

Efekty działania fitoestrogenów w nowotworach hormonozależnych

The effects of phytoestrogens in hormone-dependent cancers

Joanna Bartkowiak-Wieczorek

Katedra i Zakład Fizjologii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Fitoestrogeny są składnikami pokarmowymi pochodzenia roślinnego o strukturalnym podobieństwie do 17β – estradiolu. Stanowią zróżnicowaną grupę związków biologicznie czynnych o działaniu receptorowym zbliżonym do aktywności endogennych estrogenów ludzkich. W związku z tym, z powodzeniem zostały uznane za substancje pozytywnie oddziałujące na organizm na wielu poziomach. Zaobserwowano ich plejotropowy, prozdrowotny wpływ na cały organizm, dzięki potwierdzonej aktywności przeciwutleniającej, przeciwzapalnej i antyproliferacyjnej. Kontrowersje jednak dotyczą ich suplementacji u osób z hormonozależnymi nowotworami zarówno podczas terapii tych schorzeń, jak również po jej zakończeniu, z uwagi na możliwą obecność nowotworowych komórek macierzystych. Badania *in vitro* dowodzą, że większość fitoestrogenów oddziałuje na receptor estrogenowy beta, który odpowiada za apoptozę komórek nowotworowych. Jednakże wysokie dawki tych związków aktywują również receptor estrogenowy alfa doprowadzając do wzrostu proliferacji komórek rakowych. Poza tym, z powodu aktywacji/ hamowania receptorów estrogenowych ER α lub ER β związki te mogą indukować lub hamować działanie estrogenu, a zatem mogą zakłócać sygnalizację estrogenową. Poza tym, działają przeciwproliferacyjnie na komórki nowotworowe na kilku poziomach regulacji cyklu komórkowego. W niniejszym artykule dokonano przeglądu dostępnej literatury w zakresie efektów działania fitoestrogenów na receptory obecne w komórkach nowotworowych oraz na same komórki nowotworowe, zwracając szczególną uwagę na badania *in vitro* i obserwacje kliniczne u pacjentek z rakiem piersi. (*Farm Współ* 2021; 14: 130-139) doi: 10.53139/FW.20211416

Słowa kluczowe: fitoestrogeny, 17β -estradiol, nowotwory hormonozależne, receptory estrogenowe

Abstract

Phytoestrogens are plant-derived nutrients with a structural similarity to 17β - estradiol. These compounds constitute a diverse group of biologically active compounds with receptor activity similar to endogenous human estrogens. Therefore, they have been successfully recognized as substances that positively affect the body on many levels. Their pleiotropic pro-health effect on the entire body has been observed thanks to their proven antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative activity. However, controversy concerns their supplementation in people with hormone-dependent cancers, both during the treatment of these diseases, as well as after its completion, due to the possible presence of cancer stem cells. *In vitro* studies show that most phytoestrogens act on the estrogen beta receptor, which is responsible for the apoptosis of cancer cells. However, high doses of these compounds also activate the estrogen receptor alpha, leading to increased proliferation of cancer cells. Moreover, due to the activation / inhibition of the estrogen receptors ER α or ER β , these compounds may induce or inhibit the action of estrogen and thus may interfere with estrogen signaling. In addition, they have anti-proliferative effects on cancer cells at several levels of regulation of the cell cycle. The article reviews the available literature on the effects of phytoestrogens on the receptors present in neoplastic cells and on neoplastic cells themselves, paying particular attention to *in vitro* studies and clinical observations in breast cancer patients. (*Farm Współ* 2021; 14: 130-139) doi: 10.53139/FW.20211416

Keywords: phytoestrogens, 17β -estradiol, hormone-dependent cancer, estrogen receptors

