



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Apoptose – der programmierte Zelltod
und mögliche Zusammenhänge mit Ernährungsfaktoren

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer.nat.)

Verfasserin / Verfasser: Katharina Petter

Matrikel-Nummer: 0048243

Studienrichtung /Studienzweig Ernährungswissenschaften
(lt. Studienblatt):

Betreuerin / Betreuer: Univ.-Prof. Dr. Jürgen König

Wien, im September 2009

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Apoptose	3
2.1 Definition und Morphologie	3
2.2 Physiologische und pathologische Bedeutung.....	5
2.3 Biochemische Mechanismen	6
2.3.1 Der extrinsische Apoptosesignalweg	6
2.3.2 Der intrinsische Apoptosesignalweg	7
2.3.3 Der ER-Stress-Signalweg	7
2.3.4 Die Caspase-Kaskade	8
2.3.5 Regulatoren der Apoptose.....	8
2.3.5.1 Bcl-2-Proteine	8
2.3.5.2 p53.....	8
2.3.5.3 NF- κ B	9
2.3.5.4 Akt	9
2.3.5.5 IAPs.....	9
3. Apoptoseassoziierte Ernährungsfaktoren	13
3.1 Resveratrol.....	13
3.1.1 Mechanismus	14
3.1.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit	16
3.1.3 Fazit.....	19
3.2 Epigallocatechin-3-gallat.....	20
3.2.1 Mechanismus	20
3.2.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit	22
3.2.3 Fazit.....	23
3.3 Glucosinolate	25
3.3.1 Mechanismus	26
3.3.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit	39
3.3.3 Fazit.....	31

3.4 Genistein.....	32
3.4.1 Mechanismus	32
3.4.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit	34
3.4.3 Fazit.....	36
3.5 Quercetin	37
3.5.1 Mechanismus	37
3.5.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit	38
3.5.3 Fazit.....	40
3.6 Curcumin	41
3.6.1 Mechanismus	41
3.6.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit	44
3.6.3 Fazit.....	45
3.7 Luteolin	46
3.7.1 Mechanismus	46
3.7.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit	47
3.7.3 Fazit.....	48
3.8 Maslinsäure	50
3.8.1 Mechanismus	50
3.8.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit	51
3.8.3 Fazit.....	52
3.9 Folsäure.....	53
3.9.1 Mechanismus	53
3.9.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit	55
3.9.3 Fazit.....	55
4. Diskussion und Schlussbetrachtung.....	56
5. Zusammenfassung	61
6. Summary	63
7. Literaturverzeichnis.....	65

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturelle Veränderungen während der Nekrose und der Apoptose.....	4
Abbildung 2: Intrinsischer und extrinsischer Signalweg	10
Abbildung 3: Verschiedene Stimuli induzieren Apoptose durch die Aktivierung von BH3-only-Proteinen	11
Abbildung 4: Aktivierung der Caspasen.....	12

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Resveratrolgehalte verschiedener Lebensmittel.....17

Tabelle 2: Glucosinolatgehalte verschiedener Pflanzenarten.....29

Tabelle 3: Quercetingehalte verschiedener Lebensmittel.....39

1. Einleitung

Apoptose ist der programmierte Zelltod, also das genetisch kontrollierte Absterben einer einzelnen Zelle. Sie ist für den menschlichen Organismus essentiell, da sie überalterte, geschädigte oder mutierte Zellen eliminiert. Jede Sekunde begehen mehrere Millionen Zellen im menschlichen Körper Selbstmord. Wichtig ist dabei das Gleichgewicht zwischen Zellproliferation und Zelltod: Ist die Regulation der Apoptose gestört, kann es zu verschiedenen Erkrankungen kommen.

Von besonders großem Interesse ist der programmierte Zelltod für die Onkologie. Können mutierte Zellen nicht mehr durch Apoptose entfernt werden, kommt es zu unkontrolliertem Zellwachstum und zur Entstehung von Tumoren. Ein Ziel der Krebsbehandlung ist es daher, kontrollierte Apoptose bei entarteten Zellen zu induzieren.

Exzessive Apoptose führt hingegen zu massivem Zellverlust. Zu Krankheiten mit erhöhtem Zellsterben zählen neurodegenerative Erkrankungen wie Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson, das Creutzfeld-Jakob-Syndrom und die Multiple Sklerose. Außerdem ist die Apoptoserate bei Gehirnschlag, Herzinfarkt und Autoimmunerkrankungen wie AIDS (erworbenes Immundefektsyndrom) deutlich erhöht.

In zahlreichen Studien wurde bereits der Zusammenhang zwischen Ernährung und Krebs untersucht. Vielen Obst- und Gemüsesorten werden chemopräventive Eigenschaften zugeschrieben. Wesentlich scheinen hierfür neben den Ballaststoffen die sekundären Pflanzenstoffe zu sein. Einer der für die Krebsprävention verantwortlichen Mechanismen könnte die Apoptose sein.

Folsäuremangel wird hingegen mit Hyperhomocysteinämie und diese wiederum mit neurodegenerativen Erkrankungen in Verbindung gebracht. Möglicherweise beruht der Effekt auch auf einer erhöhten Apoptoserate.

Diese Arbeit soll die Verbindung zwischen dem programmierten Zelltod und den verschiedenen Ernährungsfaktoren, die Apoptose beeinflussen können, darstellen. Dabei sollen sowohl die Wirkungsmechanismen der einzelnen Substanzen untersucht werden, als auch die für die Wirkung notwendigen Konzentrationen, die schließlich mit den Gehalten im Lebensmittel sowie ihrer Bioverfügbarkeit verglichen werden.

2. Apoptose

2.1. Definition und Morphologie

Apoptose oder der programmierte Zelltod beschreibt das geordnete und genetisch kontrollierte Absterben einer einzelnen Zelle. Im Gegensatz zur Nekrose, der pathologischen Form des Zelltods, die meist eine Zellgruppe betrifft und mit einer Entzündungsreaktion einhergeht, repräsentiert Apoptose den physiologischen Zelltod.

Der Begriff Apoptose wurde 1972 von Kerr et al. geprägt, nachdem ihnen aufgefallen war, dass das Absterben verschiedener Zellen und Gewebe in unterschiedlichen Situationen immer die gleichen morphologischen Veränderungen hervorruft. Es handelt sich um ein Kunstwort aus dem Altgriechischen, welches das Herabfallen von Blütenblättern oder Blättern vom Baum beschreibt.

Bei der Apoptose schrumpft die Zelle zunächst unter Erhaltung ihrer Membranintegrität, das nukleäre Chromatin kondensiert und Membranblasen werden ausgeformt und abgeschnürt. Schließlich wird der Zellkadaver binnen kurzer Zeit durch Phagocytose von Makrophagen aufgenommen [KERR et al., 1972].

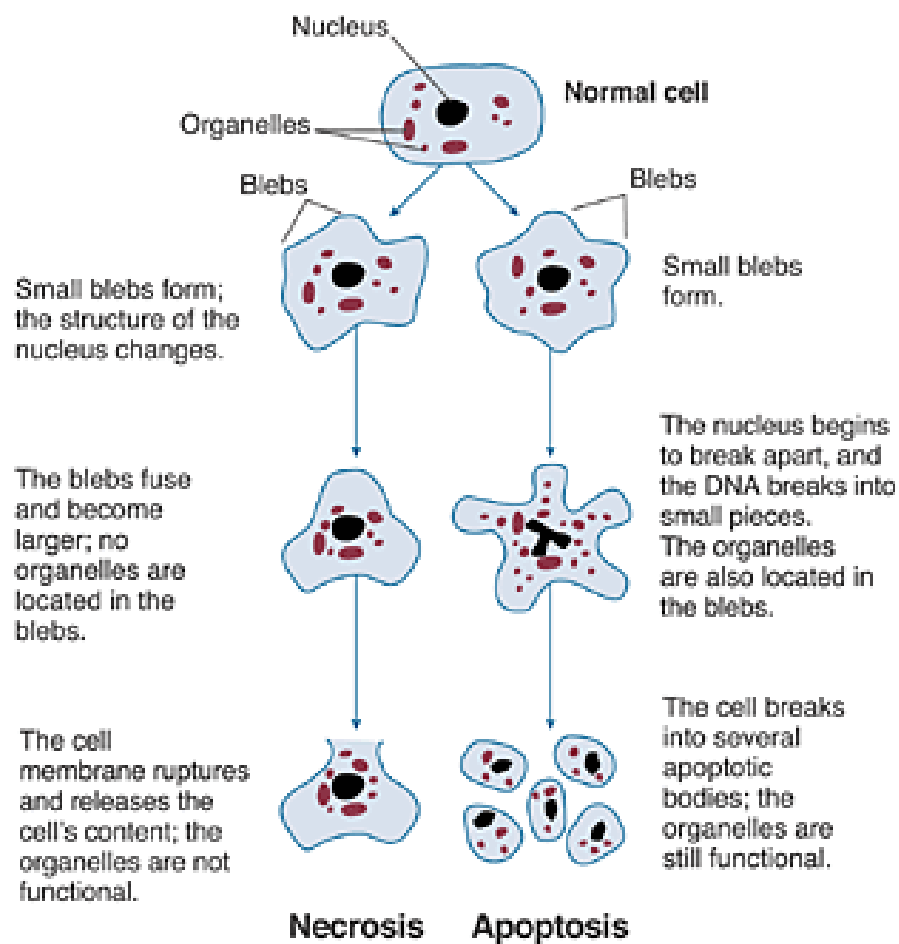


Abb. 1: Strukturelle Veränderungen während der Nekrose und der Apoptose [GODLETH und HORN, 2001]

2.2 Physiologische und pathologische Bedeutung

Als entscheidendes Prinzip der Gewebshomöostase ist Apoptose für eine große Zahl komplexer biologischer Prozesse notwendig: bei der Embryonalentwicklung und Zelldifferenzierung, für Ausbildung und Größenerhalt von Organen, bei der Zerstörung autoreaktiver Immunzellen sowie der Verteidigung gegen Pathogene [SCHUCHMANN et al., 2002].

Zellen, die keine Funktion mehr haben oder den Gesamtorganismus schädigen könnten (z. B. mutierte oder auf andere Weise irreparabel geschädigte Zellen), werden durch Apoptose entsorgt. Eine Vielzahl von Faktoren, beispielsweise reaktive Sauerstoffspezies wie H_2O_2 , UV-Licht, Röntgenstrahlen und andere ionisierende Strahlen, Mikroben, Hitze- bzw. Kälteeinwirkung sowie DNA schädigende Medikamente und sonstige Einflüsse können Apoptose induzieren. Zellen, die einem subletalen Einfluss ausgesetzt sind, versuchen zunächst, den vorhandenen Schaden zu reparieren. Wenn dies fehlschlägt, wird in normalen Zellen die Apoptose gestartet [BÖHM et al., 2005].

Eine Dysfunktion der Apoptose kann zu Erkrankungen wie Krebs, Neurodegeneration oder Autoimmunerkrankungen - beispielsweise durch das Überleben selbst-reaktiver T-Zellen - führen, da Apoptose als (fehlgeleitete) „Abwehr“ gegen schädliche oder veränderte Zellen stattfindet [THOMPSON, 1995].

Erhöhte Apoptoseraten können zu degenerativen Krankheiten wie Schlaganfall, Arteriosklerose, Diabetes, Parkinson oder Alzheimer führen, während Inhibierung der Apoptose proliferative Krankheiten wie Autoimmunkrankheiten oder Krebs zur Folge haben kann [MACFARLANE und WILLIAMS, 2004].

2.3 Biochemische Mechanismen

Die Apoptose wird in Initiations- und Effektorphase unterteilt. Bei der Initiationsphase unterscheidet man wiederum den extrinsischen und den intrinsischen Weg.

Apoptose kann sowohl durch interne Stimuli wie DNA-Anomalien als auch durch externe Stimuli wie die Entfernung von Wachstumsfaktoren aus dem Medium ausgelöst werden. Externe Stimuli aktivieren die Apoptose über den extrinsischen oder „Todesrezeptor“ (death receptor) vermittelten Signalweg, während durch interne Stimuli der intrinsische oder mitochondrienvermittelte Signalweg bewirkt wird [JIN und EL-DEIRY, 2005].

2.3.1 Der extrinsische Apoptosesignalweg

In Reaktion auf ungünstige Bedingungen wie die Einwirkung ionisierender Strahlung, erhöhte Temperatur, Virusinfektionen oder toxische Chemikalien - wie den Präparaten zur Chemotherapie - wird der Tumornekrosefaktor TNF produziert. Dieser (oder auch ein anderes Cytokin) bindet daraufhin an einen Todesrezeptor (ein Rezeptor der TNF-Rezeptorfamilie wie z. B. CD95) mit Todesdomäne. Die Todesdomäne wird dadurch wiederum so umformiert, dass Adaptermoleküle mit eigener Todesdomäne an sie binden können. Dann wird das TNF-Rezeptor assoziierte Protein TRADD („TNF receptor associated protein“) rekrutiert. Die Todesdomäne von TRADD bindet daraufhin an das Fas assoziierte Protein mit Todesdomäne FADD („Fas-associated protein with death domain“). FADD besitzt eine Todeseffektordomäne DED („death effector domain“). An diese bindet wiederum die Procaspase 8 mit ihrer Todeseffektordomäne. Die Procaspase 8 wird nun autokatalytisch durch die hohe Konzentration aktiviert und löst dadurch die Caspase-Kaskade aus [JIN und EL-DEIRY, 2005].

2.3.2 Der intrinsische Apoptosesignalweg

Der mitochondrienvermittelte Signalweg wird durch interne Stimuli ausgelöst. Hierzu zählen irreparable genetischen Schäden, extrem hohe Ca^{2+} -Konzentrationen im Cytosol, große Mengen an freien Radikalen und das Fehlen von Überlebenssignalen in Gestalt von Wachstumsfaktoren. Beispielsweise wird der Transkriptionsfaktor p53 durch Schädigung der DNA aktiviert. Er stimuliert wiederum die Expression proapoptotisch wirkender Mitglieder der Bcl-2-Familie [JIN und EL-DEIRY, 2005]. Diese bilden Homo-Oligomere aus, die Poren auf der mitochondrialen Membran erzeugen und Cytochrom c aus den Mitochondrien ins Cytoplasma freisetzen [TAN et al., 2009]. Nach der Freisetzung bindet Cytochrom c an den apoptotischen Protease-Aktivierungsfaktor Apaf 1 ("apoptosis protease activating factor"). Es kommt zur Konformationsänderung von Apaf 1, wodurch dessen Proteinbindedomäne an diejenige der Procaspase 9 binden kann. Dieser Multiproteinkomplex wird als Apoptosom (Apotosekörperchen) bezeichnet. Es folgt die autolytische Aktivierung der Caspase 9, die wiederum die Caspase-Kaskade aktiviert [JIN und EL-DEIRY, 2005].

2.3.3 Der ER-Stress-Signalweg

Weniger bekannt ist ein dritter Apoptoseweg, der über Stress des Endoplasmatischen Reticulums (ER) führt. ER-Stress wird durch die Akkumulierung von ungefalteten oder schlecht gefalteten Proteinen in Folge von Hypoxie, Nährstoffmangel, Reduktion von Disulfidbrücken und Überexpression einiger Proteine induziert. Er kann verschiedene Apoptosesignalwege auslösen, wobei der Crosstalk zwischen ER und Mitochondrium eine wichtige Rolle spielt. So kann ER-Stress den Cytochrom-c-abhängigen Signalweg aktivieren, andererseits aber auch die Caspase 12. Diese ist am ER lokalisiert ist und resultiert im Cytochrom-c-unabhängigen Zelltod [MOMOI, 2004].

2.3.4 Die Caspase-Kaskade

Effektorcaspasen (hauptsächlich die Caspasen 3, 6 und 7) führen schließlich zum apoptotischen Tod der Zelle. Caspasen sind Proteasen, in deren aktivem Zentrum sich die Aminosäure Cystein befindet und die Proteine nach der Aminosäure Aspartat schneiden (Cysteiny-Aspartasen). Durch limitierte Proteolyse aktivieren die Effektorcaspasen die Caspase-aktivierte DNase und andere Caspasen. Außerdem unterdrücken sie die DNA-Reparatur und sind am Abbau von Zellkernmembran und Aktin, einem Teil des Cytoskeletts, sowie Lamin, das sich in der Zellkernmembran befindet, beteiligt [JIN und EL-DEIRY, 2005].

2.3.5 Regulatoren der Apoptose

Verschiedene Proteine können die Apoptosetätigkeit fördern und/oder hemmen.

2.3.5.1 Bcl-2-Proteine

Die Familie der Bcl-2-Proteine („B-cell lymphoma 2“) spielt eine wichtige Rolle bei der Regulation mitochondrienabhängiger Apoptose. Bestimmte Unterfamilien von Bcl-2 wirken proapoptotisch. Hierzu zählen Bax und Bak, aber auch die BH3-only subfamily. BH steht für Bcl-2-Homologe, zu denen unter anderem Bid gehört. Die antiapoptotischen Proteine Bcl-2 und Bcl-X_L inhibieren hingegen die Freisetzung von Cytochrom c aus den Mitochondrien durch Blockierung der Aktivierung von Bax und Bak. [TAN et al., 2009].

2.3.5.2 p53

Mehr als 50% der menschlichen Tumore enthalten eine Mutation oder eine Deletion des TP53-Gens. Das Protein, das durch dieses Gen codiert wird, ist p53. p53 ist ein Transkriptionsfaktor, der den Zellcyclus reguliert und deshalb Funktionen als Tumorsuppressor hat. Neben anderen Antikrebs-Mechanismen kann p53 bei irreperablem DNA-Schaden Apoptose induzieren. p53 ist durch mitochondriale Depolarisation und Sensitivierung der Zellen für Apoptoseinduktoren sowohl in den extrinsischen als auch in den intrinsischen

Signalweg involviert. Wird p53 zu stark angehäuft, aktiviert p53 Proteine der Bcl-2-Familie; hauptsächlich ist das proapoptotische Bax betroffen. Diese lösen wiederum Caspasen aus, was schließlich zum Zelltod führt [REUTER et al., 2008].

2.3.5.3 NF- κ B (Nukleärer Faktor kappa B)

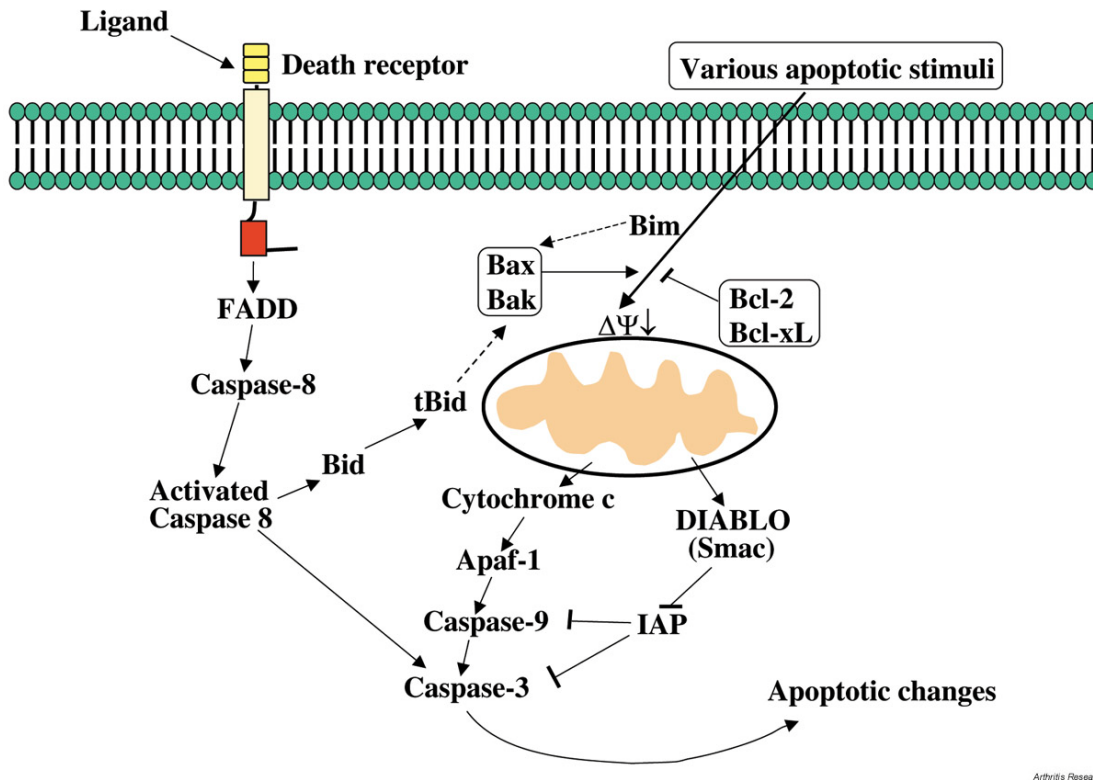
Der Transkriptionsfaktor NF- κ B schützt vor TNF- α -induzierter Apoptose [PLÜMPE et al., 2000]. Die Reduzierung der NF- κ B-Aktivität ist mit einem erhöhten Apoptoseindex in vielen Zelltypen verbunden. Außerdem kann die Aktivierung von NF- κ B p53-abhängige Apoptose inhibieren [REUTER et al., 2008].

2.3.5.3 Akt

Akt, das auch als Proteinkinase bekannt ist, reguliert verschiedene apoptotische Gene. Es inaktiviert proapoptotische Faktoren wie Bad, das die Freisetzung des Cytochroms c kontrolliert, die Procaspase 9 und sogenannte Forkhead-Transkriptionsfaktoren. Akt kann aber auch antiapoptotische Gene wie I- κ B aktivieren. Die Überexpression von Akt hat antiapoptotische Effekte in verschiedenen Zelltypen zur Folge, die in Zelltodresistenz resultieren [REUTER et al., 2008].

