

Hochschule für angewandte Wissenschaften

Hamburg

Studiengang Ökotrophologie

Glucosinolate und Krebsprävention

Diplomarbeit

Tag der Abgabe: 25. Oktober 2004

Vorgelegt von:

Annegret Kummerfeldt

Kirchenstieg 4c

22844 Norderstedt

Matrikel Nr.: 1423800

Betreuende Prüfende: Prof. Christine Behr-Völzer

Zweiter Prüfer: Prof. Michael Hamm

Inhalt

Einleitung	6
Zielsetzung.....	7
1 Kanzerogenese.....	8
1.1 Die Initiationsphase	9
1.1.1 Fremdstoffmetabolismus	10
1.1.2 Polymorphismus.....	11
1.1.3 Oxidativer Stress.....	11
1.2 Promotion	12
1.2.1 Einfluß von Hormonen.....	13
1.3 Progression	13
2 Sekundäre Pflanzenstoffe und Kanzerogenese	14
2.1 Einordnung der sekundären Pflanzenstoffe	14
2.2 Einteilung und Vorkommen.....	15
2.3 Wirkmechanismen bei der Tumorentstehung.....	16
2.3.1 Blocking agents.....	16
2.3.2 Suppressing agents.....	16
2.3.3 Antioxidantienwirkung	17
3 Glucosinolate	17
3.1 Chemische Grundstruktur	17
3.2 Abbau der Glucosinolate durch Myrosinase.....	18
3.3 Vorkommen und Einflussfaktoren auf den Glucosinolatgehalt	19
3.4 Stoffwechsel und Einflussfaktoren auf die Bioverfügbarkeit	21
3.4.1 Einfluss der Bioverfügbarkeit durch Zubereitungsmethoden.....	22
3.4.2 Einfluss der Bioverfügbarkeit durch unterschiedliche genetische Varianten der Glutathion-S-Transferasen	23
3.5 Mechanismen der antikanzerogenen Wirkung	24
3.5.1 Hemmung von Phase-1-Enzymen.....	25
3.5.2 Induktion von Phase-2-Enzymen.....	26
3.5.3 Aktivierung von Phase-1-Enzymen.....	27

3.6	Beeinflussung des Östrogenstoffwechsels.....	28
3.7	Protektive Wirkung gegen oxidativen Stress.....	28
3.8	Erhöhung der Apoptose und Hemmung des Zellwachstums.....	29
4	Leitlinien der Evidenz-basierten Medizin.....	31
4.1	Das Verfahren der Evidenz-basierten Medizin.....	33
5	Beschreibung und Bewertung der Studien.....	34
5.1	Prospective Study of Fruit and Vegetable Consumption and Incidence of Colon and Rectal cancers.....	35
5.1.1	Methodik.....	35
5.1.2	Ergebnis.....	36
5.1.3	Bewertung.....	38
5.2	Vegetable and Fruit Consumption and Risks of Colon and Rectal Cancer in an Prospective Cohort Study.....	38
5.2.1	Methodik.....	39
5.2.2	Ergebnisse.....	40
5.2.3	Bewertung.....	41
5.3	Dietary isothiozyanates, glutathione S-transferase polymorphisms and colorectal cancer risk in the Singapore Chinese Health Study.....	42
5.3.1	Methodik.....	42
5.3.2	Ergebnis.....	43
5.3.3	Bewertung.....	44
5.4	Urinary Isothiozyanate Levels, Brassica and Human Breast Cancer.....	45
5.4.1	Methodik.....	45
5.4.2	Ergebnis:.....	46
5.4.3	Bewertung.....	48
5.5	Brassica Vegetables and Breast Cancer Risk.....	49
5.5.1	Methodik.....	49
5.5.2	Ergebnis:.....	50
5.5.3	Bewertung.....	51
5.6	Intake of Fruits and Vegetables and Risk at Breast Cancer , a pooled Analysis of Cohort Studies.....	51

5.6.1	Methodik	51
5.6.2	Ergebnis:.....	53
5.6.3	Bewertung.....	54
6	Schlussdiskussion	55
	Literaturverzeichnis	60

Abbildungen und Tabellen

Abbildung 1: Stadien der Tumorentstehung	14
Abbildung 2: Chemische Grundstruktur der Glucosinolate.....	18
Abbildung 3: Abbau der Glucosinolate durch Myrosinase.....	19
Abbildung 4: Mögliche Angriffsstellen der Glucosinolatderivate bei der Krebsentstehung	31
Tabelle 1: Sekundäre Pflanzenstoffe, Einteilung und Vorkommen.....	15
Tabelle 2: Ausgewählte Glucosinolate und biologisch wirksame Vorstufen verschiedener Kreuziferen	20
Tabelle 3: Glucosinolatgehalt verschiedener Kreuziferen	21
Tabelle 3: Hierarchie der Evidenz: Empfehlung der AHCPR und der SIGN.....	32
Tabelle 4: Relative risk of rectal cancer	37
Tabelle 5 Relative risk of colon cancer	38
Tabelle 6: Rate ratios for colon and rectal cancer.....	41
Tabelle 7: Dietary ITC intake in relation to risk of colorectal cancer.....	43
Tabelle 8: Dietary ITC intake in relation to risk of colorectal cancer stratified by GST genotypes.	44
Tabelle 9: Breast cancer and urinary ITC excretion or Brassica intake	48
Tabelle 10: Odds Ratio (OR) of Breast Cancer According to Fruit and Vegetable Consumption	50
Tabelle 11: Characteristics of the Cohort Studies.....	53

Einleitung

In Deutschland sterben jährlich über 200.000 Menschen an Krebs. Nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen, ist Krebs damit die zweithäufigste Todesursache (*Gerhäuser, 2001, S.48, Watzl, 2001 a, S.52*). Die Tumorentstehung ist ein Prozess, an dem viele Faktoren beteiligt sind. Aufschluss über mögliche Einflussfaktoren geben überwiegend Beobachtungen an Bevölkerungsgruppen mit unterschiedlichen Ernährungsgewohnheiten. Dabei zeigt sich, dass die Inzidenz einiger Tumorarten in manchen Ländern deutlich höher ist als in anderen. Das deutet zunächst auf länderspezifische Ursachen hin (*Leitzmann et al., 2001, S.286, Watzl, 2001 a, S.52*). So ist die Magenkrebsinzidenz in Japan höher als in den USA. In den westlichen Ländern erkranken dagegen erheblich mehr Menschen an Dickdarm-, Brust- und Prostatakrebs. Insgesamt ist die Dickdarm- und Brustkrebsrate in westlichen Industrieländern höher als in Afrika und Asien (*Murillo et al, 2001, S.17*). Diese unterschiedlichen Inzidenzen sind weniger auf genetische Faktoren zurückzuführen. Dies zeigen Migrationsstudien. (*Watzl, 2001 a, S.52, Leitzman et al., 2001, S.286*). So haben in den USA lebende Japaner und Afrikaner, bereits in der zweiten Generation nach ihrer Einwanderung, das gleiche Tumorrisiko wie US-Amerikaner (*Kaspar, 2000, S.426, Hamm, 2003, S.12*). Hauptsächlich sind hierfür Umwelt- und Lebensstilfaktoren verantwortlich (*Watzl, 2001 a, S.52, Murillo et al, 2001, S.17, Biesalski, 2001, S.506*). Ein wesentlicher Umwelt- bzw. Lebensstilfaktor ist die Ernährung (*Hamm, 2003, S.8, Kaspar, 2000, S.425*). Bei der Bedeutung der einzelnen Faktoren, ist man zu dem Schluss gekommen, dass Rauchen mit 30% und die Ernährung mit 35%, für die Tumorentstehung (mit)verantwortlich sind (*Kaspar, 2000, S.426, Biesalski, 2004, S.506*). Nach dem derzeitigen Kenntnisstand gelten vor allem eine Überernährung und ein hoher Fettverzehr als ernährungsbedingte Risikofaktoren (*Deutsche Forschungsgemeinschaft, 2000, S.3*). Die Forschung geht davon aus, dass durch eine positive Veränderung der Lebens- und Ernährungsgewohnheiten das Krebsrisiko bis zu 30 % gesenkt werden kann (*Hamm, 2003, S.8, Gerhäuser, 2001 a, S.48*). Über 250 epidemiologische Studien liefern überzeugende Hinweise, dass ein erhöhter Obst- und Gemüseverzehr das Krebsrisiko reduziert (*Gerhäuser, 2001 b, S.138, Watzl, 2001 a, S.52, Keck et al, 2004, S.5*).

Pflanzliche Lebensmittel enthalten eine Reihe von schützenden Substanzen (Vitamine, Spurenelemente, Mineralstoffe, Ballaststoffe, sekundäre Pflanzenstoffe), die auf verschiedene Art und Weise die Tumorentstehung beeinflussen können (*Watzl, 2001 a, S.52*). Unsere Lebensmittel enthalten aber auch viele Bestandteile, für die eine krebsfördernde Wirkung vermutet wird (*Leitzmann et al., 1999, S.100, Leitzmann et al., 2001,*

S.287). Bei diesen Risikostoffen und einer Reihe anderer chemischer Stoffe, konnten in Tierversuchen eine Krebs auslösende Wirkung belegt werden (*Leitzmann et al., 2001, S.287 ff, Deutsche Forschungsgemeinschaft, 2000, S.4*).

Die Krebsentstehung läuft über verschiedene Phasen und über lange Zeiträume. Ernährungsfaktoren können bei diesem komplexen Vorgang in den verschiedenen Phasen krebsfördernd oder krebshemmend wirken (*Kaspar, 2000, S.427*). Daher stehen zunehmend potentiell protektive Nahrungsmittelinhaltsstoffe bzw. Nahrungsmittelgruppen im Mittelpunkt der Forschung. In Experimenten, konnten die postulierten Schutzwirkungen von Inhaltsstoffen bzw. Nährstoffen wie Vitamine, Spurenelemente, Mineralstoffe und Ballaststoffe, nur zum Teil nachgewiesen werden.

Eine Gruppe von Pflanzeninhaltsstoffen, die bioaktiven sekundären Pflanzenstoffe (SPS), wurden durch neuere Forschungen ins Blickfeld gerückt (*Watzl, 2001 a, S.52*). Sie galten lange Zeit eher als unbedeutend und wurden eher im Hinblick auf ihre gesundheitsschädlichen bzw. toxikologischen Wirkungen untersucht (*Leitzmann et al., 2001, S.81*). Inzwischen konnte für zahlreiche SPS aus Gemüsesorten, Früchten und Getreidearten in vitro und in vivo eine krebsvorbeugende Wirkung gegen verschiedene Organumoren nachgewiesen werden (*Stangl, 2001, S.318*). Infolgedessen werden die SPS, als in natürlicherweise in Lebensmitteln enthaltene Schutzfaktoren, bei der Krebsentstehung diskutiert (*Leitzmann et al., 2001, S.292, Keck et al, 2004, S.5*).

Zielsetzung

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wird zunächst die sekundäre Pflanzenstoffgruppe der Glucosinolate (Senfölglykoside), die überwiegend in Kohlgemüsearten (*Brassica oleraceae*) vorkommen, im Einzelnen vorgestellt. Zu den Glucosinolaten liegen bisher nur wenige Arbeiten vor, die die Glucosinolate allgemein beschreiben und die vielfältigen Aspekte der möglichen Krebsvorbeugung im Zusammenhang mit dem Verzehr von Kohlgemüse zusammenfassen. In der Forschung wird derzeit versucht, einzelne Glucosinolate zu identifizieren, die die Krebsentstehung verhindern, hemmen, verlangsamen oder sogar rückgängig machen. Es wird in Betracht gezogen, sie in konzentrierter Form im Rahmen der Krebsprävention einzusetzen. Auf therapeutische Anwendungen wird in dieser Arbeit nicht eingegangen.

Zum besseren Verständnis, wie die Glucosinolate in den einzelnen Phasen der Kanzerogenese protektiv eingreifen können, werden die Mechanismen der Krebsentstehung und die in diesem Zusammenhang wichtigsten Einfluss- bzw. Risikofaktoren (Hormone, oxidativer Stress und Fremdstoffwechsel) vereinfacht dargestellt. Zudem wird ein kur-

zer Überblick über die Stoffgruppen der sekundären Pflanzenstoffe und deren grundlegenden antikanzerogenen Wirkprinzipien gegeben. Die Glucosinolate werden in ihrem Aufbau, Vorkommen, Stoffwechsel, Bioverfügbarkeit und ihren angenommenen krebspräventiven Wirkmechanismen beschrieben. Die aufgezeigten Hypothesen sind jedoch nur bedingt auf den Menschen übertragbar und müssen in Studien überprüft werden. Ziel dieser Arbeit ist es, aufgrund von aktuellen Studien, eine Aussage zu treffen, ob der Verzehr von Kohlgemüse möglicherweise eine krebspräventive Wirkung auf die Tumorentstehung im allgemeinen ausübt. Dazu wurden je drei Studien ausgewertet, die einen Zusammenhang zwischen der Glucosinolataufnahme und dem Auftreten von Dickdarm- und Brustkarzinomen untersuchen.

1 Kanzerogenese

Um später mögliche Ansatzpunkte von Glucosinolatabbauprodukten für eine präventive Wirkung zu verdeutlichen, werden zunächst die Zusammenhänge der Krebsentstehung (Kanzerogenese) vorgestellt. Die Tumorentstehung kann vereinfacht in 3 Phasen unterteilt werden, in denen unterschiedliche Faktoren eine wichtige Rolle spielen:

- Fremdstoffmetabolismus und Polymorphismus
- oxidativer Stress
- Hormone

Die Krebsentstehung kann als kontinuierliche Anhäufung von genetischen und biochemischen Zellschäden über lange Zeitspannen und auf unterschiedlichen biologischen Ebenen (Phasen) angesehen werden (*Gerhäuser, 2001, S.270*). Dieser komplexe Vorgang läuft über mindestens drei Hauptphasen:

- Initiation (Auslösung)
- Promotion (Förderung)
- Progression (Tumorstadium und/oder Metastasenbildung) (*Leitzmann, 1999, S.61*).

Die einzelnen Phasen bestehen jeweils aus vielen Einzelschritten und verlaufen über unterschiedliche Zeiträume. Zudem sind sie in sehr unterschiedlicher Weise äußeren Einflussfaktoren wie unter anderem der Ernährung zugänglich (*Hamm, 2003, S.14*). Zwischen der Auslösung der Krebserkrankung und einem klinisch diagnostizierbaren Tu-

mor können Jahrzehnte liegen. Die Latenzzeit beim Menschen beträgt etwa 10-20 Jahre. (Prof. Hamm, 2003, S. 14, Leitzmann et al., 1999, S. 62).

1.1 Die Initiationsphase

In jeder menschlichen Zelle liegen Gene für die Entstehung einer Krebszelle vor, deren Expression normalerweise blockiert ist (Leitzmann et al., 1999, S.61). Für die Krebsentstehung sind in erster Linie Defekte von Protoonkogenen und Tumorsuppressorgenen verantwortlich. Produkte dieser Gene regeln in erster Linie das Zellwachstum, den Zellzyklus, die Apoptose (programmierter Zelltod) und die interzelluläre Kommunikation (Stangl, 2001 a, S.269). Am Anfang der Tumorentstehung steht die genetische Veränderung einer Zelle. Die DNA ist in der Zelle für die Erbinformationen und für eine geregelte Zellteilung verantwortlich. Zur Initiierung einer Zelle kommt es, wenn die Erbsubstanz mit chemischen Substanzen wie z. B. Nitrosaminen, polyzyklischen aromatische Kohlenwasserstoffe etc, radioaktiver Strahlung oder Viren reagiert und dadurch die Erbinformation verändert wird. Krebserregende Substanzen reagieren entweder direkt mit der Erbsubstanz oder müssen erst noch durch körpereigene Mechanismen (Biotransformation) aktiviert werden, um mit der DNA in Wechselwirkung treten zu können. (Gerhäuser, 2001 a, S. 48). Bereits kleinste Mengen eines Karzinogen können innerhalb kürzester Zeit (1-3 Tage) einen irreversiblen genotoxischen Schaden in einer normalen Zelle verursachen. Dabei besteht keine Dosis-Wirkungs-Beziehung (Kaspar, 2000, S.425, Gerhäuser, 2001 a, S.48). Diese DNA-Schäden können von körpereigenen Reparaturmechanismen beseitigt werden, jedoch nur bis zur nächsten Zellteilung (Mitose). Ist der Schaden bis dahin nicht repariert, bleibt er stabil. Die Zelle wird als initiiert bezeichnet. Die veränderte Erbinformation bei der Zellverdopplung und -teilung wird an die Tochterzellen weitergegeben (Gerhäuser, 2001 a, S. 48). Zu den zelleigenen Schutzmechanismen zählen neben DNA-Reparaturenzymen auch die Apoptose, d. h. die Eliminierung transformierter Zellen. Ererbte Mutationen, beeinträchtigte Schutzmechanismen der DNA oder individuelle ererbte Varianten in der DNA-Sequenz von Genen (Polymorphismen) können die Fähigkeit zur Reparatur vermindern. Insgesamt kommt es in der Initiationsphase bei nicht reparierten Schäden zum Verlust eines regulierten Zellwachstums. Die mutierten Zellen erhalten einen Wachstumsvorteil und können sich leichter vermehren (Hamm, 2003, S. 15).

1.1.1 Fremdstoffmetabolismus

In der Initiationsphase ist neben dem oxidativen Stress, der Fremdstoffwechsel mit seinen genetischen Enzymvarianten ein wesentlicher Einflussfaktor für die Schädigung von Zellen. Die meisten Kanzerogene werden als biologisch unwirksame Vorstufen (Prokanzerogene) resorbiert und erst durch fremdstoffmetabolisierende Enzyme in chemisch reaktive, ultimative Kanzerogene überführt. Diese Enzyme haben den Zweck, die Fremdstoffe wasserlöslich und damit ausscheidungsfähig zu machen. Man hat die fremdstoffmetabolisierenden Enzyme in zwei Phasen eingeteilt. Sie sind in den meisten Geweben vorhanden, jedoch in besonders hoher Konzentration in der Leber. In der Phase 1 werden die Fremdstoffe im Wesentlichen durch die Cytochrom-P450-Isoenzyme oxidiert, hydroxyliert oder reduziert, d.h. die Fremdstoffe werden reaktiver gemacht. Anschließend werden in der Phase 2 die aktivierten Fremdstoffe mit körpereigenen Stoffen wie Glucuronsäure oder Sulfat konjugiert. Dabei entstehen meist harmlose Konjugate, die über die Galle oder die Nieren ausgeschieden werden. Die Phase-2-Reaktionen werden durch die sogenannten Phase-2-Entgiftungsenzyme katalysiert. Dazu zählen unter anderem die Glutathion S-Transferasen, die N-Acetyl-Transferasen, die Sulfotransferasen oder die UDP-Glukuronosyl-Transferasen. Obwohl der Fremdstoffmetabolismus eigentlich zur Entgiftung von Fremdstoffen beiträgt, können unter Umständen harmlose Fremdstoffe dadurch erst zu ultimativen Kanzerogenen aktiviert werden. In der Phase 1 des Fremdstoffwechsels können Zwischenprodukte entstehen, die elektrophil sind und mit dem nukleophilen Zentren der DNA reagieren können. Krebsrisikofaktoren wie Aflatoxine, polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, heterozyklische Amine oder Nitrosamine, die im Tabakrauch enthalten sind, werden erst durch den Fremdstoffmetabolismus aktiviert. Das Verhältnis zwischen Phase-1-Enzymen, die Kanzerogene aktivieren und Phase-2-Enzymen, die die Ausscheidung von Kanzerogenen beschleunigen, ist für die Initiierung von Zellen entscheidend. Die Phase-1- und Phase-2-Enzyme können in ihrer Aktivität durch Fremdstoffe, Nahrungsbestandteile und genetische Faktoren beeinflusst werden. Eine Hemmung der Phase-1-Enzyme und/oder die Induktion von Phase-2-Entgiftungsenzymen wirkt einer Zelltransformation entgegen. Ist die Aktivierung von Kanzerogenen unvermeidbar, können sie die Erbsubstanz schädigen, indem sie z. B. als Addukte an die DNA binden. Liegen sehr viele Addukte vor, können Defekte übersehen werden oder bei der Reparatur Schäden auftreten, die anschließend an die DNA-Verdopplung weitergegeben werden (Gerhäuser, 2001 a, S.48 ff, Stangl, 2001 b, S. 222, Talalay, 2001, S.3030).

1.1.2 Polymorphismus

Die Stoffwechsellzyme sind nicht bei allen Individuen gleich. Die meisten der Phase 1-Enzyme und -2-Enzyme liegen in mehreren genetischen Varianten vor (Polymorphismus). Die Varianten weisen jeweils eine unterschiedliche Aktivität auf oder einzelne Enzyme fehlen vollständig. Beispielsweise besitzen 50 % der westlichen Bevölkerung keine Glutathion S-Transferase M1 auf. Eine homozygote Deletion (Verlust) des GSTM1-Gens bewirkt, daß das entsprechende Stoffwechsellzym Glutathion S-Transferase M1 nicht gebildet wird. Individuen mit diesem Gendefekt weisen eine reduzierte Fähigkeit auf, wichtige krebserregende Substanzen zu eliminieren. GSTM1 entgiftet reaktive Verbindungen wie Benzapyren und andere polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe und Aflatoxin 1. Die Forschung geht davon aus, dass eine GSTM1-Defizienz mit einer mäßig erhöhten Krebsgefahr einhergeht (*Ganten et al, 1998, S.40 ff*).