Wstęp

Odkrycie związków roślinnych o budowie podobnej do zwierzęcych estrogenów w znaczący sposób zmieniło oblicze współczesnej medycyny i farmakoterapii. Wyniki licznych obserwacji przedklinicznych i klinicznych potwierdziły ich pozytywny wpływ na organizm ludzki jako modulatorów homeostazy hormonalnej [1], regulatorów cyklu menstruacyjnego [2], związków o działaniu przeciwutleniającym i przeciwstarzeniowym [3] oraz związków przeciwnowotworowych [4]. Substancje roślinne o budowie zbliżonej do endogennego ludzkiego 17 β -estradiolu i działaniu na receptory estrogenowe w sposób identyczny do endogennych estrogenów, zaliczone zostały do umownej grupy związków nazywanych fitoestrogenami. Fitoestrogeny stanowią podklasę polifenoli, do której zalicza się między innymi izoflawony, lignany, kumestany, laktony, mykoestrogeny [5]. Z uwagi na rosnącą liczbę doniesień naukowych o pozytywnym wpływie fitoestrogenów na zdrowie, zostały one powszechnie uznane za naturalną i bezpieczną alternatywę dla estrogenów, szczególnie ważną u kobiet w okresie okołomenopauzalnym i pomenopauzalnym [6].

Kontrowersje związane z wprowadzeniem fitoestrogenów do profilaktyki pierwotnej i wtórnej osób z nowotworami hormonozależnymi oraz jako środków wspierających chemioterapię i radioterapię dotyczą w szczególności określonych izoflawonów pochodzących z soi (głównie genisteiny, daidzeiny czy pueraryny), a pochodzą z badań pokazujących ich prawdopodobne działanie zaburzające homeostazę hormonalną organizmu i przyczyniających się do wzrostu ryzyka nowotworzenia [7].

Badania molekularne wskazują na znaczący udział estrogenów i ich docelowych receptorów ER α i ER β w regulacji progresji raka piersi i utrzymaniu nowotworowych komórek macierzystych. Wykazano, że receptory ER α i ER β w zróżnicowany sposób przyczyniają się do kancerogenezy i postępu rozwoju nowotworu, ER α funkcjonuje jako onkogenem, natomiast ER β pełni rolę supresora wzrostu guza [8]. Nowotwory hormonozależne, w tym rak piersi, rak gruczołu krokowego, rak endometrium leczy się głównie chirurgicznie, radioterapią, chemioterapią z zastosowaniem między innymi antracyklin, leków biologicznych (ado-trastuzumab emtanzyna, lapatynib, palbocycyklid, pertuzumab i trastuzumab), antymetabolitów (metotreksat), środków oddziałujących z DNA (cisplatyna, doksorubicyna), leków przeciwtubulinowych (tak-

sany), a następnie terapią uzupełniającą opierającą się o selektywne modulatory receptora estrogenowego SERM (tamoksyfen), regulatory obniżania ekspresji receptorów estrogenów (fulwestrant), czy też inhibitory aromatazy (anastrozol, eksemestan, letrozol) [9]. Odkrycie farmakologicznych punktów uchwytu dla ścieżek sygnałowych odpowiedzialnych za receptorowe działanie estrogenów zaowocowało wprowadzeniem na rynek farmaceutyczny leków będących inhibitorami enzymu aromatazy. Możliwość zastosowania tego rodzaju farmakoterapii w przypadku nowotworów hormonozależnych stanowi o poprawie rokowań pacjentów leczonych chemioterapią i radioterapią oraz pozwala na podjęcie decyzji o rezygnacji z niektórych form terapii onkologicznej [9]. Stawia jednak pod znakiem zapytania bezpieczeństwo stosowania egzogennych form ligandów dla receptorów estrogenowych takich jak fitoestrogeny.

W związku z powyższym, z uwagi na niejednoznaczne wyniki prowadzonych badań nad znaczeniem fitoestrogenów w procesie nowotworzenia, zalecenia związane z ich wprowadzeniem do diety lub eliminacją z diety pozostają niespójne, sprzeczne i niejednokrotnie budzą wiele sporów wśród lekarzy i samych pacjentów.

W niniejszym przeglądzie literaturowym zebrano dostępne i opublikowane wyniki badań naukowych, badań eksperymentalnych i obserwacji klinicznych w zakresie wpływu poszczególnych klas fitoestrogenów na organizm, ze szczególnym uwzględnieniem procesów nowotworzenia i metastazy.