2.3.5.4 IAPs

IAPs sind Inhibitoren von Apoptoseproteinen. Es handelt sich um eine Familie mit antiapoptotischen Effekten, die vermutlich die Caspasen 3 und 7 inhibieren. Zu den IAPs zählen Survivin sowie cIAP1, cIAP2, XIAP und das neuronale Apoptoseinhibitorprotein NAIP [TAKAHASHI et al., 1998].



Arthritis Research

Abb. 2: Intrinsischer und extrinsischer Signalweg [MAK und YEH, 2002]

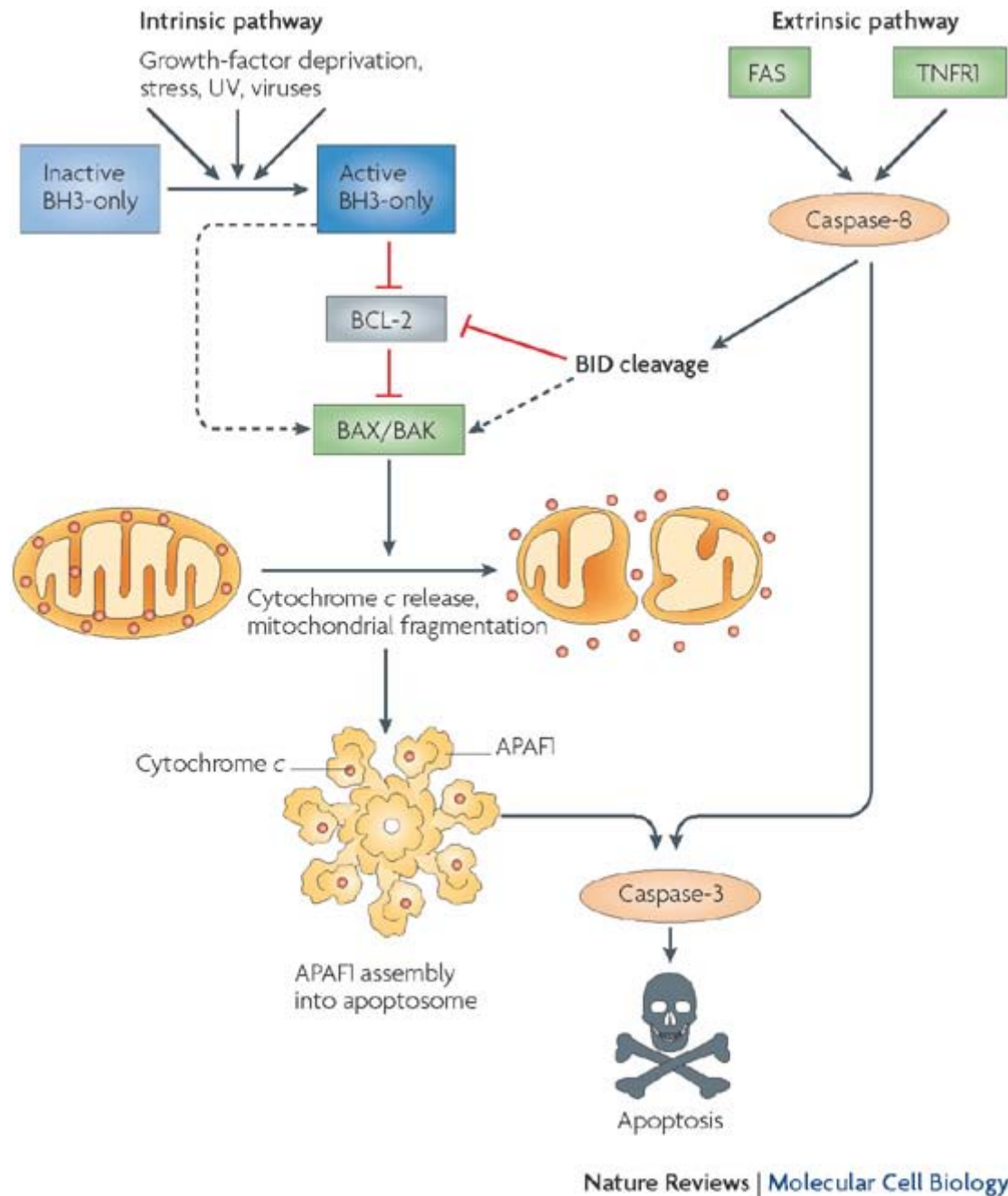
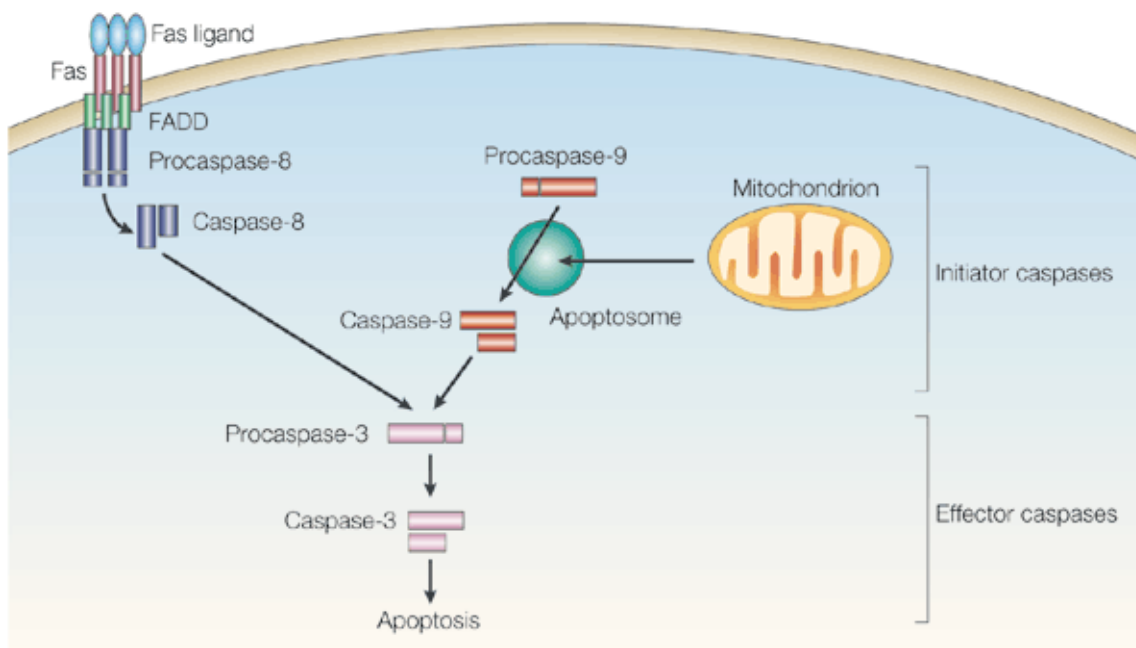


Abb. 3: Verschiedene Stimuli induzieren Apoptose durch die Aktivierung von BH3-only-Proteinen [STRASSER et al., 2008]



Nature Reviews | **Molecular Cell Biology**

Abb. 4: Aktivierung der Caspasen [HOLCIK und KORNELUK, 2001]

3. Apoptoseassoziierte Ernährungsfaktoren

3.1 Resveratrol

Resveratrol ($C_{14}H_{12}O_3$) ist ein natürlich vorkommendes Phytoalexin. Phytoalexine werden von einigen höheren Pflanzen als Antwort auf Stress bzw. Verletzung aufgrund von Umweltgefährdungen produziert und dienen als Abwehr gegen Infektionen durch pathogene Mikroorganismen wie Pilze.

Resveratrol ist eine polyphenolische Verbindung, die auch als 3,4',5-Trihydroxystilben und 3,4',5-Stilbentriol bekannt ist. Sie existiert in cis- sowie trans-stereoisomerer Form. Trans-Resveratrol kann eine Isomerisierung zu seiner cis-Form durchmachen, wenn es erhitzt oder ultravioletter Strahlung ausgesetzt wird [SHANKAR et al., 2007].

Anfang der 70er Jahre des 20. Jahrhunderts zeigten epidemiologische Studien eine inverse Korrelation zwischen dem Konsum von Rotwein und kardiovaskulären Erkrankungen in Frankreich. Dieses sogenannte „Französische Paradoxon“ wurde unter anderem mit Resveratrol erklärt. In der Folge zeigten zahlreiche Studien viele positive Effekte dieses Moleküls [FREMONT, 2000].

Resveratrol kann sich günstig auf die Kontrolle von Arteriosklerose, Herzerkrankungen, Arthritis und Autoimmunkrankheiten auswirken [FULDA und DEBATIN, 2006].

1997 berichteten Jang et al., dass Resveratrol anticancerogene Eigenschaften ausübe, indem es die Tumormasse in Ratten reduziere. Die Autoren zeigten, dass Resveratrol in vivo die drei Stufen der Cancerogenese (Initiation, Promotion und Progression) hemmen kann. Diese Beobachtung wurde durch zahlreiche weitere Studien, die sich mit menschlichen Krebszelllinien beschäftigten, bestätigt [GUSMAN et al., 2001].

3.1.1 Mechanismus

Resveratrol kann in verschiedenen transformierten oder malignen Zelltypen Apoptose auslösen, indem es beispielsweise das Tumorsuppressorprotein p53 aktiviert [KUNDU und SURH, 2004]. Die Apoptose der Krebszellen scheint hierbei durch resveratrolinduzierte Serinphosphorylierung von p53 aktiviert zu werden [SHAKIBAEI et al., 2009].

Zudem werden durch Resveratrol spezifische Caspasen aktiviert, die die Abgabe von Cytochrom c stimulieren und die Fragmentierung von DNA induzieren [KUNDU und SURH, 2004].

Weiters hemmt Resveratrol die Expression antiapoptotischer Proteine wie Bcl-2, Bcl-X_L, Mcl-1 und Survivin, während es die Expression der apoptosefördernden Faktoren Bax, Bak, Bad, PUMA, Noxa, Bim und TRAIL (TNF-bezogene apoptoseinduzierende Liganden) induziert [SHANKAR et al., 2007].

Beispielsweise wurde bei in Mäusen implementierten primären Magenkrebszellen die resveratrolinduzierte Apoptose durch Hinunterregulierung von Bcl-2 und Hinaufregulierung der Expression von Bax vermittelt [ZHOU et al., 2005].

In Rattengliomzellen der Zelllinie C6 induzierte Resveratrol Apoptose durch die Aktivierung der Caspase 3 [ZHANG et al., 2007].

Bei Colon-/Rectal- und Brustkrebs löste Resveratrol durch die Aktivierung verschiedener Caspasen, Bax- und Bak-Akkumulation, Fas-Rezeptor-Umverteilung und Hinunterregulierung der Telomerase-Aktivität Apoptose aus. Weiters induzierte Resveratrol caspaseunabhängige Apoptose durch Bcl-2- und NF-κB-Hinunterregulierung [SHAKIBAEI et al., 2009].

Bei den Krebszelllinien LNCaP (eine androgensensitive Krebszelllinie) und PC-3 (eine nicht-androgensensitive Krebszelllinie) wurde die durch Resveratrol

induzierte Apoptose durch die Aktivierung der Caspasen 9 und 3 und eine Änderung von Bax/Bcl-2 vermittelt. Zusätzlich wurde in LNCaP-Zellen p53 erhöht. Möglicherweise agiert Resveratrol durch verschiedene Mechanismen über den Androgen- oder Östrogenrezeptorzellstatus [BENITEZ et al., 2007].

Eine wesentliche Rolle spielt die Regulation des Transkriptionsfaktors NF- κ B durch Resveratrol. Resveratrol blockiert TNF-induzierte Aktivierung von NF- κ B, indem es die TNF-induzierte Phosphorylierung und Nukleartranslokation der p65-Untereinheit von NF- κ B unterdrückt. Zudem blockiert Resveratrol die NF- κ B-abhängige Reportergentranskription [SHAKIBAEL et al., 2009].

Banerjee et al. berichteten, dass Resveratrol bei Ratten durch 7,12-Dimethylbenz(α)anthracen induzierten Brustkrebs hemmte. Diese Inhibierung korrelierte mit einer Hinunterregulierung von NF- κ B und COX-2. Auch die Behandlung von humanen MCF-7-Brustkrebszellen mit Resveratrol unterdrückte die Aktivierung von NF- κ B [BANERJEE et al., 2002].

In mehreren Myelomzellen führte die Unterdrückung von aktivem NF- κ B durch die Bindung an I- κ B (einem NF- κ B-Inhibitor) durch Resveratrol zur Hinunterregulierung verschiedener antiapoptotischer Genprodukte (z. B. Survivin, Bcl-2 und Bcl-x_L) [BHARDWAJ et al., 2007].

Ebenfalls interessant sind die Effekte von Resveratrol auf Survivin. Resveratrol kann als potentieller Sensibilisator für anticancerogene medikamenteninduzierte Apoptose durch Zellcyclusarrest in der S-Phase fungieren. Dieser folgt dann die Apoptose. Dies wird durch die Hinunterregulierung der Survivinexpression durch transkriptionale und posttranskriptionale Mechanismen vermittelt [FULDA und DEBATIN, 2004a].

Weiters beobachteten Fulda und Debatin, dass Resveratrol ein wirksamer Sensibilisator von Tumorzellen für TRAIL-induzierte Apoptose ist. [FULDA und DEBATIN, 2004b].

Die zur Apoptose benötigten Konzentrationen sind allerdings relativ hoch. Beispielsweise wurden in einer Studie von Szende et al. humane Tumorzellen (HT-29, SW-620, HAT-1080) und Endothelialzellen (HUV-EC-C) in vitro mit verschiedenen Dosen Resveratrol (0,1 bis 100,0 µg/ml) behandelt. Zellzahl, apoptotischer und mitotischer Index wurden nach 24, 48 und 72 Stunden gemessen. Geringere Dosen (0,1 – 1,0 µg/ml) verstärkten die Zellproliferation, während höhere Dosen (10,0 – 100,0 µg/ml) Apoptose induzierten und die mitotische Aktivität erniedrigten [SZENDE et al., 2000].

3.1.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit

Eine der reichsten Resveratrolquellen stellen die getrockneten Wurzeln des Japanischen Staudenknöterichs (*Polygonum cuspidatum*) dar, der traditionell in der chinesischen und japanischen Heilkunde als antiinflammatorisches Medikament eingesetzt wird. In Nahrungsmitteln findet sich Resveratrol hauptsächlich in der Haut von Weintrauben (*Vitis* spp.), Rotwein sowie Erdnüssen (*Arachis* spp.) und in verschiedenen Beerenarten (*Vaccinium* spp.) [SIGNORELLI und GHIDONI, 2005].

Die Haut frischer Weintrauben enthält 50 – 100 µg/g Resveratrol [LEIRO et al., 2004].

Der durchschnittliche Gehalt in Rotwein beträgt 4,37 mg/l (0,6 – 8,0 mg/l), während Weißwein nur durchschnittlich 0,68 mg Resveratrol/l enthält. Grund ist die unterschiedliche Herstellungsweise: Rotwein wird mitsamt der Traubenhaut vergoren [SATO et al., 1997].

In Traubensaft wurden Gehalte zwischen 0,07 und 0,21 µg/g gemessen. Die Menge wurde allerdings in Säften bestimmt, die mit der Haut erhitzt wurden. Erhitzung mit Haut führt dazu, dass Resveratrol in den Saft übergeht. Roter Traubensaft enthält mehr Resveratrol als weißer Traubensaft, da auch hier bei der Herstellung von weißem Traubensaft die Haut der Trauben nicht miterhitzt wird. Traubensaft aus biologischem Anbau hat einen etwas höheren

Resveratrolgehalt als konventionelle Säfte. Dies wird darauf zurückgeführt, dass Pflanzen, die mit Pestiziden behandelt werden, weniger auf Krankheitserreger reagieren müssen und daher weniger phenolische Verbindungen produzieren [DANI et al., 2007].

Erdnüsse enthalten in bestimmten Regionen 0,03 bis 0,14 µg Resveratrol/g. Samenschalen der Sorte „Runner“ und „Virginia Types“ weisen ungefähr 0,65 µg Resveratrol/g Samenschale auf, was weniger als 0,04 µg/Samen entspricht [SANDERS et al., 2000].

In Erdbeermark (*Fragaria*) wurden $830,5 \pm 20,6$ ng trans-Resveratrol/g Trockengewicht und $90,5 \pm 11,8$ ng Resveratrol/g Frischgewicht gefunden. Die Gehalte für cis-Resveratrol betrugen $227,3 \pm 11,4$ ng/g Trockengewicht sowie $24,9 \pm 2,7$ ng/g Frischgewicht. Reifere Früchte haben höhere Resveratrolgehalte als unreife. Ein Wachstum bei hohen Temperaturen (25 – 30°) verstärkt den Gehalt. Ebenso erhöht sich der Gehalt signifikant, wenn dem Boden Kompost beigemischt wird [WANG et al., 2007].

Auch in der Haut von Tomaten (*Lycopersicon esculentum* Mill.) kommt Resveratrol mit einem Gehalt von $18,4 \pm 1,6$ µg/g vor [RAGAB et al., 2006].

Lebensmittel	Durchschnittlicher Gehalt [µg/g Frischgewicht]
Weintraubenhaut	50 – 100
Rotwein	4,37
Weißwein	0,68
Traubensaft	0,07 – 0,21
Erdnüsse	0,03 – 0,14
Erdbeermark	0,32
Tomatenhaut	18,4

Tabelle 1: Resveratrolgehalte verschiedener Lebensmittel

Im Rahmen der EPIC-Studie wurde der durchschnittliche Gehalt von Resveratrol und dessen Derivaten im Essen der spanischen Bevölkerung

geschätzt. Die durchschnittliche Aufnahme an Resveratrol und Piceid (dem Hauptderivat von Resveratrol) betrug 100 bzw. 933 µg/Tag. Ungefähr 32% der Bevölkerung konsumierte kein Resveratrol (und Piceid). Am reichlichsten vorhanden von den vier Stilbenen war das trans-Piceid (53,6%), gefolgt von trans-Resveratrol (20,9%), cis-Piceid (19,3%) und cis-Resveratrol (6,2%). Die wichtigste Quelle für Piceid und Resveratrol stellte mit 98,4% der Wein dar. Trauben und Traubensaft machten 1,6% aus, während Erdnüsse, Pistazien und Beeren zur Aufnahme mit weniger als 0,01% beitrugen. Die Aufnahme von Piceid und Resveratrol entsprach demnach in etwa dem Weinkonsum [ZAMORA-ROS et al., 2007].

Der durchschnittliche Weinkonsum beträgt in Österreich laut Ernährungsbericht von 2008 im Durchschnitt 32,5 ml Wein pro Tag [Elmadfa et al., 2009].

Der Mensch absorbiert Resveratrol hauptsächlich im Duodenum. Studien an Ratten weisen darauf hin, dass schätzungsweise ca. 20% des verfügbaren Resveratrols absorbiert werden. Der größte Teil des Resveratrols (16,8%) wurde in diesen Studien als konjugiertes Glucuronid absorbiert [ANDLAUER et al., 2000].

Studien mit Mäusen, denen radiomarkiertes Resveratrol verabreicht wurde, zeigen, dass Resveratrol an alle Organe verteilt wird. Nach 1,5 Stunden wurde es sowohl im Duodenum als auch in Leber und Niere gemessen, wo es bis zu 6 Stunden verblieb. 3 Stunden nach der Verabreichung konnte es zudem in Lunge, Milz, Gehirn und Hoden gemessen werden [VITRAC et al., 2003].

Resveratrol wird in der menschlichen Leber glucoronisiert und in Leber und Duodenum sulfatisiert [AGGARWAL et al., 2004].

In einer Studie von Almeida et al. bekamen 8 Personen 25, 50, 100 oder 150 mg trans-Resveratrol; aufgeteilt auf 13 Portionen. Die maximalen Plasmakonzentrationen wurden 0,8 – 1,5 Stunden nach der Aufnahme erreicht. Nach der 13. Portion (25, 50, 100 bzw. 150 mg) betrug die maximale

Plasmakonzentration 3,89, 7,39, 23,1 bzw. 63,8 ng/ml. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Individuen waren jedoch hoch; der Variationskoeffizient lag über 40% [Almeida et al., 2009].

Eine Studie von Vaz da Silva et al. untersuchte den Effekt von Lebensmitteln auf die Bioverfügbarkeit von trans-Resveratrol nach oraler Gabe bei 24 ProbandInnen. Die Studie bestand aus zwei Perioden, die durch mindestens 7 Tage voneinander getrennt waren. In jeder dieser Periode wurden Einzelgaben mit 400 mg trans-Resveratrol gegeben, denen entweder eine Mahlzeit mit hohem Fettgehalt oder 8 Stunden Fasten folgte. Auch hier ergaben sich große individuelle Unterschiede. Die maximale Plasmakonzentration betrug $42,2 \pm 36,6$ ng/ml nach einer fettreichen Mahlzeit und $47,3 \pm 30,0$ ng/ml im Fastenzustand. Die maximale Plasmakonzentration wurde mit Mahlzeit nach 2 Stunden erreicht, ohne nach 0,5 Stunden [VAZ DA SILVA et al., 2008].