Da eine Vielzahl von Enzymen in solchen natürlichen Varianten vorliegen, sind die Kombinationsmöglichkeiten ebenfalls zahlreich, so dass jeder Körper unterschiedlich auf exogene Krebsauslöser reagiert (*Gerhäuser, 2001 a, S. 49*)

1.1.3 Oxidativer Stress

Neben kanzerogenen Fremdstoffen oder Nahrungsubstanzen können auch sauerstoffhaltige freie Radikale und andere reaktive Sauerstoffverbindungen (reactive oxygen species, ROS) die Krebsentstehung auslösen. Freie Radikale werden laufend im Rahmen physiologischer Prozesse gebildet und erfüllen wesentliche Aufgaben beispielsweise bei der Infektabwehr. Weiterhin entstehen endogen freie Radikale bei der Fremdstoffmetabolisierung und in den Mitochondrien bei der oxidativen Energiegewinnung. Exogen können freie Radikale durch UV-Licht entstehen und über die Luft (Ozon, Stickoxide), Zigarettenrauch oder die Nahrung (Schwermetalle, Pflanzenschutzmittel) aufgenommen werden. Der menschliche Organismus verfügt über sich gegenseitig ergänzende Schutzmechanismen und Substanzen, die schädigende Oxidationen in Grenzen halten können. Diese Antioxidantien werden in enzymatische und nicht-enzymatische Substanzen unterteilt. Zu den wichtigsten nicht-enzymatischen Antioxidantien gehören die mit der Nahrung zugeführten Vitamine A, C und β -Carotin, sowie das endogen gebildete Glutathion und Harnsäure. Neben diesen nicht-enzymatischen Antioxidantien gibt es Enzyme, die Reaktionen katalysieren, um die ROS oder Radikale unschädlich zu machen. Zu diesen Enzymen gehören u.a. die Glutathionperoxidase, die Katalase und die Superoxiddismutase.

Erst wenn im Körper mehr hochreaktiver Sauerstoff gebildet als neutralisiert wird, spricht man vom oxidativen Stress, Unzureichender Sauerstoffverbrauch in den Mitochondrien während des Fettsäurestoffwechsels, bei Immunkrankheiten, chronische Entzündungen oder Infektionen verursachen eine Überproduktion von ROS. Infolge dieser Dysbalance zwischen Sauerstoffschäden und Schutzmechanismen kann es zu einer Aktivierung von Kanzerogenen, zu einer Bildung von oxidierten DNA-Basen, oxidativen Proteinveränderungen und zu einer verminderter DNA-Reparatur kommen. Dadurch werden mutagene DNA-Schäden ausgelöst. (Gerhäuser, 2001 a, S.49, Stangl, 2001 b, S.321, Leitzmann et al., 2001, S.90 ff).

1.2 Promotion

In der Promotionsphase können initiierte Zellen mit verschiedenen Kontrollmechanismen daran gehindert werden, sich weiter zu vermehren. In diesem Prozeß spielt die Zellkommunikation untereinander eine große Rolle. Eine Wachstumskontrolle erfolgt von den umgebenden nicht initiierten Zellen. Sie sind über interzelluläre Verbindungskanäle (gap junctions) miteinander verbunden (Kaspar, 2000, S.425, Hamm, 2003, S.18). Diese Kopplung von Zellen führt dazu, dass der Zellverband „Probleme“ einer Einzelzelle mit abfangen und ausgleichen kann. Ist die Zelle jedoch zu stark geschädigt, wird diese abgekoppelt (Stangl, 2001 b, S. 319). Die Mechanismen, die das Wachstum der Zellen steuern, können durch Promotoren zunehmend ausgeschaltet bzw. stark beeinträchtigt werden. Wenn zudem der wachstumskontrollierende Informationsfluss aus gesunden Zellen gestört wird, kann es zu einem unkontrollierten Wachstum von geschädigten Zellen kommen (Hamm, 2003, S.18, Kaspar, 2000, S.425, Biesalski, 2004, S.505). Tumor-Promotoren wirken selbst nicht genotoxisch, sondern stimulieren das Wachstum bereits geschädigter Zellen. Voraussetzung für eine Tumorentstehung ist somit eine ständige Anwesenheit von Promotoren. Unter einer andauernden Einwirkung von Fett, Alkohol, Zigaretten, Hormonen, Schadstoffen, ROS etc., können weitere Gendefekte entstehen. Diese können bewirken, dass Protoonkogene infolge von Mutationen, Deletionen oder Überexpression die Eigenschaften von Onkogenen gewinnen. Onkogene wirken wachstumsstimulierend, d.h. sie erhöhen die Zellteilungsrate. Unter dem kontinuierlichen Einfluß von Promotoren wird nicht nur die Neubildung von Krebs fördernden Onkogenen verursacht, sondern auch zunehmend wachstumshemmende Tumor-Suppressorgene inaktiviert. Weiterhin können Proteine als Wachstumsfaktoren stimuliert werden, die das Zellwachstum beschleunigen. Es kommt insgesamt zu Veränderungen der Zellstrukturen (Gerhäuser, 2001 a, S.48). Wenn die kontinuierliche Exposition mit Promotoren eliminiert wird, bevor die Zellen sich auch ohne deren Abwe-

senheit unkontrolliert teilen können, kann die Tumorentstehung noch rückgängig gemacht werden. Die Promotion ist folglich ein langwährender Prozess mit reversiblen Veränderungen (*Leitzmann, 1999 et al., S.90 ff.*).

Bleibt der kontinuierliche Kontakt zu Tumor-Promotoren, häufen sich weiterhin zelluläre Schäden und Mutationen. Am Ende der Promotionsphase steht die präneoplastische Zelle, die in die Progressionsphase übergehen kann (*Gerhäuser, 2001 a, S.51, Kaspar, 2000, S.425*).

1.2.1 Einfluß von Hormonen

Bestimmte Hormone wie beispielsweise 17β -Östradiol werden als endogene Tumor-Promotoren angesehen. 17β -Östradiol ist das wichtigste Keimdrüsenhormon und wirkt spezifisch auf die weiblichen Geschlechtsorgane (*Leitzmann et al., 1999, S.42*). Ungebundene biologisch verfügbare Östrogene binden an Östrogenrezeptoren und leiten dadurch ein Wachstumssignal an den Zellkern weiter. Dadurch wird die Bildung verschiedener, das Tumorstadium fördernder Enzyme stimuliert. Untersuchungen deuten zusätzlich darauf hin, dass 17β -Östradiol oder seine Metabolite auch als Mutagene oder Karzinogene wirken könnten, indem sie DNA-Addukte bilden und chromosomale Veränderungen herbeiführen (*Gerhäuser, 2001 a, S.50, Stangl, 2001 a, S.270*).

1.3 Progression

In der letzten Phase der Krebsentstehung findet der endgültige Übergang von der präkanzerösen Zelle zum irreversiblen Tumorstadium statt. Die Krebszellen wachsen unkontrolliert, d.h. unabhängig von wachstumsregulierenden Mechanismen. Es kommt zu einer Beeinträchtigung der Apoptose und der Zelldifferenzierung, die im Gleichgewicht mit der Zellverdopplung entscheidend zur Konstanzhaltung der Zellzahl im Gewebe beitragen. Die Zelldifferenzierung bewirkt normalerweise eine Reifung der Zelle und die Entwicklung zu einem nicht entarteten normalen Phänotyp. In der Progressionsphase verlieren die Zellen ihre Fähigkeit, sich zu differenzieren, so dass Tumorzellen unter Umständen keinerlei der Ausgangseigenschaften mehr besitzen. Je undifferenzierter Tumorzellen sind, um so schneller wachsen sie. Es kann zur Metastasenbildung kommen, d.h. der Tumor wächst nicht mehr als abgekapselte, definierte Wucherung, sondern dringt in das umliegende gesunde Gewebe ein (*Gerhäuser 2001 a, S.51, Kaspar, 2000, S.426*). Die folgende Abbildung verdeutlicht die Stadien der Tumorentstehung.

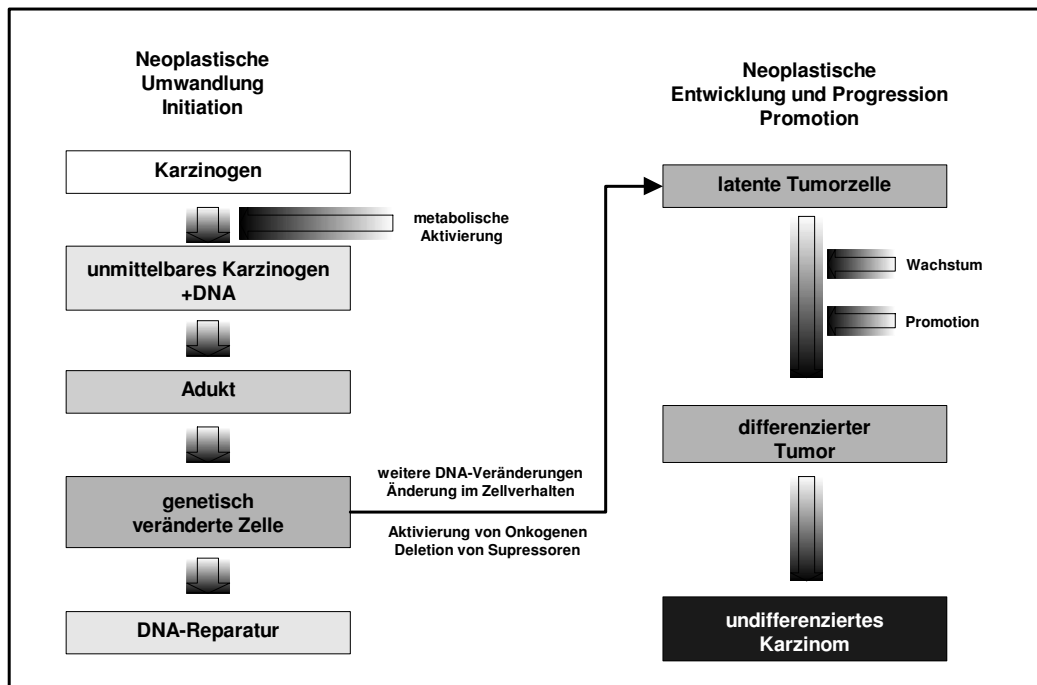


Abbildung 1: Stadien der Tumorentstehung (Quelle: Biesalski, 1999, S. 505)

2 Sekundäre Pflanzenstoffe und Kanzerogenese

In den letzten Jahrzehnten wurden überwiegend die gesundheitsschädlichen bzw. toxischen Eigenschaften der sekundären Pflanzenstoffe betrachtet. Zu den toxischen Inhaltsstoffen zählen u.a. Blausäure, Solanin und Protease-Inhibitoren. Inzwischen konnten aber auch in zahlreichen Studien vielfältige gesundheitsfördernde Wirkungen der sekundären Pflanzenstoffe aufgezeigt werden. Die Erkenntnisse beruhen vorwiegend auf in-vitro-Versuchen und Tiermodellen, die teilweise durch epidemiologische Studien ergänzt wurden. Als bedeutendste gesundheitsfördernde Eigenschaft der sekundären Pflanzenstoffe wird ihre mögliche präventive Wirkung bei der Entstehung von Krebs gesehen (Leitzmann et al, 2001, S.80 f, Großklaus, 2000. S.227).

2.1 Einordnung der sekundären Pflanzenstoffe

Bisher gibt es keine einheitliche Definition der sekundären Pflanzenstoffe. In der englischsprachigen Literatur werden sie auch als „Phytochemicals“, oder „Phytoprotectants“ bezeichnet. Sekundäre Pflanzenstoffe werden zu den nicht-nutritiven Inhaltsstoffen gezählt, da sie weder Energie liefern noch essentiell sind (Großklaus, 2001 S. 229). Die sekundären Pflanzenstoffe (SPS) kommen in Lebensmitteln im Verhältnis zu den primären Hauptnährstoffen Fett, Kohlenhydrate, Proteine nur in sehr geringen Mengen

vor und üben in der Regel pharmakologische Wirkungen aus. Dazu gehören die anti-karzinogenen, antimikrobiellen, antithrombotischen, entzündungshemmenden, blutdruckbeeinflussenden und cholesterinsenkenden Wirkungen. In diesem Zusammenhang werden sie auch zu den bioaktiven Substanzen gezählt. Unsere Nahrung enthält ca. 10.000 bioaktiven sekundären Pflanzenmetaboliten unterschiedlichster chemischer Verbindungen (Großklaus, 2001, S.228). Die bioaktiven SPS dienen den Pflanzen als Abwehrstoffe gegen Schädlinge und Krankheiten aufgrund ihrer bakteriziden, insektiziden und fungiziden Wirkungen. Sie werden als Wachstumsregulatoren und als Farb-, Duft- und Geschmackstoffe gebildet. Ein essenzieller Bedarf an sekundären Pflanzenstoffen für die menschliche Ernährung ist noch nicht belegt (Großklaus, 2001, S.229, Leitzmann et al., 2001, S.80f).

Sekundäre Pflanzenstoffe werden im Körper nicht gespeichert, so dass ein täglicher Verzehr von verschiedenen pflanzlichen Lebensmitteln für die vielfältigen Schutzwirkungen wichtig sind, da ebenfalls täglich Kanzerogene mit der Nahrung aufgenommen werden (Watzl, 2001, S.54, Großklaus, 2001, S.229).

2.2 Einteilung und Vorkommen

Die SPS umfassen zahlreiche, sehr unterschiedliche Stoffgruppen bzw. Klassen. In der folgenden Tabelle werden die wichtigsten Gruppen an sekundären Pflanzenstoffen mit antikanzergener Wirkung sowie ihr Vorkommen in Obst und Gemüse aufgezeigt.

Gruppe	typische Vertreter	Vorkommen
Karotinoide	β -Karotin, α -Karotin, Lycopin, Lutein, Zeaxanthin	Obst und Gemüse, Milchprodukte, Eier, Margarine
Phytosterine	Campesterin, β -Sitosterin, Sigmasterin	Pflanzensamen und -öle, Nüsse
Saponine	Sojasaponine, Sojasapogenine	Sojabohnen und -produkte, andere Hülsenfrüchte, Zerealien
Glucosinolate, Isothiozinate, Indole	Glucobrassicin, Sulforaphan, Indol-3-Carbinol	kruzifere Gemüse (z.B. Brokkoli), Meerrettich, Raps
Polyphenole, Phenolsäuren, Flavonoide	Gallussäure, Kaffeesäure, Ferulasäure, Quercetin, Catechine	Grünkohl, Vollkornweizen, Kleie, Obst, Gemüse, grüner Tee, Trauben
Proteaseinhibitoren	Bowman-Birk-Inhibitoren	Sojabohnen, -produkte, andere Hülsenfrüchte
Monoterpene	D-Limonen, D-Carvon	Zitrusfrüchte, Kräuter, Gewürze
Phytoöstrogene	Isoflavonoide-Daidzein, Genistein, Lignane-Secoisolaricresinol	Sojabohnen, -produkte, Leinsamen, Roggen, Weizenkleie
Sulfide	Alliin, Allicin	Knoblauch, Zwiebeln, Lauch
Lektine	Phasein, Concavalin A	Hülsenfrüchte

Tabelle 1: Sekundäre Pflanzenstoffe, Einteilung und Vorkommen (Quelle: Großklaus, 2000, S 228)

2.3 Wirkmechanismen bei der Tumorentstehung

Sekundäre Pflanzenstoffe können in allen Stadien der Kanzerogenese protektiv eingreifen. Dabei können viele der vermuteten antikanzerogenen Wirkmechanismen gleichzeitig ablaufen und sich in ihrer Wirkung ergänzen (*Watzl, 2001, S.52*).

Die sekundären Pflanzenstoffe werden in Hinblick auf ihre möglichen direkten Wirkungen in der Krebsentstehung in zwei Gruppen eingeteilt: den blocking agents und suppressing agents. Zusätzlich wird eine indirekte antioxidative Wirkung verschiedener SPS diskutiert.

2.3.1 Blocking agents

Blocking agents sind Substanzen, die verhindern, dass krebserregende Substanzen mit der DNA von Zellen reagieren bzw. sie erreichen können. Sie werden daher auch als Anti-Initiatoren bezeichnet. Sekundäre Pflanzenstoffe greifen mit blockierender Wirkung ein, indem sie durch eine Hemmung der Phase-1-Enzyme die enzymatische Umsetzung der krebsauslösenden Substanzen herabsetzen und/oder die Neubildung von Phase-2-Entgiftungsenzymen stimulieren. Zu den blocking agents zählen u.a. Carotinoide, Phenolsäuren, Flavonoide, Phytoöstrogene, Monoterpene, Sulfide, Cumarine sowie die Degradationsprodukte der Glucosinolate (*Kaspar, 2000, S.433, Watzl, 2001 a, S.53, Murillo et al, 2001, S.19*).

2.3.2 Suppressing agents

Suppressing agents sind Substanzen, die das Wachstum einer Krebszelle unterdrücken. Initiierte Zellen müssen weitere Reaktionen in der Zelle bzw. im Körper durchlaufen, damit es zu einer Zellentartung kommt. In diesem Prozess können sekundäre Pflanzenstoffe mit unterdrückender Wirkung eingreifen, indem sie eine Weiterentwicklung bereits geschädigter Zellen zu Tumorzellen blockieren. Sie werden daher auch als Anti-Promotoren bezeichnet. (*Watzl, 2001 a, S.53, Kaspar, 2000, S.433, Murillo et al.,2001, S.19*).

Die protektiven Wirkungen verschiedener SPS bestehen in der Fähigkeit, selektiv den Hormonhaushalt zu beeinflussen, das Zellwachstum zu hemmen bzw. zu verlangsamen, geschädigte Zellen durch Einleiten des programmierten Zelltodes zu eliminieren oder Zelldifferenzierungsprozesse zu aktivieren. SPS können selektiv eine Reihe von Signalübertragungsschritte hemmen, indem sie beispielsweise einige Proteine deaktivieren, die für die zelluläre Signalübertragung wichtig sind. (z.B. Proteinkinasen). Zu

den Suppressing agents zählen u.a. die Flavonoide, Isoflavonoide, Monoterpene, Sulfide, Carotinoide, Phytoöstrogene, Lignane, Protease-Inhibitoren und die Glucosinolat-derivate (*Watzl, 2001 a, S.53, Kaspar, 2000, S.433, Murillo et al., 2001, S.19*).

2.3.3 Antioxidantienwirkung

Zusätzlich zur direkten Wirkung können sekundäre Pflanzenstoffe indirekt als Antioxidantien in die Kanzerogenese eingreifen, indem sie schädliche reaktive Sauerstoffverbindungen neutralisieren, eine mögliche DNA-Schädigung vermindern und damit der Initiation entgegenwirken (*Watzl, 2001 a, S.53, Gerhäuser, 2001 a, S.49*).

3 Glucosinolate

Glucosinolate als Gruppe der sekundären Pflanzenstoffe sind schwefelhaltige Moleküle (β -thioglucosid-N-hydroxysulfate), die im Sekundärstoffwechsel der Pflanze aus Aminosäuren gebildet werden. Glucosinolate kommen überwiegend in Gemüsearten aus der Gattung der Kreuzblütler (Kruziferen) wie beispielsweise Brunnenkresse, Meerrettich und in Brassica-oleraceae-Arten (Kohlgewächsorten) wie Brokkoli, Kohl, Rosenkohl etc. vor. (*Watzl, 2001 b, S.330, Gerhäuser,, 2001 b, S. 142*).

Chemische Grundstruktur

Bisher wurden über 120 verschiedene Glucosinolate identifiziert. Sie unterscheiden sich lediglich im Aufbau der Seitenkette bzw. im Aglukonrest . Sie sind chemisch stabile Moleküle mit einer gemeinsamen Grundstruktur:

- eine Glucoseeinheit
- eine schwefelhaltigen Gruppierung mit einem Aglukonrest, der aliphatischer (Alkyl, Alkenyl, Alkylthioalkyl, β -Hydroxyalkyl), aromatischer (Arylalkyl) oder heteroaromatischer (Indolylmethyl) Natur sein kann, und
- eine Sulfatgruppe

(*Watzl, 2001 b, S. 330, Gerhäuser,, 2001 b, S. 141, Poppel et al., 1999, S.160,161*).

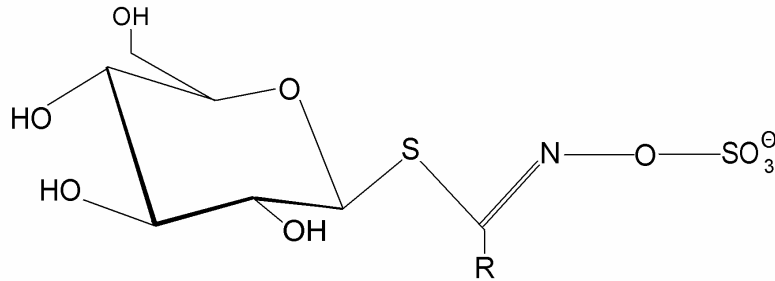


Abbildung 2: Chemische Grundstruktur der Glucosinolate (Quelle: Watzl, 2001 b, S. 330)

3.1 Abbau der Glucosinolate durch Myrosinase

Alle Glucosinolate werden durch das Pflanzenenzym Myrosinase (β -Thioglucosidase) hydrolytisch gespalten. Es liegt normalerweise in der Pflanzenzelle räumlich getrennt von den Glucosinolaten gespeichert vor. Durch mechanische Einwirkungen (z. B. Zerkleinern oder Kauen) wird das pflanzliche Zellgewebe beschädigt, wobei die Glucosinolate und die Myrosinase miteinander in Kontakt kommen. Daraufhin wird ein enzymatischer Abbau zu den eigentlich erst wirksamen bioaktiven Glucosinolatvorstufen ausgelöst. Dabei entstehen äquimolare Mengen an Glucose, Sulfat und dem jeweiligen Aglukon, wobei Ascorbinsäure als Coenzym wirkt, vermutlich durch Bereitstellung einer nukleophilen katalytischen Gruppe (Poppel *et al.*, S. 159, Watzl 2001 b, S.330, Keck *et al.*, 2004, S.7). Die Aglukone sind instabil und durchlaufen weitere Reaktionen, wobei verschiedene Hydrolyseprodukte wie Isothiozyanate, Thiozyanate, Indole oder Nitrile gebildet werden. Primär werden Isothiozyanate gebildet, die auch als Senföle bezeichnet werden. Isothiozyanate, die aus Indoylglucosinolaten gebildet werden, zerfallen spontan unter den sauren Bedingungen im Magen zu Indol-3-Carbinol und anderen polyaromatischen Indolmetaboliten wie Diindolylmethan (DIM) und Indol-3-Acetonitril etc. Diese Metaboliten werden unter den sauren Bedingungen im Magen gebildet (Lampe *et al.*, 2002, S2991, Fowke *et al.*, 2000, S. 773). Welche Glucosinolatderivate entstehen, hängt somit in erster Linie von der Art der Glucosinolatseitenkette, aber auch von anderen Faktoren wie Temperatur, pH-Wert, der Anwesenheit von Eisen $++$ -Ionen, Lagerung und Konservierungsverfahren der Gemüsearten ab. Beispielsweise werden bei neutralem pH-Wert vermehrt Isothiozyanate gebildet, bei saurem pH-Wert dagegen primär Nitrile (Watzl, 2001 b, S.330, Conaway *et al.*, 2002, S.233).