Znaczenie receptora estrogenowego w progresji nowotworów hormonozależnych

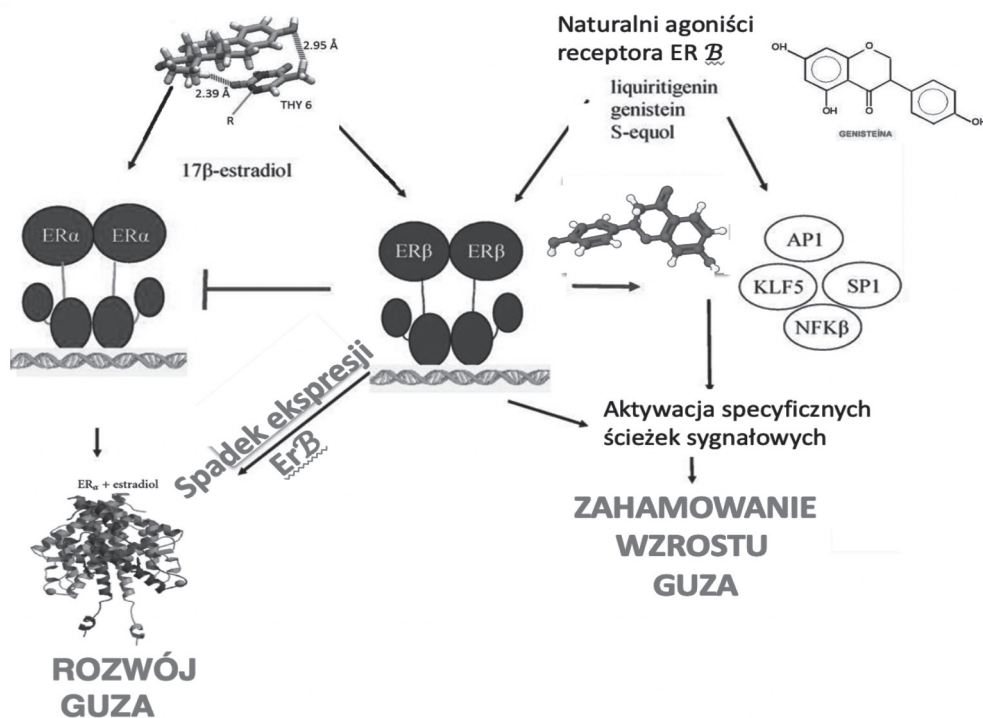
Estrogeny pełnią funkcje biologiczne poprzez wiązanie i aktywację konserwatywnych pod względem budowy molekularnej receptorów ER α i ER β , które należą do nadrodziny receptorów jądrowych czynników transkrypcyjnych [10]. W biologicznych działaniach estrogenów pośredniczą zarówno szlaki genomowe, jak i niegenomowe [11]. Poprzez ścieżkę genomową estrogen wiąże się z receptorami estrogenu (ER), które następnie przemieszczają się do jądra, gdzie kompleks estrogen-receptor współdziała z elementami odpowiedzi estrogenowej (ERE) obecnymi w promotorach genów docelowych, rekrutuje koaktywatory i inicjuje transkrypcję tych genów. W działaniu estrogenu pośredniczą również czynniki

transkrypcyjne wiążące DNA (białko aktywator-1, czynnik jądrowy- κ B i białko stymulujące-1), które uczestniczą w wiązaniu receptorów estrogenowych z DNA. Estrogen wywołuje również swoją aktywność poprzez różne niegenomowe szlaki sygnałowe, takie jak NF- κ B, PI3K/Akt/mTOR i MAPK/ERK związane z aktywacją czynnika wzrostu [12].

Podobieństwo strukturalne fitoestrogenów do 17β -estradiolu sugeruje wykorzystywanie przez te związki ścieżek sygnałowych charakterystycznych dla endogennych estrogenów i decyduje o ich potencjalnych skutkach zdrowotnych. Z uwagi na fakt, że receptory estrogenowe ER α i ER β odgrywają różne role w regulacji genów i proliferacji komórek, ich zróżnicowany stosunek i rozmieszczenie w tkankach może wpływać na odpowiedź komórkową w odpowiedzi na różne fitoestrogeny. W rezultacie określony fitoestrogen może mieć odmienne działanie w danej tkance. Przykładem może być odmienny wpływ na endometrium macicy, w której receptor ER α stanowi

główną izoformę oraz oddziaływanie na prostatę, w której dominuje receptor ER β . Poza tym, działanie fitoestrogenów determinowane jest przez aktualny poziom endogennych estrogenów w organizmie [13].