3.1.3 Fazit

Die Dosen, die benötigt werden, um Apoptose zu induzieren, sind also relativ hoch (mindestens 10 µg/ml) im Vergleich zum Gehalt in Lebensmitteln (wichtigste Quelle Rotwein mit durchschnittlich 4,37 mg/l) und der Absorptionsrate (nach Almeida et al. bei 25 mg nur 3,89 ng/ml, was 0,016% entspricht). Dies bedeutet, dass selbst beim Konsum eines ganzen Liter Rotweins der resveratrolreichsten Sorte mit 8 mg/l nicht ausreichend Resveratrol aufgenommen werden würde, um Apoptose zu induzieren. Der Gehalt anderer resveratrolhaltiger Lebensmittel spielt keine wesentliche Rolle. Folglich könnte die Einnahme von Resveratrol in Form von Supplementen zwar für chemopräventive oder –therapeutische Zwecke interessant sein, die Aufnahme über natürliche Lebensmittel ist jedoch – in Bezug auf Apoptose – unbedeutend.

3.2 Epigallocatechin-3-gallat

Epigallocatechin-3-gallat (EGCG) ist das Hauptcatechin in der Teepflanze (*Camellia sinensis*). Mit einem Anteil von mehr als 40% stellt es den wichtigsten Vertreter der antioxidativ wirksamen Polyphenole in grünem Tee dar [RAMOS, 2007].

Außerdem ist es nicht nur quantitativ der wichtigste Vertreter unter den Catechinen im Tee, sondern auch der wirksamste von allen. Die antioxidative Aktivität ist ungefähr 25 – 100-mal so hoch wie die von Vitamin C und E [KHAN und MUKHTAR, 2008].

Chemisch gesehen handelt es sich um (2R,3R)-2-(3,4,5-Trihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-1(2H)-benzopyran-3,5,7-triol-3-(3,4,5-trihydroxybenzoat). Für die antioxidativen Reaktionen scheint der B-Ring hauptverantwortlich zu sein. Zusätzlich wird die antioxidative Aktivität durch die Trihydroxylstruktur am D-Ring erhöht [YANG et al., 2009].

EGCG induziert einen ausgeprägten und spezifischen wachstumshemmenden Effekt auf Krebszellen. Auf gesunde Zellen hat es hingegen keinen Einfluss [RAMOS, 2007].

3.2.1 Mechanismus

EGCG kann in vielen Krebszellen Apoptose induzieren, ohne normale Zellen zu treffen. Dies wurde bei verschiedenen Zelltypen wie Lunge, Colon, Pankreas, Haut und Prostata gezeigt [KHAN und MUKHTAR, 2008].

Mit der Apoptoseinduktion durch EGCG sind erhöhte p53-Spiegel verbunden. Antioxidantien wie EGCG können das reduktive Potential der Zellen erhöhen, dadurch p53 aktivieren und Apoptose fördern [CHUNG et al., 2003].

Vermutlich aktiviert EGCG p53, indem es die Phosphorylierung von bestimmten Serinresten induziert. Die Phosphorylierung dieser Serinreste erhöht die Halbwertszeit von p53. Erhöhte transkriptionelle Aktivität von p53 kann sich auf mehrere Zielgene und ihre nachgelagerten Proteinprodukte auswirken, was die Balance zwischen pro- und antiapoptotischen Faktoren verändert. Dadurch werden der G1-Phasen-Arrest und schließlich die Apoptose ausgelöst [HASTAK et al., 2003].

Eine Studie zeigte, dass EGCG direkt an die BH3-Domäne antiapoptotischer Bcl-2-Proteine binden. Es könnte also einen Mechanismus für EGCG geben, der die antiapoptotische Funktion von Bcl-2-Proteinen inhibiert [KHAN und MUKHTAR, 2008].

Außerdem dürfte EGCG Apoptose induzieren, indem es die Aktivität der Fettsäuresynthase inhibiert. Dieses Enzym befindet sich in geringen Konzentrationen in vielen menschlichen Geweben und wird bei verschiedenen Typen von humanen Krebszellen überexprimiert [BRUSSELMANS et al., 2003].

EGCG kann Apoptose selektiv in Krebszellen fördern. Chen et al. verglichen den Effekt von EGCG auf viral transformierte W138-Humanfibroblasten und normale Zellen. Die Behandlung mit EGCG induzierte Apoptose in 50% aller transformierten Zellen, aber in nur 1% der normalen Zellen. Chen et al. fanden heraus, dass EGCG die Expression der apoptosefördernden Gene c-myc oder c-fos in gesunden Zellen nicht beeinflusste, aber die Expression dieser Gene in transformierten Zellen steigerte [CHEN et al., 1998].

Hohe Konzentrationen von EGCG lösen Apoptose aus, während niedrige Konzentrationen den Zellzyklusarrest fördern können. Dies zeigt beispielsweise eine Studie von Ahn et al., in der Gebärmutterhalskrebszellen einmal 35 µmol/l und einmal 100 µmol/l EGCG ausgesetzt wurden. Bei 35 µmol/l wurden die Zellen in der G1-Phase des Zellzyklus angehalten, bei 100 µmol/l begannen sie Apoptose [AHN et al., 2003].

Ähnlich fallen die Effekte bei SH-SY5Y-Neuroblastomazellen aus: Niedrige Flavonolkonzentrationen (1 $\mu\text{mol/l}$) induzieren eine antiapoptotische Antwort, während höhere Konzentrationen (50 $\mu\text{mol/l}$) einen proapoptotischen Effekt in Neuroblastoma SH-SY5Y Zellen hervorrufen [TAN et al., 2000].

3.2.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit

EGCG ist das Hauptcatechin in grünem Tee. Die EGCG-Gehalte in portugiesischen Grünteeproben erstreckten sich von 117 bis 442 mg/l [RETO et al., 2007].

Durch die bei schwarzem Tee notwendige Fermentation reagieren Catechine zu Theaflavinen und Thearubiginen. Daher enthält schwarzer Tee fast kein EGCG [LORENZ et al., 2008].

EGCG wird im Körper schnell durch S-Adenosylmethionin methyliert, was durch das Enzym Catechol-O-methyltransferase katalysiert wird. Anschließend wird es glucoronisiert und sulfatisiert. Außerdem entstehen mithilfe der intestinalen Mikroflora die Ringspaltungsmetaboliten 5-(3',4',5'-Trihydroxyphenyl)-valerolacton (M4) und 5-(3',4'-Dihydroxyphenyl)-valerolacton. Auch diese Metaboliten besitzen biologische Aktivität, jedoch eine niedrigere als EGCG [CHUNG et al., 2003].

Insgesamt wird nur ein geringer Teil der Polyphenole aus grünem Tee absorbiert. Die Bioverfügbarkeit von Polyphenolen mit höherem Molekulargewicht, zu denen auch EGCG (mit 458 Dalton) zählt, ist dabei schlechter als von solchen mit niedrigerem (z. B. Epigallocatechin oder Epicatechin, die ebenfalls in grünem Tee enthalten sind). Nach dem Trinken von zwei Tassen Grüntee dauert es 1,5 – 2 Stunden, bis der Höchstwert im Blut erreicht ist. Bei EGCG beträgt er 0,26 $\mu\text{mol/l}$, bei EGC 0,48 $\mu\text{mol/l}$ und bei Epicatechin 0,19 $\mu\text{mol/l}$, obwohl der EGCG-Gehalt im Tee mit Abstand am höchsten ist.

Die höchsten EGCG-Spiegel wurden in Blase, Niere, Colon, Lunge und Prostata gefunden [KHAN und MUKHTAR, 2008].

Der Konsum von sechs oder sieben Tassen grünem Tee pro Tag entspricht einer EGCG-Aufnahme von ungefähr 30 mg/kg/Tag. Dies erzeugt eine Plasmakonzentration von ungefähr 1 $\mu\text{mol/l}$ [YANG et al., 1998].

3.2.3 Fazit

EGCG kann Apoptose induzieren. Die Konzentrationen an EGCG, die in einigen Zellkulturexperimenten verwendet wurden (10 – 100 $\mu\text{mol/l}$), sind jedoch höher als die beobachteten Plasma- und Gewebekonzentrationen von Menschen, die zwei oder drei Tassen Tee getrunken hatten (gewöhnlich weniger als 0,5 $\mu\text{mol/l}$). Es ist noch nicht geklärt, ob die Informationen, die aus Zelllinien gewonnen wurden, auch auf Krebsprävention bei Tieren bzw. Menschen umgelegt werden können. [YANG et al., 2009]

Die Konzentrationen, die benötigt werden, um die antiapoptotischen Proteine signifikant hinunterzuregulieren und den programmierten Zelltod in vitro zu induzieren (50 $\mu\text{mol/l}$), sind jedenfalls wesentlich höher als die physiologischen Konzentrationen, die durch gewöhnlichen Teekonsum erreicht werden (deutlich weniger als 1 $\mu\text{mol/l}$) [YANG et al., 1998].

Speziell für die Situation in Österreich kommt hinzu, dass der Konsum von grünem Tee in Österreich kaum Relevanz hat [ELMADFA et al., 2009].

Außerdem scheint die Lagerung von Tee von Relevanz für den EGCG-Gehalt zu sein. So zeigte eine Studie von Friedman et al., dass der Wert an EGCG in Teeproben im Laufe der Lagerzeit deutlich abnehmen kann [Friedman et al., 2009].

Höhere Konzentrationen von EGCG im Plasma können nur durch die Aufnahme von Supplementen erreicht werden [CHOW et al., 2001].

Zu beachten ist außerdem, dass die meisten vorgeschlagenen Mechanismen eher für therapeutische als für krebspräventive Effekte von EGCG relevant [YANG et al., 2009].

3.3 Glucosinolate

Glucosinolate (Senfölglycoside) sind schwefelhaltige Verbindungen, die vorwiegend in Pflanzen der Familie der Brassicaceae (Kreuzblütengewächse) vorkommen und in Senf (*Brassica nigra* und *alba*), Kressearten wie der Gartenkresse (*Lepidium sativum*), Kren (*Armoracia rusticana*) sowie Kohlgemüsearten (*Brassica oleracea*) für deren typischen Geschmack verantwortlich sind. Die gemeinsame Grundstruktur besteht aus einer Glucoseeinheit, einer schwefelhaltigen Gruppierung mit einem Agluconrest sowie einer Sulfatgruppe [WATZL, 2001].

Wird das Pflanzengewebe durch Schneiden oder Kauen verletzt, werden die Glucosinolate der Myrosinase (β -Thioglucosidase) ausgesetzt und somit hydrolysiert. Dadurch werden Isothiocyanate (Senföle) und andere Produkte freigesetzt [HECHT, 1999].

Wenn die Isothiocyanate aus Indolylglucosinolaten gebildet werden, zersetzen sie sich spontan zu Indol-3-Carbinol und anderen Indolverbindungen. Die Bildung der Glucosinolatderivate ist von verschiedenen Faktoren abhängig: vom Agluconrest sowie von Temperatur, pH-Wert, Lagerung und Konservierungsverfahren der Gemüsearten. Bei neutralem pH-Wert werden vermehrt Isothiocyanate gebildet, bei saurem pH-Wert hingegen primär Nitrile [WATZL, 2001].

Den Isothiocyanaten wird eine wichtige Rolle in der tumorunterdrückenden Aktivität von Brassicaceen zugesprochen [HECHT, 1999].

Zu den Isothiocyanaten mit Potential zur Apoptoseinduktion zählen Sulforaphan, Benzylisothiocyanat und Phenethylisothiocyanat; zu den Indolen Indol-3-carbinol sowie Diindolymethan.

3.3.1 Mechanismen

Eines der wirksamsten Isothiocyanate hinsichtlich der anticancerogenen Effekte ist Sulforaphan (1-Isothiocyanat-4-[methylsulphinyl]-butan), das unter anderem in Broccoli vorkommt. Es induziert beispielsweise in humanen Colonkrebszellen der Zelllinie HT29 Apoptose [GAMET-PAYRASTRE et al., 2000]. Von Fimognari et al. wurden ähnliche Effekte bei humanen T-Zell-Leukämiezellen beobachtet [FIMOIGNARI et al., 2002].

Singh et al. zeigten anhand von humanen Prostatakrebszellen der Zelllinien PC-3 und DU145, dass sulforaphaninduzierte Apoptose durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) initiiert wird. Die Behandlung mit Sulforaphan führt zu einem Verlust an Mitochondrienmembranpotential und zur Freisetzung von Cytochrom c aus den Mitochondrien. Die ROS-Erzeugung wird von einer veränderten Expression von Bcl-x_L begleitet. Sowohl die intrinsische als auch die extrinsische Caspasenkaskade kann durch Sulforaphan ausgelöst werden [SINGH et al., 2005].

Ob der intrinsische oder der extrinsische Weg durch Isothiocyanate aktiviert wird, scheint zellspezifisch zu sein. So kann Sulforaphan in PC-3-Zellen die Fas-Protein-Spiegel erhöhen und die Caspase 8 aktivieren, während es gleichzeitig die Mitochondrien trifft und die Caspase 9 aktiviert. In humanen Blasenkrebszellen UM-UC-3 sind Bezyliothiocyanat und Phenethylisothiocyanat hingegen effektiver bei der Aktivierung der Caspase 9 als bei der Caspase 8. Bei humanen Leukämiezellen HL60 spielt wiederum die Caspase 8 eine Hauptrolle bei der durch Phenylethylisothiocyanat stimulierten Apoptose [HAYES et al., 2008].

Die Spiegel der proapoptotischen Proteine Bak und Bax, die die antiapoptotischen Effekte von Bcl-2 neutralisieren, werden durch Phenethylisothiocyanat und Sulforaphan in Prostatakrebszellen der Zelllinie PC-3 erhöht. Dies dürfte zur Induktion von Apaf-1 führen. Weiters werden die proapoptotischen Proteine Bok und Bim-EL ebenfalls durch Isothiocyanate

induziert. Dies dürfte die Effekte von Bak und Bax verstärken. Neben der Erhöhung dieser antiapoptischen Proteine regulieren Isothiocyanate auch die antiapoptischen Proteine Mcl-1 und Bcl-X_L hinunter. Der Effekt ist jedoch zellspezifisch [HAYES et al., 2008].

Kuang und Chen zeigten, dass Konzentrationen von bis zu 10 µmol/l Phenylethylisothiocyanat und Benzylisothiocyanat Apoptose induzieren. Höhere Konzentrationen von 25 µmol/l lösen hingegen Nekrose aus. Die erhöhte Expression von p53 und p21 ist mit der phenyl- und benzylisothiocyanatinduzierten Apoptose verbunden [KUANG und CHEN, 2004].

In einer Studie wurden die Effekte des starken Antioxidans Sulforaphan und dessen Metaboliten N-Acetylcysteinonkonjugat auf Prostatakrebszellen untersucht. Sulforaphan und N-Acetylcysteinonkonjugat-Sulforaphan zeigen ähnliche Aktivität in Bezug auf die Induktion von Apoptose. Dies weist darauf hin, dass die Effekte von Sulforaphan auch durch metabolische Prozesse erhalten bleiben [CHIAO et al., 2002].

Miyoshi et al. untersuchten die molekularen Mechanismen, die der Beziehung zwischen durch Benzylisothiocyanat induzierter Apoptose und der Beteiligung von mitogen aktivierten Proteinkinase (MAPKs) zugrunde liegen. Die Exposition von leukämischen Jurkat-T-Zellen mit Benzylisothiocyanat resultierte in der Phosphorylierung von Bcl-2 und schließlich in der Inhibierung von G₂-M-Progression und Induktion von Apoptose [MIYOSHI et al., 2004].

Verschiedene Isothiocyanate aktivieren auch die c-Jun N-terminale Kinase (JNK). Dies wird durch die extrazellulären signalregulierten Kinasen ERK1/2 vermittelt. JNK scheint notwendig zu sein, um in humanen Colonadenocarcinomzellen der Zelllinie HT-29 die Freisetzung von Cytochrom c und die Aktivierung der Caspase 3 zu veranlassen. Der Mechanismus, durch

den JNK Caspasen aktiviert, ist jedoch noch nicht aufgeklärt [HAYES et al., 2008].

Indol-3-carbinol kann antiapoptotische Genprodukte herunterregulieren. Hierzu zählen Bcl-2, Bcl-xL, Survivin, XIAP (X chromosome-linked IAP) und FLIP ("Fas-associated death domain protein-like interleukin-1-beta-converting enzyme inhibitory protein"). Zudem kann Indol-3-carbinol das proapoptotische Protein Bax hinaufregulieren, mitochondriales Cytochrom c freisetzen und Caspase 9 sowie Caspase 3 aktivieren [AGGARWAL und ICHIKAWA, 2005].

Indol-3-carbinol ermöglicht auch die Effekte von TRAIL (TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand) durch Induktion von Todesrezeptoren und Synergien mit chemotherapeutischen Agentien durch Herunterregulierung von P-gp (P-Glycoprotein) [AGGARWAL und ICHIKAWA, 2005].

In einer Studie von Nachshon-Kedmi wurde hingegen festgestellt, dass die Induktion der Apoptose durch die indolischen Verbindungen unabhängig von p53, Bcl-2, Bax und FasL ist [NACHSHON-KEDMI et al., 2003].

Die Ergebnisse einer weiteren Studie schlagen vor, dass Diindolylmethan Apoptose in PC-3-Zellen über den mitochondrialen Weg induziert, was die Translokation von Cytochrom c von den Mitochondrien ins Cytosol involviert, sowie die Aktivierung der Initiatorcaspase 9 und der Effektorcaspasen 3 und 6, was schließlich zur Spaltung von PARP (Poly-ADP-Ribosompolymerase) und zur Induktion der Apoptose führt [NACHSHON-KEDMI et al., 2004].

Die Inaktivierung von Akt, NF- κ B, MAPK und Bcl-2-Signalwege könnten die molekularen Mechanismen darstellen, durch die Indol-3-carbinol und Diindolylmethan Apoptose in Prostatakrebszellen induzieren [SARKAR und LI, 2004].

In einer Studie von Mas et al. wurde das Potential zur Induktion von Apoptose in Colonkrebszellen der Zelllinie HAT-29 nach der Behandlung von Extrakten aus Brassicaceen gemessen. Bei Isothiocyanatkonzentrationen von 7,08 µg/ml nahm die Zellvitalität ab und Caspase 3 und DNA-Fragmentierung wurden nach 48 Stunden induziert. Kohlsprossen zeigten den stärksten Effekt auf Zellvitalität und Aktivierung der Caspase-3. Alle Extrakte zeigten Antikrebsaktivität bei Isothiocyanatkonzentrationen zwischen 3,54 bis 7,08 µg/ml [MAS et al., 2007].

3.3.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit

Glucosinolate machen bei einigen Brassica-Arten bis zu 1% der Trockenmasse aus. Mit Wachstum und Reife der Pflanze nimmt der Gehalt allerdings ab. So befinden sich in 100 g frischem Broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) 50 – 100 mg Glucosinolate, während in Broccolisprossen die 10- bis 100-fache Konzentration enthalten ist [WATZL, 2001].

Lateinischer Name	Deutscher Name	Gehalt [mg/kg]
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gemmifera</i>	Kohlsprossen	600 - 3900
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	Karfiol	138 - 2083
<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>capitata</i> var. <i>sabauda</i>	Wirsingkohl	470 - 1240
<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>capitata</i> var. <i>rubra</i>	Rotkraut	410 - 1090
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>sabellica</i>	Grünkohl	890
<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>capitata</i> var. <i>alba</i>	Weißkraut	330 - 840
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>	Broccoli	611
<i>Brassica campestris</i>	Kohlrübe	392 - 1657
<i>Brassica rapa pekinensis</i>	Chinakohl	170 - 1360
<i>Nasturtium officinale</i>	Brunnenkresse	60 – 170

Tabelle 2: Glucosinolatgehalte verschiedener Pflanzenarten
Mod. nach [VERHOEVEN et al., 1997]

Andere Varietäten von *Brassica oleracea* enthalten zwischen 14 – 208 mg (Karfiol, *Brassica oleracea* var. *botrytis*) und 60 - 390 mg (Kohlsprossen, *Brassica oleracea* var. *gemmifera*) pro 100 g Frischgewicht. Die Kohlrübe (*Brassica napus* subsp. *rapifera*) weist 39 – 166 mg auf, Chinakohl (*Brassica rapa* subsp. *pekinensis*) 17 – 136 mg und Brunnenkresse (*Nasturtium officinale*) 6 – 17 mg [VERHOEVEN et al., 1997].

Isothiocyanate sind ungefähr sechsmal so gut bioverfügbar wie Glucosinolate, weil letztere zuerst hydrolisiert werden müssen [SHAPIRO et al., 2001].

Der Konsum durchschnittlicher Portionen entsprechender Gemüse kann zur Freisetzung Dutzender Milligramm an Isothiocyanaten führen [CHUNG et al., 1992]. So werden beispielsweise nach dem Verzehr von 56,8 g Brunnenkresse mindestens 12 mg Phenylethylisothiocyanat freigesetzt [HECHT et al., 1999].

Nach dem Konsum von 13 Arten an Kreuzblütengewächsen (Glucosinolatgehalt 0,01 – 0,94 mmol/kg) und 6 Gewürzen (Isothiocyanatgehalt 0,06 – 49,3 mmol/kg) wurden in Urinproben 8 verschiedene Isothiocyanatmercapturansäuren gemessen. Die Bioverfügbarkeit aus rohem Gemüse und Gewürzen war höher (Bioverfügbarkeit 8,2 – 113%) als bei gekochtem Gemüse (Bioverfügbarkeit 1,8 – 43%) [VERMEULEN et al., 2006].

Grund ist die Myrosinase, die durch Hitze zerstört wird. So ist auch die Bioverfügbarkeit aus frischem Broccoli ungefähr dreimal so groß wie aus gekochtem [CONAWAY et al., 2000].

Erhitzen von Kohlgemüsearten verringert den Glucosinolatgehalt um 35 – 60% [WATZL, 2001]. Nach 10-minütigem Kochen gehen aufgrund von thermischer Instabilität und Auslaugung über 50% der Glucosinolate verloren [VERMEULEN et al., 2006].