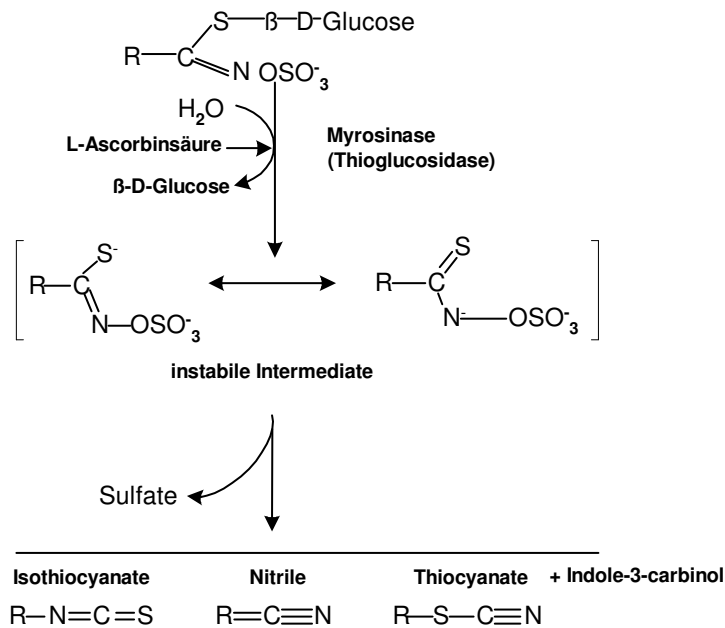


Abbildung 3: Abbau der Glucosinolate durch Myrosinase (Quelle: Watzl, 2001 b, S. 330)

3.2 Vorkommen und Einflussfaktoren auf den Glucosinolatgehalt

Glucosinolate kommen überwiegend in Pflanzen der Familie der Kreuzblütler (synonom Brassicaceae) vor. Dazu zählen die Brassica-oleraceae-Arten (Kohlgewächse) wie Brokkoli, Grünkohl, Blumenkohl, Rosenkohl, Rotkohl, Weißkohl, Kohlrabi, Wirsing, Spitzkohl, Chinakohl, Pak-Choi etc. Weiterhin gehören mehr als 350 andere Nahrungspflanzen wie z. B. Senf, Kresse, Meerrettich, Radieschen, Rüben, etc. dazu. (Lampe et al., 2002, S.2991). Die charakteristischen Geruchs- und Geschmacksnoten sowie die pharmakologischen Wirkungen dieser Pflanzenfamilie werden nicht durch die Glucosinolate selbst, sondern durch deren enzymatische Degradationsprodukte bestimmt, die für den scharfen Geschmack dieser Gemüsesorten verantwortlich sind. So wird beispielsweise die Schärfe von Meerrettich und Senf durch die Glucosinolatvorstufe Allylisothiocyanat bewirkt, während Sinigrin und Progoitrin den bitteren Geschmack von Rosenkohl und anderen Gemüsesorten auslösen. (Watzl, 2001 b, S.330, Ernährungs-Umschau, 48, 2001, S.510).

Glucosinolate können bei einigen Brassica-Arten bis zu 1% und mehr ihres Trockengewichtes ausmachen, wobei jedoch innerhalb der Sorten große Unterschiede auftreten. Die einzelnen Kohlarten enthalten jeweils eine Vielzahl an unterschiedlich vorherrschenden Glucosinolatverbindungen und liefern somit auch unterschiedliche Mengen an verschiedenen Isothiozyanaten (Lampe et al, 2002, S.2991). Zum Beispiel ist in Brok-

koli überwiegend das Glucosinolat Glucoraphanin (35-60%) im Verhältnis zu anderen Glucosinolatverbindungen enthalten, während in Rosenkohl und Blumenkohl kaum Glucoraphanin enthalten ist. In Gartenkresse herrscht wiederum das Glucosinolat Gluconasturtinin vor. Das Glucosinolat Glucoraphanin aus Brokkoli wird durch die Aktivität der Myrosinase zu dem Derivat Sulforaphan und Gluconasturtinin zu Phenethylisothiozyanat hydrolysiert.

Glucosinolate	natürliches Vorkommen	Isothiozyanate	Nitrile
Alkylglucosinolat Glucoraphanin	Brokkoli, Rettich	Sulforaphan	Sulforaphan Nitrile
Alkenylglucosinolate Sinigrin	Kohlarten, Senf	Allylisothiozyanate	
Progoitin	Weißkohl, Rosenkohl, Kohlrübe		
Arylglucosinolat Gluconasturtiin	Kohlrübe, Brunnenkresse, Chinakohl, Rettich	Phenethylisothiozyanate	
Indolylglucosinolat Glucobrassicin	Kohlrabi, Rettich, Rosenkohl, Brokkoli	Indole-3-Carbinole	

Tabelle 2: Ausgewählte Glucosinolate und biologisch wirksame Vorstufen verschiedener Kreuzifereen (Quelle: Eigene Darstellung in Anlehnung an Watzl 2001 b, S. 331 und Keck et al., 2004, S. 6)

Es treten jedoch nicht nur sortenbedingte Unterschiede an Glucosinolatstrukturen und Konzentrationen auf. Eine Reihe von Umweltfaktoren und die Art des Pflanzengewebes spielen eine große Rolle. Die Glucosinolatakkumulation wird durch die Anbaubedingungen, das Klima sowie die Bodenart beeinflusst. So produziert ein sulfatreicher Boden Pflanzen mit erhöhten Glucosinolatgehalten (Keck et al, 2004, S.6) Ebenso nimmt die Konzentration mit dem Wachstum und der Reife der Pflanzen ab. In 100 g frischen Brokkoli sind 50 – 100 mg an Glucosinolaten enthalten, während in Brokkolisprossen 10- 100 fach höhere Mengen zu finden sind (Watzl, 2001 b, S.330, Shapiro et al., 2001, S. 501).

Die Art der Zubereitung glucosinolathaltiger Gemüse beeinflusst die Menge ihrer anti-karzinogenen Inhaltsstoffe erheblich. Die Glucosinolate sind thermisch instabil und werden in die Kochflüssigkeit ausgelaugt. Beim Erhitzen von Kohlgemüsearten kommt es zu einem Verlust an Glucosinolaten von 35-63%. Bereits nach 10 Minuten Kochen von Weißkohl gehen 50 % der Glucosinolate verloren (Watzl, 2001 b, S.330, Fowke et al, 2000, S. 777). Kochen im Mikrowellenherd jedoch bewahrt vor dem Übergang der bioaktiven Inhaltsstoffe in Kochwasser und steigert so die Glucosinolatufnahme (Ernährungs-umschau 48, 2001, S.510). Beim Trocknen bleiben die Glucosinolate weitgehend erhal-

ten (*Leitzmann et al., 1999, S.33*). Folgende Tabelle zeigt den Glucosinolatgehalt verschiedener Kruziferen, erhitzt und unerhitzt, im Vergleich (*Leitzmann et al, 2001, S.84*)

Lebensmittel	Glukosinolate (mg/100g Lebensmittel)
Gartenkresse	121
Kohlrabi	109
Kohlrabi (erhitzt)	73
Rotkohl	67
Rotkohl (erhitzt)	55
Brokkoli	61
Brokkoli (erhitzt)	37
Rettich	13

Tabelle 3: Glucosinolatgehalt verschiedener Kruziferen (Quelle: Leitzmann et al., 2001, S. 84)

3.3 Stoffwechsel und Einflussfaktoren auf die Bioverfügbarkeit

Die Glucosinolatderivate Isothiozyanate und Thiocyanate sind gut fettlöslich und besitzen somit eine hohe Bioverfügbarkeit im Darm. Die Glucosinolatderivate werden schnell im oberen Gastrointestinaltrakt absorbiert. Bereits zwei Stunden nach der Aufnahme glucosinolathaltiger Nahrungsmittel liegt im Blut die höchste Konzentration vor (*Watzl, 2001 b, S.330*).

Primär werden die Isothiozyanate über den Mercaptursäureweg abgebaut bzw. eliminiert. Zunächst werden die Isothiozyanate mit Glutathion konjugiert (Thiolkonjugate), wobei diese Reaktion durch Phase-2-Enzyme der Glutathiontransferasen (GST's) katalysiert wird. Anschließend wird schrittweise erst das Glutamin durch das Enzym γ -Glutamyltranspeptidase, dann Glycin durch das Enzym Cysteinylglycinase abgespalten. Es entstehen L-Cystein-Isothiozyanate, die schließlich zu Acetylcysteinderivaten (Mercaptursäuren) umgewandelt werden. Diese werden größtenteils über den Harn ausgeschieden (*Lampe et al, S. 2992, Shapiro et al, S.501 und 502*).

Im Harn können die Mercaptursäuren teilweise wieder in N-Acetylcystein und aktives Senföl (Isothiozyanat) gespalten bzw. als N-Acetylcysteinkonjugate (Dithiocarbamate) ausgeschieden werden (Watzl, 2001 b, S.330).

3.3.1 Einfluss der Bioverfügbarkeit durch Zubereitungsmethoden

Die maximale Ausscheidung von Glucosinolatbauprodukten im Urin wird zwei bis vier Stunden nach einer Gemüseaufnahme erreicht. Die weitere Ausscheidungsrate der Glucosinolatvorstufen innerhalb von 24 Stunden ist im großen Maße von der Zubereitungsart der Gemüse abhängig (Watzl, 2001 b, S.52 ff). Kohlgemüse wird überwiegend gekocht verzehrt. Durch die Hitze wird das Pflanzenenzym Myrosinase vollständig inaktiviert. Dieses wirkt sich auf die Bioverfügbarkeit von den protektiv wirkenden Glucosinolatbauprodukten aus, da diese erst durch den enzymatischen Abbau der Glucosinolate entstehen. Es sind mehrere Untersuchungen durchgeführt worden, um zu untersuchen, ob die im erhitzten Gemüse enthaltenen Glucosinolate im menschlichen Organismus zu den wirksamen Isothiozyanaten abgebaut werden. Um die genaue Ausscheidungsrate an Isothiozyanaten im Urin bestimmen zu können, ist ein Biomarker entwickelt worden, über dem es möglich ist, die gesamte Menge an aufgenommenen Isothiozyanaten und deren Metaboliten exakt zu ermitteln.

In einer Humanstudie verzehrten neun Probanden 350g gekochte Brunnenkresse. Das entspricht einer Aufnahme von ungefähr 475 µmol an Glucosinolaten. Anschließend wurde über mehrere Urinproben die Ausscheidung von Glucosinolatbauprodukten über 24 Stunden bestimmt. Die Ausscheidungsrate an Isothiozyanaten und deren Metaboliten betrug 1,2 –7,3 % (von der gesamten Glucosinolataufnahme). Bei einem Verzehr von 150g ungekochter Brunnenkresse betrug die Ausscheidungsrate 17,2 % - 77,7% (Murillo et al., 2001, S.22). In einer anderen Studie verzehrten Probanden 200g gekochten und 200g rohen Brokkoli. Die Ausscheidungsrate von Glucosinolatbauprodukten innerhalb von 24 Stunden betrug bei dem gekochten Brokkoli 10 % und bei rohem Brokkoli 32% (Conaway et al., 2002, S.248).

Diese Ergebnisse zeigen, dass trotz der inaktivierten Myrosinasen im erhitztem Gemüse aktive Glucosinolatderivate freigesetzt werden, wenn auch in wesentlich geringeren Mengen. Dieses ist darauf zurückzuführen, dass Glucosinolate im Dickdarm des Menschen auch durch dort vorhandene bakterielle Myrosinasen aufgespalten und dann absorbiert werden (Watzl, 2001 b, S.331, Talalay et al., 2001, S.3029).

Die Aufnahme von bioaktiven und protektiven Glucosinolatderivaten ist von der Gemüseart, der Zubereitungsmethode und der individuellen Beschaffenheit der Mikroflora des Dickdarms abhängig (Keck *et al.*, 2004, S7).

3.3.2 Einfluss der Bioverfügbarkeit durch unterschiedliche genetische Varianten der Glutathion-S-Transferasen

In vitro reichern sich Isothiozyanate in verschiedenen Zellarten an. Isothiozyanate können die Aktivität von Phase-2-Enzymen steigern und damit die Entgiftung von Kanzerogenen beschleunigen. Hierfür ist eine hohe intrazelluläre Konzentration an Isothiozyanaten erforderlich. Voraussetzung für die intrazelluläre Aufnahme ist die Konjugation der Isothiozyanataufnahme mit Glutathion. Die Konjugation von Isothiozyanaten mit Glutathion wird durch die Glutathion S-Transferasen katalysiert. Beim Menschen werden die Isothiozyanate aus Kreuziferen hauptsächlich von den Glutathion S-Transferasen GSTM1, GSTT1 und GSTP1 katalysiert. Bei den meisten Menschen liegen die Glutathion S-Transferasen in genetischen Varianten vor. Eine Deletion (Verlust) in den GSTM1, GSTT1 und GSTP1- Genen produzieren die Null-Genotypen, d.h. die entsprechenden Glutathion S-Transferasen werden nicht gebildet. Dadurch werden die Isothiozyanate wesentlich langsamer ausgeschieden. Untersuchungen haben ergeben, dass 50 % der westlichen Bevölkerung keine Glutathion-S-Transferase M1 haben. GSTM1 und GSTT1 eliminieren jedoch nicht nur Isothiozyanate, sondern auch eine Reihe von krebserregenden Fremdstoffen. Es wurden epidemiologische Studien durchgeführt, die den Zusammenhang zwischen den genetischen Varianten der Glutathion S-Transferasen und dem Risiko für unterschiedliche Tumorarten untersuchten. Dabei wurde untersucht, ob eine Aufnahme von protektiven Nahrungsmittelinhaltstoffen das Krebsrisiko beeinflusst. Im Zusammenhang mit den Isothiozyanaten wird von der Hypothese ausgegangen, dass bei Menschen, die keine Glutathion S-Transferase M1 oder GSTT1 besitzen, das Krebsrisiko besonders stark gesenkt kann, wenn regelmäßig Kohlgemüse verzehrt wird. Aufgrund der fehlenden Stoffwechsellzyme von GSTM1 oder GSTT1 werden die Isothiozyanate langsamer ausgeschieden. Sie können daraufhin länger im Organismus zirkulieren und ihre protektiven Wirkungen an verschiedenen Wirkorten ausüben.

In einer Fall-Kontroll-Studie haben Lin *et al* (1998) den Einfluss von Brokkolikonsum, bei den GSTM1-Genotypen und das Auftreten von kolorektalen Adenomen untersucht. Ohne Einbezug der Genotypen hatten Teilnehmer mit der höchsten Brokkoliaufnahme (Quartil) ein Wahrscheinlichkeitsrisiko (Odds Ratio) von 0,47 (CI 95%=0,30–0,73) gegenüber Teilnehmern, die keinen Brokkoli zu sich nahmen. Das bedeutet, dass eine

hohe Brokkoliaufnahme an sich schon protektiv wirken könnte. Bei Stratifizierung der Genotypen wurde für die Probanden mit dem GSTM1-Null-Genotypen ein OR von 0,36 (CI=0,19–0,68) gegenüber Probanden, die einen Non-Null-Genotypen aufwiesen. Slatery et al (1998) fanden heraus, dass bei Männern und Frauen aus den USA, zwischen 55 Jahren und jünger, das Risiko für Kolonkrebs sinkt, je höher die verzehrte Menge an Kohlgemüsen war, besonders innerhalb des GSTM1-Null-Genotypes. Das Odds Ratio für vier oder mehr Kohlgemüseportionen versus keiner Aufnahme von Kohlgemüse betrug 0,23 (CI 95%=0,10 –0,54). Der Zusammenhang zwischen den Polymorphismus und des Kohlgemüsekonsums wurde auch hinsichtlich des Lungenkrebsrisikos untersucht. Es wurden Studien durchgeführt, die diese Gen-Diät-Interaktionen anhand von einem Biomarker untersuchten, über den im Urin die Aufnahme an Isothiozyanaten und deren Metaboliten (Dithiocarbamate) genau bestimmt werden kann. In einer Untersuchung von 18.244 Männern aus Shanghai, China, zeigte sich, dass eine hohe Konzentration an Isothiozyanatmetaboliten im Urin bei Männern mit einem gesenkten Lungenkrebsrisiko assoziiert ist. Das für Rauchen adjustierte RR betrug 0,65 (CI 95%=0,43–0,97). Bei Betrachtung der verschiedenen Genotypen zeigte sich eine präventive Wirkung für Individuen mit dem GSTM1 Null-Genotypen: (RR=0,36, CI 95%=0,20–0,63) und besonders für eine homozygote Deletion von GSTM1 und GSTT1: (RR=0,28, CI 95%=0,13–0,57).

Durch die gezeigten Ergebnisse wird von einigen Forscher die Hypothese abgeleitet, dass präventive Wirkungen von Isothiozyanaten durch unterschiedliche Genotypen modifiziert werden können.

3.4 Mechanismen der antikanzerogenen Wirkung

In zahlreichen in vitro und in vivo Studien sind für die Glucosinolatbauprodukte antikanzerogene Wirkungen nachgewiesen worden. Verschiedene Isothiozyanate zeigten bei Ratten und Mäusen, eine hemmende Wirkung auf die Krebsentstehung in Speiseröhre, Magen, Brust, Leber und Lunge. Auch für Indole-3-Carbinol wurde in zahlreichen tierexperimentellen Studien eine protektive Wirkung auf die Krebsentstehung nachgewiesen (Brustdrüsen, Dickdarms, Magen, Blase, Gebärmutter Schleimhaut etc.) (Murillo et al., 2001, S.20). Die Glucosinolatbauprodukte konnten die Kanzerogenese im frühen als auch in einem späten Stadium beeinflussen. Die Wirksamkeit einiger Isothiozyanate und Indole ist bei Tieren oder Zellsystemen abhängig vom Zeitpunkt der Verabreichung des Kanzerogens. Es wurde eine Tumorchemmung beobachtet, wenn Mäuse zwei bis vier Stunden vor der Verabreichung des Kanzerogen mit Benzylisothiozyanat (BITC) oder Phenethylisothiozyanat (PEITC) aus Kressearten gefüttert wurden. Eine

Behandlung eines chemisch ausgelösten Lungenkrebses an Mäusen, nachdem ein DNA-Schaden erfolgte, zeigte keine protektive Wirkung für einige Isothiozyanate. Benzylisothiozyanat verhinderte jedoch die Tumorbildung auch, wenn es direkt nach dem Kanzerogen verabreicht wurde. In anderen Versuchen wurde bei Ratten ein Brustkrebs durch das Kanzerogen 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) ausgelöst. Eine Fütterung von Kohl, auch nach der Initiationsphase, konnte ein verlangsamtes Zellwachstum bewirken. (*Murillo et al, 2001, S.20* , *Leitzmann et al, 1999, S77.*, *Conaway et al, 2002, S.236*) Direkte Wirkungen von Glucosinolatderivaten auf die Tumorentstehung beim Menschen sind bisher nicht untersucht. Es werden folgende antikanzerogene Mechanismen diskutiert:

3.4.1 Hemmung von Phase-1-Enzymen

Die Modulation der Phase-1-Enzyme durch Isothiozyanate ist intensiv *in vitro* und *in vivo* untersucht worden. Beispielsweise hemmen PEITC (aus Brunnenkresse) und Sulforaphan (aus Brokkoli) in Zellkulturen verschiedene Phase-1-Enzyme wie Cytochrom P450 1A1, 2B1 und 2E1, die verschiedene Kanzerogene aktivieren können. Cyp 2E1 ist im Metabolismus von N-nitrosodimethylamine (NDMA), Alkanen und halogenierten Alkanen beteiligt. Cyp 1A1 ist am Metabolismus von Benz(a)pyren) und anderen polyaromatischen Kohlenwasserstoffen beteiligt. Diese krebserregenden Substanzen sind z.B. im Zigarettenrauch enthalten (Keck et al, 2004, S. 7, Ganten et al, 1998, S.231). PEITC hemmte z. B. die Aktivierung von N-nitrosomethylbenzylamine (NMBA) in Speiseröhren von Ratten, was mit einer verringerten Tumorentstehung einherging (*Conaway et al, 2002, S.234*) PEITC und BITC hemmen in Leberzellen von Mäusen Phase-1-Enzyme, die verschiedene im Tabakrauch enthaltene Nitrosamine aktivieren, besonders das Lungenkanzerogen 4-(Methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK). In humanen Leberzellen konnte nach einer Verabreichung von 25 Mikromol Sulforaphan die Expression von Cyp 3A 4, das wesentlich in der Leber vorhanden ist, gesenkt werden. Cyp 3A 4 ist an der Metabolisierung von Aflatoxinen beteiligt. (*Conaway et al, 2002, S. 235 und 239*). Neben einer direkten Hemmung einiger Cytochrom-P450-Isoenzyme könnte die protektive Wirkung einiger Isothiozyanate und Thiozyanate auf einer kompetitiven Hemmung beruhen. Isothiozyanate als auch inaktive Kanzerogene können als Substrate für einige Cytochrom-P-450 Isoenzyme fungieren. Bei einer hohen Isothiozyanataufnahme werden diese bevorzugt von einigen Phase-1-Enzymen metabolisiert. Daraufhin werden weniger potenzielle Kanzerogene aktiviert, die Zellen initiieren könnten (*Leitzmann et al., 1999, S. 78, Conaway et al., 2002, S.235*).