Oprócz pośredniczenia w mechanizmach biologicznych związanych z homeostazą, estrogen w postaci 17β -estradiolu odgrywa również rolę w rozwoju i złośliwej progresji wielu nowotworów. Wykazano, że receptor estrogenowy ER α moduluje transkrypcję genów poprzez heterodimeryzację z innymi czynnikami transkrypcji, takimi jak białko aktywujące 1 (AP1) i czynnik NF- κ B. Potwierdzono występowanie genów wrażliwych na estrogen, takich jak pS2, katepsyna D, c-fos, c-jun, c-myc, TGF- α , receptor kwasu retinowego α 1, receptor progesteronu (PR), insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (IGF1) [14], z których wiele jest ważnych dla proliferacji i przeżycia komórek. C-myc na przykład pełni rolę onkogenu ulegającego amplifikacji lub nadekspresji w różnych ludzkich guzach, w tym guzach estrogenozależnych [22]. Zaobserwowano, że geno-



Rycina 1. Rola receptorów estrogenowych alpha i beta w procesie progresji i inhibicji nowotworów hormonozależnych [22]

Figure 1. The role of alpha and beta estrogen receptors in the progression and inhibition of hormone-dependent neoplasms [22]

mowe i niegenomowe działanie estrogenu na receptor ER α odgrywa kluczową rolę w proliferacji i przeżyciu komórek nabłonka piersi, a także w powstawaniu raka sutka [15]. Analiza ekspresji receptorów estrogenowych w różnych tkankach nowotworowych potwierdziła ich występowanie w około 30 różnych typach nowotworów, głównie w guzach hormonowrażliwych piersi, jajnika, endometrium i prostaty [16].

Na podstawie badań przeprowadzonych na myszach pozbawionych aktywnej formy genu ER α sugeruje się, że obecność ER α , przy nieobecności ER β , jest wymagana do pośredniczenia we wzroście i rozwoju nowotworów zależnych od 17 β -estradiolu [17]. Zaskakujące i obiecujące okazały się obserwacje poczynione w stosunku do drugiego receptora ER β , który, jak się okazało, pośredniczy w hamowaniu wzrostu komórek rakowych [18]. W związku z tym, zasadnym wydaje się poszukiwanie i analizowanie związków oddziałujących selektywnie na receptor ER β celem wywołania efektu supresyjnego w stosunku do rozwijających się nowotworów hormonozależnych i przeciwnie, wyselekcjonowanie substancji aktywnych będących wyłącznymi ligandami receptora ER α .

Dotychczas przeprowadzono szereg badań w modelach *in vitro*, dotyczących oddziaływania fitoestrogenów na poszczególne typy receptorów estrogenowych. Wyniki tych badań jednoznacznie dowodzą, że większość fitoestrogenów, w tym izoflawonów, wiąże się zarówno do receptora estrogenowego ER α , jak i ER β i aktywuje zależną od tych receptorów transkrypcję genów. Na ogół jednak związki te mają wyższe względne powinowactwo wiązania do ER β niż ER α [19,20]. Autorzy Mueller i wsp. [21] wykazali, że pochodzące z soi genisteina, kumestrol i ekwol wykazywały preferencję do transaktywacji ER β w porównaniu z ER α i były od 10 do 100 razy słabsze niż dietylostilbestrol. W przeciwieństwie do tego zearalenon był najsilniejszym badanym fitoestrogenem i preferencyjnie aktywował ER α . Wszystkie inne badane fitoestrogeny, w tym resweratrol i ludzkie metabolity daidzeiny i enterolaktonu, były słabymi agonistami receptorów estrogenowych. Co ciekawe, metabolity daidzeiny 3', 4', 7-izoflawon i 4', 6,7-izoflawon były superagonistami dla obu receptorów ER α i ER β .

