen keine Veränderungen.

Unter den Teilnehmern hat man festgestellt, dass es deutliche Variationen bei den Genen GCLM und Tr1 gab.

Somit steht die Brokkolisuppe mit der hohen Konzentration in einer möglichen Wechselbeziehung mit Personen, die das Gen GCLM und Tr1 besitzen.

Einen Unterschied zwischen dem Genotyp GSTM1 und der Geninduktion gab es nicht.

Weiter zeigte sich, dass durch den Konsum der konzentrierten Brokkolisuppe eine Induktion verschiedener Gene des xenobiotischen Stoffwechsels mit der Oxidoreduktase aktiviert wurden. Bei dem Konsum der Standard-Brokkolisuppe wurde hingegen nur ein Gen mit der Oxidoreduktase aktiviert.

Insgesamt lässt sich sagen, dass nach dem Konsum der konzentrierten Brokkolisuppe die Sulforaphan-Konzentration in der Magenschleimhaut deutlich höher war als nach dem Konsum der Standard-Brokkolisuppe (682,8 µmol/L und 22295,9 µmol/L). 2 Stunden nach Konsum und Absorption lag die Konzentration von Sulforaphan in der Magenschleimhaut bei 7,3 µmol/L nach Verzehr der konzentrierten Brokkolisuppe und 2,2 µmol/L nach Verzehr der Standard-Brokkolisuppe.

Somit besitzt der Konsum einer sulforaphanreichen Mahlzeit die Eigenschaft, mehrere Gene des xenobiotischen Stoffwechsels der Magenschleimhaut zu aktivieren.

Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen GSTM1.

Allgemein lässt sich feststellen, dass es von Bedeutung ist, wie häufig und wie regelmäßig Brokkoli verzehrt wird und wie hoch die Anreicherung mit Sulforaphan ist. Diese ist auch abhängig von der Art der Zubereitung und könnte auch davon beeinflusst werden, was nach der Brokkoli-Mahlzeit zu sich genommen wird. Durch solche veränderten Bedingungen könnte es bei normalem Brokkoli-Verbrauch zu Gen-Veränderungen kommen, die sich von den in der Studie festgestellten unterscheiden.

## 4.7 Induction of Detoxication Enzymes in Mice by Naturally Occurring Allyl Nitrile

(*Tanii, Higashi, Nishimura, Higuchi, Saijoh [Internetquelle]*)

Durchführung der Studie: Januar 2005- Juni 2005

### 4.7.1 Fragestellung

Frühere Epidemiologische Studien haben gezeigt, dass es einen Zusammenhang zwischen Konsum von Kreuzblütler- Gemüse und dem Risiko von Krebsentstehung gibt. Dies steht wiederum in einem engen Zusammenhang mit Glucosinolaten bzw. ihren Abbauprodukten, den Isothiocyanaten, Nitrilen und Indolen (s.o.). Im Gegensatz zu den Isothiocyanaten gibt es bisher noch wenig Erkenntnis darüber, ob Nitrile ebenfalls die Fähigkeit besitzen, das Phase 2 Enzym sowie GSH in ihrer Aktivität zu beeinflussen. In dieser Studie geht es um das Allyl Nitril, welches ein Hydrolyseprodukt des Glucosinolates Sinigrin *ist*. In- vitro- Verdauung von Sinigrin deutet daraufhin, dass das Allyl Nitril durch Bifidobacterium möglicherweise eine wichtige Rolle im Dickdarm spielt.

Durch induktive Messungen an Mäusegeweben soll im Folgenden festgestellt werden, ob und welche Auswirkungen Allyl Nitril auf die Aktivität der GST, QR und GSH hat. Um die Messungen selektiv zu behandeln, wurden Messungen im Magen, Dünndarm, Dickdarm, Mastdarm, Urin, Blase, Nieren und Leber durchgeführt.

### 4.7.2 Methodik

Die zur Durchführung benötigten Materialien waren zum einen Chemikalien, wie 2,6-Dichloroindophenol (DCIP), Nicotinamid-Adenin - Dinucleotid-Phosphat (reduziert), und Dicumarol. Diese wurden von Sigma Chemical (St. Louis, MO) gekauft. Das Allyl-Nitril war aus Tokyo Kasei Kogyo Co. (Tokyo, Japan), und alle anderen Chemikalien kamen aus Nakalai Tesque, Inc. (Kyoto, Japan).