3.4.2 Induktion von Phase-2-Enzymen

Isothiozyanate erhöhten in Zellkultursystemen und experimentellen Tierstudien selektiv die Aktivität der Phase-2-Entgiftungsenzyme: Glutathion-S-Transferasen, Quinon-Reduktase, Sulfatase und UDP-Glucoronyl-Transferase. Ein gut untersuchter Aktivator ist Sulforaphan (aus Brokkoli), das in vielen Untersuchungen in verschiedenen Zellgeweben von Mäusen (Leber, Magen, Intestinum, Lunge etc) die Aktivität der Quinon-Reduktase und der Glutathion-S-Transferase im besonders hohem Maße induziert. Die Art der Verarbeitung des Gemüses beeinflusst dabei die Induktion der Quinonreduktase. Ein intensives mechanisches Bearbeiten von unerhitztem Pflanzengewebe (Raspeln, Schneiden) fördert den enzymatischen Abbau zu Quinon-Reduktase-Induktoren. Dieses führte zu einer Aktivitätssteigerung dieses Enzyms und zur Inaktivierung der Kanzerogenese (Conaway et al., 2002, S.23, Leitzmann et al., 1999, S.)

Bei Ratten konnte nach einer Fütterung von Rosenkohl (Allylisothiozyanat, AITC) eine signifikante Erhöhung der GST-Aktivität in der Leber und Darmschleimhaut festgestellt werden. (Conaway et al., 2002, S236).

Auch in klinischen Humanstudien ist der Zusammenhang zwischen dem Kanzerogenmetabolismus und der Isothiozyanataufnahme untersucht worden. In einer von Hecht durchgeführten Pilotstudie, verzehrten elf Raucher zu jeder Mahlzeit drei Tage lang 56,8g Brunnenkresse als Quelle für Phenethylisothiozyanat. Daraufhin erhöhte sich signifikant die Ausscheidung von Kanzerogenen aus dem Tabakrauch (NNK) in Form von glucorondierten Nikotinmetaboliten. (Gerhäuser, 2001 b, S. 142, Conaway et al., 2002, S.237). Steinkellner et al führten humane Interventionsstudien durch, in denen der Effekt einer Induktion von Phase-2-Enzymen durch verschiedene Kohlgemüse auf heterozyklische Amine untersucht wurde. Heterozyklische Amine entstehen bei der Hitze einwirkung auf eiweißreiche Lebensmittel, insbesondere beim Braten und Grillen von Fleisch und Fisch. HA's stehen unter Verdacht, an der Entstehung des Dickdarmkreb- ses beteiligt zu sein. In einer anderen Interventionsstudie verzehrten zehn Probanden fünf Tage lang 300g gekochtes Kohlgemüse. Es wurde jeden Tag ein anderes Kohl- gemüse serviert (Rosenkohl, Weißkohl, Rotkohl und Brokkoli). Die Kohlmahlzeit wurde vor dem Fleischverzehr eingenommen. Danach wurde der Urin der Probanden auf sei- ne Mutagenität an Salmonellenzellkulturen untersucht, die auf heterozyklische Amine empfindlich reagieren. Die mutagene Wirkung des Urins nahm einem Verzehr von Rot- kohl und Rosenkohl signifikant ab. Zudem erhöhte sich signifikant der π -Glutathion-S- Transferase- Gehalt im Plasma, was auf eine gesteigerte Aktivität der intestinalen π - Glutathion-S-Transferase schließen lässt. (Steinkellner et al, 2001, S.29, Keck et al, 2004,

S.). In einer weiteren Interventionsstudie, bei der Probanden vor einem Brathähnchenverzehr eine Portion Brokkoli konsumierten, war die Ausscheidung von konjugierten Metaboliten des heterozyklischen Amins 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo(4,5-b)pyridin (PhIP) erhöht (*Steinkellner et al., 2001, S.292*).

In Interventionsstudien mit Männern führte die tägliche Aufnahme von 300g Rosenkohl zu einer Aktivierung der Leber- α -Glutathion-S-Transferase. Die erhöhte Produktion dieses Isoenzym weist auf eine gesteigerte Entgiftungswirkung von Phase-2-Enzymen durch die Zufuhr von indol bzw. isothiozynthaltigen Lebensmitteln hin (*Watzl, 2001 b, S.332, Conaway, 2002, S.237*).

3.4.3 Aktivierung von Phase-1-Enzymen

Experimentelle Studien zeigten, dass einige Isothiozyanate und Indole nicht nur Phase-2-Enzyme, sondern auch Phase-1-Enzyme induzieren. (bifunktionale Induktoren). Indole und deren Abbauprodukte erhöhten in einigen Experimenten nur Phase-1-Enzyme In Tierversuchen erhöhte Indol-3-Carbinol die mRNA- Konzentration für Cytochrom P 450 1A1 in Dickdarm und Leber (*Watzl, 2001 b, S.332, Murillo et al., 2001. S. 24*). In den meisten experimentellen Studien ging die Erhöhung der Phase-1-Enzymaktivität jedoch mit einer verringerten Tumorzinzidenz einher (*Poppel et al., 1999, S. 163 ff.*). Die Autoren Conaway et al argumentieren, dass in-vitro und in-vivo Versuchen und in einigen Humanstudien nach einer akuten Applikation von natürlichen ITC's Phase-1-Enzyme gehemmt und Phase-2-Enzyme induziert werden. Bei einer wiederholten Aufnahme von Kohlgemüse war eher eine Induktion beider Enzymsysteme festzustellen. Auch dieses war mit einer Hemmung der Tumorenstehung in der Leber, Lunge, Ösophagus, Kolon, Brustdrüse etc. in Zellkultursystemen verbunden (*Conaway, 2002, S.250*).

Es konnten aber auch schädliche Effekte in vitro und in vivo festgestellt werden, wenn isolierte Isothiozyanate und Indole in sehr hohen Dosen verabreicht wurden. Hohe Gaben von AITC konnten bei Ratten einen chemisch induzierten Blasenkrebs fördern. BITC und PEITC und Indol-3-Carbinol förderten ebenfalls die Tumorentstehung von chemisch induzierten Krebsarten. Allerdings werden mit einer normalen Ernährung die erforderlichen hohen Dosen nicht erreicht, die eine schädliche Wirkung verursachten (*Poppel et al, 1999, S. 166, Conaway, 2002, S.50*). Es konnten keine nachteiligen Wirkungen bei Probanden festgestellt, die hohe, aber realistische Mengen an Rosenkohl konsumierten (es wurden keine Mengen angegeben) (*Poppel et al., 1999, S.166*).

Auch wenn einige Isothiozyanate und die Indole Phase-1-Enzyme erhöhen können, wird bei einem abwechslungsreichen Verzehr von Kreuziferen eine Vielzahl an ver-

schiedenen Glucosinolaten in unterschiedlichen Konzentrationen aufgenommen. Sie wirken synergistisch und könnten so zu einem protektiven Enzymprofil im Menschen beitragen (*Lampe et al., 2002, S.2292*).

3.5 Beeinflussung des Östrogenstoffwechsels

Indole besitzen aufgrund ihrer Phytoöstrogenwirkung möglicherweise eine präventive Wirkung bei hormonabhängigen Tumorarten wie Brust-, Gebärmutter-schleimhaut- und Prostatakrebs. Indole können den Stoffwechsel der endogenen Östrogene beeinflussen. Bei Frauen ist für die Östrogenwirkung in erster Linie Östradiol verantwortlich. Normalerweise wird 17 β -Östradiol zu einem 16 α -hydroxylierten Derivat (Hydroxyöstron) metabolisiert, das genotoxisch wirkt und einen Risikofaktor für Brustkrebs darstellt. Indole stimulieren als bifunktionale Induktoren in der Leber das Phase-1-Enzym Cyp 1A, was bezüglich des Östrogenmetabolismus nützliche Wirkungen hat. Durch Cyp 1A wird 17- β -Östradiol alternativ zu dem schwächeren Catechol-Östrogen hydroxyliert. Dadurch wird der Pool an freien Östrogenen für die 16 α -Hydroxylierung reduziert. Gleichzeitig wird vermehrt Catechol-Östrogen gebildet, das als schwächeres Östrogen eine protektive Wirkung auf östrogenbezogene Krebsarten auszuüben scheint (*Watzl, 2001 b, S. 332, Gerhäuser, 2001 b, S.142, Murillo et al., 2001, S.24, Keck et al, 2004, S 7,8*).

In einer klinischen Phase 1 Studie verzehrten 60 Frauen über vier Wochen täglich 500mg Indol-3-Carbinol (enthalten in ca. 400g Weißkohl) bzw. 500g Brokkoli. Nach Beendigung der Studie war die Catechol-Synthese wesentlich erhöht. Ebenso war die Ausscheidung von Catechol-Östrogen im Urin erhöht. 300mg Indol-3 Carbinol scheint die Mindestdosis für eine protektive Wirkung zu sein. (*Watzl, 2001 b, S.332, Gerhäuser, 2001 b, S.142, Murillo et al, 2001, S.24, Keck et al, 2004, S.8*). In einer anderen Studie verzehrten postmenopausale Frauen über fünf Wochen täglich ca. 193g verschiedene Kohlgemüsearten, was die Glucosinolataufnahme von 2 auf 70mg / Tag erhöhte. Im Ergebnis wurde ein für die Krebsprävention günstiges Verhältnis von C2/C16 α -Östrogen festgestellt (*Watzl, 2001 b, S.332, Fowke et al, 2000, S. 773 ff.*).

3.6 Protektive Wirkung gegen oxidativen Stress

Es zeigen sich zunehmend Hinweise, dass Isothiozyanate nicht nur die klassischen Entgiftungsenzyme wie Glutathion-S-Transferasen, NADH-Quinon-Reduktasen etc induzieren können. In-vivo und in-vitro-Untersuchungen zeigten, dass Isothiozyanate mit den antioxidant-response-elements in der regulatorischen Region einer Reihe von

Genen interagieren Daraufhin werden vermehrt Enzyme gebildet, die Zellen vor den toxischen und mutagenen Wirkungen durch reaktive Sauerstoffverbindungen schützen. Zu den induzierbaren Phase-2-Proteinen gehören u.a. die Hemeoxygenase. Sie katalysiert die Bildung von dem Antioxidans Bilirubin, Manganese reduziert die Konzentration an Superoxiden und die Glutamylcysteine Synthetase erhöht die Glutathionkonzentration. (Talalay et al., 2001, S.31 und 32, Gao et al., 2001, S.15221).

3.7 Erhöhung der Apoptose und Hemmung des Zellwachstums

Neuere Untersuchungen zeigen, dass die Glucosinolatvorstufen nicht nur modulierend auf den Fremdstoffmetabolismus einwirken, sondern auch im Tiermodell und an humanen Zelllinien das Zellwachstum hemmen sowie die Zelldifferenzierung und Apoptose verstärken. So konnte beobachtet werden, dass Glucosinolatvorstufen die Apoptose präkanzerogener Dickdarmzellen in vivo- und in vitro-Studien fördern

Die Epithelzellen des Kolons gehören zu den schnellst wachsenden Zellgeweben des Körpers. Folglich sind sie durch ihre hohe Zellteilungsrate besonders anfällig für Mutationen und dem damit verbundenen Risiko einer Tumorentstehung. In den Krypten der Darmwand befinden sich die Stammzellen, die sich ständig teilen und so regelmäßig die Epithelschicht erneuern. Die durch Mitose neu entstandenen Tochterzellen teilen sich ihrerseits vor der Zelldifferenzierung noch ein- bis zweimal, bevor sie endgültig an die Oberfläche der Schleimhaut wandern. Anschließend werden sie in das Darmlumen befördert. Einige wenige Zellen sterben schnell nach der Teilung ab. Der Körper ist somit in der Lage, genetisch veränderte Darmzellen von normalen Zellpopulationen abzutrennen. Glucosinolatderivate, vor allem Sulforaphan, beschleunigen die Apoptose. (DGE, *Ernährungs-Umschau* 48, 2002, S. 232).

In humanen Kolonzellen konnte eine Zufuhr von 15 Mikromol Sulforaphan über drei Tage, ein Zellzyklusstop in der G2/M-Phase auslösen. In der G2/M-Phase wird die Mitose von Zellen vorbereitet, während es in der M-Phase zur Zellteilung kommt. Gleichzeitig konnte eine erhöhte Expression von Zyklin A und B sowie von Proteinen der bax-Familie beobachtet werden (Keck et al., 2004, S.8) Zyklin A und Zyklin B regulieren den Zellzyklus in allen Phasen und kontrollieren die Zellproliferation. Bax-Proteine aktivieren Caspasen, die die Apoptose einleiten (Stangl, 2001 b, S. 272).

Rosen et al. untersuchten die Wirkung von Indole-3-Carbinol auf Patientinnen mit zervikaler epithelialer Neoplasie (CIN =Risikofaktor für Gebärmutterhals). Eine Gruppe erhielt täglich 200mg, eine andere 400mg Indole-3-Carbinol über einen Zeitraum von zwölf Wochen. Eine Kontrollgruppe erhielt ein Placebo. Bei über 40 % der Frauen, die

200 oder 400mg einnahmen, stellte sich eine vollständige Regression von CIN ein. Bei den Patientinnen in der Placebogruppe zeigt sich keine Regression (Keck et al., 2004, S.8).

In humanen Brustkrebszellen induzierten Indole-3-Carbinol (aus Kohl Brokkoli, Blumenkohl, Rosenkohl) bei einer Menge von 50 µmol die Apoptose sowie den Zellzyklusstop. Die Isothiozyanate AITC, BITC und PEITC hemmten das Zellwachstum von humanen Gebärmutterhalszellen PEITC und AITC verstärkten die Apoptose von humanen Leukämiezellen (Conaway, 2002, S.237 und 238, Murillo et al., 2001, S.25).

Indole-3-Carbinole unterdrückten in-vitro-Studien bereits ab 10 µmol/l die durch 17-β-Östradiol vermittelte Signalübertragung über den Östrogenrezeptor alpha In vitro konnte auch eine Hemmung des Tumorwachstums ohne Östrogenrezeptoren festgestellt werden (Vaino et al., 2003, S.49, Murillo et al, 2001, S.25).

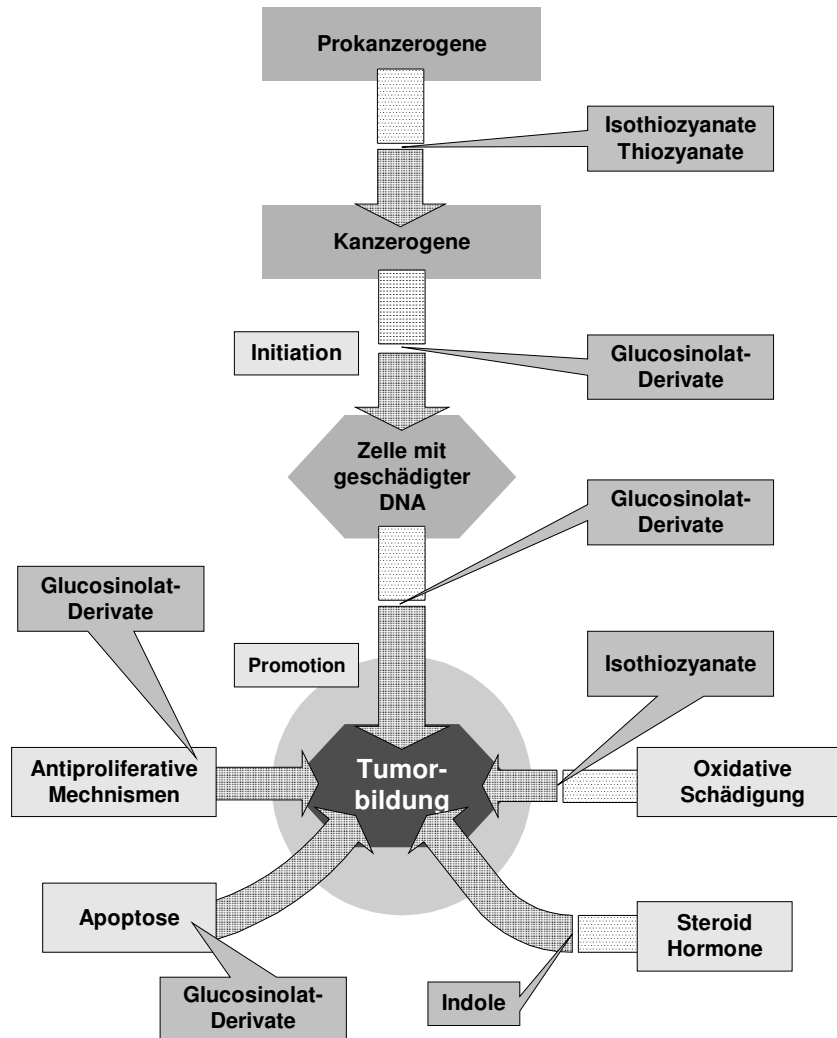


Abbildung 4: Mögliche Angriffsstellen der Glucosinolatderivate bei der Krebsentstehung (Quelle: Eigene Darstellung in Anlehnung an Biesalski, 1999, S, 190, Gerhäuser, 2001, S. 48 f.)

4 Leitlinien der Evidenz-basierten Medizin

Im Rahmen stetiger Fortschritte in der medizinischen Forschung werden laufend neue wissenschaftliche Erkenntnisse veröffentlicht. Der methodische Ansatz der Evidenz-basierten Medizin soll eine schnelle Verfügbarkeit von Forschungsergebnissen für die Umsetzung in der medizinischen Versorgung ermöglichen. Der Begriff „evidence-based-medicine“ kann als „nachweisbasierte“ Medizin übersetzt werden. Es handelt sich um eine systematische Methodik, mit deren Hilfe die aktuellen Forschungsergebnisse nach definierten Kriterien evaluiert werden und anschließend als wissenschaftlich-empirische Grundlage ärztlichen Handelns dienen können. Mit Hilfe der EbM werden „clinical practice guidelines“ bzw. Evidenz-basierte Leitlinien erstellt. Sie sollen Hilfestellung für Entscheidungsprozesse im Rahmen einer leistungsfähigen Versorgung des Patienten geben, wesentliche Bestandteile von Qualitätssicherung und Qualitätsmanagement sein, die Wirtschaftlichkeit erhöhen, Behandlungsrisiken minimieren und Hilfe für die Aus-, Weiter- und Fortbildung sein. Das Ziel ist somit die Sicherung einer optimalen Qualität der Gesundheitsvorsorge (*DGE info 9/2002, S. 134*).

Evidenz-basierte Leitlinien sind systematisch entwickelte Standardvorgehen bei bestimmten Krankheitsbildern. So gibt es bereits eine Evidenz-basierte Leitlinie zur Behandlung der Adipositas (*Ellrott et al 1998*). Zur Erstellung von Evidenz-basierten Leitlinien erfolgt zunächst eine standardisierte Auswertung von Literaturquellen bei einem definierten Gesundheitsproblem. Diese Vorgehensweise gewährleistet, dass Einflüsse des Zufalls, systematische Fehler (Bias) oder Störvariablen (Confounding) vermieden werden (*Bollschweiler, 2001, S.457*). Die gefundene Literatur (z. B. Metaanalysen, randomisierte klinische Studien, Expertenmeinungen etc) wird hinsichtlich ihrer Aussagekraft bewertet, indem ein oft verwendetes Bewertungsschema verwendet wird. (siehe folgende Tabelle).

Evidenz-klasse	Evidenzeinteilung durch die Art der Studien	Härtegrad
Ia	Metaanalysen randomisierter, kontrollierter Studien	A aus klinischer Sicht erstrangig
Ib	mindestens eine randomisierte, kontrollierte Studie	
IIa	mindestens eine gut angelegte, kontrollierte Studie, nicht randomisiert	B aus klinischer Sicht zweitrangig
IIb	mindestens eine gut angelegte, nicht-kontrollierte, nicht randomisierte klinische Studie. z. B. Reihenuntersuchungen. Kohortenstudien	
III	eine gut angelegte, nicht experimentelle, deskriptive Studie. z. B. Vergleichsstudien. Korrelationsstudien und Fall-Kontroll-Studien	
IV	Berichte der Expertenausschüsse oder Expertenmeinungen und/oder klinische Erfahrung anerkannter Autoritäten	C aus klinischer Sicht dritrangig

Tabelle 3: Hierarchie der Evidenz: Empfehlung der AHCPR und der SIGN (Quelle: eigene Darstellung in Anlehnung an: Bollschweiler, 2001, S. 458 und Redaelli, 2001, S. 470)

Diese Klassifizierung entspricht der U.S: Agency for Healthcare Research and Quality und der Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). Ziel ist es, die Wirksamkeit einer Therapieform auf ihre wissenschaftliche Aussagekraft bzw. ihre Effizienzstärke hin zu bewerten.

Wenn man die Wirksamkeit einer Therapieform beim Einsatz von bestimmten Erkrankungen bewerten will, wird anhand des Bewertungsschemas deutlich, dass die einzelnen Level verschieden aussagekräftig sind. Level 1 a bedeutet, dass dieser Studientyp die größte Aussagekraft bezüglich der methodischen Qualität besitzt. Mit sinkendem Level nimmt jeweils die wissenschaftliche Begründbarkeit ab. Zusätzlich gibt es Härtegradempfehlungen, welche die klinische Relevanz ausdrücken.

- Härtegrad A umfasst die Evidenzklassen 1 a und 1 b und ist somit als Empfehlung mit höchster klinischer Relevanz, d. h. als erstrangig einzustufen.
- Die Härtegradempfehlung B ergibt sich aus den Evidenzklassen 2 a, 2 b und 3 und ist aus klinischer Sicht als zweitrangig einzustufen.
- Härtegrad C beschreibt die Evidenzklasse 4 und ist als dritrangig einzustufen.

Die Empfehlungsgrade erleichtern einen schnellen Überblick, um die Effizienzstärke und die klinische Relevanz unterscheiden zu können. Allerdings muss eine Studie, welche auf der höchsten Evidenzklasse 1 beruht, nicht automatisch den Härtegrad A mit der höchsten klinischen Relevanz erhalten, sondern kann lediglich den Härtegrad C erhalten, wenn sie aus klinischer Sicht drittrangig ist.

4.1 Das Verfahren der Evidenz-basierten Medizin

Die Umsetzung der Evidenz-basierten Medizin erfolgt durch die Cochrane Collaboration und deren 49 weltweit operierende „Collaborative Review Groups“. Sie erstellen systematische Übersichtsarbeiten (Reviews) zu Studien, die sich mit der gleichen Fragestellung zu einem definierten Gesundheitsproblem auseinandersetzen. Diese Arbeiten liefern eine schnelle, aktuelle und fundierte Übersicht der Forschungsergebnisse und geben Anhaltspunkte für medizinische Entscheidungen. Darüber hinaus befassen sich weitere der Cochrane Collaboration angehörige Gruppen mit anderen Bereichen des Gesundheitssystems, mit strategischen Entscheidungen („Steering Group und einem Forum für Patienten und Endverbraucher. In Deutschland gibt es derzeit die „Cochrane Metabolic and Endocrine Disorders Group“ (Düsseldorf) und die „cochrane haematological Malignancies Group“ in Köln (vgl. http://www.cochrane.de/ebm2003/pdfs/Guyatt_Grade_Recommendations.pdf).