Im sauren Milieu wird Indol-3-carbinol in eine Serie von Oligomeren umgewandelt (mit 3,3'-Diindolylmethan als Hauptkomponente), von denen

angenommen wird, dass sie für die biologischen Effekte in vivo verantwortlich sind [AGGARWAL und ICHIKAWA, 2005].

Fazit

Die Bioverfügbarkeit aus insbesondere rohem Gemüse ist vergleichsweise hoch [VERMEULEN et al., 2006].

Tatsächlich sind Konzentrationen von 3,5 bis 7,08 µg/ml, die in vitro in HAT-Colonkrebszellen Apoptose auslösten, in vivo erreichbar [MAS et al., 2007].

Demnach besitzen Glucosinolate, die über Gemüse aufgenommen werden, das Potential, Apoptose zu induzieren. Dies bekräftigt die Annahme, dass Kohlgemüse ein hohes krebspräventives Potential besitzt.

Zu beachten ist allerdings, dass Glucosinolate aus rohem Gemüse deutlich besser absorbiert werden können.

3.4 Genistein

Genistein (4',5,7-Trihydroxyisoflavon) zählt zu den Isoflavonen, die wiederum zu den Phytoöstrogenen gehören. Biochemisch gesehen sind Phytoöstrogene heterozyklische Phenole mit struktureller Ähnlichkeit zu östrogenen Steroiden. Deshalb zeigen diese Komponenten östrogenähnliche Aktivität oder schwache antiöstrogenähnliche Eigenschaften [SARKAR et al., 2006].

Dem vorwiegend in Soja (*Glycine max*) enthaltenen Genistein werden sowohl chemopräventives als auch chemotherapeutisches Potential in verschiedenen Tumorarten zugesprochen [GOSSNER et al., 2007].

3.4.1 Mechanismus

Genistein induziert Apoptose mitochondrienabhängig bei hohen Konzentrationen von 30 – 200 $\mu\text{mol/l}$ [RAMOS, 2007].

So zeigten Yoon et al., dass Genistein bei einer Konzentration von 50 $\mu\text{mol/l}$ die Freisetzung von Cytochrom c, die Aktivierung der Caspase 3, Nuklearkondensation und DNA-Fragmentierung durch Reduzierung des mitochondrialen Membranpotentials induziert [YOON et al., 2000].

In anderen Studien löste die Behandlung von humanen malignen Neuroblastomzellen der Zelllinie SH-SY5Y mit 100 $\mu\text{mol/l}$ Genistein für 24 Stunden die Apoptose aus. Sie war verbunden mit einer mitochondrialen Freisetzung von Cytochrom c und Aktivierung der Caspasen 3 und 9 [DAS et al., 2006].

Hohe Dosen an Genistein (111 $\mu\text{mol/l}$) induzierten auch in Caco-2Bbe-Zellen Apoptose. Andererseits wurde bei einer deutlich niedrigeren Konzentration des Isoflavonoids (3,7 $\mu\text{mol/l}$) die Zellproliferation erhöht, ohne dass Apoptose induziert wurde [CHEN and DONOVAN, 2004].

15 – 60 $\mu\text{mol/l}$ Genistein induzierten auch bei Mäuse-T-Lymphomzellen Apoptose. Dies passierte durch mitochondriale Depolarisierung und Aktivierung der Caspasen 3 und 9 [BAXA et al., 2005].

Auch in MCF-7-Brustkrebszellen wurde bei Konzentrationen von 10 $\mu\text{mol/l}$ Genistein/l nach 24-stündiger Behandlung Apoptose induziert. Dieser Effekt zeigte sich jedoch nicht bei 5 $\mu\text{mol/l}$ [MAGGIOLINI et al., 2001].

Bei einer Konzentration von 20 $\mu\text{mol/l}$ inhibierte Genistein die Proliferation von LNCaP-Prostatakrebszellen und steigerte die Apoptoserate [SHEN et al., 2000].

Genistein übt seinen Einfluss auf selektive Weise aus. So wird Apoptose zwar in den hochaggressiven PC-3-Zellen (nach einer Behandlung mit 50 $\mu\text{mol/l}$ Genistein/l über 1 bis 3 Tage) induziert, aber nicht in den nichtcancerogenen CRL-2221-Prostataepithelzellen - trotz gleicher Behandlung [LI und SARKAR, 2002].

Genistein inhibiert auch die Aktivierung von NF- κB und Akt-Signalwege. Beide sind für die Balance zwischen Zellüberleben und Apoptose wichtig [SARKAR et al., 2006].

In humanen SK-N-MC-Neuroblastomzellen erhöhte Genistein dosisabhängig MDC1 (Mediator of DNA damage Checkpoint protein 1), p53, p21, Cdc2 and Bax- mRNA-Spiegel [ISMAIL et al., 2007].

Außerdem kann Genistein durch Inhibierung der DNA-Topoisomerase-II Apoptose induzieren und dabei das Abbinden der DNA-Doppelstrangbrüche verhindern [KLEIN und KING, 2007].

3.4.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit

Genistein kommt vorwiegend in Soja vor, ist aber auch in anderen Hülsenfrüchten wie Erbsen (*Pisum sativum*), Linsen (*Lens culinaris*) und diversen Bohnenarten enthalten [GOSSNER et al., 2007].

Ein an Genistein besonders reiches Lebensmittel ist Miso (aus fermentierten Sojabohnen) mit 250 – 900 mg/kg Genistein [MANACH et al., 2004].

Die Phytoöstrogenaufnahme bei ost- und südoasiatischer Ernährung wurde auf 20 - 50 mg pro Tag geschätzt; durchschnittlich auf 15 – 30 mg/Tag [KEINAN-BOKER et al., 2004].

Japanische Ernährungsformen weisen die höchste Sojaaufnahme auf: Täglich werden durchschnittlich 6 – 11 g Sojaprotein verzehrt und damit 25 – 50 mg Isoflavone aufgenommen. Die Phytoöstrogenaufnahme in westlichen Ländern ist 10- bis 100-mal niedriger. In den Vereinigten Staaten bewegt sie sich zwischen 0,15 und 3 mg/Tag [HORN-ROSS et al., 2001].

In vier verschiedenen europäischen Ländern wurde von einem ähnlich hohen Isoflavonkonsum wie in den USA berichtet. Er bewegte sich zwischen 0,49 und 1 mg/d [VAN ERP-BAART et al., 2003].

Kleinkinder, die mit Babynahrung auf Sojabasis gefüttert werden, zählen im Westen zu Menschen mit dem höchsten Phytoöstrogenkonsum. Ihre Aufnahme übersteigt jene von nicht-supplementierenden Erwachsenen ca. um das Sechsfache [PADILLA-BANKS et al., 2006]. Der Konsum von Lebensmitteln aus Soja in westlichen Ländern dürfte bei Erwachsenen zu ungefähr 1 mg Phytoöstrogenen/kg Körpergewicht/Tag führen. Babys, die mit Sojanahrung gefüttert werden, nehmen dagegen 5 bis 9 mg Isoflavone/kg/Tag Isoflavone auf [SETCHELL et al., 1997].

Eine Studie aus Großbritannien berichtete bei Frauen und Männern von einer durchschnittlichen täglichen Aufnahme von weniger als 1mg Isoflavonen/Tag. Bei Menschen, die regelmäßig Soja essen, sind die Werte ungefähr zehnmal so hoch (8,6 mg/Tag bei Frauen und 7,5 mg/Tag bei Männern) [MULLIGAN et al., 2007].

Eine hohe Konzentration an Genistein im Plasma ist schwierig zu erreichen und zu erhalten [MANACH et al, 2005].

In einer Studie mit indischen Frauen wurden die Genisteinplasmaspiegel nach Verabreichung einer Sojaextraktkapsel mit 64,12 mg Gesamtisoflavonoiden (Genisteinäquivalent 31,7 mg) bestimmt. Zunächst wurde ein Genisteingehalt von 10,3 – 16,2 ng/ml bei 3 Probandinnen gemessen. Nach einer Stunde stiegen die Spiegel auf 42 – 215 ng/ml an. Nach 4 – 8 Stunden war die Maximalkonzentration mit 117 – 380 ng/ml erreicht. [JOSHI et al., 2007]

Nach dem Konsum von Soja liegt der Genisteinspiegel im Plasma bei Erwachsenen zwischen weniger als 1 µmol bis ungefähr 5 µmol/l [SAFFORD et al., 2003].

Mit Sojanahrung gefütterte Babys weisen allerdings eine Plasmakonzentration von ca. 2,5 µmol/l auf [SETCHELL et al., 1997].

Da viel des „freien“ Genisteins im Serum an Serumprotein gebunden sein kann, bewegt sich die tatsächliche Konzentration biologisch aktiven Genisteins im Serum im nanomolaren Bereich. Bei Erwachsenen wurde von Plasmaspiegeln von 2 -5 ng/ml (7 -18 nmol/l) in Individuen mit üblicher „Western Diet“ berichtet. Messbar höhere Genisteinlevel zeigen sich bei Menschen, die sich vegetarisch ernähren (0,04 – 0,09 µmol/l) oder viel Soja konsumieren (0,27 – 1,2 µmol/l) [SAFFORD et al., 2003].

In Studien führte eine besonders sojareiche Diät über 10 Wochen zu Genisteinspiegeln von durchschnittlich 700 nmol/l. Die Werte variierten je nach Individuum jedoch stark [WISEMAN et al., 2004].

3.4.3 Fazit

Durch Genistein verursachte Apoptoseinduktion tritt gewöhnlich in hohen Dosen von 30 bis 200 µmol/l auf [RAMOS, 2007].

Vereinzelte Studien konnten Apoptoseinduktion aber auch in niedrigeren Konzentrationen von 10 bzw. 15 µmol/l nachweisen [MAGGIOLINI et al., 2001, BAXA et al., 2005].

Nach Sojakonsum wurden beim Menschen allerdings maximal 5 µmol/l Genistein gemessen. Diese Menge konnte auch bei Maggiolini et al. keine Apoptose in MCF-7-Brustkrebszellen induzieren.

Selbst bei Menschen, die viel Soja konsumieren, liegt der Plasmaspiegel im Normalfall aber sogar noch weit unterhalb von 5 µmol/l (0,27 – 1,2 µmol/l) [SAFFORD et al., 2003].

Es ist daher sehr unwahrscheinlich, dass Genistein unter physiologisch bedeutsamen Spiegeln programmierten Zelltod auslösen kann. Relevant könnte die Apoptoseinduktion aber bei Menschen sein, die Phytoöstrogenpräparate zu sich nehmen oder mit Phytoöstrogenen angereicherte Lebensmittel konsumieren.

3.5.1 Quercetin

Quercetin (3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavon) ist ein polyphenolisches Antioxidans, das in einer Vielzahl an Früchten und Gemüsesorten vorkommt. Es zählt zu den wichtigsten Vertretern der Flavonolklasse in der menschlichen Ernährung [VON LÖW et al., 2007].

Im Tierversuch inhibiert Quercetin Krebswachstum [MOURIA et al., 2002].

3.5.1 Mechanismus

Quercetin reguliert die Expression von p53 hinauf [RANELLETI et al., 2000].

In Rattenhepatomzellen der Zelllinie H4IIE schützte Quercetin bei einer Konzentration von 10 bis 25 $\mu\text{mol/l}$ vor H_2O_2 induzierter Apoptose. Dieser Effekt wurde auf die antioxidative Aktivität des Polyphenols zurückgeführt. Höhere Konzentrationen von Quercetin (50 $\mu\text{mol/l}$) induzierten hingegen Zytotoxizität und Aktivierung der Caspasen 2, 3 und 9 in derselben Zelllinie [WATJEN et al., 2005].

Quercetin kann verschiedene Tyrosin- und Serin-Threonin-Kinasen inhibieren, deren Aktivitäten mit MAPK und AKT in Verbindung stehen [SPENCER et al., 2003]. MAPK steht für mitogenaktivierte Kinase, eine Reihe mehrstufiger Signaltransduktionswege, zu denen die extrazellulär regulierte Kinase (ERK), p38-MAPK und c-Jun N-terminale Kinase (JNK) gehören und die unter anderem in die Regulation der Apoptose involviert sind [CHEN und Sommer, 2009].

Niedrige Quercetinkonzentrationen dürften den MAPK-Weg aktivieren, was zur Expression von Survivalgenen (c-fos und c-jun) und defensiven Genen (Glutathion-S-Transferase) führt. Höhere Quercetinkonzentrationen aktivieren hingegen den Caspaseweg und führen schließlich zur Apoptose [KONG et al., 2000].

Laut Russo wirkt Quercetin in niedrigen Konzentrationen nicht apoptotisch, kann aber durch Bindung an Todesrezeptorinduktoren (wie z. B. TRAIL) Apoptose synergistisch in verschiedenen Zelllinien verstärken. Dieser Effekt ist von seiner antioxidativen Aktivität unabhängig [RUSSO, 2007].

Quercetin scheint seine Aktivitäten allerdings tumorselektiv auszuüben. In den hochaggressiven PC-3-Zelllinien und moderat aggressiven DU145-Prostatakrebszelllinien inhibierte Quercetin (bei einer Konzentration von 25 und 50 $\mu\text{mol/l}$) signifikant das Wachstum, griff aber die wenig aggressiven LNCaP Prostatakrebszelllinien oder die normalen BG-9 Fibroblastenzelllinien nicht an [NAIR et al., 2004].

Bei vier humanen Krebszelllinien (Plattenepithelkarzinom HSC-2, HSC-3, Unterkieferspeicheldrüsenkrebszellen HSG und Promyelozytenleukämie HL60) induzierte Quercetin Apoptose. Bei drei normalen humanen oralen Zellen (Gingivafibroblasten HGF, Markzellen HPC und Wurzelhautfibroblasten HPLF) wurde hingegen keine Apoptose induziert [CHOWDHURY et al., 2005].

3.5.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit

Quercetin findet sich konzentriert in Zwiebeln (*Allium cepa*), Broccoli, Äpfeln (*Malus domestica*), Trauben (Rotwein) und in Sojabohnen [VON LÖW et al., 2007]. Auch Zitrusfrüchte (Citrus), Petersilie (*Petroselinum crispum*) und Tee zählen zu den Hauptquellen für Quercetin. Zudem sind Olivenöl (*Olea europaea*), Trauben, dunkle Kirschen (*Prunus cerasus*) und dunkle Beeren wie Brombeeren (*Rubus sectio Rubus*) und Heidelbeeren (*Vaccinium myrtillus*) reich an Quercetin [YOUNG et al, 1999].

Zwiebeln enthalten 185 ± 332 mg Quercetin/kg Frischgewicht, Grünkohl (*Brassica oleracea* convar. *acephala* var. *sabellica* L.) 110 mg/kg, grüner Salat (*Lactuca sativa*) 94 mg/kg und Broccoli 30 mg/kg. Der Quercetiningehalt im Obst ist im Allgemeinen geringer, z. B. enthalten Äpfel 36 ± 19 mg/kg Quercetin,

Weintrauben 12 ± 15 mg/kg und Erdbeeren 8,6 mg/kg. In Apfelsaft wurden nur 2,5 mg/l nachgewiesen [BOEHM et al., 1998]. Roter Paprika (*Capsicum annum* L.) enthält 34,0 mg Quercetin/kg. In grünem Paprika sind geringere Mengen enthalten [SUN et al., 2007].

Lebensmittel	Durchschnittlicher Gehalt [mg/kg Frischgewicht]
Zwiebeln	185 ± 332
Grünkohl	110
Häuptlsalat	94
Roter Paprika	34
Äpfel	36 ± 19
Broccoli	30
Weintrauben	12 ± 15
Erdbeeren	8,6
Apfelsaft	2,5

Tabelle 3: Quercetingehalte verschiedener Lebensmittel

In westlichen Ländern werden laut Russo im Durchschnitt 25 – 30 mg aufgenommen [RUSSO, 2007].

In Dänemark wurde die durchschnittliche Aufnahme auf 12 mg/Tag geschätzt [JUSTESEN et al., 1997]. In den Niederlanden schätze man sie auf 16 mg/Tag [HERTOG et al., 1993].

In Lebensmitteln kommen die meisten Flavonoide als Glycoside vor; sie sind also an einen Zuckerrest gebunden. Die Resultate von Einzeldosisstudien von Hollman et al. schlagen vor, dass die Absorption von Quercetinkonjugaten aus Lebensmitteln effizienter sein dürfte als von reinem Aglycon. Es wurde ein Verschwinden von 52% im kleinen Intestinum nach der Aufnahme von 89 mg konjugiertem Quercetin aus Zwiebeln beobachtet, aber nur ein Verschwinden von 17% und 24% nach der Aufnahme von 100 mg Rutinosiden oder reinem Quercetinaglycon [HOLLMAN, 1995].

Ein tägliches Supplement mit 1 - 2 g Quercetin dürfte Plasmakonzentrationen zwischen 10 und 50 $\mu\text{mol/l}$ verursachen [WATHEN et al., 2005].

3.5.3 Fazit

Konzentrationen von 50 $\mu\text{mol/l}$ können in vitro Apoptose induzieren. Weil durch Supplemente mit 1 - 2 g Quercetin Plasmakonzentrationen von bis zu 50 $\mu\text{mol/l}$ erreicht werden können, sind sie möglicherweise auch imstande, Apoptose zu induzieren. Die durchschnittliche Aufnahme in westlichen Ländern wird lediglich auf 25 – 30 mg geschätzt wird (in Dänemark und den Niederlanden laut anderer Studien sogar noch deutlich niedriger). Deshalb dürften die Plasmakonzentrationen bei einer durchschnittlichen westeuropäischen Ernährung etwas zu niedrig ausfallen, um Apoptose auszulösen. Da Menschen mit einem hohen Obst- und Gemüsekonsum jedoch wesentlich mehr Quercetin aufnehmen als der Durchschnitt, könnte eine solche Ernährung tatsächlich das Potential besitzen, Apoptose bei Krebszellen zu induzieren.

3.6 Curcumin

Curcumin (1E,6E)-1,7-Bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-hepta-1,6-dien-3,5-dion) ist ein orange-gelber Farbstoff, der in Gelbwurzel (*Curcuma longa*) enthalten ist. Es ist eines der wichtigsten Inhaltsstoffe von Curcuma und damit auch von der Gewürzmischung Currypulver [TAYYEM et al., 2006].

Es handelt sich um eine phenolische Verbindung mit antiinflammatorischen, antioxidativen und anticancerogenen Eigenschaften. Das chemopräventative Verhalten könnte auf seine Fähigkeit, Apoptose zu induzieren, zurückgehen [REUTER et al., 2008].

3.6.1 Mechanismus

Curcumin kann Apoptose über verschiedene Signalwege induzieren. Die Zahl der Signalwege und der molekularen Angriffspunkte wächst kontinuierlich. Oft sind die Resultate auch zelltypspezifisch und dosisabhängig. Der überwiegende Apoptoseweg, der durch Curcumin ausgelöst wird, kann durch Zelltyp, Differenzierungsstufe und Curcuminkonzentration variieren [REUTER et al., 2008].

In den vergangenen Jahren wurden immer mehr Targets von Curcumin am intrinsischen Signalweg entdeckt. Curcumin induziert in Krebszellen die Stimulierung von proapoptotischen Proteinen der Bcl-2-Familie Bax, Bim, Bak, Puma und Noxa. Zudem reguliert es zwei antiapoptotische Proteine hinunter, nämlich Bcl-2 und Bcl-X_L [REUTER et al., 2008].

In U937-Zellen induziert Curcumin Apoptose durch die Hemmung von Bcl-X_L - und IAP-Proteinen, die Freisetzung von Cytochrom c und die Aktivierung der Caspase 3. Außerdem fungiert es hier als Stimulator intrazellulärer Ca²⁺-Aufnahme in die Mitochondrien über den Uniporter-Signalweg [BAE et al., 2003].

Woo et al. fanden heraus, dass Curcumin in humanen renalen Caki-Zellen durch die Generierung von ROS, die Hinunterregulierung von Bcl-X_L und IAP, die Freisetzung von Cytochrom c und die Inhibierung von Akt Apoptose induziert [WOO et al., 2003].

Shankar et al. beschrieben, wie Akt die Aktivität von p53 über einen caspaseabhängigen mitochondrialen Todesweg moduliert [SHANKAR und SHIVASTAVA, 2007].

In HL-60-Zellen und humanen Colonkrebszellen induziert Curcumin ROS- und Calciumfreisetzung, erniedrigt den Spiegel an MMP („matrix metalloproteinases“) und Bcl-2, erhöht die Spiegel der Caspase 3, Bax und die Freisetzung von Cytochrom c, was schließlich zur Apoptose führt [SU et al., 2006].

Curcumin ist für seine antioxidativen Eigenschaften bekannt und fungiert als freier Radikalfänger durch Inhibierung der Lipidperoxidation und oxidativem DNA-Schäden. Mehrere in-vitro-Studien schlagen vor, dass curcumininduzierte Apoptose mit ROS-Produktion und oxidativem Stress verbunden ist [REUTER et al., 2008].

Curcumin kann die Konformation von p53 spalten, was für seine Serinphosphorylierung, seine Bindung an DNA, seine Transaktivierung von p53-reagierenden Genen und p53-vermitteltem Zellcyclusarrest in Colonkrebszellen benötigt wird. In humanen Colonadenocarcinomzellen reguliert Curcumin die Serinphosphorylierung von p53 hinauf, den antiapoptotischen Faktor Bcl-2 hinunter und das proapoptotische Bax hinauf. Dabei erniedrigt es das Bcl-2/Bax-Verhältnis [REUTER et al., 2008].

Curcumin kann aber auch über den extrinsischen Signalweg Apoptose induzieren. Bush et al. zeigten, dass Curcumin in humanen Melanomzellen

Apoptose induziert. Dies erfolgt über einen Fas-Rezeptor/Caspase-8-Weg, der unabhängig von p53 ist [BUSH et al., 2001].