Die Mäuse, bei denen das Gewebe getestet werden sollte, waren männlich und hatten ein Gewicht zwischen 26g- 30g. Die Tiere befanden sich in einer Umgebung mit einer Temperatur zwischen 22°C bis hin zu -2°C unter einen 12:12 Stunden Licht/dunkler Zyklus. Es war ihnen ein freier Zugang zu Trinkwasser und Lebensmitteln erlaubt. Man verabreichte Gruppen von jeweils vier Tieren bestimmte

Dosen von Allyl Nitrilen, 6, 8, 11, 23 oder 47,2 mg/kg oder destilliertes Wasser, 4 ml/kg 7 Tage täglich mit zusätzlicher Intubation des Magens. Am 8. Tag mussten die Mäuse auf Grund der anstehenden Untersuchung der Aktivität im Gewebe geopfert werden.

Dabei wurden Magen, Dünndarm, Dickdarm, Rektum, Harnblase, Lunge und Leber sofort entfernt und bis zur Analyse bei -80°C gelagert. Für Enzym Analysen wurde eine bestimmte Menge des Gewebes gleich in 4 Mengen von Puffern homogenisiert, die mit 10 000 g für 20 Minuten bei 4°C zentrifugiert wurden. Der daraus resultierende Überstand wurde mit 105 000g bei 4°C für 60 Minuten abermals zentrifugiert, um Bestandteile des Zytoplasmas zu erhalten. Diese wurden bei -60°C bis zur Analyse gelagert. Die Protein- Konzentration wurde nach der Methode nach Bradford gemessen, einer photometrischen Methode, mit Zugabe von Rinder-Albumin als Standart.

Um die GSH und die Enzyme zu analysieren, wurde die Aktivität der GST nach der Methode von Habig et al. gemessen. Hierbei war eine Zugabe von 1-Chlor-2,4-Dinitrobenzol nötig.

Die QR- Aktivität wurde nach der spektralphotometrischen Methode von Ernster gemessen und die GSH- Konzentration nach der Methode von Jäger et al.

### **4.7.3 Ergebnisse**

Bei wiederholter Beigabe von Allyl Nitril bei den Mäusen, wurden keine Verhaltensänderungen festgestellt. Allerdings wurde eine Veränderung in den Detoxikation Enzymaktivitäten sowie in der GSH festgestellt.

#### GST (Glutathion-S-Transferase)

Im Dünndarm, Dickdarm, Harnblase und in der Leber der Mäusen konnten keine nennenswerten Unterschiede der GST- Aktivität beobachtet werden. Dagegen zeigten sich eine erhöhte GST- Aktivität in Bereichen des Magens bei einer Dosis von 6, 8, 11, 23 und 47,2 mg/kg am Tag, im Rektum und in der Lunge bei einer Dosis von 6, 23, 47,2 mg/kg am Tag und in den Nieren bei einer Dosis von 47,2 mg/kg am Tag.

### QR (Quinone- Reduktase)

Die QR- Aktivität zeigte in den Bereichen Mastdarm, Dickdarm und Leber unabhängig von der Dosis keine Unterschiede. Eine erhöhte Aktivität wurde im Magen und in der Lunge festgestellt bei Zugabe jeder Dosis. Im Darm, Blase und Niere zeigte sich eine erhöhte QR- Aktivität bei einer Menge von 47,2 mg/kg am Tag von Allyl Nitril.

### GSH (Glutathion)

Bei der GSH zeigten sich keine Veränderungen im Bereich des Dünndarms, des Dickdarms, der Leber, Niere und Lunge. Nur im Magen konnte erhöhte Aktivität bei allen Dosen festgestellt werden, sowie bei Enddarm und Harnblase bei den Dosen 6, 23 und 47,2 mg/kg am Tag.

Somit deutet die Studie darauf hin, dass Allyl Nitril in subtoxic Dosen die Fähigkeit besitzt, eine erhöhte Aktivität des GST, QR und GSH- Gewebes bei Mäusen zu bewirken. Dabei ist die Art der Wirkung abhängig von dem Gewebe.

Die maximale Wirkung des Allyl Nitrils wird im Bereich des Magens sowie aber auch der Lunge ausgelöst.