Das Verfahren der Evidenz-basierten Medizin lässt sich in 5 Schritte unterteilen, anhand derer auch in dieser Diplomarbeit vorgegangen wurde, um die vorgestellten Studien aktuell auswählen und bewerten zu können.

1. Formulierung einer möglichst konkreten Frage

Hat ein regelmäßiger Verzehr von Glucosinolaten aus Kohlgemüse eine Bedeutung für die Prävention von Krebserkrankungen?

2. Suche nach der besten verfügbaren Evidenz:

Die anschließende Literaturrecherche erfolgt nach den vorher definierten Suchstrategien und beinhaltet die Suche nach der besten verfügbaren Evidenz in Datenbanken und Fachzeitschriften. Die Recherche nach relevanten Studien zur Fragestellung erfolgte in den beiden medizinischen Datenbanken, der National Library of Medicine (www.pubmed.org) bzw. Medline und die Cochrane Library. Zusätzlich erfolgte eine Recherche in dem Online-Fachzeitschriften-programm der Ärztlichen Zentralbibliothek Hamburg. Die eingegebenen Suchbegriffe lauteten:

- Glucosinolate and cancer

- Brassica and epidemiological studies
- Glucosinolate und clinical trial
- High Isothiocyanatintake and cancer risk
- High Brassica intake and cancer risk

Im Weiteren wurde, neben der Hauptrecherche, ergänzend noch in „google“, „Springer link“ und „Web of Science“ gesucht.

3. Kritische Beurteilung der gefundenen Dokumente(externe Evidenz)

Die gefundenen Studien werden im Hinblick auf ihre Methodik und Aussagekraft überprüft und die jeweiligen Ergebnisse vorgestellt (Kapitel 5 und 6).

4. Überprüfung der Anwendbarkeit

Anhand der gefundenen Literatur und anschließender Prüfung der externen Evidenz wird versucht, ob eine möglicherweise präventive Wirkung von Glucosinolaten in Hinsicht auf Krebsprävention zu einer Empfehlung umgesetzt werden kann.

5. Evaluierung nach der Umsetzung

Theoretisch müssten in dieser Phase, falls aufgrund der vorherigen Schritte Empfehlungen für bestimmte Maßnahmen infolge wissenschaftlicher Begründbarkeit herausgearbeitet wurden, für die praktische Umsetzung kritisch evaluiert werden. Dieses kann im Rahmen dieser Diplomarbeit nicht erfolgen.

5 Beschreibung und Bewertung der Studien

Gegenwärtig werden die Glucosinolate bzw. deren Derivate, bezüglich ihrer potentiellen antikanzerogenen Wirkmechanismen, für eine Verringerung der Krebsrate in vielen Geweben assoziiert und daher verstärkt in epidemiologischen Studien untersucht. Es war allerdings sehr schwierig, mehrere Studien aus den letzten Jahren bezüglich einer Krebsart zu finden. Infolgedessen, werden im folgenden Kapitel jeweils drei Studien für das kolorektale Karzinom bzw. das Mammakarzinom beschrieben, die einen Zusammenhang zwischen dem Brassicaverzehr und dem Auftreten von Krebs untersuchen. Ziel ist es, zu einer Beurteilung zu kommen, inwiefern man derzeit aufgrund der epidemiologischen Erkenntnislage, eine Aussage über die präventive Wirkung der Glucosinolatabbauprodukte in bezug auf das Krebsrisiko im allgemeinen und im speziellen für den Dickdarmkrebs bzw. Brustkrebs treffen kann

5.1 Prospective Study of Fruit and Vegetable Consumption and Incidence of Colon and Rectal cancers

Die Autoren Michels et al (2000) haben in einer Prospektivstudie den Zusammenhang zwischen dem Obst- und Gemüsekonsum und dem Auftreten von Kolon- und Rektumkarzinomen in zwei großen Kohorten untersucht, und zwar die Nurse Health Study (88764 Frauen) und die Health Professionals Follow-up Study (47.325 Männer). Innerhalb dieser Untersuchung wurde auch eine Subgruppenanalyse für Kohlgemüse durchgeführt. Nach dem oben beschriebenen Klassifizierungsschema handelt es sich um eine Studie der Evidenzklasse II b mit dem Härtegrad B.

5.1.1 Methodik

Im Jahre 1976 füllten 121 700 registrierte Krankenschwestern zwischen 30 und 55 Jahren einen Fragebogen aus, in dem sie Auskunft über ihren Lebensstil und die Familienanamnese für kolorektale Karzinome gaben. Anschließend haben die Frauen erneut alle zwei Jahre einen Fragebogen erhalten, um wiederholt Informationen über die Risikofaktoren und das Auftreten von Krebserkrankungen zu dokumentieren. Ab 1980 wurde ein vorab validierter Lebensmittel-Häufigkeitsbogen eingeführt und die Gemüse- und Obstaufnahme als auch der Verzehr von Kohlgewächsen ermittelt.

Die Health Professionals Study begann im Jahre 1986. 51.529 Gesundheitsfachleute wie. z. B. Zahnärzte, Tierärzte, Pharmazeuten und Osteopaten zwischen 44 und 75 Jahren beantworteten einen Fragebogen hinsichtlich der Risikofaktoren für Krebs und einen Lebensmittel-Häufigkeitsfragebogen. Bei beiden Kohorten wurde in verschiedenen Zeitabständen wiederholt das Ernährungsverhalten anhand eines Food-Frequency-Fragebogens ermittelt. In der Nurse Health Study enthielt der Fragebogen von 1980, 61 Lebensmittel, davon 6 Früchte und 11 Gemüse. Ab 1984 waren 15 Früchte und 28 Gemüse (bei Brassica kamen Krautsalat und Grünkohl hinzu) aufgelistet. Dieser erweiterte Fragebogen wurde auch 1986 und 1990 eingesetzt. Der innerhalb der Health Professionals Study im Jahre 1986 und 1990 verwendete Lebensmittel-Häufigkeits-Fragebogen, entsprach dem erweiterten Fragebogen der Nurse Health Study. Bei beiden Kohorten war für jedes Lebensmittel eine normale Portionsgröße definiert und die Probanden wurden aufgefordert anzugeben, wie oft sie diese Lebensmittel im vergangenen Jahr verzehrt hatten. Zusätzlich wurde in jedem Fragebogen erfragt, ob und wenn ja wann inzwischen Kolon- oder Rektalkarzinome diagnostiziert wurden. Anhand der Fragebögen wurden die Probanden je nach Portionsgrößen/Tag in fünf Kategorien eingeteilt. Die Quintile wurden je nach Analyse in bezug auf

die gesamte Obstaufnahme, gesamte Gemüseaufnahme, Gemüse- und Obstaufnahme kombiniert, Es wurden auch Subgruppen für die Gesamtaufnahme von Brassicagemüsen gebildet, die bei den Frauen aus den Fragebögen von 1980, 1984, und 1986 und bei den Männern aus der Professionals Health Study von 1986 und 1990 berechnet wurden. In dieser Untersuchung wurde der durchschnittliche tägliche Verzehr von jedem einzelnen Obst/Gemüse in Gramm ermittelt und schließlich in Portionsgrößen/Woche eingeteilt (es gab bei den Portionsgrößen keine Angaben zum Gewicht). Für die innerhalb dieser Studie relevante Subgruppe der Brassicagemüse wurden die Probanden/innen im ersten Quintil mit der geringste Aufnahme von weniger als einer Portionsgröße/Woche und im fünften Quintil mit der höchsten Aufnahme von mehr als 5 Portionsgrößen/Woche kategorisiert. Zusätzlich wurde ermittelt, ob eine zusätzliche Portionsgröße/Tag das Krebsrisiko modifiziert.

5.1.2 Ergebnis

In der Analyse wurden nur die Teilnehmerinnen der Nurse Health Study berücksichtigt, bei denen im Jahre 1980 keine Krebserkrankung vorlag und die den erstmals im Jahre 1980 eingeführten Ernährungsfragebogen vollständig ausgefüllt hatten. Zusätzlich durfte die Energieaufnahme nur zwischen 500 und 3500 Kalorien pro Tag betragen. Die Teilnehmer an der Health Professionals Study, durften im Jahre 1986 ebenfalls keine Krebsdiagnose aufweisen. Der Lebensmittel-Häufigkeits-Fragebogen musste jeweils lückenlos beantwortet sein. Die tägliche Energieaufnahme betrug zwischen 800 und 4200 Kalorien pro Tag.

Zur Errechnung des relativen Risikos wurden die Personenjahre jeder Teilnehmerin von 1980 bis zur Krebsdiagnose oder bis zum Ende des Follow-up als Basis herangezogen. Es wurden bis zum Juni 1996 569 Kolonkarzinome und 155 Rektalkarzinome bei einem Follow-up von 1.327.029 Personenjahren dokumentiert. In der HPFS wurden 368 Kolonkarzinome und 89 Rektalkarzinome bei einem Beobachtungszeitraum von 416.616 Personenjahren diagnostiziert. Vorab wurden in situ Tumore, andere maligne Tumore als invasive Adenokarzinome und Teilnehmer mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (Colitis ulcerosa und Morbus Chron) von der Analyse ausgeschlossen. Insgesamt wurden beiner Gesamtzahl von 1.743 645 Personenjahren in dieser Analyse, 937 Fälle von Kolonkarzinomen und 244 Fälle von Rektalkarzinomen bei eingeschlossen

Innerhalb der gesamten Studiengruppe war der Obst- und Gemüsekonsum bei den Teilnehmern höher, die älter waren, seltener rauchten, sich körperlich mehr bewegten

und weniger Fleisch verzehrten. In dieser Untersuchung wurde über gepoolte Regressionsanalysen für verschiedene potentielle Confounder das relative Risiko abgeschätzt. Es wurde zuerst das Alter adjustiert und anschließend der BMI, die Energieaufnahme, Familienanamnese von kolorektalem Krebs, körperliche Bewegung Alkoholkonsum, Verzehr von rotem Fleisch, menopausaler Status und postpausale Hormoneinnahme, Sigmoidoskopy und Vitaminpräparate. Das relative Risiko änderte sich jedoch nur so geringfügig, dass es die Ergebnisse nicht beeinflusste. Es wurde innerhalb der gesamten Untersuchung kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Obst- und Gemüsekonsum und kolorektalen Krebs festgestellt. Für Frauen und Männer, kombiniert, war lediglich eine leichte Assoziation bei einer bis zum Maximalwert steigenden Portionsgröße pro Woche an Obst / Gemüse von einem kovariaten-adjustierten Risiko von 1.02 (95% CI 0.98 –1,05) bei Kolonkarzinomen aufgetreten, bei einer steigenden Portionsgröße/Woche nur an Gemüse ein RR von 1.03 (95%CI = 0.97 – 1.09) Die Ergebnisse waren bei einer Unterteilung in Männern und Frauen ebenfalls gleichbleibend. Das kovariat-adjustierte RR für eine bis zum Maximalwert steigende Portionsgröße/Woche an Obst betrug bei Frauen 0.96 (95% CI=0,89-1.03) und 1.08 (95% CI=1.00-1,16) bei den Männern. Die Ergebnisse veränderten sich ebenso nicht entscheidend für den Rektalkrebs bei Männern und Frauen kombiniert RR = 1.02 (0,95 – 1,09) Es wurden separate Analysen durchgeführt, ob Rauchen und die Einnahme von Vitaminsupplementen die Ergebnisse beeinflussen. Die Ergebnisse blieben unverändert.

Bei der Subgruppenanalyse für Zitrusfrüchte, grünes Gemüse etc. wurde keine aussagekräftige Assoziation oder ein protektiver Trend gefunden. Gleiches gilt auch für die Kreuziferen (siehe Tabelle). Auch die Untersuchung von einzelnen Brassicagemüse wie Brokkoli, Rosenkohl, Blumenkohl etc. zeigten keine Assoziationen mit dem Risiko für das Kolon- oder Rektalkarzinom. Diese Daten wurden nicht aufgeführt.

Cumulative updated fruit and vegetable consumption and subsequent relative risk of rectal cancer among women in the nurses' Health Study and men in the Health Professionals' Follow-up Study						
	Frequencies of intake					RR (95% CI for 1 additional Serving/day)
	<1 serving/wk	1 serving/wk	2 serving/wk	3-4serving/wk	>5 serving/wk	
Cruciferus vegetables						
RR women	1.0 (referent)	1.56	1.33	1.42	1.74	1.19 (0.72-1.95)
RR men	1.0 (referent)	1.21	0.66	1.08	0.91	0.97 (0.58-1.62)
RR pooled (95% CI pooled)	1.0 (referent)	1.40 (0.80-2.42)	1.00 (0.57-1.76)	1.25 (0.73-2.15)	1.29 (0.74-2.26)	1.08 (0.75-1.54)
Total No. of cases	17	53	52	70	52	
Total person years of follow-up	164.454	388.867	452.606	442.968	294.748	

Tabelle 4: Relative risk of rectal cancer (Quelle: Michels at al., 2000, S. 1747)

Cumulative updated fruit and vegetable consumption and subsequent relative risk of colon cancer among women in the nurses' Health Study and men in the Health Professionals' Follow-up Study						
	Frequencies of intake					RR (95% CI for 1 additional Serving/day)
	<1 serving/wk	1 serving/wk	2 serving/wk	3-4serving/wk	>5 serving/wk	
Cruciferus vegetables						
RR women	1.0 (referent)	0.93	0.95	1.06	0.94	1.08 (0.83-1.41)
RR men	1.0 (referent)	0.98	0.77	0.78	0.83	0.92 (0.70-1.20)
RR pooled (95% CI pooled)	1.0 (referent)	0.95 (0.74-1.23)	0.87 (0.68-1.12)	0.92 (0.72-1.18)	0.89 (0.68-1.15)	1.00 (0.83-1.21)
Total No. of cases	87	183	222	263	182	
Total person years of follow-up	164.454	388.867	452.606	442.968	294.748	

Tabelle 5 Relative risk of colon cancer (Quelle: Michels at al., 2000, S. 1746)

5.1.3 Bewertung

Die Nurse Health Study umfasst im Gegensatz zu anderen Kohortenstudien, einen langen Beobachtungszeitraum von 16 Jahren und eine wiederholte Befragung zum Ernährungsverhalten. Die Ergebnisse dieser Studie zeigten keine Assoziationen, dass ein Verzehr von Obst und Gemüse das Risiko von kolorektalen Karzinomen reduzieren. Es konnte auch keine präventive Wirkung von einzelnen Gemüse/Obstgruppen einschließlich der Kreuziferen festgestellt werden.

5.2 Vegetable and Fruit Consumption and Risks of Colon and Rectal Cancer in an Prospective Cohort Study

In der Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer werden Zusammenhänge zwischen Ernährungsfaktoren und dem damit verbundenen Krebsrisiko untersucht. Die Kohortenstudie startete im September 1986. Im April 1992, nach 6,3 Jahren Nachbeobachtungszeit, (Follow-up) wurden mehr als 1000 kolorektale Karzinome registriert. Die Autoren Voorrips et al (2000) führten aufgrund der hohen Fallzahl eine Fall-Kohorten-Analyse durch, um den Zusammenhang zwischen dem Obst- und Gemüsekonsum und dem Risiko von kolorektalem Karzinom zu untersuchen. Dazu wurden sämtliche innerhalb der Kohorte diagnostizierten kolorektalen Karzinome mit einer willkürlich zusammengesetzten Subkohorte, bestehend aus 1.688 Männern und 1.812 Frauen (insgesamt 3500 Teilnehmer), verglichen. Die Personenjahre der Beobachtungsdauer für die Teilnehmer der gesamten Kohorte wurden über die Akkumulation der Personenzzeit, basierend auf den zweijährlichen Follow-up der Subkohorte abgeschätzt. Diese Studie ist in die Evidenzklasse 2 b einzustufen und der Grad der Empfehlung ist B.

5.2.1 Methodik

Die Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer begann im September 1986 und umfasst insgesamt 62.573 Frauen und 58.279 Männer, zwischen 55-69 Jahren, die über das Einwohnermelderegister von 204 niederländischen Gemeinden rekrutiert wurden.

Alle Probanden erhielten einen Fragebogen, in dem sie Auskunft über ihren Lebensstil, Rauchen, Alkoholkonsum, persönliche und familiäre Krankengeschichte gaben. Mittels eines 150 items umfassenden Lebensmittel-Häufigkeits-Fragebogen, wurde das Ernährungsverhalten des Vorjahres erfasst. Hinsichtlich des Gemüsekonsums hatten die Teilnehmer anzugeben, wie häufig sie von den im Fragebogen 15 aufgelisteten gekochten Gemüsen und vier rohen Gemüsen im letzten Jahr verzehrt haben. Zusätzlich wurde für jedes Gemüse explizit erfragt, ob es roh oder gekocht konsumiert wurde. Anhand zwei angegebener Portionsgrößen für gekochtes Gemüse, wurden diese Werte als Indikator für alle gekochten Gemüse herangezogen. Beim Obstkonsum wurde mittels standardisierter Größen die Häufigkeit und Menge des Obstkonsums in g/Tag umgerechnet. Der Fragebogen enthielt zusätzlich eine offene Frage für die Angaben von nicht erwähnten Lebensmitteln. Nach einem 6,3 Jahre langem Follow-up sind innerhalb der Kohorte mehr als 1000 kolorektale Karzinome aufgetreten. Für die Analyse wurden die Fälle ausgeschlossen, bei denen in-situ-Tumore und Tumore anderer Art als Karzinome festgestellt wurden. Auch Probanden, die mehr als 60 items bzw. mehr als 1 item-Block im Fragebogen nicht beantworteten und zusätzlich mehr als 35 Lebensmittel seltener als einmal monatlich verzehrten, wurden nicht berücksichtigt. Für die endgültige Analyse, im Zusammenhang mit Gemüsekonsum, standen 587 Kolonkarzinome (313 Männer und 274 Frauen) und 323 Rektalkarzinome (201 Männer und 122 Frauen) zur Verfügung. Zur Berechnung der Rate Ratios (entsprechend dem relativen Risiko) wurde die Anzahl an Personenjahren für die ganze Kohorte anhand einer Subkohorte aus 3500 Teilnehmern berechnet. In die Analyse für den Gemüsekonsum gingen, nach dem gleichen Ausschlussverfahren bei der Beantwortung des Ernährungsfragebogens und dem Ausschluss von präkanzerösen Tumoren, insgesamt 2.953 Subkohortenprobanden (1.456 Männer und 1.497 Frauen) ein. Anschließend wurden separate Analysen für den gesamten Gemüseverzehr, Obstverzehr und Obst/Gemüsekonsum durchgeführt. Zusätzlich wurden Analysen für verschiedene Gemüsegruppen wie rohes Gemüse, gekochtes Gemüse, rohes grünes Gemüse, gekochtes grünes Gemüse und für die Brassicagemüse geformt. Die Teilnehmer wurden in Quintile oder Kategorien (g/Tag) eingeteilt. Bei der Ermittlung der Rate Ratios für

den durchschnittlichen täglichen Verzehr von spezifischen Gemüse und Obst wurden diese als kontinuierliche Variable (g/Tag) in jeweils 25 g-Schritten bestimmt. Danach wurden Analysen für Kolon- und Rektalkarzinome, für Männer und Frauen getrennt betrachtet und eine Subgruppenanalyse für das proximale und distale Karzinom bei Frauen und Männern durchgeführt. Die gesamte Energieaufnahme, Alkoholkonsum, Rauchen, körperliche Bewegung, BMI und Familienanamnese wurden als Confounder evaluiert. Es stellte sich heraus, dass der Alkoholkonsum und die Familienanamnese einen Effekt auf das kolorektale Karzinom zeigte. Sie wurden daher in dieser Studie in einem multivariablen Modell adjustiert. Ebenso wurde das Alter als Einflussfaktor adjustiert. Rate Ratios wurden zudem für den Obstkonsum, und zwar mit der Gemüseaufnahme kombiniert als auch für einzelne Früchte oder Subgruppen mit kolorektalen Krebs ermittelt. Dazu wurde ebenfalls eine getrennte Analyse, und zwar mit 620 Kolonkarzinomen, 344 Rektalkarzinomen und 3.123 Subkohortenteilnehmern durchgeführt.

5.2.2 Ergebnisse

Innerhalb der Studiengruppe war bei den Frauen ein durchschnittlich um 40g/Tag erhöhter Fruchteverzehr in der Subkohorte festzustellen. Bei Frauen mit Kolonkarzinom war insgesamt der Obst- und Gemüseverzehr niedriger als bei der weiblichen Subkohorte. Bei Frauen mit Rektalkrebs war die Gemüseaufnahme höher, jedoch der Fruchtekonsum niedriger als bei der Subkohorte. Für Männer und Frauen in der Subkohorte, konnte ein höherer Obstkonsum mit einem erhöhten Gemüseverzehr assoziiert werden. Die Kohlgemüseaufnahme für die gesamte Studiengruppe unterschied sich nicht wesentlich: Sie betrug durchschnittlich 27,4-33,5g/Tag.

Es konnte keine statistisch signifikante Assoziation für den gesamten Gemüseverzehr oder gesamten Obstverzehr für Kolonkrebs gefunden werden. Lediglich bei Frauen, wurde eine inverse Assoziation bei der kombinierten Gemüse/Obstaufnahme ermittelt. Das Rate Ratio für die höchste Quintile versus der niedrigsten Quintile betrug 0,66 (95% CI=0,44-1.01). Für Rektalkrebs wurde ebenfalls keine statistisch signifikante Assoziation für die Gemüse- oder Obstaufnahme sowie für spezifische Gruppen für Obst und Gemüse festgestellt, außer für Brassica.