Moragoda et al. bestätigten diese Beobachtung. Sie konnten zeigen, dass Curcumin die Modulation der Apoptose in Magen- und Colonkrebs durch die Initiation des Fas-Signalwegs induzierte. Dies führt zur Spaltung von PARP (Poly(ADP-ribose) Polymerase) und Caspase 3, zur Reduktion von Bcl-X_L-Spiegeln und der Stimulierung der Caspase-8-Aktivität [MORAGODA et al., 2001].

In humanen Prostatakrebszellen reguliert Curcumin Zellüberlebensmechanismen (wie NF-κB) hinunter und induziert Apoptose durch Hinunterregulierung von Bcl-2 und Bcl-X_L und Aktivierung der Procaspasen 3 und 8 [MUKHOPADHYAY et al., 2001].

Caspase 8, ein Schlüsselfaktor des extrinsischen Signalwegs, ist ebenfalls involviert in die curcumininduzierte Apoptose von HL-60-Leukämiezellen. Außerdem kommt es hierbei zu Bid-Spaltung, was dem Crosstalk zwischen dem intrinsischen und dem extrinsischen Signalweg entspricht [REUTER et al., 2008].

Einige Berichte zeigen, dass Curcumin proteasomale Aktivität inhibiert, die Akkumulation von cytosolischem Calcium auslöst und Proteindisulfid trennt. All dies löst eine ER-Stressantwort aus. Außerdem induziert Curcumin die Expression von ER-assoziierten Proteinen. Dies weist auf eine Verbindung zwischen der Produktion von ER-Stress durch Curcumin und der Induktion von Apoptose hin [REUTER et al., 2008].

Bei Konzentrationen von 30 µmol/l wurde in B6p210- und B6T315l-Zellen Apoptose induziert, während 10 µmol/l die Zellproliferation inhibierten [WILLIAM et al., 2008].

3.6.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit

Curcumin kommt hauptsächlich im Curcumagewürz vor. Eine Untersuchung mit verschiedenen Curcumpulvern ergab einen durchschnittlichen Gehalt von 3,14%. Da Curcuma auch in Curry-Gewürzmischungen enthalten ist, kommt Curcumin ebenfalls in Currypulver vor. Der Gehalt ist jedoch gewöhnlich sehr gering [TAYYEM et al., 2006].

Die Bioverfügbarkeit von Curcumin ist sehr niedrig. Hauptprobleme sind die geringe Absorptionsrate und die schnelle Verstoffwechslung [ANAND et al., 2007].

Bereits 1978 zeigten Wahlstrom und Blennow anhand von Studien mit Ratten, dass nach der oralen Gabe von 1 g/kg Curcumin das Curcumin kaum absorbiert wurde [WAHLSTROM und BLENNOW, 1978].

Auch andere Versuche mit Ratten zeigten eine niedrige Bioverfügbarkeit von Curcumin. So konnten beispielsweise nach der oralen Gabe von 400 mg nur Spuren in Leber und Niere gemessen werden [ANAND et al., 2007].

Eine Dosis von 2 g war beim Menschen entweder im Serum nicht messbar oder führte zu einer niedrigen Konzentration von $0.006 \pm 0.005 \mu\text{g/ml}$ nach einer Stunde. Eine Dosis von 4 – 8 g Curcumin führte nach ebenfalls einer Stunde zu $0.41\text{--}1.75 \mu\text{mol/l}$. In einer anderen Studie führt die Gabe von 3,6 g Curcumin nach einer Stunde zu $11,1 \text{ nmol/l}$ [SHOBA et al., 1998].

Die Curcuminkonzentrationen in malignen und gesunden colorectalen Geweben von PatientInnen, die 3600 mg Curcumin erhalten hatten, lagen bei $12,7 \pm 5,7$ bzw. $7,7 \pm 1,8 \text{ nmol/g}$ [GARCEA et al., 2004].

3.6.3 Fazit

Reines Curcmapulver findet in der europäischen Küche nur selten Verwendung. Auch Currypulver zählt nicht zu den alltäglichen Gewürzen und weist außerdem nur geringe Curcumingehalte auf. Darüber hinaus werden Curcuma- und Currypulver als Gewürze nur sparsam (wenige Gramm pro Portion) eingesetzt. Daher ist die Curcuminaufnahme über die Nahrung in Österreich minimal. Aber selbst wenn eine Person täglich 5 g Curcmapulver essen würde, wäre die Curcuminkonzentration aufgrund der schlechten Bioverfügbarkeit so gering (0,157 g), dass sie zu keinen relevanten Plasmakonzentrationen (ca. 30 $\mu\text{mol/l}$) führen würde. Die Fähigkeit von Curcumin, Apoptose zu induzieren, spielt demnach für die menschliche Ernährung keine Rolle.

3.7. Luteolin

Der gelbe Farbstoff Luteolin (3',4',7-Trihydroxy-flavon) ist eines der bekanntesten Flavonoide und kommt in vielen essbaren Pflanzen vor [LOPEZ-LAZARO, 2009].

3.7.1 Mechanismus

Zahlreiche Studien zeigen, dass Luteolin in vielen verschiedenen Krebszelllinien Apoptose induzieren kann. Die Berichte weisen aber darauf hin, dass der Effekt eine Konzentration von mindestens 10 µmol/l erfordert.

DNA-Topoisomerase-Inhibitoren sind effektive Induktoren von Apoptose in Krebszellen. Außerdem hängt luteolininduzierte Apoptose in Krebszellen auch mit seiner Fähigkeit zusammen, die Fettsäuresynthase zu inhibieren, die Aktivierung von p53 zu induzieren, ein Ungleichgewicht der Bcl-2-Proteine herzustellen, den Todesrezeptor 5 hochzuregulieren und den Abbau von STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) zu fördern [LOPEZ-LAZARO, 2009].

Wie andere Polyphenole kann auch Luteolin Apoptose in malignen Zellen induzieren, während in gesunden Zellen keine Apoptose ausgelöst wird [HORINAKA et al., 2005].

Shi et al. fanden heraus, dass Luteolin signifikant TNF-induzierte Apoptose über die Inhibierung von NF-κB und erhöhte Aktivierung von JNK (c-Jun N-terminal kinase) sensitiviert [SHI et al., 2004].

Luteolininduzierte Akkumulierung von ROS dürfte eine Schlüsselrolle in der Unterdrückung von NF-κB und Aktivierung von JNK spielen, um Krebszellen dazu zu sensitivieren, TNF-induzierte Apoptose zu begehen. Außerdem sensitiviert Luteolin TRAIL-induzierte Apoptose in verschiedenen humanen

Krebszellen. Diese Sensitivierung wird durch eine verstärkte Ubiquitinierung von XIAP („X-linked inhibitor of apoptosis protein“) und proteasomalen Abbau erreicht [LOPEZ-LAZARO, 2009].

Der Sensitivierungseffekt von Luteolin in Krebszellen kann auch durch seine Effekte auf HER2 („Human Epidermal growth factor Receptor-2“) vermittelt werden, da die Überexpression von HER2 die Resistenz gegenüber verschiedenen therapeutischen Mitteln gewährt und Luteolin ein starker Stimulator des HER2-Abbaus ist. Luteolin inhibiert signifikant dosisabhängig HER2-Expression und Tumorwachstum in nackten Mäusen [CHIANG et al., 2007].

3.7.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit

Luteolin kommt in vielen essbaren Pflanzen vor. Hierzu zählt beispielsweise Paprika (*Capsicum annuum*) mit 5 – 10 mg/kg Frischgewicht [MANACH et al., 2004]. Aber auch in Karotten (*Daucus carota*), Sellerie (*Apium graveoens*), Olivenöl (*Olea europaea*), Pfefferminze (*Mentha x piperita*), Thymian (*Thymus vulgaris*), Rosmarin (*Rosmarinus officinalis*), Oregano (*Origanum vulgare*), Kopfsalat (*Lactuca sativa*), Perilla leaves (*Perilla frutescens*), Granatapfel (*Punica granatum*), Artischocken (*Cynara scolymus*), Kakaobohnen (*Theobroma cacao*), Rotbuschtee (*Aspalathus linearis*), Buchweizensprossen (*Fagopyrum esculentum*), Rübe (*Brassica napus*), Kapern (*Capparis spinosa*) und Gurke (*Cucumis sativus*). Auch in Zitrone (*Citrus x limon*), Roter Bete (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* var. *conditiva*), Kohlsprossen, Kohl, Schnittlauch (*Allium schoenoprasum*), Fenchel (*Foeniculum vulgare*), Kren, Kohlrabi (*Brassica oleracea* L. convar. *acephala* (DC.)), Petersilie (*Petroselinum crispum*), Spinat (*Spinacia oleracea*) und grünem Tee wurde es bereits identifiziert. [LOPEZ-LAZARO, 2009]

Luteolin kommt in Pflanzen als Aglycon oder als Glycosid vor [LOPEZ-LAZARO, 2009]

Luteolin-7-O- β -Glucosiden wird nach Hydrolyse zu Luteolin durch intestinale Mikrobakterien absorbiert. Während es die intestinale Mucosa passiert, konvertiert Luteolin zu Glucuroniden. Das Plasma von Ratten, die Luteolin oral verabreicht bekommen hatten, enthielt freies Luteolin, Glucoronide und Sulfatkonjugate von Luteolin und Luteolin-7-O- β -Glucosiden. Freies Luteolin wurde auch in humanem Plasma nach oraler Gabe gefunden. Ratten, die 50 $\mu\text{mol/kg}$ Körpergewicht Luteolin bekommen hatten, wiesen nach 30 Minuten einen Plasmaspiegel von $15,5 \pm 3,8 \mu\text{mol}$ auf [SHIMOI et al., 1998].

Zhou et al. beobachteten, dass die intestinale Absorption von Luteolin aus Erdnusshülsenextrakt effizienter ist als aus purem Luteolin. Nach oraler Gabe von 14,3 mg/kg Körpergewicht Luteolin oder 92,3 mg/kg Erdnusshülsenextrakt (mit 14,3 mg/kg Luteolin) betrugen die maximalen Konzentrationen im Plasma von Ratten $1,97 \pm 0,15 \mu\text{g/ml}$ bei Luteolin und $8,34 \pm 0,98 \mu\text{g/ml}$ bei Erdnusshülsenextrakt. Zudem wurde Luteolin aus Erdnusshülsenextrakt schneller absorbiert als reines Luteolin ($0,52 \pm 0,05$ vs. $1,02 \pm 0,22$ h) [ZHOU et al., 2008].

Die Bioverfügbarkeit von Luteolin scheint also grundsätzlich hoch zu sein; seine Verstoffwechslung niedrig genug, damit es seine biologischen Aktivitäten in vivo entfalten kann [LOPEZ-LAZARO, 2009].

3.7.3 Fazit

Luteolin kann Apoptose in malignen Zellen induzieren. Allerdings sind die Konzentrationen, die üblicherweise in Lebensmitteln gefunden werden, recht gering (siehe Paprika mit 5 – 10 mg/kg). Da selbst bei der Gabe von 14,3 mg/kg Körpergewicht Luteolin lediglich eine Plasmakonzentration von $1,97 \pm 0,15 \mu\text{g/ml}$ bei reinem Luteolin bzw. $8,34 \pm 0,98 \mu\text{g/ml}$ bei Erdnusshülsenextrakt bei Ratten erreicht wird, sind höhere Konzentrationen, die benötigt werden, um den

Effekt zu erreichen (mindestens 10 $\mu\text{mol/l}$) trotz guter Bioverfügbarkeit nur schwer erreichbar.

3.8 Maslinsäure

Maslinsäure (2 α ,3 β -Dihydroxyolean-12-en-28-säure) zählt zu den Triterpenoiden. Sie befindet sich hauptsächlich in der Haut von Oliven (*Olea europaea*), wo sie – gemeinsam mit anderen Triterpenoiden wie Oleansäure – die Frucht schützt, indem sie als Antifraßmittel und antimikrobiologisches Agens dient [JUAN et al., 2006].

Oliven und Olivenöl stellen eine wichtige Komponente der mediterranen Ernährung dar, der krebspräventive Eigenschaften zugeschrieben werden. Dies wird häufig mit dem hohen Gehalt an einfach ungesättigter Fettsäure in Verbindung gebracht. Möglicherweise besteht jedoch auch ein Zusammenhang mit der in der Olivenhaut enthaltenen Maslinsäure und deren Fähigkeit, Apoptose zu induzieren [JUAN et al., 2006].

3.8.1 Mechanismus

In einer Studie von Juan et al. wurde der Effekt von Olivenhautextrakt auf Apoptose in humanen Colonkrebszellen der Zelllinie HT-29 bestimmt. Die Zellen wurden für 24 Stunden mit Olivenextrakt inkubiert. Ein Extrakt enthielt 150 $\mu\text{mol/l}$ Maslinsäure und 55,5 $\mu\text{mol/l}$ Oleansäure, ein anderer 200 $\mu\text{mol/l}$ Maslinsäure und 74 $\mu\text{mol/l}$ Oleansäure. Der programmierte Zelltod wurde jeweils durch den intrinsischen Weg induziert. Dies zeigte die Produktion von Hydroperoxyd-Anionen in den Mitochondrien des Olivenextrakts [JUAN et al., 2006].

Bei der Bestimmung der Effekte der einzelnen Komponenten auf humane Colonkrebszellen des Typs HT-29 zeigte sich, dass Oleansäure die Caspase 3 als Anfangsapoptoseprotease nicht aktivieren konnte. Grund dürfte die fehlende Hydroxylgruppe an der zweiten Kohlenstoffposition sein. Im Gegensatz dazu erhöhte die Maslinsäure die Aktivität der Caspase 3 bei 10, 25 und 50 $\mu\text{mol/l}$ um das 3-, 3,5- und 5-fache im Vergleich zu den Kontrollzellen. Die Induzierung

von Apoptose durch Olivenfruchtextrakt scheint also auf Maslinsäure, nicht aber auf Oleansäure zurückzugehen [JUAN et al., 2008].

Reyes-Zurita et al. zeigten ebenfalls, dass die Behandlung von HT29-Zellen mit Maslinsäure den mitochondrialen Apoptoseweg induziert. Maslinsäure inhibierte deutlich die Expression von Bcl-2 und erhöhte jene von Bax. Außerdem stimulierte sie die Freisetzung von mitochondrialem Cytochrom c und aktivierte die Caspasen 9 und 3 [REYES-ZURITA et al., 2009].

Auch Maslinsäure induziert Apoptose selektiv in Krebszellen. So wurde bei Konzentrationen von $61 \pm 1 \mu\text{mol/l}$ bei IC50HT29-Zellen, $76 \pm 1 \mu\text{mol/l}$ bei IC80HT29, sowie $85 \pm 5 \mu\text{mol/l}$ bei IC50Caco-2 und $116 \pm 5 \mu\text{mol/l}$ bei IC80Caco-2 die Aktivität der Caspase 3 erhöht. Hingegen induzierte Maslinsäure keine Apoptose in den nicht-tumoralen Intestinalzelllinien IEC-6 und IEC-18. Bei der Induktion handelt es sich um einen p53-unabhängigen Mechanismus, der aufgrund von Störungen des Membranpotentials und Freisetzung von Cytochrom c auftritt [REYES et al., 2006].

3.8.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit

Maslinsäure kommt hauptsächlich in Oliven – und hier wiederum konzentriert in Olivenhaut – vor. Olivenhaut enthält $681 \pm 63 \text{ mg/kg}$ Maslinsäure. Die Menge ist im Öl allerdings wesentlich niedriger als in der Frucht und hängt unter anderem von der Ölqualität ab. Extra vergine Olivenöl mit einem Säuregehalt von unter 1% enthält – je nach Sorte – $64,2 \pm 8,1 \text{ mg/kg}$ Maslinsäure. Vergine Olivenöl enthält hingegen $193,9 \pm 14,0 \text{ mg/kg}$ Maslinsäure, da bei dessen Gewinnung (stärkere Pressung mit mehr Druck) die Freisetzung von Maslinsäure aus der Haut erleichtert wird.

Im Vergleich dazu enthält Olivenhaut $420 \pm 20 \text{ mg/kg}$ Oleansäure, extra vergine Olivenöl $57,2 \pm 7,4 \text{ mg/kg}$ und vergine Olivenöl $244,0 \pm 28,1 \text{ mg/kg}$ [JUAN et al., 2006].

Die Bioverfügbarkeit von Triterpenoiden, die in Oliven vorkommen, scheint sehr schlecht zu sein, wie anhand einer Studie von Jeong et al. gezeigt wurde. Die absolute orale Bioverfügbarkeit von Oleansäure betrug bei Ratten bei Dosen von 25 und 50 mg/kg Körpergewicht 0,7%. Bei Dosen von 10 mg/kg waren Plasmakonzentrationen nicht messbar. Dies könnte an einer niedrigen Absorptionsrate oder einer extensiven metabolischen Clearance liegen [JEONG et al., 2007].

Über die Bioverfügbarkeit von Maslinsäure – insbesondere über die beim Menschen – liegen allerdings noch keine Daten vor.

3.8.3 Fazit

Aufgrund der fehlenden Daten über die Bioverfügbarkeit von Maslinsäure ist die Wirksamkeit von Maslinsäure auf den menschlichen Körper fraglich. Geht man aber bei Maslinsäure von einer ähnlich hohen Bioverfügbarkeit wie bei Oleansäure bei Ratten aus (0,7%), wäre es unmöglich, mit üblichen Verzehrsmengen an Oliven und Olivenöl so viel Maslinsäure (mehr als 10 mg/kg Körpergewicht) aufzunehmen, dass sie zu messbaren Plasmakonzentrationen führen würden.

3.9. Folsäure

Folsäure ist ein wasserlösliches B-Vitamin, das als Cofaktor im Kohlenstoffmetabolismus fungiert und für die DNA-Synthese, die Aminosäureumwandlung, Methylierung und normales Zellwachstum essentiell ist [PELLIS et al., 2008].

Ein Mangel an Folsäure ist mit einem erhöhten Risiko für Hyperhomocysteinämie, verschiedene Krebserkrankungen und viele andere Krankheiten wie megaloblastäre Anämie, Neuralrohrdefekte, Alzheimer und Herzerkrankungen verbunden [LI et al., 2003].

Auf zellulärem Level üben Folatmangel und Hyperhomocysteinämie verschiedene nachteilige Effekte aus. Sie induzieren DNA-Schaden, Uracilfehleinsbau in die DNA und modifizierte DNA-Methylierung. Ein niedriger Folatstatus und erhöhtes Homocystein erhöhen die Bildung von ROS und führen zur mitochondrialen Dysfunktion. Die kann schließlich zur Apoptose führen [KRONENBERG et al., 2009].

3.9.1 Mechanismus

Folatmangel kann in verschiedenen Zelllinien zu Apoptose führen. Hierzu zählen Eierstockzellen chinesischer Hamster, humane Hepatomazellen der Zelllinie Hep G2, humane T-Lymphozyten, humane Trophoblasten und humane Erythrocyten [EBISCH et al., 2007].

Außerdem erniedrigt Folsäuresupplementierung bei neuronalen Stammzellen die Apoptoserate, die durch hohe D-Glukosekonzentration induziert worden ist, signifikant [JIA et al., 2008].

Ebenso zeigen Mausmodelle, dass ein Mangel an Folsäure in der Nahrung zu erhöhter Apoptose in den Geweben führen kann [LAWRANCE et al., 2007].

James et al. bestimmten den Effekt von Methylmangel auf Rattenleber und beobachteten nach einer zweitägigen methylenarmen Diät mehr Apoptose in

Rattenleber. Der Anstieg setzte sich über eine 9-wöchige Diätperiode fort [LI et al., 2003].

Schuld ist die Unterbrechung des Methioninmetabolismus, die zu verstärkter Akkumulierung von Homocystein führt. Homocystein ist für einen Anstieg von oxidativem Stress durch eine Überproduktion von Wasserstoffperoxiden verantwortlich. Aufgrund dieses oxidativen Stresses wird der redoxensitive Transkriptionsfaktor NF- κ B hyperaktiviert. Dies führt zu Apoptose durch Expression von Todesgenen [EBISCH et al., 2007].

Koury et al. zeigten anhand eines in-vitro-Mausmodells mit megaloblastärer Anämie, dass eine Folsäureanämie bei den Erythroblasten Apoptose verursacht. Proerythroblasten, die in einem folsäurefreien Medium kultiviert wurden, akkumulierten sich in der S-Phase und begingen Apoptose. Die Kontroll-Proerythroblasten, die in normalem Medium aufwuchsen, überlebten hingegen und differenzierten sich während zwei Tagen zu Reticulocyten. Diese Beobachtungen zeigen, dass Erythroblastenapoptose während der Differenzierung zu erniedrigter Erythrocytenproduktion und zu Anämie führt. Außerdem kann die Apoptose von folsäurefreien Erythroblasten durch das Hinzufügen von Folsäure oder Thymidin zum folatfreien Medium verhindert werden. Dies liegt an der erniedrigten Thymidylatsynthese und/oder dem Fehleinbau von Uracil in DNA [KOURY und HORNE, 1994].

Ein Folatmangel in vitro wird in verschiedenen Zelltypen mit Apoptose assoziiert. Lin et al. zeigten, dass der Folatmangel Bcl-2-Spiegel reduziert, ein Ungleichgewicht des Deoxynucleosidtriphosphatpools auslöst und zu p53-unabhängiger Apoptose führt [LIN et al., 2006].

Der molekulare Mechanismus, durch den Folatmangel Apoptose induziert, ist noch nicht voll aufgeklärt. DNA-Schäden scheinen eine wesentliche Rolle bei der Initiation der Apoptose zu spielen. MMR-Proteine („DNA mismatch repair proteins“) scheinen viele Formen von DNA-Schäden zu erkennen und werden benötigt, um DNA-Schäden-induzierte Apoptose auszulösen [LI et al., 2003].