Auch wenn die Dosis in dieser Studie bei den Mäusen um ein 1400-faches kleiner ist als die Menge, die Menschen in Form ihrer Nahrung zu sich nehmen, hat sich durch die beobachteten Veränderungen in den Geweben gezeigt, dass das Allyl Nitril sowie das Isothiocyanat die Fähigkeit besitzt, die Tätigkeit des Phase 2 Enzyms zu aktivieren. Da noch nicht bekannt ist, wie Allyl Nitril bei wesentlich größeren Mengen als die oben genannten seine Wirksamkeit entfaltet, sind weitere Studien über die Dosis -Reaktion erforderlich.

## 4.8 Gesamtauswertung der Studien

In den oben beschriebenen Studien wird deutlich, dass nicht allein die Ernährung, also nicht ausschließlich der Konsum von Glucosinolaten, eine zentrale Rolle in der möglichen Prävention von Krebs spielt, sondern dieser in einem ganz engen Zusammenhang und einer Wechselwirkung mit bestimmten DNA- Typen zu sein scheint.

Studie 1 berichtete über eine Wirkung von Glucosinilaten im Brokkoli in den Genexpressionen, diese allerdings nur bei einem in dieser Studie untersuchten Genotyp, Genotyp GSTM1.

Studie 2 berichtet in ihren Ergebnissen ebenfalls über eine Wirkung in der Genexpression von Isothiocyanaten, genauer gesagt dem Sulforapahn und dem Iberin.

Auch in Studie 3 sollen die Glucosiolate eine Wirkung ausgelöst haben.

Bei Studie 4 hat wieder nur ein bestimmter Genotyp Veränderungen durch Isothicyanate bewirkt. Genauer der Genotyp GSTM1 Val/al.

Studie 5 zeigt, dass bei zunehmender Konzentration von Glucosinolaten, hier das Sulforaphan, Veränderungen in der Genexpression bewirkt werden.

Studie 6 hingegen berichtet, dass die Einwirkung von Nitrilen auf unterschiedliche Gewebe der Maus, vor allem im Magen und in der Lunge, im Stande ist, eine erhöhte Aktivität im Zellzyklus zu bewirken.

Es wird also deutlich, dass möglicherweise nicht allein der Konsum von Glucosinolaten in der Ernährung das Krebsrisiko senkt, sondern dies wahrscheinlich nur dann geschieht, wenn eine bestimmte DNA vorhanden ist, mit der eine Wechselwirkung möglich ist.



Des Weiteren scheint es eine bedeutende Rolle zu spielen, welche Spaltungsprodukte in unterschiedlichen Bereichen des menschlichen Körpers die Möglichkeit besitzen, auf diese Einfluss nehmen zu können.

Außerdem wird deutlich, dass die verschiedenen Konzentrationen von Glucosinolaten in unterschiedlichen Gemüsesorten sowie die Art der Zubereitung und des Verzehrs (vergl. Studie 5 und 1) für die krebspräventive Wirkung eine Rolle spielen.

Allen Studien gemeinsam ist, dass den Glukosinolaten eindeutig eine krebspräventive Wirkung zugeschrieben wird.

Aufgrund der sehr unterschiedlichen Ansätze und Schwerpunkte der Studien, sowie aufgrund der äußerst diffizilen und spezialisierten Ergebnisse ist es m. E. jedoch noch nicht möglich, daraus eindeutige Ernährungsempfehlungen hinsichtlich einer Krebsprävention abzuleiten. Richtig bleibt auf jeden Fall, dass eine ausgewogene Ernährung auf der Basis einer abwechslungsreichen Gemüsezufuhr unter Einbeziehung von Brassica gesundheitsfördernd wirkt, wobei zu hoffen ist, dass bei entsprechender genetischer Disposition die Krebsentstehung eingeschränkt werden kann.

Es wird wahrscheinlich noch viele Jahre der Forschung brauchen, bis das Thema so umfassend geklärt ist, dass man eindeutige und gezielte Ernährungsrichtlinien aufstellen kann.