Die Brassica (Blumenkohl, Weiß- und Grünkohl, Rosenkohl) wurden in Quintile eingeteilt. Anschließend wurden die Rate Ratios (einschließlich eines Vertrauensbereich (CI) von 95% jeweils auf das erste Quintil mit der niedrigsten Aufnahme (11g/Tag) bezogen, in einem multivariablen Modell versus des höchsten Quintils (58/gTag) errechnet. Bei den Männern zeigte sich für das Kolonkarzinom eine negative Assoziation von RR:

0,76 (CI 0,51 –1,13), p trend = 0,11. Bei den Frauen konnte eine stärkere negative Assoziation mit dem Kolonkarzinom aufgezeigt werden (hoch/niedrig RR = 0,51 (CI 0,33 0,80), p trend = 0,004. Jedoch zeigte sich bei dem rektalen Karzinom eine positive Assoziation von (hoch/niedrig RR = 1,66 (CI 0,94, 2,94) p trend = 0,05 (siehe Tabelle).

Die Berechnung der Rate Ratio von einzelnen spezifischen Gemüsesorten, wurde in 25g Schritten vorgenommen. Es wurde eine signifikante negative Assoziation für Blumenkohl, unter Berücksichtigung anderer gekochter Gemüse, gefunden (Adjusted Rate Ratio:0,69) Ohne Adjustierung für andere Gemüse wurde eine leichte negative Assoziation für Rosenkohl und Weißkohl für das Kolonkarzinom bei Frauen gefunden: RR 0,61 bzw, 0,69). Bei dem Rektalkarzinom wurde wiederum eine signifikante positive Assoziation für Blumenkohl bei Frauen, mit und ohne Adjustierung, gefunden : RR 1,62 bzw. 1,73. In Hinblick auf eine weitere Subgruppenanalyse für das proximale und distale Karzinom zeigte sich für Brassica beim distalen Karzinom bei Frauen eine signifikante negative Assoziation (high/low RR= 0,47 (CI 95 % = 0,25, 0,89) p trend = 0,02. Bei Männern wurde ebenfalls eine signifikante negative Assoziation mit distalen Karzinom gefunden (high/low RR= 0,68 (CI:0,41, 1,15) p trend = 0,02. 0,53.

Rate ratios for colon and rectal cancer according to consumption of specific groups of of vegetables and fruits in men and woman, Netherlands Cohort Study 1986-1992

Quintile or category of consumption	Median intake (g/day)	Men				Woman				
		Colon cancer		Rectal cancer		Colon cancer		Rectal cancer		
		RR	95% CI	RR	95% CI	RR	95% CI	RR	95% CI	
Brassica vegetables										
1 (low)	11	1.00		1.00		11	1.00		1.00	
2	21	1.00	0.69, 1.46	0.73	0.45, 1.18	20	0.60	0.40, 0.89	0.83	0.44, 1.57
3	29	0.82	0.49, 1.26	0.79	0.49, 1.26	28	0.85	0.58, 1.25	1.28	0.70, 2.33
4	40	0.91	0.61, 1.48	0.95	0.61, 1.48	38	0.66	0.44, 0.99	1.01	0.53, 1.90
5 (high)	58	0.76	0.56, 1.39	0.88	0.56, 1.39	58	0.51	0.33, 0.88	1.66	0.94, 2.94
p-trend		0.11		0.94			0.004		0.05	

Tabelle 6: Rate ratios for colon and rectal cancer (Quelle: Voorrips et al., 2000, S. 1090)

5.2.3 Bewertung

Innerhalb dieser Studie zeigte sich nach 6,3 Jahren Follow- Up ein Hinweis darauf, dass eine Obst- und Gemüseaufnahme invers mit dem Risiko für das Kolonkarzinom assoziiert ist. Weiterhin zeigten sich bei Männern und Frauen negative protektive Assoziationen für die Brassicaaufnahme und dem Kolonkarzinom. Die Nachbeobachtungszeit von 6.3 Jahren, ist wegen der langen Latenzzeit für kolorektalen Krebs nicht sehr aussagefähig. In der Analyse wurden Vergleiche für spezifische Gruppen und einzelne Gemüse durchgeführt, so dass eine protektive Assoziation für Brassica leichter gefun-

den werden konnte. Innerhalb dieser gesamten Studie zeigten die Brassicas die stärksten negativen Assoziationen.

5.3 Dietary isothioyanates, glutathione S-transferase polymorphisms and colorectal cancer risk in the Singapore Chinese Health Study

Seow et al (2002) untersuchten die Hypothese, dass zwischen einer hohen Isothiozyanataufnahme aus Kruziferen, den Interaktionen mit den Glutathion-S-Transferasen GSTM1, T1 oder P1 Null-Genotypen und dem Risiko für kolorektale Karzinome, ein inverser Zusammenhang besteht. Dazu wurde eine prospektive eingebettete Fall-Kontroll-Studie durchgeführt, in der 213 Fälle von kolorektalen Karzinom mit 1194 Kontrollpersonen aus der Singapore Chinese Health Study verglichen wurden. Die Studie ist in die Evidenzklasse 2 b mit dem Härtegrad B einzustufen.

5.3.1 Methodik

Die Singapore Health Study startete im April 1993. Bis Dezember 1998 wurden 63.257 Chinesen (Männer und Frauen) im Alter zwischen 45 und 74 Jahren, rekrutiert. Jeder Proband beantwortete einen Fragebogen hinsichtlich des Lebensstiles, Risikofaktoren und Ernährungsverhaltens. Im April 1994, wurde damit begonnen, willkürlich von 3 % der Kohortenteilnehmer Blut- und Urinproben zu entnehmen. Von einigen Personen wurde eine Mundschleimhautprobe entnommen, wenn diese eine Blutentnahme verweigerten. Die Proben wurden in einem Tank mit flüssigen Nitrogen bei -180° bis zum August 2001 gelagert. Bis Juli 1999 wurden die Blut- oder Mundschleimhautproben von 678 Frauen und 516 Männern ohne Krebserkrankung gesammelt. Diese Personen stellten die vergleichende Kontrollgruppe dar. Bis Dezember 2000 wurden 482 kolorektale Karzinome in der Kohorte dokumentiert und anhand des Singaporer Krebsregisters überprüft und nach Durchsicht der pathologischen Berichte bestätigt worden. Von diesen Krebsfällen waren 217 Blutproben vorhanden. Nach Ausschluss von in-situ Tumoren und Karzinomen unbekanntem histologischen Types, gingen in die Analyse 213 Fälle ein. Davon waren 130 Kolonkarzinome und 83 Rektalkarzinome. Die gesamten Blutproben (cases and controls) wurden im Labor der Universität in Südkalifornien auf ihre genetischen GST-Varianten hin analysiert. Der eingesetzte Lebensmittel-Häufigkeitsfragebogen umfasste 165 Lebensmittel, davon waren neun Kruziferen aufgelistet, die üblicherweise in Singapur verzehrt werden (z. B. chinesischer Weißkohl (Pak choi), chinesischer Blumenkohl (Kai choi), Chinakohl etc). Als Orientierung für die Mengenangabe wurden den Probanden drei Photographien von unterschiedlichen Por-

tionsgrößen vorgelegt. Anschließend wurde der durchschnittliche tägliche Verzehr errechnet und unter Adjustierung der gesamten Energieaufnahme in Gramm pro 1000 kcal ausgedrückt. Die Teilnehmer wurden in eine niedrige und hohe ITC-Aufnahme, basierend auf dem Median der ganzen Kohorte (5,16 mol/1000 kcal) eingeteilt.

5.3.2 Ergebnis

Innerhalb der Studiengruppe betrug die energieadjustierte Aufnahme von Isothiozyanaten bei Krebsfällen 26 g/1000kcal und unter den Kontrollpersonen 28,9g/1000 kcal. Die Isothiozyanataufnahme war mit durchschnittlich 5,4 mol/1000 kcal bei den erkrankten Personen leicht geringer (Durchschnitt Kontrollpersonen 6,0 mol/1000 kcal). Bei einer Unterteilung der Teilnehmer in eine hohe und niedrige Isothiozyanataufnahme, ohne Berücksichtigung des Genotypes, konnte bei der Berechnung der Odds Ratios unter Adjustierung des Zigarettenkonsums, körperlicher Bewegung, Alkoholkonsum, BMI und Aufnahme an gesättigten Fettsäuren, eine leichte Assoziation eines reduzierten Krebsrisikos für kolorektale Karzinome festgestellt werden. Diese leichte Assoziation war statistisch jedoch nicht signifikant: high versus low (OR 0,81, 95% CI 0,59-1,12). Auch bei einer Betrachtung der ITC-Aufnahme (hoch/niedrig) für Kolon- und Rektalkrebs, konnte für beide Arten keine signifikante Assoziation gefunden werden: OR 0.83 (CI 0,56-1,22) bzw. für den Rektalkrebs: OR 0.76 (0,46-1.25) Siehe Tabelle.

Dietary ITC intake in relation to risk of colorectal cancer, Singapore Health Study							
Dietary ITC intake level	Controls	Colorectal cancer		Colon cancer		Rectal cancer	
		Cases	OR (95% CI)	Cases	OR (95% CI)	Cases	OR (95% CI)
<i>Total subjects</i>							
Low ITC	599	127	1.00	76	1.00	51	1.00
High ITC	595	86	0.81 (0.59-1.12)	54	0.83 (0.56-1.22)	32	0.76 (0.46-1.25)
<i>Never smokers</i>							
Low ITC	402	71	1.00	46	1.00	25	1.00
High ITC	462	57	0.89 (0.58-1.36)	38	0.94 (0.57-1.53)	19	0.81 (0.83-1.66)
<i>Ever smokers</i>							
Low ITC	197	56	1.00	30	1.00	26	1.00
High ITC	133	29	0.77 (0.44-1.36)	16	0.81 (0.39-1.68)	13	0.74 (0.34-1.63)

Tabelle 7: Dietary ITC intake in relation to risk of colorectal cancer (Quelle: Seow et al., 2002, S. 2057).

Es zeigt sich auch kein Einfluss auf das Krebsrisiko bei lebenslangen Rauchern versus Nichtraucher. Um das kolorektale Krebsrisiko in Relation zu den Genotypen zu analysieren (ohne ITC-Aufnahme), wurden die Null-Genotypen GSTM1, GSTT1 und GSTP1 mit den entsprechenden Non-Null-Genotypen verglichen. Es konnte dabei keinerlei Zusammenhang zwischen diesen Genotypen und dem Risiko für das kolorektale Kar-

zinom gefunden werden. Bei der Berechnung der Odds Ratios, einschließlich der ITC-Aufnahme, den Interaktionen mit den Genotypen und dem Risiko für kolorektale Karzinome, zeigte sich für GSTM1-Null ein OR von 0,63 (CI 0,37 – 1.07) im Vergleich zu GSTM1 Non-Null OR 0,97 (0,64 – 1,47).

GST genotype	Low ITC			High ITC		
	Cases	Controls	OR	Cases	Controls	OR (95% CI)
GSTM1 non-null	67	335	1.00	38	318	0.71 (0.45-1.14)
GSTM1 null	60	261	1.00	48	276	0.85 (0.54-1.35)
GSTT1 non-null	79	377	1.00	54	333	0.97 (0.64-1.47)
GSTT1 null	48	219	1.00	32	261	0.63 (0.37-1.07)
GSTP1 AA	90	393	1.00	58	386	0.75 (0.51-1.11)
GSTP1 AB or GSTP1 BB	36	200	1.00	28	206	0.92 (0.50-1.69)
GSTM1 non-null or GSTT1 non-null	104	499	1.00	70	467	0.92 (0.64-1.32)
GSTM1 null and GSTT1 null	23	97	1.00	16	127	0.43 (0.20-0.96)

Tabelle 8: Dietary ITC intake in relation to risk of colorectal cancer stratified by GST genotypes (Quelle: Seow et al., 2002, S. 2058).

Es zeigte sich bei den Personen, die neben einer hohen ITC-Aufnahme einen Nulltyp für GSTM1 und GSTP1 aufwiesen, sogar ein um 57 % gesenktes Krebsrisiko. Die statistisch signifikante Assoziation betrug: OR = 0,31 (0,12-0,84). Wurde die Analyse für Kolon- und Rektalkrebs getrennt durchgeführt, blieb die inverse Beziehung nur für das Kolonkarzinom bestehen: OR 0.31 (0,12-0,84) versus Rektalkarzinom OR 0.84 (0,27 – 2,63). Die inverse Assoziation für ein reduziertes Krebsrisiko, der ITC-Aufnahme und der Interaktion bei Personen, die einen GSTM1 und GSTT1 Null-Genotyp aufweisen, blieb auch bestehen, wenn nur die Fälle von kolorektalen Karzinomen, die später als nach 3 Jahren des Nachbeobachtungszeitraumes aufgetreten sind, einbezogen wurden. (Daten wurden in der Studie nicht gezeigt)

5.3.3 Bewertung

Bei einer Betrachtung der Isothiozyanataufnahme ohne Berücksichtigung der Genotypen, zeigte sich eine leichte Assoziation von (OR 0,81, 95% CI 0,59 – 1,12) für kolorektale Karzinome. Innerhalb dieser Untersuchung, konnte jedoch eine signifikante Interaktion bei Personen die gleichzeitig den Null-Genotyp GSTT1 und GSTM1 aufwiesen, der hohen Aufnahme von Kreuziferen und eines reduzierten Krebsrisikos für kolorektale Karzinome ermittelt werden. Diese Assoziation konnte nicht bei den Personen gefunden werden, die positiv für ein oder zwei der Genotypen sind.

Diese Ergebnisse stützen die derzeit diskutierte Hypothese, dass bei einer hohen ITC-Aufnahme und einem homozygoten Defekt für GSTM1, GSTT1 und GSTP1, die anti-

kanzerogen wirkenden Isothiozyanate langsamer metabolisiert und ausgeschieden werden. So können sie länger im Organismus zirkulieren und verstärkt protektiv wirken

In dieser Studie sind auf dem Lebensmittel-Häufigkeits-Fragebogen neun Kreuziferen aufgelistet, die gewöhnlich in China häufig konsumiert werden. Dieses ist schon eine sehr hohe Anzahl im Gegensatz zu anderen Studien. Die Nachteile sind die kurze Nachbeobachtungszeit von fünf Jahren, in Relation der langen Latenzzeit für kolorektalem Krebs und auch die geringe Fallzahl.

5.4 Urinary Isothiozyanate Levels, Brassica and Human Breast Cancer

Fowke et al (2003) untersuchten die Hypothese, dass eine hohe Isothiozyanataufnahme, abhängig von den genetischen Varianten der Phase-2-Enzymen und damit deren unterschiedlichen Aktivitäten, das Brustkrebsrisiko senken kann. In diesem Zusammenhang führten die Autoren eine Fall-Kontroll-Studie in Shanghai/China durch. Im asiatischen Raum werden im Durchschnitt regelmäßiger und in höheren Mengen Brassica verzehrt und die Brustkrebsrate ist erheblich niedriger, als in den westlichen Ländern. In dieser Untersuchung wurde ein zuvor entwickelter und validierter Biomarker eingesetzt. Mit ihm ist es möglich, den gesamten Brassica-Verzehr jeder Probandin, durch Bestimmung der Isothiozyanatkonzentration im Urin zu erfassen und damit objektiv zu messen. Die Ergebnisse waren damit unabhängig von einer subjektiv geschätzten Aufnahme bei Erfassung über Fragebogen. Nach Einschätzung der Autorin, ist diese Studie trotz des Einsatzes eines Biomarkers, in die Evidenzklasse 3 mit dem Härtegrad B einzuordnen.

5.4.1 Methodik

Im Zeitraum vom August 1996 bis März 1998, wurden 1604 Brustkrebspatientinnen zwischen 25 und 64 Jahren über das Shanghaier Krebsregister für die Analyse identifiziert. Davon wurde mit insgesamt 1459 der erkrankten Frauen ein Interview durchgeführt. Die Krebsdiagnosen der Patientinnen wurden nochmals durch zwei Pathologen anhand der vorhandenen Röntgenbilder bestätigt. Zum Vergleich wurden 1724 weibliche erwachsene Kontrollpersonen willkürlich aus dem Shanghaier Einwohnermelderegister ausgewählt. Nach dem Ausschlussverfahren wurde von jeder Teilnehmerin (cases and controls) eine Urinprobe entnommen und kaltgelagert. Die Teilnehmerinnen erhielten einen Fragebogen, in dem sie Angaben über ihre Reproduktionsgeschichte, Hormoneinnahme, körperliche Bewegung, Tabak- und Alkoholkonsum, Gewichtsschwankungen in der Vergangenheit und Familienanamnese für Brustkrebs machten.

Zusätzlich wurde das Gewicht, die Größe sowie der Hüft- Taillen-Umfang gemessen. Der Lebensmittel-Häufigkeits-Fragebogen umfasste, die gewöhnlich in Shanghai verzehrten Lebensmittel und normalen Portionsgrößen (ermittelt unter Zuhilfenahme der chinesischen Ernährungsdatenbank Chinese Food Composition Table). Es wurde retrospektiv die Häufigkeit der verzehrten Lebensmittel der letzten fünf Jahre erfragt. Für die Analyse wurde eine individuell zusammengesetzte (gematchte) Fall-Kontroll-Substudie, innerhalb der Fall-Kontroll-Studie durchgeführt. Dazu wurde vorab kalkuliert, dass 350 Fall-Kontroll-Paare ausreichend sind, um statistisch aussagefähige Werte zu erlangen. Für jeden Krebsfall wurde eine Kontrollperson individuell nach gleichen Merkmalen zugeordnet, und zwar nach dem Alter (+- 3 Jahre), menopausalen Status, Datum der Abgabe der Urinprobe und nach dem Zeitpunkt des Interviews (+- 30 Tage). Diese Methode wurde gewählt, um eine größere Vergleichbarkeit innerhalb der Fälle und Kontrollen für den quantitativen Biomarker zu erreichen. Im Labor wurde die Isothiozyanatkonzentration im Urin durch HPLC (Näheres nachzulesen bei: Zhang et al, 1996) bestimmt. Jeder Fall und die dazugehörige Kontrolle wurden als Paar am selben Tag analysiert. Die ermittelten Urinkonzentrationen an Isothiozyanaten wurden für Kreatinin adjustiert (Mikromol an ITC/Milliliter Urin/Milligramm Kreatinin), um die unterschiedlichen Urinvolumen zu erfassen. 13 Fall-Kontroll-Paare erfüllten die Kriterien für eine erfolgreiche Urinkonzentrationbestimmung nicht, so dass für die Analyse 337 Fall-Kontroll-Paare verblieben. Anschließend wurde die Isothiozyanaturinkonzentration, sowie separat die ermittelte Brassicaaufnahme anhand des Ernährungsfragebogens, in Quartile eingeteilt. Es wurden in dieser Analyse leider keine Mengen für die Quartile angegeben, sondern lediglich in Q1 mit der niedrigsten Urinkonzentration an Isothiozyanaten bzw. der niedrigsten Brassicaaufnahme, steigend in Q2, Q3 bis Q4 mit der höchsten Urin-ITC-Konzentration bzw. Brassicaaufnahme eingeteilt. Zudem wurden die genetischen Varianten des GSTM1, GSTT1, GSTP1 und NQQ1 bestimmt.

5.4.2 Ergebnis:

In der Fall-Kontroll-Studie konnten bei Analysen mit allen Teilnehmerinnen (1459 Krebsfälle und 1556 Kontrollen) im Hinblick auf Brustkrebsrisikofaktoren, in bezug auf Alter, Bildung und Familienanamnese, positive Assoziationen gefunden werden. Bei den Auswertungen in bezug auf Alter und Beginn der Menopause, Alter bei der ersten Geburt, Taillen-Hüft-Umfang, BMI, geringe körperliche Bewegung und Alter der ersten Periodegefunden konnten ebenfalls positive Assoziationen gefunden werden. Diese Faktoren wurden daher in die Berechnung der Odds Ratios für das Brustkrebsrisiko

hineinadjustiert. Zusätzlich wurde der Verzehr von Sojaprotein, das Vorkommen von Fibroadenomen einbezogen.

Beim Vergleich der Grundcharakteristika bzw. Risikofaktoren der Fälle und Kontrollen in der Subgruppe (337 Fall-Kontroll-Paare) wie Alter, BMI, Anzahl an Kindern etc., mit den Fällen und Kontrollen der gesamten Studiengruppe, stellte sich kein wesentlicher Unterschied heraus, so dass die Subgruppe als repräsentativ für die gesamte Gruppe anzusehen ist.

Innerhalb der Subgruppe unterschied sich der gesamte Brassicaverzehr nicht wesentlich. Der Mittelwert bei den Erkrankten betrug 77,4 g/Tag, bei den Kontrollpersonen 81,5 g/ Tag. Die an Brustkrebs erkrankten Frauen hatten einen höheren BMI und größeren Hüft-Taillen-Umfang und bewegten sich körperlich weniger. Die Energie-, Fett- und Sojaaufnahme war bei beiden Gruppen weitgehend gleich. Bei den erkrankten Frauen zeigten sich signifikant geringere ITC-Urinkonzentrationen, als bei den gesunden Kontrollpersonen. Dabei sind die Differenzen bei den Genotypen mit einer homozygoten Deletion für GSTM1-Null, GSTT1-Null, GSTP1 (G-Allele) und NQq1(C-Allele) geringfügig größer. Bei der Berechnung der Odds Ratio zwischen einer geringen und hohen ITC-Urinkonzentration, zeigte sich ein um 50 % gesenktes Krebsrisiko für das höchste Quartil (OR = 0,5, 95 % CI (0,3-0,8) mit einem konsistenten Trend innerhalb der niedrigeren ICT-Urinlevel-Kategorien (Tabelle 4). Diese protektive Assoziation blieb auch innerhalb der post- und premenopausalen Frauen bestehen. Im Gegensatz dazu, zeigte sich beim Vergleich mit der geschätzten Brassica-Aufnahme, die über die Daten des Lebensmittel-Häufigkeits-Fragebogens ermittelt wurde (also ohne Urinbestimmung der ITC's), zum ersten Quartil als Referenzwert, lediglich ein marginal protektiver Trend bei den postmenopausalen Frauen für die höchste Aufnahme im vierten Quartil OR 0.4 95% CI (0,2-1.0) P trend = 0,2. Um auch den Effekt der Phase- 2-Enzymaktivitäten zu untersuchen, wurde die Assoziation zwischen der ITC-Aufnahme und dem Brustkrebsrisiko für jeden Genotypen einzeln bestimmt. Es zeigte sich keine statistisch signifikante Interaktion, obwohl die Trends innerhalb der GSTM1- und GSTT1-Nulltypen, der A-Allele des GSTP1 Genotyps und auch der C-Allele von NQq1, konsistenter sind. (Daten wurden nicht gezeigt).