Andererseits verglichen Pellis et al. humane Colonkrebszellen der Zelllinie HT29, die 100 ng/ml Folsäure ausgesetzt waren mit solchen, die einem normalen Folsäurespiegel (10 ng/ml) ausgesetzt waren. Anwesend waren auch Vitamin B12 und andere Mikronährstoffe, die in den Folat-Methionin-Cyclus involviert sind. Zellen mit 100 ng/ml zeigten eine höhere Apoptoseaktivität [PELLIS et al., 2008].

3.9.2 Vorkommen und Bioverfügbarkeit

Folsäure kommt in vielen Lebensmitteln vor. Hauptquellen sind grüne Gemüsesorten, Früchte, Vollkornbrot, Hefe und Leber [EBISCH et al., 2007].

Die Folsäureaufnahme liegt in Österreich dennoch weit unter den Empfehlungen von 400 µg/Tag (D-A-CH-Referenzwerte). Bei österreichischen Männern beträgt sie durchschnittlich 217 µg, bei Frauen 212 µg/Tag [ELMADFA et al., 2009].

3.9.3 Fazit

Da die durchschnittliche Folsäureaufnahme in Österreich weit unterhalb der Empfehlungen von 400 µg/Tag liegt, ist eine folsäureinduzierte Apoptose und entsprechende Folgeerkrankungen bei einer typischen österreichischen Ernährung nicht ausgeschlossen. Studien gehen allerdings gewöhnlich von einem vollkommen folsäurefreien Medium (in Zellkultur) bzw. einer folsäurefreien Ernährung (bei Tierversuchen) aus.

4. Diskussion und Schlussbetrachtung

Zahlreiche Studien beschäftigen sich mit dem Einfluss einzelner Ernährungsfaktoren auf den programmierten Zelltod. Sie zeigen, dass verschiedenste Substanzen, die in Lebensmitteln enthalten sind, das Potential besitzen, Apoptose zu induzieren oder zu hemmen.

Einige Substanzen wurden bereits genauer untersucht. Hierzu zählen die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen sekundären Pflanzenstoffe Resveratrol, Epigallocatechin-3-gallat, Isothiocyanate, Genistein, Quercetin, Curcumin, Luteolin und Maslinsäure sowie das Vitamin Folsäure.

Viele weitere Faktoren wurden hingegen noch nicht ausführlich untersucht. Möglicherweise existieren etliche weitere Substanzen, die einen Einfluss auf Apoptose ausüben können, deren Zusammenhang mit dem programmierten Zelltod aber noch gar nicht bekannt ist. Auch die komplexen, unter anderem vom Krankheitsbild abhängigen Mechanismen der Apoptose sind trotz intensiver Forschung immer noch nicht zur Gänze aufgeklärt.

Relevanz hat die Fähigkeit verschiedener Substanzen, Apoptose zu beeinflussen, für spezielle Krankheiten. So stellt die Induktion des programmierten Zelltods bei malignen Zellen das Ziel für die meisten Krebstherapien dar. Da mit Apoptose assoziierte Krankheiten wie Tumore und neurodegenerative Erkrankungen aufgrund der steigenden Lebenserwartung in unserer Gesellschaft zunehmen, gewinnt auch die Apoptose immer mehr an Bedeutung.

Schon lange wird ein Zusammenhang zwischen dem Konsum bestimmter pflanzlicher Lebensmittel und Krebs angenommen. Genaue Beschreibungen des krebspräventiven und –therapeutischen Potentials einzelner Lebensmittel finden sich im Report des World Cancer Research Fund. Demnach gilt es als wahrscheinlich, dass nicht stärkehaltiges Gemüse sowie Obst gegen bestimmte

Krebskrankheiten schützen [WISEMAN et al., 2008]. Einer der zugrunde liegenden Mechanismen dürfte der programmierte Zelltod sein.

Eine große Bedeutung in der Krebsprävention wird Brassicaceae zugeschrieben, was mit den Ergebnissen dieser Arbeit übereinstimmt. Glucosinolate zählen zu den wenigen sekundären Pflanzenstoffen, die vermutlich auch in vivo Apoptose – ohne Supplementierung, nur aufgrund des Gemüsekonsums – induzieren können. Ein gewisses Potential hierzu hat auch Quercetin, das in einer Vielzahl an Obst- und Gemüsesorten vorkommt.

Anders sieht es hingegen mit den restlichen in der Arbeit diskutierten sekundären Pflanzenstoffen aus: Die Daten zeigen, dass die Bioverfügbarkeit bei den meisten Substanzen zu niedrig ist, um Plasmakonzentrationen zu erreichen, die physiologische Effekte erzielen können. Sie spielen also in Hinblick auf ihre Fähigkeit, programmierten Zelltod auszulösen, individuell betrachtet keine Rolle in der Ernährung.

Möglicherweise könnte aber der synergistische Effekt einzelner sekundärer Pflanzenstoffe interessant für die Chemoprävention sein. So führt beispielsweise die Behandlung von Zellen mit Indol-3-carbinol und Genistein gemeinsam zu vermehrter Apoptose [AUBORN et al., 2003]. Durch den synergistischen Effekt existiert das Potential prophylaktischer oder therapeutischer Wirksamkeit auch bei niedrigeren Konzentrationen, wenn die Substanzen in Kombination angewendet werden.

Zudem könnten sekundäre Pflanzenstoffe durchaus interessant sein, um sie in der Medizin als Apoptoseinduktoren in höherer Konzentration durch die Gabe von Supplementen zu nutzen. Ein weiterer Ansatz wäre eine Kombinationstherapie mit synthetischen Arzneimitteln, da sie mit ihnen interagieren und deren Effekte verstärken können [RAMOS, 2006].

Andererseits könnten aber auch proapoptotische Verbindungen, die gegen Krebs schützen können, zu degenerativen Erkrankungen führen [WATSON et

al., 2000]. Dagegen spricht allerdings der spezifische chemopräventive Effekt vieler Substanzen: Krebszelllinien reagieren sensibler auf Polyphenolaktivitäten als normale Zellen. Während bei Tumorzellen der Zelltod induziert wird, sind gesunde Zellen bei den gleichen Konzentrationen nicht von Apoptose betroffen. Dies lässt ihnen möglicherweise eine wichtige Rolle in der Krebstherapie zukommen.

Während die meisten Substanzen aufgrund ihrer Fähigkeit, Apoptose zu induzieren, vor allem für die Onkologie ein interessantes Forschungsgebiet darstellen, kann ein Folatmangel zu verstärkter Bildung von ROS und schließlich mitochondrialer Dysfunktion führen. Dies ist insbesondere für neurodegenerative Erkrankungen von Bedeutung [KRONENBERG et al., 2009]. Die weite Verbreitung von Folsäuremangel in der österreichischen Bevölkerung und das zunehmende Interesse an neurodegenerativen Erkrankungen wie Morbus Alzheimer aufgrund der steigenden Lebenserwartung bestätigen die Relevanz dieser Untersuchungen.

Noch nicht ausreichend erforscht wurden allerdings die potentielle Toxizität oder negativen Effekte vieler Substanzen. Beispielsweise kann Genistein die Schilddrüsenperoxidase hemmen und die Biosynthese der Schilddrüsenhormone behindern. Dies wurde am Beispiel von Ratten gezeigt, die mit einer mit Genistein angereicherten Diät gefüttert wurden [CHANG und DOERGE, 2000]. Diese Effekte sind im Falle von Jodmangel bei Kindern und Erwachsenen bedeutend. Aber auch für gesunde Babys, die besonders hohen Dosen an Isoflavonen durch Sojakonsum ausgesetzt sind, könnten sie relevant sein. Allerdings konnten klinische Studien an Menschen bisher keinen signifikanten Effekt auf Schilddrüsenhormone nach dem Konsum von Isoflavonen zeigen [RAMOS, 2006].

Ein weiterer negativer Effekt kann von Isothiocyanaten ausgehen. Sie können die Bildung eines Kropfes begünstigen. Isothiocyanat konkurriert mit Jod, welches zur Synthese von Schilddrüsenhormonen benötigt wird, um die Einlagerung in die Schilddrüse. Eine unzureichende Jodeinlagerung wird mit

verstärktem Zellwachstum kompensiert, was zum Kropf führt. Allerdings müssten dafür – neben einer unzureichenden Jodversorgung - über mehrere Monate täglich mindestens 400 g Weißkohl, 2 kg Chinakohl oder 2,8 kg Rettich verzehrt werden [WATZL, 2001].

Bisher noch nicht hinreichend untersucht wurden außerdem die Metaboliten der einzelnen Substanzen. Viele Moleküle werden im Körper schnell verstoffwechselt; hier stellt sich die Frage, ob die Metaboliten eine ähnlich hohe Wirkung erzielen.

Interessant für den Zusammenhang zwischen Ernährung und Apoptoseinduktion ist die Tatsache, dass Pflanzen aus biologischem Anbau oft höhere Werte an sekundären Pflanzenstoffen aufweisen als solche aus konventionellem Anbau. Grund ist, dass sie stärker auf Krankheitserreger reagieren müssen als Pflanzen aus konventionellem Anbau, die mit Pestiziden behandelt wurden. Als Schutz produzieren sie mehr Phytoalexine [DANI et al., 2007]. Somit könnte Gemüse aus biologischem Anbau möglicherweise auch ein höheres chemopräventives Potential aufweisen.

Zudem wird der Gehalt an sekundären Pflanzenstoffen durch Kochen teilweise stark reduziert [VERMEULEN et al., 2006]. Rohkost weist demnach höhere Gehalte an sekundären Pflanzenstoffen auf, andererseits aber auch eine geringere Bioverfügbarkeit für diese Verbindungen.

Zu beachten ist weiters, dass die Polyphenolgehalte je nach Sorte, Reifegrad und Sonnexposition stark variieren können [WANG et al., 2007]. Dies erschwert Untersuchungen mit Lebensmitteln zusätzlich.

Hinzu kommt, dass die Bioverfügbarkeit einzelner Substanzen starken individuellen Schwankungen unterliegt [Almeida et al., 2009].

All diese Faktoren machen eine Extrapolation der in-vitro-Daten auf in-vivo-Verhältnisse schwer. Aber auch die Ergebnisse aus tierexperimentellen Studien

können nicht 1:1 auf den Menschen übertragen werden. Weitere Untersuchungen, insbesondere Humanstudien, sind also notwendig, um die vielen offenen Fragen zu klären.

5. Zusammenfassung

Apoptose oder der programmierte Zelltod beschreibt das genetisch kontrollierte Absterben einer einzelnen Zelle. Eine Dysfunktion der Apoptose stört die Gewebshomöostase: Erhöhte Apoptoseraten können zu degenerativen Erkrankungen führen, während eine Inhibierung proliferative Krankheiten wie Krebs oder Autoimmunkrankheiten zur Folge haben kann. Externe Stimuli wie ionisierende Strahlung, erhöhte Temperatur oder Virusinfektionen lösen den extrinsischen Signalweg aus, der über den sogenannten „Todesrezeptor“ (death receptor) vermittelt wird. Interne Stimuli wie irreparable genetische Schäden induzieren hingegen den intrinsischen oder mitochondrienvermittelten Signalweg. Ein dritter, aber seltener und wenig bekannter Weg führt über Stress des Endoplasmatischen Reticulums. Alle Wege bewirken die Auslösung der Caspase-Kaskade, die schließlich zum apoptotischen Zelltod führt. Verschiedene Ernährungsfaktoren besitzen das Potential, die Apoptose zu beeinflussen. Hierzu zählen die sekundären Pflanzenstoffe Resveratrol, Epigallocatechin-3-gallat, Isothiocyanate, Genistein, Quercetin, Curcumin, Luteolin und Maslinsäure sowie das Vitamin Folsäure. Dabei zeigt sich ein spezifischer chemopräventiver Effekt vieler Substanzen: Krebszelllinien reagieren auf Polyphenolaktivitäten sensibler als normale Zellen. Die Bioverfügbarkeit der meisten Substanzen ist jedoch zu niedrig, um Plasmakonzentrationen zu erreichen, die physiologische Effekte erzielen können. Eine Ausnahme stellen die in Brassicaceae enthaltenen Glucosinolate dar, die vermutlich auch in vivo Apoptose induzieren können. Ebenso dürfte Quercetin, das in einer Vielzahl an Früchten und Gemüsesorten vorkommt, bei Personen mit hohem Obst- und Gemüsekonsum in Krebszellen Apoptose auslösen können. Während die meisten Substanzen aufgrund ihrer Fähigkeit, Apoptose zu induzieren, vor allem für die Onkologie ein interessantes Forschungsgebiet darstellen, kann ein Folatmangel zu verstärkter Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies und schließlich zu mitochondrialer Dysfunktion führen, was insbesondere für neurodegenerative Erkrankungen von Bedeutung ist. Weitere Untersuchungen sind jedoch notwendig, um die Bioverfügbarkeit,

die potentiellen synergistischen Effekte verschiedener sekundärer Pflanzenstoffe, ihre Toxizität und die Wirksamkeit ihrer Metaboliten zu bestimmen.

6. Summary

Apoptosis is the genetically controlled form of cell death. Dysfunction of apoptosis deranges tissue homeostasis: Increased apoptosis rates may induce degenerative affections while an inhibition can cause proliferative indispositions including cancer and autoimmune diseases. External stimuli such as ionising irradiation, elevate temperature or viral infections activate the extrinsic signal transduction pathway which is connected by the death receptor. In contrast, internal stimuli such as irreparable genetical damage induce the mitochondrial intrinsic pathway. A third but rather unknown pathway is mediated by endoplasmatic reticulum stress. All pathways end in activating the caspase cascade which finally induces the apoptic cell death. Several nutritional factors can influence apoptosis including phytochemicals such as resveratrol, epigallocatechin-3-gallate, isothiocyanate, genistein, quercetin, curcumin, luteolin and maslinic acid as well as the vitamin folic acid. Many agents show a specific chemopreventive effect, which means that cancer cell lines react more sensitively to polyphenole activities than normal cells. However, the bioavailability of most substances is too low to reach plasma concentrations that attain physiological effects, with the exception of glucosinolates occurring in brassicaceae which can probably induce apoptosis in vivo. In addition, quercetin, which appears in a large number of fruits and vegetables may induce apoptosis in persons with a high consumption of fruits and vegetables. As most of the substances are relevant for oncology due to their ability to induce apoptosis, folate absence can lead to increased formation of ROS (reactive oxygen species) and finally result in mitochondrial dysfunction which is important in neurodegenerative diseases. However, further investigations are needed for determing the bioavailability, potential synergistic effects of different phytochemicals, their toxicity and the effectiveness of their metabolites.

7. Literaturverzeichnis

ABDEL NOUR AM, RINGOT D, GUEANT JL, CHANGO A. Folate receptor and human reduced folate carrier expression in HepG2 cell line exposed to fumonisin B1 and folate deficiency. *Carcinogenesis*. 2007; [Epub ahead of print]

AGGARWAL BB, BHARDWAJ A, AGGARWAL RS, SEERAM NP, SHISHODIA S, TAKADA Y. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res*. 2004; 24: 2783-840.

AGGARWAL BB., ICHIKAWA H. Molecular targets and anticancer potential of indole-3-carbinol and its derivatives. *Cell Cycle*. 2005; 4: 1201-15.

AHN WS, HUH SW, BAE SM, LEE IP, LEE JM, NAMKOONG SE, KIM CK, SIN JI. A major constituent of green tea, EGCG, inhibits the growth of a human cervical cancer cell line, CaSki cells, through apoptosis, G(1) arrest, and regulation of gene expression. *DNA Cell Biol*. 2003; 22: 217-24.

ALMEIDA L, VAZ-DA-SILVA M, FALCAO A, SOARES E, COSTA R, LOUREIRO AL, FERNANDES-LOPES C, ROCHA JF, NUNES T, WRIGHT L, SOARES-DA-SILVA P. Pharmacokinetic and safety profile of trans-resveratrol in a rising multiple-dose study in healthy volunteers. *Mol Nutr Food Res*. 2009 Feb 4. [Epub ahead of print]

ANDLAUER W, KOLB J, SIEBERT K, FÜRST P. Assessment of resveratrol bioavailability in the perfused small intestine of the rat. *Drugs Exp Clin Res*. 2000; 26: 47-55.

ANAND P, KUNNUMAKKARA AB, NEWMAN RA, AGGARWAL BB. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Mol Pharm*. 2007; 4: 807-18.

AUBORN KJ, FAN S, ROSEN EM, GOODWIN L, CHANDRASKAREN A, WILLIAMS DE, CHEN D, CARTER TH. Indole-3-carbinol is a negative regulator of estrogen. *J Nutr*. 2003; 133: 2470-2475.

BAE JH, PARK JW, KWON TK. Ruthenium red, inhibitor of mitochondrial Ca²⁺ uniporter, inhibits curcumin-induced apoptosis via the prevention of intracellular Ca²⁺ depletion and cytochrome c release. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003; 303: 1073-9.

BANERJEE S, BUESO-RAMOS C, AGGARWAL BB. Suppression of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary carcinogenesis in rats by resveratrol: role of nuclear factor-kappaB, cyclooxygenase 2, and matrix metalloprotease 9. *Cancer Res*. 2002; 62: 4945-54.

BAXA DM, LUO X, YOSHIMURA FK. Genistein induces apoptosis in T lymphoma cells via mitochondrial damage, *Nutr. Cancer*. 2005; 51: 93–101.

BENITEZ DA, POZO-GUISADO E, ALVAREZ-BARRIENTOS A, FERNANDEZ-SALGUERO PM, CASTELLON EA. Mechanisms involved in resveratrol-induced apoptosis and cell cycle arrest in prostate cancer-derived cell lines. *J Androl*. 2007; 28: 282-93.

BHARDWAJ A, SETHI G, VADHAN-RAJ S, BUESO-RAMOS C, TAKADA Y, GAUR U, NAIR AS, SHISHODIA S, AGGARWAL BB. Resveratrol inhibits proliferation, induces apoptosis, and overcomes chemoresistance through down-regulation of STAT3 and nuclear factor-kappaB-regulated antiapoptotic and cell survival gene products in human multiple myeloma cells. *Blood*. 2007; 109: 2293-302.

BHAT KP, PEZZUTO JM. Cancer chemopreventive activity of resveratrol. *Ann N Y Acad Sci*. 2002; 957: 210-29.

BOEHM H, BOEING H, HEMPEL J, RAAB B, KROKE A. Flavonole, Flavone und Anthocyane als natürliche Antioxidantien der Nahrung und ihre mögliche Rolle bei der Prävention chronischer Erkrankungen. *Z Ernährungswiss* 1998; 37: 147-163.

BRAVO L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev*. 1998; 56: 317-33.

BRUDER JL, HSIEH T, LEREA KM, OLSON SC, WU JM. Induced cytoskeletal changes in bovine pulmonary artery endothelial cells by resveratrol and the accompanying modified responses to arterial shear stress. *BMC Cell Biol*. 2001; 2:1.

BRUSSELMANS K, DE SCHRIJVER E, HEYNS W, VERHOEVEN G, SWINNEN JV. Epigallocatechin-3-gallate is a potent natural inhibitor of fatty acid synthase in intact cells and selectively induces apoptosis in prostate cancer cells. *Int J Cancer*. 2003;106: 856-62.

BUSH JA, CHEUNG KJ, LI G. Curcumin induces apoptosis in human melanoma cells through a Fas receptor/caspase-8 pathway independent of p53. *Exp Cell Res*. 2001; 271: 305-14.

CHANG HC, DOERGE DR. Dietary genistein inactivates rat thyroid peroxidase in vivo without an apparent hypothyroid effect. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2000; 168: 244-52.

CHEN AC, DONOVAN SM. Genistein at a concentration present in soy infant formula inhibits Caco-2BBE cell proliferation by causing G2/M cell cycle arrest. *J Nutr*. 2004;134: 1303-8.

CHEN C, SHEN G, HEBBAR V, HU R, OWUOR ED, KONG AN. Epigallocatechin-3-gallate-induced stress signals in HT-29 human colon adenocarcinoma cells. *Carcinogenesis*. 2003; 24: 1369-78.

CHEN DZ, QI M, AUBORN KJ, CARTER TH. Indole-3-carbinol and diindolylmethane induce apoptosis of human cervical cancer cells and in murine HPV16-transgenic preneoplastic cervical epithelium. *J Nutr.*; 131: 3294-302.

CHEN Y, SOMMER C. The Role of Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) in Morphine Tolerance and Dependence. *Mol Neurobiol*. 2009 May 26.

CHEN YR, WANG W, KONG AN, TAN TH. Molecular mechanisms of c-Jun N-terminal kinase-mediated apoptosis induced by anticarcinogenic isothiocyanates. *J Biol Chem*. 1998; 273: 1769-75.

CHEN Z, SCHWAHN BC, WU Q, HE X ROZEN R. Postnatal cerebellar defects in mice deficient in methylenetetrahydrofolate reductase. *Int J Dev Neurosci*. 2005; 23: 465–74.

CHEN ZP, SCHELL JB, HO CT, CHEN KY. Green tea epigallocatechin gallate shows a pronounced growth inhibitory effect on cancerous cells but not on their normal counterparts. *Cancer Lett*. 1998; 129: 173-9.

CHIANG CT, WAY TD, LIN JK. Sensitizing HER2-overexpressing cancer cells to luteolin-induced apoptosis through suppressing p21(WAF1/CIP1) expression with rapamycin. *Mol Cancer Ther*. 2007; 6: 2127-38.