Hinsichtlich der Wirkung von Glukosinolaten bei entsprechendem Genotyp wäre es von Wichtigkeit, statistische Ergebnisse über die Verbreitung des förderlichen Genotyps in der Bevölkerung zu erhalten. Nur so ließe sich der mögliche Umfang einer Wirksamkeit krebspräventiver Glukosinolataufnahme genau ermessen.

## 5. Schlussfolgerung

Die vorliegenden Studien zeigen den Bedarf an weiteren Forschungsarbeiten mit unterschiedlichen Schwerpunkten. Auch wenn sich die Analytik der sekundären Pflanzenstoffe deutlich verbessert und spezialisiert hat, was die von mir referierten Studien deutlich machen (vergl. hierzu auch *Ernährungsbericht*, S. 413), und sich die heutige wissenschaftliche Datenlage im Vergleich zum Ernährungsbericht von 2004 in ihren Einschätzungen deutlich als Bestätigung voriger Ergebnisse darstellt, sind immer noch viele Aspekte und offene Fragen nicht ausreichend genug geklärt worden. Auch lassen die Kriterien der DGE eine Evidenzbewertung noch nicht zu. Aus diesen Gründen kann man noch keine Zufuhrempfehlungen bezüglich der Glucosinolate geben.

Für die praktische Ernährungswissenschaft wäre es wichtig zu wissen, wie viel Gemüse welcher Sorte und welcher Zubereitungsart ein Mensch mit bestimmter genetischer Disposition zu sich nehmen müsste, um eine krebopräventive Wirkung in bestimmten Bereichen des Körpers zu erzielen.

Solche konkreten Angaben zur Erstellung eines Ernährungsplanes geben die bisherigen Forschungsergebnisse nicht her.

Es ist also noch ein weiter Weg bis hin zum gezielten Einsatz von Glucosinolaten in der krebopräventiven Gesundheits-Diät oder gar als Arzneimittel gegen Krebs.

## 6. Literaturverzeichnis

**Eckert**, Gunther P., Dr.: Special Sekundäre Pflanzenstoffe: Mediterrane Ernährung zur Prophylaxe der Alzheimer Demenz, Umschau Zeitschriftenverlag GmbH, Sulzbach/ Taunus, 2008  
in: Ernährungsumschau 08/ 08, S. 480

**Koerber**, Karl von; **Leitzmann**, Klaus; **Männle**, Thomas; **Becker**, Ulrike; **Franz**, Wiebke: Vollwert-Ernährung: Konzeption einer zeitgemäßen und nachhaltigen Ernährung, Edition: 10, Georg Thieme Verlag, 2000, S. 71

**Raven**, Peter H.; **Evert**, Ray F.; **Eichhorn**, Susan E.: Biologie der Pflanzen, Verlag Walter de Gruyter 4. rev. Aufl. 2006,  
Kapitel 2, Molekularer Bau der Zelle, 2.6. sekundäre Pflanzenstoffe, S.33

**Rechkemmer**, Gerhard: Krebs auch ein Ernährungsproblem,  
in: Spektrum der Wissenschaft, Spezial: Krebsmedizin II, 2000, S. 40

**Rechkemmer**, Gehard, Prof. Dr. rer. nat.; **Watzl**, Bernd, Dr. oec. troph.: Kapitel 7.: Einfluss sekundärer Pflanzenstoffe auf die Gesundheit, Herausgeber: Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (DGE), Bonn, mit Förderung des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft,  
in: Ernährungsbericht 2004, S. 325- 346

**Richter**, Gerhard: Stoffwechselphysiologie der Pflanzen: Physiologie und Biochemie des Primär- und Sekundärstoffwechsels Edition 6, Georg Thieme Verlag 1998, S. 4

**Schmanke**, Horst, Prof. Dr.: Indolderivate aus glucosinolathaltigen Lebensmitteln mit antikanzerogener Wirkung, Umschau Zeitschriftenverlag Breidenstein GmbH, Frankfurt am Main, 2005  
In : Ernährungsumschau 07/ 05: S. 276

**Stahl**, Thorsten, Dr., **Haider**, Georg, Dr., Prof., **Mersch- Sundermann**, Volker, Prof. Dr., **Gminski**, Richard, Dr.: Chemopräventiv wirksame Isothiocyanate [ITC] in Senf, Umschau Zeitschriftenverlag GmbH, Sulzbach/Ts, 2009  
in: Ernährungsumschau 02/09, Seite 74