	<i>Cases</i>	<i>Controls</i>	<i>OR</i>	<i>95% CI</i>	<i>OR</i>	<i>95% CI</i>
<i>ITC</i>				<i>All subjects</i>		
Q1	104	87	1.0		1.0	
Q2	97	87	0.9	(0.6, 1.3)	0.9	(0.6, 1.4)
Q3	84	87	0.7	(0.4, 1.1)	0.7	(0.5, 1.1)
Q4	56	87	0.5	(0.3, 0.8)	0.5	(0.3, 0.8)
			$P_{trend} < 0.01$		$P_{trend} < 0.01$	
				<i>Postmenopausal subjects</i>		
Q1	36	35	1.0		1.0	
Q2	35	36	0.7	(0.3, 1.4)	0.7	(0.3, 1.7)
Q3	29	28	0.7	(0.3, 1.7)	0.7	(0.3, 1.9)
Q4	22	29	0.5	(0.2, 1.3)	0.6	(0.2, 1.7)
			$P_{trend} = 0.20$		$P_{trend} = 0.38$	
				<i>Premenopausal subjects</i>		
Q1	68	52	1.0		1.0	
Q2	62	51	0.9	(0.5, 1.6)	0.9	(0.5, 1.7)
Q3	55	59	0.7	(0.4, 1.3)	0.7	(0.4, 1.2)
Q4	34	58	0.4	(0.2, 0.8)	0.5	(0.2, 0.9)
			$P_{trend} = 0.01$		$P_{trend} = 0.01$	
<i>Brassica</i>				<i>All subjects</i>		
Q1	90	88	1.0		1.0	
Q2	85	87	0.9	(0.6, 1.4)	0.9	(0.6, 1.5)
Q3	96	86	1.1	(0.7, 1.7)	1.2	(0.8, 1.9)
Q4	70	87	0.7	(0.5, 1.2)	0.8	(0.5, 1.3)
			$P_{trend} = 0.36$		$P_{trend} = 0.79$	
				<i>Postmenopausal subjects</i>		
Q1	31	26	1.0		1.0	
Q2	34	30	1.0	(0.4, 2.4)	1.2	(0.4, 3.2)
Q3	32	32	0.7	(0.3, 1.8)	1.2	(0.4, 3.3)
Q4	25	40	0.4	(0.2, 1.0)	0.4	(0.1, 1.1)
			$P_{trend} = 0.02$		$P_{trend} = 0.07$	
				<i>Premenopausal subjects</i>		
Q1	59	63	1.0		1.0	
Q2	51	57	0.8	(0.5, 1.4)	0.8	(0.4, 1.4)
Q3	64	54	1.2	(0.7, 2.0)	1.2	(0.7, 2.0)
Q4	45	47	0.9	(0.5, 1.7)	1.0	(0.5, 1.8)
			$P_{trend} = 0.78$		$P_{trend} = 0.79$	

Tabelle 9: Breast cancer and urinary ITC excretion or Brassica intake (Quelle: Fowke et al., 2003, S. 3983)

5.4.3 Bewertung

Insgesamt konnte in dieser Studie ein Zusammenhang zwischen einer hohen Isothiozyanatkonzentration im Urin signifikant mit einem reduzierten Brustkrebsrisiko bei chinesischen Frauen assoziiert werden (pre- und postmenopausal). Die in die Studie einbezogenen Genotypen zeigten keine statistisch signifikanten Interaktionen.

In dieser Untersuchung wurde über einen validierten Fragebogen der Verzehr von einer Bandbreite von neun Kreuziferen erfragt, die in China üblich sind. Der Biomarker wurde ebenfalls vorab validiert und zeigte den gesamten Verzehr von Brassica, auch über einen längeren Zeitraum, wesentlicher genauer an.

5.5 Brassica Vegetables and Breast Cancer Risk

Die Autoren Terry et al (2001) untersuchten in einer landesweiten Fall-Kontroll-Studie in Schweden den Zusammenhang zwischen dem Verzehr von Brassica-Gemüse und dem Brustkrebsrisiko. Es handelt sich hier um eine Studie der Evidenzklasse 3 mit dem Härtegrad B.

5.5.1 Methodik

Für diese Untersuchung wurden postmenopausale Frauen im Alter von 50 und 74 Jahren, ausgewählt. Die im Zeitraum vom 1. Oktober 1993 bis zum 31. März 1995 an Brustkrebs erkrankten Frauen, wurden über sechs schwedische regionale Krebsregister identifiziert. Entsprechend der zu erwartenden Altersverteilung innerhalb der Krebsfälle, wurden die Kontrollpersonen gemäß dieser Altersverteilung willkürlich aus dem Einwohnermelderegister ausgewählt. Die Teilnahmequote an dieser Studie betrug für die an Brustkrebs erkrankten Frauen 84 % und für die Kontrollpersonen 82 %. Nach einem Ausschlussverfahren (es wurden diesbezüglich keine Angaben gemacht) standen insgesamt 2832 Krebspatientinnen und 2650 Kontrollpersonen für die Analysen zur Verfügung. Daten zu Lifestyle-Faktoren und Ernährungsverhalten wurden über einen Fragebogen erhoben. Der Ernährungsfragebogen enthielt 19 Items zu in Schweden üblicherweise verzehrten Gemüsesorten und Früchten, sowie andere 46 Nahrungsmittelitems. Die Probanden sollten angeben, wie oft sie im Durchschnitt diese Lebensmittel im letzten Jahr zu sich genommen hatten. Dabei gab es neun vorgegebene Antwortkategorien wie niemals/selten bis zu dreimal am Tag. Die Brassicagruppe umfasste Rotkohl, Chinakohl, Grünkohl, Brokkoli, Blumenkohl und Rosenkohl. Die Teilnehmerinnen wurden in Quartile eingeteilt, wobei das erste Quartil die geringste Brassicaaufnahme mit 0,2 Portionsgrößen pro Tag (Median) und das vierte Quartil die höchste Aufnahme mit 1,1 Portionsgrößen pro Tag (Median) betrug. Auch in dieser Studie sind keine Angaben über den durchschnittlichen täglichen Verzehr in Gramm an Kohlgemüse angegeben. Die Odds Ratio wurden mit einem multivariablen Modell unter Adjustierung für Brustkrebsrisikofaktoren, wie Alter, Größe, BMI, gegenwärtiges Rauchen, sozioökonomischer Status, Alkoholkonsum, Ballaststoffkonsum, Vitaminsupplemente, Hormonbe-

handlung, Krankengeschichte für gutartige Brustveränderungen, Familienanamnese für Brustkrebs, Alter bei Beginn der Menopause, Alter bei der ersten Geburt eines Kindes berechnet.

5.5.2 Ergebnis:

Es konnte kein Zusammenhang zwischen der gesamten Früchte- und Gemüseaufnahme und dem Risiko für Brustkrebs festgestellt werden. Bei der Analyse für die Brassicaaufnahme wurde jedoch eine inverse Assoziation mit dem Brustkrebsrisiko gezeigt (siehe Tabelle). Daraufhin wurde für den Brassicakonsum nochmals eine Analyse durchgeführt, indem der Verzehr in Dezile eingeteilt wurde. Dabei ergab sich ein Odds Ratio für die Frauen in der höchsten Dezile (10 %) der Brassicaaufnahme (1,5 Portionsgrößen/Tag), verglichen mit der niedrigsten Dezile (entspricht keinerlei Verzehr von Kohlgemüse) von 0,58 (95% CI 0,42-0,79), $P = .0,03$. Die Portionsgrößen wurden nicht in g/Tag definiert.

Odds Ratio (OR) of Breast Cancer According to Fruit and Vegetable Consumption					
	Fruit and Vegetable Consumption Quartiles				P Value
	1	2	3	4	
Total fruit and vegetable					
Median Servings per day	1.4	2.6	3.7	5.4	
No. of cases/controls	607/617	645/576	658/565	630/593	
Age Adjusted OR (95% CI)	1.0	1.13 (0.96-1.40)	1.16 (0.95-1.39)	1.07 (0.91-1.40)	.38
Multivariate OR (95% CI)	1.0	1.07 (0.88-1.29)	1.01 (0.83-1.23)	0.97 (0.80-1.18)	.61
Total fruit					
Median Servings per day	0.4	1.1	1.8	3.0	
No. of cases/controls	636/646	721/638	688/608	664/631	
Age Adjusted OR (95% CI)	1.0	1.14 (0.98-1.33)	1.15 (0.98-1.34)	1.06 (0.91-1.24)	.49
Multivariate OR (95% CI)	1.0	1.02 (0.85-1.23)	1.07 (0.88-1.29)	0.96 (0.79-1.17)	.81
Brassica vegetable †					
Median Servings per day	0.1	0.2	0.5	1.1	
No. of cases/controls	661/580	715/634	675/635	627/643	
Age Adjusted OR (95% CI)	1.0	0.98 (0.84-1.14)	0.92 (0.78-1.07)	0.84 (0.71-0.98)	.01
Multivariate OR (95% CI)	1.0	0.90 (0.75-1.09)	0.88 (0.72-1.07)	0.76 (0.62-0.93)	.01
Nonbrassica vegetable					
Median Servings per day	0.4	0.9	1.4	2.1	
No. of cases/controls	643/619	656/607	671/587	641/623	
Age Adjusted OR (95% CI)	1.0	1.06 (0.91-1.24)	1.10 (0.94-1.28)	1.05 (0.90-1.23)	.44
Multivariate OR (95% CI)	1.0	1.05 (0.87-1.26)	1.10 (0.90-1.34)	1.11 (0.90-1.36)	.28

† Brassica vegetables included cabbage, red cabbage, Chinese cabbage, kale, broccoli, cauliflower, and Brussels sprouts

Tabelle 10: Odds Ratio (OR) of Breast Cancer According to Fruit and Vegetable Consumption (Quelle: Terry et al., 2001, S. 2976)

5.5.3 Bewertung

Im Rahmen der Studie, zeigten sich keine allgemeinen Assoziationen für Obst und Gemüse. Bei Brassicagemüse sehen die Autoren allerdings eine deutliche negative Assoziation. Die Autoren leiten daraus die Hypothese ab, dass ein täglicher Verzehr von ein bis zwei Portionen Kohlgemüsearten das Brustkrebsrisiko um 20 % bzw. um 40 % reduzieren kann.

Wie bei jeder Fall-Kontrol-Studie besteht die Gefahr, dass systematische Fehler bei der Erfassung der Daten zur Ernährung, die Einschätzung des Krebsrisikos beeinflusst haben und eine Senkung des Risikos überschätzt wird.

5.6 Intake of Fruits and Vegetables and Risk at Breast Cancer , a pooled Analysis of Cohort Studies

Die Autoren A. Smith Warner et al (2002) untersuchten innerhalb des Pooling Projekt of Prospective Studies of Diet and Cancer, den Zusammenhang zwischen dem Konsum an Früchten und Gemüse und dem Risiko für Brustkrebs. Dabei wurde ein Zusammenhang in bezug auf bestimmte botanische Gruppen und für einzelne Früchte/Gemüse untersucht. In Hinblick darauf führten die Autoren eine kombinierte (gepoolte) Analyse von acht Kohortenstudien durch. Unter Verwendung der primären Daten jeder Kohortenstudie wurden die Verzehrmengekategorien und die Kovariaten standardisiert. Anschließend wurden die studienspezifischen relativen Risiken ermittelt und gepoolt. Diese Studie ist in die Evidenzklasse 2 b mit dem Härtegrad B einzustufen.

5.6.1 Methodik

Das Pooling Projekt of Prospective Studies of Diet and Cancer ist ins Leben gerufen worden, um Zusammenhänge zwischen Ernährungsfaktoren und dem Krebsrisiko mittels standardisierter Untersuchungsverfahren evaluieren zu können. Die in die Analyse bezogenen Kohortenstudien mussten bestimmte Kriterien erfüllen:

- innerhalb einer Kohorte müssen mindestens 200 Erkrankungen der zu untersuchenden Krebsart während der Nachbeobachtungszeit aufgetreten sein
- das allgemeine Ernährungsverhalten muss bei Beginn der Kohortenstudie erfasst worden sein, und zwar
- mit Hilfe einer vorab validierten Ernährungserhebungsmethode (meistens ein Lebensmittel-Häufigkeits-Fragebogen).

Es wurden folgende Kohortenstudien einbezogen: die Adventist Health Study, Canadian National Breast Screening Study, Iowa Women's Health Study, Netherlands Cohort Study, New York State Cohort, New York University Women's Health Study und die Sweden Mammography Cohort. Innerhalb der Nurse Health Study wurde das Ernährungsverhalten alle zwei Jahre erneut über einen Fragebogen erhoben. Der Fragebogen enthielt seit 1986 eine höhere Anzahl von items bezüglich der Früchte- und Obstaufnahme. Um dieses besser erfassen zu können, wurde die Studie in zwei Abschnitte a und b eingeteilt. Studie a berücksichtigt die Follow-up Periode von 1980 bis 1986, während die Studie b die Periode von 1986 bis 1996 einbezieht.

Die in den jeweiligen Kohorten eingesetzten Ernährungsfragebögen unterschieden sich einmal in der Anzahl der items, so daß zur Berechnung der Gemüse- und Früchteaufnahme die Daten der aufgelisteten items in den Lebensmittel-Häufigkeitsfragebögen gesammelt wurden. Da auch die Portionsgrößen innerhalb der Kohorten und Teilnehmerinnen variierten, wurden, um alle Untersuchungen vergleichen zu können, die angegebenen Mengen in Gramm/Tag kategorisiert. Um die riesige Datenmenge ohne großen Verlust der statistischen Aussagefähigkeit reduzieren zu können, wurde jede Kohorte als eingebettete Fall-Kontroll-Studie analysiert. Dabei wurden für jeden Krebsfall in der Teilnehmergruppe willkürlich 10 gleichaltrige Kontrollpersonen ohne Krebsdiagnose gewählt.

Bei der Canadian National Breast Screening Study und der Netherlands Cohort Study wurde abweichend vorgegangen. Innerhalb der Netherlands Cohort Study wurde eine Case-Kohorten-Analyse durchgeführt. Die Untersucher verwendeten in der Primärstudie der Canadian National Breast Screening Study bereits ein eingebettetes Fall-Kontroll-Studiendesign, wobei auf jeden Krebsfall zwei Kontrollpersonen ausgewählt wurden.

Unter Verwendung der primären Daten jeder Studie wurden die studienspezifischen relativen Risiken und die kombinierten relativen Risiken für die Assoziation bei Früchtekonsum, Fruchtsäfte, Früchte- und Fruchtsaftaufnahme, Gemüse, Gemüsesäfte, Gemüse- und Gemüsesaftkonsum und des gesamten Früchte- und Gemüsekonsums und dem Brustkrebsrisiko ermittelt. Weiter wurden verschiedene botanische Gruppen (z. B. Leguminosen etc.) sowie die Brassicagruppe gezielt untersucht, um möglich protektive Früchte und Gemüsegruppen, welche reichhaltige Quellen für bioaktive Phytochemicals sind, zu identifizieren. Es wurden nur die botanischen Gruppen analysiert, die in mindestens fünf Studien über den Ernährungsfragebogen erfasst wurden. Zusätzlich wurden 17 individuelle Früchte und Gemüse untersucht. Die Analysen wurden

als kontinuierliche Variable (100g/Tag) und als Quartile durchgeführt. Die Teilnehmerinnen wurden dazu in studienspezifische Quartile eingeteilt, die auf den Konsum der jeweiligen Kontrollgruppen und der Subkohorte aus den Niederlanden basierte. Der Konsum innerhalb der botanischen Gruppen und der individuellen Früchte/Gemüse, wurde als kontinuierliche Variable in 100g/Tag-Schritten analysiert. Die relativen Risiken wurden nach vorherigen Analysen für verschiedene Brustkrebsrisikofaktoren wie z. B. Einnahme von Hormonen, Alter bei der Erstgeburt eines Kindes, Rauchen, Familienanamnese für Brustkrebs, BMI, Gewicht etc. adjustiert. Zusätzlich wurde für die Ermittlung der relativen Risiken für Gemüse- und Fruchtgruppen und einzelne Ernährungsfaktoren evaluiert, ob ein sich im Laufe des jeweiligen Beobachtungszeitraums möglicherweise geänderter menopausaler Status Einfluss nimmt, da meistens nur bei der Basisuntersuchung der menopausale Status erfragt wird und für die Dauer der Nachbeobachtung bestehen bleibt

5.6.2 Ergebnis:

Insgesamt wurden 7377 invasive Brustkrebserkrankungen, die in einer Gruppe von 351.825 Frauen auftraten, in die Analyse einbezogen. Die Tabelle zeigt die Charakteristika der verschiedenen Kohorten.

Characteristics of the Cohort Studies Included in the Pooled Analysis of Fruit and Vegetable Intake and Breast Cancer

Study	Years of Follow-up	Baseline Cohort, No.	Age Range at Baseline, y	No. of Cases	Total Fruits		Total Vegetables	
					No. of Questions	Median Intake, g/d	No. of Questions	Median Intake, g/d
Adventist Health Study	1976-1982	15 172	28-90	160	7	355	6	162
Canadian National Breast Screening Study	1982-1987	56 837	40-59	419	6	327	15	226
Iowa Women's Health Study	1986-1995	34 406	55-69	1130	15	342	31	196
Netherlands Cohort Study	1986-1992	62 412	55-69	937	12	206	25	164
New York State Cohort	1980-1987	18 475	50-93	367	8	297	23	189
New York University Women's Health Study	1985-1994	14 006	34-65	385	11	293	17	198
Nurses' Health Study (a)	1980-1986	89 046	34-59	1023	6	284	13	155
Nurses' Health Study (b)	1986-1996	68 817	40-65	1638	21	336	33	262
Sweden Mammography Cohort	1987-1997	61 471	40-76	1318	4	164	5	77

Tabelle 11: Characteristics of the Cohort Studies (Quelle: Smith-Warner et al., 2001, S. 771)

Beim Vergleich der höchsten Quartile gegen die niedrigste Quartile aller fünf Gruppen (Früchte- Fruchtsaft, gesamte Früchteaufnahme, gesamte Gemüseaufnahme und gesamte Gemüse/Früchteaufnahme) konnten nur sehr schwache, nicht signifikante Assoziationen aufgezeigt werden. Es ergab sich für den gesamten Konsum von Früchten ein gepooltes multivariates RR von 0,93 (95% CI 0,86 – 1,00; P für Trend = .08, gesamten Gemüsekonsum RR= 0,96, CI (0,89 – 1,04; P für Trend = .54 und gesamten Gemüse/Früchtekonsum (RR = 0,93; CI, 0,86 – 1,00; P für Trend = .12) Ferner wurde untersucht, ob sich ein Effekt bei einem sehr hohen Obst- und Gemüseverzehr zeigte, indem man den Konsum in Dezile einteilte. Es zeigte sich keine Änderung der Ergebnisse, wenn man den Konsum nochmals mit den höchsten Dezilen gegen die niedrigsten Dezile verglich (Daten wurden nicht angegeben).

Innerhalb der botanischen Gruppen konnte ebenfalls keine Assoziation mit dem Risiko für Brustkrebs gefunden werden. Für Brassica zeigte sich ein gepooltes multivariates relatives Risiko von 0,96 (0,87 – 1,06). Allerdings war von dieser Analyse die Adventist Health Study ausgeschlossen, da keine Items für Brassica auf dem Ernährungsfragebogen aufgelistet waren. Auch einzelne Früchte und Gemüse zeigten keine signifikante Assoziation mit dem Brustkrebsrisiko. Für diese Analyse wurden standardisierte Portionsgrößen (Gewicht pro Gramm) verwendet. Für eine Portionsgröße Brokkoli (78g) zeigte sich ein relatives Risiko von 0,86 (CI 0,72-1,02). Für eine Portionsgröße Rosenkohl (30g) zeigte sich ein relatives Risiko von 0,67 (CI 0,35-1,27).

5.6.3 Bewertung

Die Ergebnisse dieser Studie lassen keinen Hinweis erkennen, dass ein erhöhter Konsum an Gemüse und Früchten signifikant das Brustkrebsrisiko senkt.

Es ist innerhalb dieser Untersuchung schwierig zu ermitteln, ob einzelne Gemüse und Früchte ein potentielles Präventionspotential gegen Krebs besitzen. Ein Grund ist, dass innerhalb der untersuchten Studien nur in begrenzter Anzahl nach spezifischen Gemüse gefragt wurde. Es war folglich davon abhängig, welche Gemüse in die Subgruppenanalyse einfließen.

Bei der Ermittlung des relativen Risikos für einzelne Gemüse und Brustkrebs, konnten nicht immer Daten aus allen Kohortenstudien einfließen, z. B. wurde der Verzehr von Brokkoli in drei Kohortenstudien nicht erfragt. Infolgedessen können die Interpretationen für spezifische Gemüse stärker begrenzt sein. Es konnte keine statistisch signifikante Assoziation für die Subgruppen oder einzelne Gemüse gefunden werden.

Die Autoren dieser Untersuchung nahmen auch Stellung (JAMA, 2001, S2977) Stellung zu der in 5.5 dargestellten schwedischen Fall-Kontroll-Studie. Nach den Ergebnissen dieser Studie wurde angenommen, daß ein regelmäßiger Verzehr von Kohlgemüsen das Brustkrebsrisiko um ca. 25 % senken kann. Die Autoren widersprechen den aus der schwedischen Studie abgeleiteten Annahmen. Bei der kombinierten Auswertung von acht Kohortenstudien, mit mehr als 7000 Brustkrebserkrankungen, konnten sie keine statistisch signifikanten Assoziationen feststellen. Die Autoren schließen jedoch nicht aus, dass ein hoher Kohlverzehr das Brustkrebsrisiko moderat senken könnte.