CHIAO JW, CHUNG FL, KANCERLA R, AHMED T, MITTELMAN A, CONAWAY CC. Sulforaphane and its metabolite mediate growth arrest and apoptosis in human prostate cancer cells. *Int J Oncol*. 2002; 20: 631-6.

CHIAO JW, WU H, RAMASWAMY G, CONAWAY CC, CHUNG FL, WANG L, LIU D. Ingestion of an isothiocyanate metabolite from cruciferous vegetables inhibits growth of human prostate cancer cell xenografts by apoptosis and cell cycle arrest. *Carcinogenesis*. 2004; 25:1403-8.

CHOW HH, CAI Y, ALBERTS DS, HAKIM I, DORR R, SHAHI F, CROWELL JA, YANG CS, HARA Y. Phase I pharmacokinetic study of tea polyphenols following single-dose administration of epigallocatechin gallate and polyphenon E. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001; 10: 53-8.

CHOWDHURY SA, KISHINO K, SATOH R, HASHIMOTO K, KIKUCHI H, NISHIKAWA H, SHIRATAKI Y, SAKAGAMI H. Tumor-specificity and apoptosis-inducing activity of stilbenes and flavonoids. *Anticancer Res*. 2005; 25 (3B): 2055-63.

CHUL CHO K, HOON JEONG J, JUNG CHUNG H, JOE CO, WAN KIM S, GWAN PARK T. Folate receptor-mediated intracellular delivery of recombinant caspase-3 for inducing apoptosis. *J Control Release*. 2005; 108: 121-31.

CHUNG FL, SCHWARTZ J, HERZOG CR, YANG YM. Tea and cancer prevention studies in animals and humans. *J Nutr*. 2003; 133: 3268-3274.

CHUNG LY, CHEUNG TC, KONG SK, FUNG KP, CHOY YM, CHAN ZY, KWOK TT. Induction of apoptosis by green tea catechins in human prostate cancer DU145 cells. *Life Sci*. 2001; 68: 1207-14.

CONAWAY CC, GETAHUN SM, LIEBES LL, PUSATERI DJ, TOPHAM DK, BOTERO-OMARY M, CHUNG FL. Disposition of glucosinolates and sulforaphane in humans after ingestion of steamed and fresh broccoli. *Nutr Cancer*. 2000; 38: 168-78.

CRACIUNESCU CN, BROWN EC, MAR MH, ALBRIGHT CD, NADEAU MR, ZEISEL SH. Folic acid deficiency during late gestation decreases progenitor cell proliferation and increases apoptosis in fetal mouse brain. *J Nutr*. 2004;134: 162–6.

DAMPIER K, HUDSON EA, HOWELLS LM, MANSON MM, WALKER RA, GESCHER A. Differences between human breast cell lines in susceptibility towards growth inhibition by genistein. *Br J Cancer*. 2001; 85: 618-24.

DANI C, OLIBONI LS, VANDERLINDE R, BONATTO D, SALVADOR M, HENRIQUES JA. Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically- or conventionally-produced grapes. *Food Chem Toxicol*. 2007; 45: 2574-80.

DAS A, BANIK NL, RAY SK. Mechanism of apoptosis with the involvement of calpain and caspase cascades in human malignant neuroblastoma SH-SY5Y cells exposed to flavonoids, *Int. J. Cancer* 2006; 119: 2575–2585.

EBISCH IM, THOMAS CM, PETERS WH, BRAAT DD, STEEGERS-THEUNISSEN RP. The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *Hum Reprod Update*. 2007;13: 163-74.

ELATTAR TM, VIRJI AS. The inhibitory effect of curcumin, genistein, quercetin and cisplatin on the growth of oral cancer cells in vitro. *Anticancer Res*. 2000; 20: 1733-8.

ELMADFA I, FREISLING H, NOWAK V, HOFSTÄDTER D, et al. Österreichischer Ernährungsbericht 2008. 1. Auflage, Wien, März 2009.

ELMORE S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*. 2007; 35: 495-516.

ERHART LM, LANKAT-BUTTGEREIT B, SCHMIDT H, WENZEL U, DANIEL H, GÖKE R. Flavone initiates a hierarchical activation of the caspase-cascade in colon cancer cells. *Apoptosis*. 2005; 10: 611-7.

FERRER P, ASENSI M, SEGARRA R, ORTEGA A, BENLLOCH M, OBRADOR E, VAREA MT, ASENSIO G, JORDA L, ESTRELA JM. Association between pterostilbene and quercetin inhibits metastatic activity of B16 melanoma. *Neoplasia*. 2005; 1: 37-47.

FORGES T, MONNIER-BARBARINO P, ALBERTO JM, GUEANT-RODRIGUEZ RM, DAVAL JL, GUEANT JL. Impact of folate and homocysteine metabolism on human reproductive health. *Hum Reprod Update*. 2007; 13: 225-38.

FREMONT L. Biological effects of resveratrol. *Life Sci*. 2000; 66: 663-73.

FRIEDMAN M, LEVIN CE, LEE SU, KOZUKUE N. Stability of green tea catechins in commercial tea leaves during storage for 6 months. *J Food Sci*. 2009; 74: 47-51.

FULDA S, DEBATIN KM. Resveratrol-mediated sensitisation to TRAIL-induced apoptosis depends on death receptor and mitochondrial signalling. *Eur J Cancer*. 2005; 41: 786-98.

FULDA S, DEBATIN KM. Resveratrol modulation of signal transduction in apoptosis and cell survival: a mini-review. *Cancer Detect Prev*. 2006; 30: 217-23.

FULDA S, DEBATIN KM. Sensitization for anticancer drug-induced apoptosis by the chemopreventive agent resveratrol. *Oncogene*. 2004; 23: 6702-11. (a)

FULDA S, DEBATIN KM. Sensitization for tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis by the chemopreventive agent resveratrol. *Cancer Res*. 2004; 64:337-46. (b)

GARCEA G, JONES DJ, SINGH R, DENNISON AR, FARMER PB, SHARMA RA, STEWARD WP, GESCHER AJ, BERRY DP. Detection of curcumin and its metabolites in hepatic tissue and portal blood of patients following oral administration. *Br. J. Cancer* 2004; 90: 1011–5.

GOODLETT CR, HORN KH. Mechanisms of alcohol-induced damages to the developing nervous system. *Alc Res Health*. 2001; 25: 175-184.

GOSSNER G, CHOI M, TAN L, FOGOROS S, GRIFFITH KA, KUENKER M, LIU JR. Genistein-induced apoptosis and autophagocytosis in ovarian cancer cells. *Gynecol Oncol*. 2007; 105: 23-30.

GUCHELAAR HJ, VERMES A, VERMES I, HAANEN C. Apoptosis: molecular mechanisms and implications for cancer chemotherapy. *Pharm World Sci.* 1997; 19: 119-25.

GUSMAN J, MALONNE H, ATASSI G. A reappraisal of the potential chemopreventive and chemotherapeutic properties of resveratrol. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1111-7.

HAYES JD, KELLEHER MO, EGGLESTON M. The cancer chemopreventive actions of phytochemicals derived from glucosinolates. *Eur J Nutr.* 2008; 47: 73-88.

HASTAK K, GUPTA S, AHMAD N, AGARWAL MK, AGARWAL ML, MUKHTAR H. Role of p53 and NF-kappaB in epigallocatechin-3-gallate-induced apoptosis of LNCaP cells. *Oncogene.* 2003; 22: 4851-9.

HERTOG MG, HOLLMAN PC, KATAN MB, KROMHOUT D. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in The Netherlands. *Nutr Cancer.* 1993; 20: 21-9.

HIBASAMI H, ACHIWA Y, FUJIKAWA T, KOMIYA T. Induction of programmed cell death (apoptosis) in human lymphoid leukaemia cells by catechin compounds. *Anticancer Res* 1996; 16: 1943-6.

HOLCIK M, KORNELUK R. XIAP, the guardian angel. *Mol and cellular biology.* 2001; 550-226.

HOLLMAN PC, DE VRIES JH, VAN LEEUWEN SD, MENGELERS MJ, KATAN MB. Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *Am J Clin Nutr.* 1995; 62: 1276-82.

HORIE N, HIRABAYASHI N, TAKAHASHI Y, MIYAUCHI Y, TAGUCHI H, TAKEISHI K. Synergistic effect of green tea catechins on cell growth and apoptosis induction in gastric carcinoma cells. *Biol Pharm Bull.* 2005 Apr; 28: 574-9.

HORINAKA M, YOSHIDA T, SHIRAISHI T, NAKATA S, WAKADA M, NAKANISHI R, NISHING H, MATSUI H, SAKAI T. Luteolin induces apoptosis via death receptor 5 upregulation in human malignant tumor cells. *Oncogene.* 2005; 24: 7108-9.

HORN-ROSS PL, JOHN EM, LEE M, STEWART SL, KOO J, SAKODA LC, SHIAU AC, GOLDSTEIN J, DAVIS P, PEREZ-STABLE EJ. Phytoestrogen consumption and breast cancer risk in a multiethnic population: the Bay Area Breast Cancer Study. *Am J Epidemiol.*; 154: 434-41.

HUANG RF, HO YH, LIN HL, WEI JS, LIU TZ. Folate deficiency induces a cell cycle-specific apoptosis in HepG2 cells. *J Nutr.* 1999; 129: 25-31.

HUANG C, MA WY, LI J, HECHT SS, DONG Z. Essential role of p53 in phenethyl isothiocyanate-induced apoptosis. *Cancer Res.* 1998; 58: 4102-6.

ISMAIL IA, KANG KS, LEE HA, KIM JW, SOHN YK. Genistein-induced neuronal apoptosis and G2/M cell cycle arrest is associated with MDC1 up-regulation and PLK1 down-regulation. *Eur J Pharmacol.* 2007 Jul 28.

JAMES SJ, BASNAKIAN AG, MILLER BJ. In vitro folate deficiency induces deoxynucleotide pool imbalance, apoptosis, and mutagenesis in Chinese hamster ovary cells. *Cancer Res.* 1994; 54: 5075-80.

JANG DS, KANG BS, RYU SY, CHANG IM, MIN KR, KIM Y. Inhibitory effects of resveratrol analogs on unopsonized zymosan-induced oxygen radical production. *Biochem Pharmacol.* 1999 Mar 15; 57: 705-12.

JEONG DW, KIM YH, KIM HH, JI HY, YOO SD, CHOI WR, LEE SM, HAN CK, LEE HS. Dose-linear pharmacokinetics of oleanolic acid after intravenous and oral administration in rats. *Biopharm Drug Dispos.* 2007 Mar; 28: 51-7.

JIA DY, LIU HJ, WANG FW, LIU SM, LING EA, LIU K, HAO AJ. Folic acid supplementation affects apoptosis and differentiation of embryonic neural stem cells exposed to high glucose. *Neurosci Lett.* 2008; 440: 27-31.

JIN Z, EL-DEIRY WS. Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biol Ther.* 2005; 4: 139-63.

JOSEPHSSON E. Distribution of thioglucosides in different parts of Brassica plants. *Phytochemistry* 5: 1617-1627, 1967.

JOSHI JY, VAIDYA RA, PANDEY SN, AGASHE S, CHANDRASEKHARAN S, MENON SK, VAIDYA AD. Plasma levels of genistein following a single dose of soy extract capsule in Indian women. *Indian J Med Res.* 2007; 125: 508-9.

JUAN ME, PLANAS JM, RUIZ-GUTIERREZ V, DANIEL H, WENZEL U. Antiproliferative and apoptosis-inducing effects of maslinic and oleanolic acids, two pentacyclic triterpenes from olives, on HT-29 colon cancer cells. *Br J Nutr.* 2008;100: 36-43.

JUAN ME, WENZEL U, DANIEL H, PLANAS JM. Erythrodiol, a natural triterpenoid from olives, has antiproliferative and apoptotic activity in HT-29 human adenocarcinoma cells. *Mol Nutr Food Res.* 2008; 52: 595-9

JUAN ME, WENZEL U, RUIZ-GUTIERREZ V, DANIEL H, PLANAS JM. Olive fruit extracts inhibit proliferation and induce apoptosis in HT-29 human colon cancer cells. *J Nutr.* 2006; 136: 2553-7.

JUNG YD, KIM MS, SHIN BA, CHAY KA, AHN BW, LIU W, BUCANA CD, GALLICK GE, ELLIS LM. EGCG, a major component of green tea, inhibits

tumour growth by inhibiting VEGF induction in human colon carcinoma cells. *Br J Cancer*, 2001; 84: 844-850.

JUSTESEN U, KNUTHSEN P, LETH T. Determination of plant polyphenols in Danish foodstuffs by HPLC-UV and LC-MS detection. *Cancer Lett.* 1997; 114: 165-7.

KEINAN-BOKER L, VAN DER SCHOUW YT, GROBBEE DE, PEETERS PH. Dietary phytoestrogens and breast cancer risk. *Am J Clin Nutr.* 2004;79: 282-8.

KEMBERLING JK, HAMPTON JA, KECK RW, GOMEZ MA, SELMAN SH. Inhibition of bladder tumor growth by the green tea derivative epigallocatechin-3-gallate. *J Urol.* 2003;170: 773-6.

KERR JF, WYLLIE AH, CURRIE AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-57.

KHAN N, MUKHTAR, H. Multitargeted therapy of cancer by green tea polyphenols. *Cancer Lett.* 2008; 269: 269-80.

KINGLER M, BLASCHITZ A, CAMPOY C, CANO A, MOLLOY AM, SCOTT JM, DOHR G, DEMMELMAIR H, KOLETZKO B, DESOYE G. The effect of docosahexaenoic acid and folic acid supplementation on placental apoptosis and proliferation. *Br J Nutr.* 2006; 96: 182-90.

KLEIN CB, KING AA. Genistein genotoxicity: Critical considerations of in vitro exposure dose. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2007 Aug 2.

KONG AN, YU R, CHEN C, MANDLEKAR S, PRIMIANO T. Signal transduction events elicited by natural products: role of MAPK and caspase pathways in homeostatic response and induction of apoptosis. *Arch Pharm Res.* 2000; 23: 1-16.

KOTHA A, SEKHARAM M, CILENTI L, SIDDIQUEE K, KHALED A, ZERVOS AS, CARTER B, TURKSON J, JOVE R. Resveratrol inhibits Src and Stat3 signaling and induces the apoptosis of malignant cells containing activated Stat3 protein. *Mol Cancer Ther.* 2006; 5: 621-9.

KUANG YF, CHEN YH. Induction of apoptosis in a non-small cell human lung cancer cell line by isothiocyanates is associated with P53 and P21. *Food Chem Toxicol.* 2004; 42: 1711-8.

KOURY MJ, HORNE DW. Apoptosis mediates and thymidine prevents erythroblast destruction in folate deficiency anemia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994; 91: 4067-71.

KOURY MJ, PRICE JO, HICKS GG. Apoptosis in megaloblastic anemia occurs during DNA synthesis by a p53-independent, nucleoside-reversible mechanism. *Blood*. 2000; 96: 3249-55.

KRONENBERG G, COLLA M, ENDRES M. Folic acid, neurodegenerative and neuropsychiatric disease. *Curr Mol Med*. 2009; 9: 315-23.

Kushad, M.M., Brown, A.F., Kurilich, A.C., Juvik, J.A., Klein, B.P., Wallig, M.A., Jeffery, E.H. Variation of glucosinolates in vegetable crops of *Brassica oleracea*. *J. Agric. Food Chem.* 47 (1999) 1541-548.

LAMSON DW, BRIGNALL MS. Antioxidants and cancer, part 3: quercetin. *Altern Med Rev*. 2000; 5: 196-208.

LAWRANCE AK, DENG L, BRODY LC, FINNELL RH, SHANE B, ROZEN R. Genetic and nutritional deficiencies in folate metabolism influence tumorigenicity in *Apcmin/+* mice. *J Nutr Biochem*. 2007;18: 305-12.

LEIRO J, ARRANZ JA, PARAMA A, ALVAREZ MF, SANMARTIN ML. In vitro effects of the polyphenols resveratrol, mangiferin and (-)-epigallocatechin-3-gallate on the scuticociliate fish pathogen *Philasterides dicentarchi*. *Dis Aquat Organ*. 2004; 59: 171-4.

LIANG YC, TSAI SH, CHEN L, LIN-SHIAU SY, LIN JK. Resveratrol-induced G2 arrest through the inhibition of CDK7 and p34CDC2 kinases in colon carcinoma HT29 cells. *Biochem Pharmacol*. 2003; 65: 1053-60.

LI GM, PRESNELL SR GU L. Folate deficiency, mismatch repair-dependent apoptosis, and human disease. *J Nutr Biochem*. 2003 Oct; 14 (10): 568-75.

LI Y, SARKAR FH. Inhibition of nuclear factor kappaB activation in PC3 cells. *Clin Cancer Res*. 2002; 8: 2369-77.

LIN HL, CHEN CJ, TSAI WC, YEN JH, LIU HW. In vitro folate deficiency induces apoptosis by a p53, Fas (Apo-1, CD95) independent, bcl-2 related mechanism in phytohaemagglutinin-stimulated human peripheral blood lymphocytes. *Br J Nutr*. 2006; 95: 870-8.

LOEKEN MR. Free radicals and birth defects. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2004; 15: 6-14.

LOPEZ-LAZARO M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini Rev Med Chem*. 2009; 9: 31-59.

LORENZ M, URBAN J, ENGELHARDT U, BAUMANN G, STANGL K, STANGL V. Green and black tea are equally potent stimuli of NO production and vasodilation: new insights into tea ingredients involved. *Basic Res Cardiol*. 2009; 104:100-10.

LU L, LIU D, MA X, BEKLEMISHEV A, SEITER K, AHMED T, CHIAO JW. The phenylhexyl isothiocyanate induces apoptosis and inhibits leukemia cell growth in vivo. 2006; 16: 1363-7.

MACFARLANE M, WILLIAMS AC. Apoptosis and disease: a life or death decision. EMBO Rep. 2004; 5: 674-8.

MAGGIOLINI M, BONOFIGLIO D, MARSICO S, PANNO ML, CENNI B, PICARD D, ANDO S. Estrogen receptor alpha mediates the proliferative but not the cytotoxic dose-dependent effects of two major phytoestrogens on human breast cancer cells. Mol Pharmacol. 2001; 60: 595-602.

MAK TW, YEH WC. Signaling for survival and apoptosis in the immune system. Arthritis Res. 2002; 243-52.

MANACH C, SCALBERT A, MORAND C, REMESY C, JIMENEZ L. Polyphenols: food sources and bioavailability. Am J Clin Nutr. 2004; 79: 727-47.

MANACH C, WILLIAMSON G, MORAND C, SCALBERT A, REMESY C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. Am J Clin Nutr. 2005; 81: 230-242.

MAS S, CRESCENTI A, GASSO P, DEULOFEU R, MOLINA R, BALLESTA A, KENSLER TW, LAFUENTE A. Induction of apoptosis in HT-29 cells by extracts from isothiocyanates-rich varieties of Brassica oleracea. Nutr Cancer.; 58: 107-14.

MAUBACH J, BRACKE ME, HEYERICK A, DEYPERE HAT, SERREYN RF, MAREEL MM, DE KEUKELEIRE D. Quantitation of soy-derived phytoestrogens in human breast tissue and biological fluids by high-performance liquid chromatography. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2003; 784: 137-44.

MIYOSHI N, UCHIDA K, OSAWA T, NAKAMURA Y. A link between benzyl isothiocyanate-induced cell cycle arrest and apoptosis: involvement of mitogen-activated protein kinases in the Bcl-2 phosphorylation. Cancer Res. 2004; 64: 2134-42.

MISIEWICZ I, SKUPINSKA K, KASPRZYCKA-GUTTMAN T. Sulforaphane and 2-oxohexyl isothiocyanate induce cell growth arrest and apoptosis in L-1210 leukemia and ME-18 melanoma cells. Oncol Rep. 2003; 10: 2045-50.

MIYOSHI N, UCHIDA K, OSAWA T, NAKAMURA Y. A link between benzyl isothiocyanate-induced cell cycle arrest and apoptosis: involvement of mitogen-activated protein kinases in the Bcl-2 phosphorylation. Cancer Res. 2004; 64: 2134-42.

MOMOI T. Caspases involved in ER stress-mediated cell death. *J Chem Neuroanat.* 2004 Sep; 28: 101-5.

MORAGODA L, JASZEWSKI R, MAJUMDAR AP. Curcumin induced modulation of cell cycle and apoptosis in gastric and colon cancer cells. *Anticancer Res.* 2001; 21: 873-8.

MOURIA M, GUKOVSKAYA AS, JUNG Y, BUECHLER P, HINES OJ, REBER HA, PANDOL SJ. Food-derived polyphenols inhibit pancreatic cancer growth through mitochondrial cytochrome C release and apoptosis. *Int J Cancer.* 2002; 98: 761-9.

MUKHOPADHYAY A, BUESO-RAMOS C, CHATTERJEE D, PANTAZIS P. Curcumin downregulates cell survival mechanisms in human prostate cancer cell lines. *Oncogene.* 2001; 20: 7597-609.

MULLIGAN AA, WELCH AA, MC TAGGART AA, BHANIANI A, BINGHAM SA. Intakes and sources of soya foods and isoflavones in a UK population cohort study (EPIC-Norfolk). *Eur J Clin Nutr.* 2007; 61: 248-54.

NACHSHON-KEDMI M, YANNAI S, FARES FA. Induction of apoptosis in human prostate cancer cell line, PC3, by 3,3'-diindolylmethane through the mitochondrial pathway. *Br J Cancer.* 2004; 91: 1358-63.

NACHSHON-KEDMI M, YANNAI S, HAJ A, FARES FA. Indole-3-carbinol and 3,3'-diindolylmethane induce apoptosis in human prostate cancer cells. *Food Chem Toxicol.* 2003; 41: 745-52.