**Watzl**, Bernd, Dr. oec. troph.: Sekundäre Pflanzenstoffe- viel hilft viel?, Umschau Zeitschriftenverlag GmbH, Sulzbach/ Taunusl, 2008,  
in: Ernährungsumschau 08/ 08: S. 486

**Watzl**, Bernd, Dr. oec. troph.: Glucosinolate  
Umschau Zeitschriftenverlag Breidenstein GmbH, Frankfurt am Main, 2001,  
in: Ernährungsumschau 48, Heft 8: S. 330- 333

**Wolfram**, Günther, Prof. Dr. med; **Watzl**, Bernd, Dr. oec. troph.: Kapitel 7.:  
Prävention durch Ernährung, Herausgeber: Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (DGE), Bonn, im Auftrag des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft,  
in: Ernährungsbericht 2008: S. 301- 346

## **Zusammenfassung**

Kohlgemüse wie Weißkohl, Rotkohl, Grünkohl, Wirsing, Rosenkohl und Blumenkohl, Kohlrabi, Kohlrübe, aber auch Brokkoli, Kresse, Senf, Rucola, Radieschen, Meerrettich und Raps sind Pflanzen und reich an den zu den sekundären Pflanzenstoffen gehörenden Glucosinolaten sind. Sie zählen unter den Pflanzen zu der Familie der Kreuzblütler (Brassica).

Das Glucosinolat verleiht dem jeweiligen Gemüse den für uns Menschen typischen Geschmack.

Zudem wird dem Glucosinolat eine möglicherweise präventive Wirkung zur Risikosenkung von Krebs zugesprochen. Die in dem Text dargelegten Studien ab dem Jahr 2004 beschäftigen sich primär mit der Fragestellung, ob Glucosinolate tatsächlich Einfluss auf die Entstehung von Krebs haben. Laut den Ergebnissen der Studien besitzen Glucosinolate die Eigenschaft, im menschlichen Körper unter bestimmten Voraussetzungen in die Zellzykluswege eingreifen zu können. Dabei spielt die genetische Zusammensetzung der menschlichen DNA eine wichtige Rolle.

Die Ergebnisse beziehen sich jeweils auf sehr spezielle Teilbereiche:

Spaltungsprodukte von Glucosinolaten, unterschiedliches Zellmaterial, unterschiedliche Konzentration des jeweiligen Glucosinulates, und arbeiten mit höchst komplexen unterschiedlichen Verfahren.

Einige Ergebnisse waren relativierbar, eine Zusammenschau ist aufgrund noch ausstehender Forschungen zum jetzigen Zeitpunkt nicht möglich. Dadurch können die Bedingungen einer präventiven Wirkung bei Krebs durch die Glucosinolate noch nicht mit Sicherheit bestimmt werden, so dass auch keine eindeutigen Ernährungsempfehlungen möglich sind.

## **Abstract**

Being part of the family of the cruciferous plants (brassica), cabbages like white cabbage, red cabbage, kale, savoy, Brussels sprouts and cauliflower, but also broccoli, cress, mustard, arugula, radish, horseradish and rape are rich of glucosinolates, which belong to the secondary plant compounds.

Glucosinolate is responsible for the vegetable's typical taste. In addition, glucosinolates are associated with a possible preventive effect on the lowering of cancer risk. Primarily, the recent papers (from 2004 onwards) discussed in this thesis treat the question if the influence of glucosinolates on cancer aetiology and

pathogenesis can be proven. According to the results of the studies, glucosinolates possess the property to influence the human Cell Cycle under certain circumstances. A significant role is played by the composition of the human DNA. The results refer each to different, very specialised topics: fission products of the glucosinolates, different cell material or different concentrations of the respective glucosinolate. The methods used are also very complex and distinct.

Some results could be qualified, but currently a synopsis is not possible due to missing research. Therefore, conditions for a preventive effect on cancer by the use of glucosinolates cannot be determined with certainty, and definite nutritional recommendations cannot be given.

## **Eidesstattliche Erklärung**

Ich erkläre hiermit an Eidesstatt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken, sind als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit wurde bisher in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungskommission vorgelegt und auch nicht veröffentlicht.

Hamburg, den 20. August 2009

Lina Putri- Ayu Friedland