6 Schlusdiskussion

Nach dem gegenwärtigen Stand der Forschung, wird davon ausgegangen, dass die Krebsentstehung über einen langen Zeitraum abläuft. Die Kanzerogenese ist ein komplexer Prozess, bei dem zahlreiche Faktoren eine Rolle spielen. Die Wissenschaft hat in einem vereinfachten Modell die Kanzerogenese in drei wesentliche Phasen aufgeteilt. Ausgangspunkt in der Initiationsphase sind Beschädigungen der DNA. Wird der DNA-Schaden nicht durch körpereigene Reparaturmechanismen behoben, kann er bei der nächsten Zellteilung weitergegeben werden. Die schädigenden Prozesse der ersten Phase, der Initiation, können in einem kurzen Zeitraum ablaufen. In der zweiten Phase, der Promotion, können sie sich dagegen über Jahrzehnte hinziehen. Hier wird das Wachstum der veränderten Zelle durch Einwirkung von Promotoren gefördert. Am Ende steht die Progressionsphase, in der die vorgeschädigte Zelle in eine invasiv wachsende Tumorzelle umgewandelt wird.

Die Untersuchungen zu den Glucosinolaten bzw. deren Derivate haben gezeigt, dass sie in der Initiationsphase Beschädigungen der DNA verhindern können. Sie können Phase-1- Enzyme hemmen und Phase-2-Enzyme aktivieren. Dadurch wird die Umwandlung von inaktiven Prokanzerogenen zu aktiven Kanzerogenen verhindert bzw. herabgesetzt. Bereits aktivierte Kanzerogene werden beschleunigt abgebaut. Zusätzlich können Glucosinolatderivate indirekt antioxidativ wirken, indem sie Zellen vor hochreaktiven Sauerstoff schützen. In der Promotionsphase können sie das Zellwachstum hemmen, indem sie verstärkt den programmierten Zelltod von geschädigten Zellen einleiten. Außerdem können sie die Zellteilung hemmen, die Zelldifferenzierung verstärken, den Hormonstoffwechsel beeinflussen oder Signalübertragungsschritte hemmen. Aus diesen Wirkungsmechanismen wird die Annahme abgeleitet, dass die Glucosinolatbauprodukte eine krebspräventive Wirkung besitzen. Die Annahmen konnten in Labor- und Tierversuchen bestätigt werden. Auch bei einigen Interventionsstu-

dien am Menschen konnte, anhand von Biomarkern, auf eine krebspräventive Wirkung geschlossen werden. Diese theoretischen Annahmen müssen in der Praxis überprüft werden. Der praktische Nachweis kann u. a. durch epidemiologische Studien durchgeführt werden.

Für die Bewertung der Qualität und Aussagekraft von Studien wurde das Evidenzklassenschema entwickelt. Die vorgestellten Studien sind in die Evidenzklassen 2 und 3 einzustufen. Die Studien besitzen damit eine geringere Aussagekraft bezüglich der methodischen Qualität und Aussagefähigkeit. Zur Fragestellung liegen keine in Evidenzklasse 1 einzuordnenden Studien wie (z. B. randomisierte klinisch kontrollierte Studien) vor. Diese Tatsache ist damit zu erklären, dass die für Evidenzklasse 1 definierte methodische Qualität, im Hinblick auf Krebserkrankungen kaum möglich ist. Die Latenzzeit für Krebs kann 10 bis 15 oder mehr Jahre betragen. Klinisch kontrollierte Studien sind aus methodischen, ethischen und finanziellen Gründen, für diese Fragestellung in der Praxis nicht durchführbar. In diesem Zusammenhang wächst daher auch die Kritik an der eindimensionalen Evidenzklassifizierung (*DGE info 9/2002, S.134*).

Im Rahmen dieser Arbeit wurden sechs Studien untersucht, die zu unterschiedlichen Krebsarten durchgeführt wurden. Methodisch besser wäre ein Vergleich von Studien zu einer Krebsart gewesen. Bei den Recherchen zu dieser Arbeit ergab sich jedoch, dass im Zusammenhang mit der Fragestellung nur wenige Studien vorliegen. Aus den vorliegenden Studien wurden daher je drei Studien zum Dickdarmkrebs und Brustkrebs vorgestellt.

Die Ergebnisse der vorgestellten Studien zeigen ein uneinheitliches Bild der präventiven Wirkung von Glucosinolatderivaten. Zwei der vorgestellten Kohortenstudien 5.1 und 5.6 konnten keinen eindeutigen protektiven Effekt der Glucosinolatderivate feststellen. Die Studie 5.1 umfasste eine große Anzahl an Probanden über einen langen Beobachtungszeitraum bis zu 16 Jahren (Nurse Health Study) Damit erscheint die Studie gut geeignet, um mögliche Assoziationen aufzudecken. Zudem wurde in der Studie das Ernährungsverhalten der Probanden in zeitlichen Abständen von zwei Jahren über einen Fragebogen erfasst. Bei anderen Kohortenstudien erfolgten die Befragungen lediglich zu Studienbeginn. Die Autoren der Studie 5.6, einer gepoolten Analyse von acht Kohortenstudien, konnten in der Gesamtbetrachtung keinen Zusammenhang zwischen dem Verzehr von Obst und Gemüse und einer protektiven Wirkung gegen Brustkrebs feststellen. Dem gegenüber sehen die Autoren (*Ambrosone et al., 2004, S.1134*) bei Einzelbetrachtung der Ergebnisse dieser Studie, zu Brokkoli und Rosenkohl inverse Assoziationen, die jedoch statistisch nicht signifikant sind. Die wider-

sprüchliche Bewertung der Studie ist damit erklärbar, dass die Autoren der Studie 5.6 einen rein statistischen Maßstab anlegten, bei dem sich keine signifikanten Assoziationen ergaben. Dagegen betrachten die Autoren Ambrosone et al isoliert die Ergebnisse zu Brokkoli und Rosenkohl und sehen jenseits von statistischen Maßstäben ein Hinweis für eine protektive Wirkung.

Die niederländische Kohortenstudie 5.2. in bezug auf Dickdarmkrebs konnte einen starken inversen Zusammenhang zwischen Kohlgemüse und Kolonkrebs bei beiden Geschlechtern finden. Auffällig jedoch war eine nicht erklärbare starke positive Assoziation von: RR 1,66 (CI 0,94 – 2,94). also eine krebsfördernde Wirkung im Zusammenhang von Rektalkrebs und dem Verzehr von Kohlgemüse bei Frauen, während bei den Männern eine negative Assoziation vorlag: RR 0,88 (CI 0,56 – 1,39). Es ist davon auszugehen, dass diese starke Abweichung nicht im Zusammenhang mit dem Verzehr von Kohlgemüse steht, weil sich bei der Auswertung aller anderen Studien keine vergleichbaren Werte ergeben haben.

Bei einer Gesamtschau der Kohortenstudien (Evidenzklasse 2) zeigen sich nur in der Studie 5.2. gewisse Anhaltspunkte für eine protektive Wirkung. Nach den von der Forschung angenommenen protektiven Wirkungen, erscheinen die gezeigten Ergebnisse zunächst enttäuschend. Eine tatsächliche relative Risikosenkung durch den Verzehr von Glucosinulaten ist nur schwach erkennbar. Bei den Studienergebnissen ist jedoch zu berücksichtigen, dass diese durch systematische Fehler verzerrt werden können. So können Unzulänglichkeiten bei der Befragung der Probanden Auswirkungen auf das Ergebnis haben. Bei den eingesetzten Fragebögen wurde der Verzehr von einzelnen glucosinolathaltigen Lebensmitteln nicht immer explizit abgefragt. Die aufgenommenen Mengen einzelner Gemüse mussten von den Probanden für die Vergangenheit geschätzt werden. Es ist für die Probanden oft schwierig, Portionsgrößen selbst einzuschätzen. Dadurch kann es zu einer Fehlbewertung der aufgenommenen tatsächlichen Mengen kommen, die die Ergebnisse beeinflussen können.

Die Fall-Kontroll-Studien 5.3, 5.4 und 5.5 zeigen sich deutlichere Zusammenhänge zwischen dem Verzehr von Kohlgemüse und dem Krebsrisiko. Die Studie 5.3 ist eine eingebettete Fall-Kontroll-Studie. Bei ihr konnte eine protektive Assoziation bei einer hohen versus niedrigen Kohlgemüseaufnahme in bezug auf das Dickdarmkrebsrisiko von RR 0,81 (CI 0,58 – 1,36) gefunden werden. Bei der Fall-Kontroll-Studie 5.4 wurde neben der Erfassung über Fragebögen, die Menge der aufgenommenen Glucosinolat-derivate zusätzlich über einen Biomarker (Bestimmung der Isothioncyanatkonzentration im Urin) exakt bestimmt. Neben der subjektiv geschätzten Aufnahmemenge durch

die Probanden, stand damit ein objektiver Messwert zur Verfügung. Bei der höchsten über den Biomarker ermittelten Isothioyanataufnahme ergab sich mit einem OR 0,5 (CI 0,3-0,8) eine stark ausgeprägte negative Assoziation. Im Gegensatz dazu ergab sich im Vergleich bei der subjektiven Einschätzung der höchsten Aufnahmemengen im Fragebogen, nur ein OR von 0,7 (CI 0,5 –1,13) Die Fall-Kontroll-Studie 5.4 zeigte bei einer hohen Kohlgemüseaufnahme ein OR von 0,84 (CI 0,71 – 0,98) auf.

Die Ergebnisse der Fall-Kontroll-Studien zeigen deutlichere protektive Assoziationen als die Kohortenstudien. Bei der Bewertung ist zu berücksichtigen, dass die Ergebnisse von Fall-Kontroll-Studien durch das abweichende Studiendesign beeinflusst werden können. Bei Fall-Kontroll-Studien ist die Teilnehmerzahl wesentlich geringer. Die ausgewählte Kontrollgruppe kann im Hinblick auf ihre Ernährungsgewohnheiten gegenüber dem Bevölkerungsdurchschnitt weniger repräsentativ sein, wenn man den Umstand berücksichtigt, dass gesundheitsbewusste Probanden eher bereit sind an einer Studie teilzunehmen als weniger gesundheitsbewusste. Bei einer insgesamt geringeren Teilnehmerzahl (Datenbasis) kann diese unterschiedliche Teilnahmebereitschaft eher zu einer Verzerrung der Ergebnisse führen. Die Teilnahmebereitschaft bei bereits an Krebs Erkrankten ist dagegen oft höher, da sie sich mit den möglichen Ursachen ihrer schweren Krankheit auseinandersetzen. Aufgrund der Tatsache, dass die Probanden bereits erkrankt sind, ist es schwierig zu differenzieren, ob das angegebene Ernährungsverhalten für die Vergangenheit typisch ist oder sich erst nach Feststellung der Krankheit geändert hat. Die Fall-Kontroll-Studien werden u.a. aus diesen genannten Gründen in die Evidenzklasse 3 eingestuft.

Die Ergebnisse aller Studien können zudem durch Confounding (Störgrößen) beeinflusst werden. Im Ergebnis erkennbare protektive Assoziationen können danach auch darauf zurückzuführen sein, dass andere Nährstoffe mit dem vermuteten protektiven Nahrungsmittelinhaltsstoff korrelieren. So enthält Kohl nicht nur Glucosinolate, sondern auch zahlreiche andere sekundäre Pflanzenstoffe, Vitamine, Milchsäurebakterien, Mineralstoffe, Ballaststoffe etc. Durch eine mögliche Mitwirkung von Confounders ist ein alleiniger kausaler Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Glucosinolaten und einer präventiven Wirkung nicht abzuleiten. Im Umkehrschluss ist die in einigen Studien erkennbare Tendenz zu einem erhöhten Krebsrisiko bei geringer Aufnahme von Glucosinolaten nicht allein auf die geringere Menge zurückzuführen. Auch hier können korrelierende Störgrößen wie Rauchen, Alkohol, Übergewicht, Fett, Hormoneinnahmen etc. die Studienergebnisse beeinflusst haben. Daneben können möglicherweise noch andere Einflussfaktoren und Wechselwirkungen bestehen, die zur Zeit noch unbekannt sind.

Die Betrachtung aller Studien und ihrer Ergebnisse zeigt, dass eine präventive Wirkung von Glucosinolaten gegen Krebserkrankungen nicht mit statistischer Signifikanz nachgewiesen werden konnte. Die Kohorten-Studien belegen nur eine geringe tatsächliche Senkung des Krebsrisikos. Die relativen Schätzwerte (Odds-Ratio) der Fall-Kontroll-Studien zeigen zwar eine mehr ausgeprägte, aber immer noch nur geringe Tendenz für eine Risikominderung. Allerdings besitzen die hier untersuchten Studien der Evidenzklasse 2 und 3 nur eine geringe Aussagekraft. Wie oben dargestellt, werden bei allen untersuchten Studien die Ergebnisse, durch systematische Fehler, confounding, unbekannte multiple Faktoren und Wechselwirkungen, beeinflusst. Erst mit neuen Studien, die über einen anderen Ansatz in Methodik und Systematik, die genannten Fehlerquellen beseitigen könnten, wären klarere Ergebnisse möglich. So könnte z.B. durch den Einsatz von Biomarkern, eine möglicherweise vorhandene Dosis-Wirkungs-Beziehung nachgewiesen werden. Die Untersuchungen dieser Arbeit haben gezeigt, dass noch erhebliche Erkenntnislücken zu SPS in Bezug auf Wechselwirkungen, Aufnahme, Wirkorte, individueller genetischer Faktoren usw. bestehen. Nach wissenschaftlichen Maßstäben, ist damit die Beurteilung einer Kausalität nur im Hinblick auf Glucosinolate noch nicht möglich.

Neben den rein wissenschaftlichen Aspekten stellt sich die Frage, welche Empfehlungen die Ernährungswissenschaft dem Verbraucher in der Praxis geben kann. Die aufgezeigten „Indizien“ für eine krebspräventive Wirkung, rechtfertigen gegenüber dem Verbraucher den Hinweis auf eine vermutete präventive Wirkung, im Zusammenhang mit dem regelmäßigen Verzehr von Kohlgemüse. Es gilt dabei eine differenzierte Sicht zu vermitteln. Wir haben es hier nicht mit einer „Wunderwaffe“ gegen Krebs zu tun, sondern mit einem Aspekt, der im Rahmen einer gesunden Ernährung langfristig hilfreich sein kann.

Literaturverzeichnis

Ambrosone, C.B. et al.: Breast Cancer Risk in Premenopausal Women is inversly Associated with Consumption of Broccoli, a Source of Isothiocyanates, but is not modified by GST Genotype. In.: Nutrition and Cancer 134: 1134 –1138 (2004).

Biesalski, H.K. et al (Hrsg.): Ernährungsmedizin 2. Auflage . Thieme, Stuttgart 2004.

Conaway, C.C. et al.: Isothiozyanates as Cancer Chemopreventive Agents: Their Biological Activities and Metabolism in Rodents and Humans.In: Current Drug Metabolism Vol.3 /3), 233 255 (2002)

Dos Santos Silva , International Agency for Research on Cancer (Hrsg.);, I.: Cancer

Eisenbrand, G. et al (Hrsg): Deutsche Forschungsgemeinschaft , Krebsfördernde und krebshemmende Faktoren in Lebensmitteln, Mitteilung 5. WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim 2000

Epidemiology: Principles and Methods. IARC Press, Spain 1999.

Fowke, J.H. et al.: Urinary Isothiozynthate Levels, Brassica, and Human Breast Cancer. In.: Cancer Research Vol 63 July 15, 3980 –3986 (2003).

Fowke, J.H.: Brassica Vegetable Consumption Shifts Estrogen Metabolism in Healthy Postmenopausal Women. In.: Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention Vol 9, August 2000, 373 –379 (2000).

Ganten, D. et al (Hrsg.): Tumorerkrankungen. Springer Verlag, Berlin Heidelberg 199

Gao, X. et al. : Powerful and prolonged protection of human retinal pigment epithelial cells, keratinocytes, and mouse leukemia cells against oxidative damage : The indirect antioxidant effects of sulforaphane.In. : PNAS Vol 98, Dezember 18, 15221-15226 (2001).

Gerhäuser, C.: Flavonoide und andere pflanzliche Wirkstoffe. Aktuelle Ernährungsmedizin 26: 137-143 (2001 b).

Gerhäuser, C.: Mechanismen der Krebsentstehung- Ansatzpunkte für die Krebs-Chemoprävention. Ernährungs-Umschau 48 Sonderheft, 48-51 (2001 a).

Gordes, L. Epidemiologie. Verlag im Kielan. Marburg 2001

Großklaus, R.: Sekundäre Pflanzenstoffe -Was ist beim Menschen wissenschaftlich hinreichend gesichert?. Aktuelle Ernährungsmedizin 25 227 – 237 (2000).

Hamm, M.: Die 13 Wächter. Knauer, München 2003.

Handbook of Experimental Pharmacology Volume 156, 2003.

Kasper, H.: Ernährungsmedizin und Diätetik. Urban & Fischer, München 2000.

Keck, F.: Cruciferous Vegetables and Cancer Protection. In.: Integrative Cancer Therapies 3(1); 2004.

Lampe, J.W. et al.: Brassica, Biotransformation and Cancer Risk: Genetic Polymorphisms Alter the Preventive Effects of Cruciferous Vegetables. In: Journal of Nutrition 132: 2991-2994, (2002).

Lauterbach, K.W. et al (Hrsg). Gesundheitsökonomie, Qualitätsmanagement und Evidence-based Medicine. Stuttgart (Schattauer) (2001).

Leitzmann, C; Müller C. et al.: Ernährung in Prävention und Therapie. Hippokrates, Stuttgart 2003.

Michel, K.B. et al.: Prospective Study of Fruit and Vegetable Consumption and Incidence of Colon and Rectal Cancers. In.: Journal of the National Cancer Institute Vol 92: 1740 –52 (2000).

Murillo, G. et al.: Cruciferous Vegetables and Cancer Prevention. In.: Nutrition and Cancer, Vol 41 (1 & 2), 17-28 (2001).

Schneider, R.: Vom Umgang mit Zahlen und Daten. Eine praxisnahe Einführung in die Statistik und Ernährungsepidemiologie. Frankfurt am Main (Umschau Zeitschriftenverlag) 1997.

Seow, A. et al.: Dietary isothiocyanates, glutathione S-transferase polymorphisms and colorectal cancer risk in the Singapore Chinese Health Study. In.: Carcinogenesis Vol 23, 2055 – 2061 (2002).

Smith-Warner, S.A. et al.: Intake of Fruits and Vegetables and Risk of Breast Cancer, Pooled Analysis of Cohort Studies. In.: JAMA Vol. 285, February 14, 769 –776 (2001).

Stangl, G.I.: Krebserkrankungen und präventives Potenzial der Ernährung, Teil 1: Mechanistische Wirkungen von Ernährungsfaktoren am Beispiel des Mammakarzinoms. Ernährungs-Umschau 48: 268 –273 (2001).

Stangl, G.I.: Krebserkrankungen und präventives Potenzial der Ernährung, Teil 2: Sekundäre Pflanzenstoffe und Mammakarzinom. Ernährungs-Umschau 48: 318- 322 (2001).

Steinkellner, H. et al.: Effects of cruciferous vegetables and their constituents on drug metabolizing enzymes involved in the bioactivation of DNA-reactive dietary carcinogens. In.: Mutation Research 480-481; 285 –297 (2001).

Talalay, P. et al.: Phytochemicals from Cruciferous Plants Protect against Cancer by Modulating Carcinogen Metabolism. Journal of Nutrition. 131:3027 – 3033 (2001).

Terry, P. et al.: Brassica Vegetables and Breast Cancer Risk. In.: JAMA Vol 285 June 20, 2975 –76 (2001).

Vaino, H.U.; Hietanen, E.K.: Mechanisms in Carcinogenesis and Cancer Prevention.

Van Poppel, G. et al.: Brassica vegetables and cancer prevention: Epidemiology and Mechanisms: In.: Advances in Experimental Medicine and Biology. 472: 159-168 (2000).

Voorrips L.E. et al.: Vegetable and Fruit Consumption and Risks of Colon and Rectal Cancer in a Prospective Cohort Study, The Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer. In.: American Journal of Epidemiology Vol 152: 1081 – 92 (2000).

Watzl, B.: Glucosinolate. Ernährungsumschau 48: 330-333 (2001 b).

Watzl, B.: Krebsprotektive Nahrungsinhaltstoffe. Ernährungs-Umschau 48 Sonderheft, 52 -54 (2001 a).

Watzl, B; Leitzmann, C.: Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln. Hippokrates, Stuttgart 1999.

Zusammenfassung

Die vorliegende Diplomarbeit untersucht die von der Forschung angenommenen krebopräventiven Wirkungen von Glucosinolaten. Glucosinolate gehören zu den sekundären Pflanzenstoffen und sind überwiegend in Kohlgemüse enthalten.

Im Rahmen der Arbeit wird die Kanzerogenese mit ihren einzelnen Phasen und den jeweiligen Einflussfaktoren vereinfacht dargestellt. Die Glucosinolate werden in ihrer chemischen Grundstruktur vorgestellt und im Hinblick auf ihre antikanzerogene Wirkung in den unterschiedlichen Phasen der Kanzerogenese untersucht. Unter Berücksichtigung der Evidenzeinteilung der Evidenz-basierten Medizin werden sechs aktuelle epidemiologische Studien vorgestellt und ausgewertet, die sich u.a. mit den Zusammenhängen von Glucosinolataufnahme und präventiven Wirkungen bei verschiedenen Krebsarten beschäftigen. Die Ergebnisse der Studien werden den Annahmen der Forschung gegenübergestellt.

Abstract

The present diploma examines the cancer-preventive effects of Glucosinolates assumed by the research. Glucosinolates belong to the Phytochemicals and are mainly in cabbage vegetables contained.

In this diploma, the Carcinogenesis with her individual phases and the respective influential factors are simplified represented. The Glucosinolates are introduced in their chemical basic structure and are examined for their protective effect against cancer with reference in the different phases of the Carcinogenesis. Under consideration of the categories of the evidence-based medicine, six current epidemiological studies are introduced and appraised. The studies examine the connections of reception of Glucosinolates and preventive effects with different cancer types. The results of the studies are compared with the assumptions of the research.

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere, dass ich vorliegende Arbeit ohne fremde Hilfe selbstständig verfasst und nur die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe. Wörtlich oder dem Sinn nach aus anderen Werken entnommene Stellen sind unter Angabe der Quelle kenntlich gemacht.

Norderstedt, den 24. Oktober 2004

Annegret Kummerfeldt