NAIR HK, RAO KV, AALINKEEL R, MAHAJAN S, CHAWDA R, SCHWARTZ SA. Inhibition of prostate cancer cell colony formation by the flavonoid quercetin correlates with modulation of specific regulatory genes. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2004; 11: 63-9.

OH H, Schneider MD. The emerging role of telomerase in cardiac muscle cell growth and survival. *J Mol Cell Cardiol.* 2002; 34: 717–24.

OKURA A, ARAKAWA H, OKA H, YOSHINARI T, MONDEN Y. Effect of genistein on topoisomerase activity and on the growth of [Val 12]Ha-ras-transformed NIH 3T3 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1988; 157:183-9.

PADILLA-BANKS E, JEFFERSON WN, NEWBOLD RR. Neonatal exposure to the phytoestrogen genistein alters mammary gland growth and developmental programming of hormone receptor levels. *Endocrinology.* 2006; 147: 4871-82.

PAPPA G, LICHTENBERG M, IORI R, BARILLARI J, BARTSCH H, GERHÄUSER C. Comparison of growth inhibition profiles and mechanisms of apoptosis induction in human colon cancer cell lines by isothiocyanates and indoles from Brassicaceae. *Mutat Res.* 2006; 599: 76-87.

PELLIS L, DOMMELS Y, VENEMA D, POLANEN AV, LIPS E, BAYKUS H, KOK F, KAMPMAN E, KEIJER J. High folic acid increases cell turnover and lowers differentiation and iron content in human HT29 colon cancer cells. *Br J Nutr.* 2008; 99: 703-8.

PLÜMPE J, MALEK NP, BOCK CT, RAKEMANN T, MANNS MP, TRAUTWEIN C. NF-kappaB determines between apoptosis and proliferation in hepatocytes during liver regeneration. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2000 Jan; 278: 173-83.

RAGAB AS, VAN FLEET J, JANKOWSKI B, PARK JH, BOBZIN SC. Detection and quantitation of resveratrol in tomato fruit (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *J Agric Food Chem.* 2006; 54: 7175-9.

RAMOS S. Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. *J Nutr Biochem.* 2007; 18: 427-42.

RANELLETI FO, MAGGIANO N, SERRA FG, RICCI R, LAROCCA LM, LANZA P, SCAMIA G, FATTOROSSO A, CAPELLI A, PIANTELLI M. Quercetin inhibits p21-RAS expression in human colon cancer cell lines and in primary colorectal tumors. *Int J Cancer.* 2000; 85: 438-45.

RETO M, FIGUEIRA ME, FILIPE HM, ALMEIDA CM. Chemical composition of green tea (*Camellia sinensis*) infusions commercialized in Portugal. *Plant Foods Hum Nutr.* 2007 Dec; 62: 139-44.

REUTER S, EIFES S, DICATO M, AGGARWAL BB, DIEDERICH M. Modulation of anti-apoptotic and survival pathways by curcumin as a strategy to induce apoptosis in cancer cells. *Biochem. Pharmacol.* 2008; 76: 1340-51.

REYES FJ, CENTELLES JJ, LUPIANEZ JA, CASCANTE M. (2 α ,3 β)-2,3-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid, a new natural triterpene from *Olea europaea*, induces caspase dependent apoptosis selectively in colon adenocarcinoma cells. *FEBS Lett.* 2006; 580:6302-10.

REYES-ZURITA FJ, RUFINO-PALOMARES EE, LUPIANEZ JA, CASCANTE M. Maslinic acid, a natural triterpene from *Olea europaea* L., induces apoptosis in HT29 human colon-cancer cells via the mitochondrial apoptotic pathway. 2009; 273: 44-54.

RICHARD J, STRASSER A, STRASSER Y. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Mol and cellular biology*; 47-59.

ROGAN EG. The natural chemopreventive compound indole-3-carbinol: state of the science. *In Vivo.* 2006; 20: 221-8.

RUSSO GL. Ins and outs of dietary phytochemicals in cancer chemoprevention. *Biochem Pharmacol.* 2007; 74: 533-44.

SAFFORD B, DICKENS A, HALLERON N, BRIGGS D, CARTHEW P, BAKER V. A model to estimate the oestrogen receptor mediated effects from exposure to soy isoflavones in food. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2003; 38: 196-209.

SANDERS TH, MC MICHAEL RW, HENDRIX KW. Occurrence of resveratrol in edible peanuts. *J Agric Food Chem*. 2000; 48: 1243-6.

SARKAR FH, ADSULE S, PADHYE S, KULKARNI S, LI Y. The role of genistein and synthetic derivatives of isoflavone in cancer prevention and therapy. *Mini Rev Med Chem*. 2006; 6: 401-7.

SARKAR FH, LI Y. Indole-3-carbinol and prostate cancer. *J Nutr*. 2004;134: 3493-3498.

SARKAR FH, LI Y. Mechanisms of cancer chemoprevention by soy isoflavone genistein. *Cancer Metastasis Rev*. 2002; 21: 265-80.

SATO M, SUZUKI Y, OKUDA T, YOKOTSUKA K. Contents of resveratrol, piceid, and their isomers in commercially available wines made from grapes cultivated in Japan. *Biosci Biotechnol Biochem*. 1997 Nov; 61: 1800-5.

SCALBERT A, MORAND C, MANACH C, REMESY C. Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomed Pharmacother* 2002; 56: 276-82.

SETCHELL KD, ZIMMER-NECHEMIAS L, CAI J, HEUBI JE. Exposure of infants to phyto-oestrogens from soy-based infant formula. *Lancet*. 1997; 350: 23-7.

SHAKIBAEI M, HARIKUMAR KB, AGGARWAL BB. Resveratrol addiction: to die or not to die. *Mol Nutr Food Res*. 2009; 53: 115-28.

SHANKAR S, CHEN Q, SIDDIQUI I, SARVA K, SRIVASTAVA RK. Sensitization of TRAIL-resistant LNCaP cells by resveratrol (3, 4', 5 tri-hydroxystilbene): molecular mechanisms and therapeutic potential. *J Mol Signal*. 2007; 2: 7.

SHANKAR S, SIDDIQUI I, SRIVASTAVA RK. Molecular mechanisms of resveratrol (3,4,5-trihydroxy-trans-stilbene) and its interaction with TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) in androgen-insensitive prostate cancer cells. *Mol Cell Biochem*. 2007 Jul 17.

SHANKAR S, SRIVASTAVA RK. Involvement of Bcl-2 family members, phosphatidylinositol 3'-kinase/AKT and mitochondrial p53 in curcumin (diferuloylmethane)-induced apoptosis in prostate cancer. *Int J Oncol*. 2007; 30: 905-18.

SHAKIBAEI M, HARIKUMAR KB, AGGARWAL BB. Resveratrol addiction: to die or not to die. *Mol Nutr Food Res*. 2009; 53: 115-28.

SHAPIRO TA, FAHEY JW, WADE KL, STEPHENSON KK, TALALAY P. Chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of broccoli sprouts: metabolism and excretion in humans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001; 10: 501-8.

SHEN JC, KLEIN RD, WEI Q, GUAN Y, CONTOIS JH, WANG TT, CHANG S, HURSTING SD. Low-dose genistein induces cyclin-dependent kinase inhibitors and G(1) cell-cycle arrest in human prostate cancer cells. *Mol Carcinog*. 2000; 29: 92-102.

SHIMOI K, OKADA H, FURUGORI M, GODA T, TAKASE S, SUZUKI M, HARA Y, YAMAMOTO H, KINAE N. Intestinal absorption of luteolin and luteolin 7-O-beta-glucoside in rats and humans. *FEBS Lett*. 1998; 438: 220-4.

SHOBA G, JOY D, JOSEPH T, MAJEED M, RAJENDRAN R. SRINIVAS PS. Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Planta Med* 1998; 64: 353–356.

SIGNORELLI P, GHIDONI R. Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. *J Nutr Biochem*. 2005; 16: 449-66.

SINGH SV, SRIVASTAVA SK, CHOI S, LEW KL, ANTOSIEWICZ J, XIAO D, ZENG Y, WATKINS SC, JOHNSON CS, TRUMP DL, LEE YJ, XIAO H, HERMAN-ANTOSIEWICZ A. Sulforaphane-induced cell death in human prostate cancer cells is initiated by reactive oxygen species. *J Biol Chem*. 2005 May; 280: 19911-24.

SPENCER JP, RICE-EVANS C, WILLIAMS RJ. Modulation of pro-survival Akt/protein kinase B and ERK1/2 signaling cascades by quercetin and its in vivo metabolites underlie their action on neuronal viability. *J Biol Chem*. 2003; 278: 34783-93.

STELLER, H. Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science* 1995; 267: 1445-9.

THOMPSON CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267: 1456-62.

SARKAR FH, ADSULE S, PADHYE S, KULKARNI S, LI Y. The role of genistein and synthetic derivatives of isoflavone in cancer prevention and therapy. *Mini Rev Med Chem*. 2006; 6: 401-7.

SHI RX, ONG CN, SHEN HM. Luteolin sensitizes tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis in human tumor cells. *Oncogene*. 2004; 23: 7712-21.

SU CC, LIN JG, LI TM, CHUNG JG, YANG JS, IP SW, LIN WC, CHEN GW. Curcumin-induced apoptosis of human colon cancer colo 205 cells through the

production of ROS, Ca²⁺ and the activation of caspase-3. *Anticancer Res.* 2006; 26: 4379-89.

SUN T, XU Z, WU CT, JANES M, PRINYAWIWATKUL W, NO HK. Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). *J Food Sci.* 2007; 72: 98-102.

SZENDE B, TYIHAK E, KIRALY-VEGHELY Z. Dose-dependent effect of resveratrol on proliferation and apoptosis in endothelial and tumor cell cultures. *Exp Mod Med.* 2000; 32: 88-92.

TAKAHASHI R, DEVERAUX Q, TAMM I, WELSH K, ASSA-MUNT N, SALVESEN GS, REED JC. A single BIR domain of XIAP sufficient for inhibiting caspases. *J Biol Chem.* 1998; 273: 7787-90.

TAN ML, OOI JP, ISMAIL N, MOAD AI, MUHAMMAD TS. Programmed cell death pathways and current antitumor targets. *Pharm Res.* 2009 ; 26: 1547-60.

TAN X, HU D, LI S, HAN Y, ZHANG Y, ZHOU D. Differences of four catechins in cell cycle arrest and induction of apoptosis in LoVo cells. *Cancer Lett.* 2000; 158: 1-6.

TAYYEM RF, HEATH DD, AL-DELAIFY WK, ROCK CL. Curcumin content of turmeric and curry powders. *Nutr Cancer.* 2006; 55:126-31.

TOMOTAKE H, YAMAMOTO N, KITABAYASHI H, KAWAKAMI A, KAYASHITA J, OHINATA H, KARASAWA H, KOTO N. Preparation of tartary buckwheat protein product and its improving effect on cholesterol metabolism in rats and mice fed cholesterol-enriched diet. *J Food Sci.* 2007; 72: 528-33.

VAN DER WOUDE H, GLISZCZYNSKA-SWIGLO A, STRUIJS K, SMEETS A, ALINK GM, RIETJENS IM. Biphasic modulation of cell proliferation by quercetin at concentrations physiologically relevant in humans. *Cancer Lett.* 2003; 200: 41-7.

VAN ERP-BAART MA, BRANTS HA, KIELY M, MULLIGAN A, TURRINI A, SERMONETA C, KILKKINEN A, VALSTA LM. Isoflavone intake in four different European countries: the VENUS approach. *Br J Nutr.* 2003 Jun; 89: 25-30.

VAZ-DA-SILVA M, LOUREIRO AL, FALCAO A, NUNES T, ROCHA JF, FERNANDES-LOPES C, SOARES E, WRIGHT L, ALMEIDA L, SOARES-DA-SILVA P. Effect of food on the pharmacokinetic profile of trans-resveratrol. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2008; 46: 564-70.

VERHOEVEN DT, VERHAGEN H, GOLDBOHN RA, VAN DER BRANDT PA, VAN POPPEL G. A review of mechanisms underlying anticarcinogenicity by brassica vegetables. *Chem Biol Interact.* 1997; 103: 79-129.

VERMEULEN M, VAN DER BERG R, FREIDIG AP, VAN BLADEREN PJ, VAES WH. Association between consumption of cruciferous vegetables and condiments and excretion in urine of isothiocyanate mercapturic acids. *J Agric Food Chem.* 2006; 54: 5350-8.

VITRAC X, DESMOULIERE A, BROUILLAU B, KRISA S, DEFFIEUX G, BARTHE N, ROSENBAUM J, MERILLON JM. Distribution of [14C]-trans-resveratrol, a cancer chemopreventive polyphenol, in mouse tissues after oral administration. *Life Sci.* 2003; 72: 2219-33.

VON LÖW EC, PERABO FG, SIENER R, MÜLLER SC. Review. Facts and fiction of phytotherapy for prostate cancer: a critical assessment of preclinical and clinical data. *In Vivo.* 2007; 21: 189-204.

WANG SY, CHEN CT, WANG CY, CHEN P. Resveratrol content in strawberry fruit is affected by preharvest conditions. *J Agric Food Chem.* 2007; 55: 8269-74.

WATJEN W, MICHELS G, STEFFAN B, NIERING P, CHOVOLOU Y, KAMPKÖTTER A. Low concentrations of flavonoids are protective in rat H4IIE cells whereas high concentrations cause DNA damage and apoptosis. *J Nutr.* 2005; 135: 525-31.

WAHLSTROM B, BLENNOW G. A study on the fate of curcumin in the rat. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 1978, 43, 86–92.

WATSON WH, CAI J, JONES DP. Diet and apoptosis. *Annu Rev Nutr.* 2000; 20: 485-505.

WATZL B. Glucosinolate. *Ernährungsumschau*, 2001; 48: 330-333.

WENZEL U, NICKEL A, DANIEL H. alpha-Lipoic acid induces apoptosis in human colon cancer cells by increasing mitochondrial respiration with a concomitant O₂-*-generation. *Apoptosis.* 2005; 10: 359-68.

WENZEL U, NICKEL A, KUNTZ S, DANIEL H. Ascorbic acid suppresses drug-induced apoptosis in human colon cancer cells by scavenging mitochondrial superoxide anions. *Carcinogenesis.* 2004; 25: 703-12.

WENZEL U, NICKEL A, DANIEL H. Increased carnitine-dependent fatty acid uptake into mitochondria of human colon cancer cells induces apoptosis. *J Nutr.* 2005; 135: 1510-4.

WENZEL U, NICKEL A, DANIEL H. Increased mitochondrial palmitoylcarnitine/carnitine countertransport by flavone causes oxidative stress and apoptosis in colon cancer cells. *Cell Mol Life Sci.* 2005; 62: 3100-5.

WENZEL U, NICKEL A, DANIEL H. Melatonin potentiates flavone-induced apoptosis in human colon cancer cells by increasing the level of glycolytic end products. *Int J Cancer*. 2005; 116: 236-42.

WENZEL U, SCHOBERL K, LOHNER K, DANIEL H. Activation of mitochondrial lactate uptake by flavone induces apoptosis in human colon cancer cells. *BJ Cell Physiol*. 2005; 202: 379-90.

WHITSETT TG JR, LAMARTINIERE CA. Genistein and resveratrol: mammary cancer chemoprevention and mechanisms of action in the rat. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2006; 6: 1699-706.

WILLIAM BM, GOODRICH A, PENG C, LI S. Curcumin inhibits proliferation and induces apoptosis of leukemic cells expressing wild-type or T315I-BCR-ABL and prolongs survival of mice with acute lymphoblastic leukemia. *Hematology*. 2008; 13:333-43.

WISEMAN M. The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. *Proc Nutr Soc*. 2008; 67: 253-6.

WISEMAN H, CASEY K, BOWEY EA, DUFFY R, DAVIES M, ROWLAND IR, LLOYD AS, MURRAY A, THOMPSON R, CLARKE DB. Influence of 10 wk of soy consumption on plasma concentrations and excretion of isoflavonoids and on gut microflora metabolism in healthy adults. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80: 692-9.

WOO JH, KIM YH, CHOI YJ, KIM DG, LEE KS, BAE JH, MIN DS, CHANG JS, JEONG YJ, LEE YH, PARK JW, KWON TK. Molecular mechanisms of curcumin-induced cytotoxicity: induction of apoptosis through generation of reactive oxygen species, down-regulation of Bcl-XL and IAP, the release of cytochrome c and inhibition of Akt. *Carcinogenesis*. 2003; 24: 1199-208.

WU BT, HUNG PF, CHEN HC, HUANG RN, CHANG HH, KAO YH. The apoptotic effect of green tea (-)-epigallocatechin gallate on 3T3-L1 preadipocytes depends on the Cdk2 pathway. *J Agric Food Chem*. 2005; 53: 5695-701.

WU SJ, NG LT, LIN CC. Effects of antioxidants and caspase-3 inhibitor on the phenylethyl isothiocyanate-induced apoptotic signaling pathways in human PLC/PRF/5 cells. *Eur J Pharmacol*. 2005; 518: 96-106.

XIAO D, SINGH SV. Phenethyl isothiocyanate-induced apoptosis in p53-deficient PC-3 human prostate cancer cell line is mediated by extracellular signal-regulated kinases. *Cancer Res*. 2002; 62: 3615-9.

YANG CS, CHEN L, LEE MJ, BALENTINE D, KUO MC, SCHANTZ SP. Blood and urine levels of tea catechins after ingestion of different amounts of green tea by human volunteers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1998; 7: 351-4.

YANG CS, LANDAU JM, HUANG MT, NEWMARK HL. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annu Rev Nutr.* 2001; 21: 381-406.

YANG CS, WANG X, LU G, PICINICH SC. Cancer prevention by tea: animal studies, molecular mechanisms and human relevance. *Nat Rev Cancer.* 2009 May 14.

YANG GY, LIAO J, KIM K, YURKOW EJ, YANG CS. Inhibition of growth and induction of apoptosis in human cancer cell lines by tea polyphenols. *Carcinogenesis.* 1998; 19: 611-6.

YOON SC, MOON SC, KIM ND, PARK BS, JEONG MH, YOO YH. Genistein induces apoptosis of RPE-J cells by opening mitochondrial PTP. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 276: 151–156.

YOUNG JF, NIELSEN SE, HARALDSDOTTIR J, DANESHVAR B, LAURIDSEN ST, KNUTHSEN P, CROZIER A, SANDSTROM B, DRAGSTED LO. Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. *Am J Clin Nutr.* 1999; 69: 87-94.

YU R, MANDLEKAR S, HARVEY J, UCKER DS, KONG AN. Chemopreventive isothiocyanates induce apoptosis and caspase-3-like protease activity. *Cancer Res.* 1998; 58: 402-408.

ZABIHI S, ERIKSSON UJ, WENTZEL P. Folic acid supplementation affects ROS scavenging enzymes, enhances Vegf-A, and diminishes apoptotic state in yolk sacs of embryos of diabetic rats. *Reprod Toxicol.* 2007 Jun; 23 (4): 486-98.

ZAMORA-ROS R, ANDRES-LACUEVA C, LAMUELA-RAVENTOS RM, BERENGUER T, JAKSZYN P, MARTINEZ C, SANCHEZ MJ, NAVARRO C, CHIRLAQUE MD, TORMO MJ, QUIROS JR, AMIANO P, DORRONSORO M, LARRANAGA N, BARRICARTE A, ARDANAZ E, GONZALEZ CA. Concentrations of resveratrol and derivatives in foods and estimation of dietary intake in a Spanish population: European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Spain cohort. *Br J Nutr.* 2007 Dec 21: 1-9.

ZAVA DT, DUWE G. Estrogenic and antiproliferative properties of genistein and other flavonoids in human breast cancer cells in vitro. *Nutr Cancer.* 1997; 27: 31-40.

ZHANG W, FEI Z, ZHEN HN, ZHANG JN, ZHANG X. Resveratrol inhibits cell growth and induces apoptosis of rat C6 glioma cells. *J Neurooncol.* 2007; 81: 231-40.

ZHANG Y, TANG L, GONZALEZ V. Selected isothiocyanates rapidly induce growth inhibition of cancer cells. *Mol Cancer Ther.* 2003; 2: 1045-52.

ZHOU HB, CHEN JJ, WANG WX, CAI JT, DU Q. Anticancer activity of resveratrol on implanted human primary gastric carcinoma cells in nude mice. *World J Gastroenterol*. 2005; 11: 280-4.

ZHOU P, LI LP, LUO SQ, JIANG HD, ZENG S. Intestinal absorption of luteolin from peanut hull extract is more efficient than that from individual pure luteolin. *J Agric Food Chem*. 2008; 56: 296-300.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Katharina Petter
Geburtsdatum: 01.06.1981
Geburtsort: Hanau, Deutschland
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: Österreichisch, Deutsch

Ausbildung:

Seit Oktober 2000 Studium der Ernährungswissenschaften an der
Universität Wien
1991 – 2000 St.Lioba-Gymnasium Bad Nauheim, Deutschland
1987 – 1991 Kurt-Schumacher-Schule Nidderau, Deutschland

Praktika und berufliche Tätigkeiten:

Seit 03/2009 Vegane Gesellschaft Österreich
06/2008 – 02/2009 VIER PFOTEN, Competence Centre Farm Animals
and Nutrition
11/2006 – 05/2008 Vegane Gesellschaft Österreich
06/2006 – 10/2006 Vegetarierbund Deutschland e.V.
02/2006 Arbeitsgemeinschaft Klinische Ernährung
07/2005 – 09/2005 Projects Abroad, Tamil Nadu, Indien
06/2004 – 10/2004 Medienpraktikum P.U.L.S. im Rahmen eines
Umweltworkshops
09/2003 Lebensmitteluntersuchungsanstalt Wien (MA 38)

Wien, September 2009