Roślinne agonisty receptora estrogenowego

Naukowcom udało się zidentyfikować wiele grup fitoestrogenów, takich jak lignany, izoflawony, fla-

wony, kalkony, diterpenoidy, triterpenoidy, kumaryny, acykliki. Spośród nich najlepiej poznane i poddane największej liczbie badań zostały izoflawony i lignany. Poszczególne klasy fitoestrogenów występują w mniejszych lub większych ilościach w większości roślin, podczas gdy największą ich zawartością cechują się zboża, ziarna kawy, ziarna soi, szpinak i różne odmiany koniczyny (tabela I). Niezwykle ciekawe pod względem badawczym wydają się izoflawony, które zgodnie z ogólną zasadą w większości wiążą się i aktywuje zarówno ER α , jak i ER β [19]. Izoflawony nie działają jak typowi agoniści estrogenu, ale raczej jak selektywne modulatory receptora estrogenowego (SERMS), takie jak tamoksyfen, będący syntetycznym agonistą ER w macicy i w kościach, ale antagonistą w gruczole piersi [23]. W większości przypadków obserwowane w badaniach *in vitro* względne powinowactwa wiązania izoflawonów do receptora ER α były co najmniej 1000-krotnie niższe niż w przypadku wiązania samego estradiolu. Niektóre fitoestrogeny, takie jak kumestrol, genisteina, apigenina, naringenina i kaempferol konkurowały z kolei silniej z estradiolem o wiązanie z ER beta niż z ER alfa.

Wiązanie fitoestrogenów z odpowiednim receptorem estrogenowym inicjuje transkrypcję licznych genów, takich jak na przykład Jun i Fos [24]. W przeglądzie literaturowym opracowanym przez Rietjens i wsp. [6] analizowano wyniki badań dotyczące wiązania 17 β -estradiolu i fitoestrogenów z receptorami estrogenowymi ER α i ER β (wyrażonych jako wartości IC₅₀) oraz ekspresji genów indukowanej przez estradiol i fitoestrogeny za pośrednictwem dwóch receptorów estrogenowych (wyrażone jako wartości EC₅₀). Podsumowano, że fitoestrogeny są mniej silnymi estrogenami niż 17 β -estradiol z wyższymi wartościami IC₅₀ i EC₅₀ dla obu receptorów. Ponadto przedstawiono, że dla większości badanych fitoestrogenów wartości IC₅₀ były wyższe dla receptora ER α niż dla ER β , co wskazuje na wyższą preferencję wiązania dla ER β niż dla ER α . Wyjątek stanowiło wiązanie związków takich jak ferutynina, kiewiton i psoralidyna, dla których wartości IC₅₀ były wyższe dla ER β niż dla ER α , co wskazuje na wyższą preferencję wiązania tych związków do receptora ER α . Badania genetyczne potwierdziły wyższą preferencję ferutyniny w stosunku do ER α , podczas gdy w przypadku większości fitoestrogenów badanych w układach genów reporterowych zaobserwowano preferencję pod względem ekspresji genów, w której pośredniczył receptor ER β . Dowodów na temat

Tabela I. Przykłady oddziaływania fitoestrogenów na receptor estrogenowy

Table I. Examples of phytoestrogens influence on the estrogen receptor

Grupa fitoestrogenów	Przykłady	Występowanie	Oddziaływanie na receptor estrogenowy
izoflawony	Genisteina, daidzeina, glicytyna, formononetyna i biochanina A	Soja, żywność na bazie soi i roślin strączkowych	Genisteina była 7- do 48-krotnie bardziej selektywna dla ER β niż ER α , względna siła estrogenowa genisteiny dla ER β była około 30 razy większa niż dla ER α [28] Genisteina i daidzeina - obserwowana wyższa preferencja pod względem ekspresji genów do receptora ER β [29] Daidzenina i izoflawon wiązały się znacznie gorzej z obydwoma receptorami estrogenowymi niż genisteina i miały mniejszą preferencję dla ER β [25] Liquiritigenina miała bardzo niskie powinowactwo do obu receptorów estrogenowych, wyraźnie preferencyjnie wiązała się do ER β [25] Zearalenon był najsilniejszym badanym fitoestrogenem i preferencyjnie aktywował ER α [21]
prenyloflawonoidy	6-prenylnaringenina, 6-geranylonaringenina, 8 - prenylnaringenina i izoksantohumul	Szyszki chmielu	Wiązanie (prenyloowanych) flawonoidów i izoflawonoidów z ludzkimi receptorami estrogenowymi (hER) może powodować korzystne skutki zdrowotne <i>in vivo</i> [27]
kumestany	Kumestrol, 4'-metoksykumestrol, repensol i trifoliol	Zboża i warzywa	Siła działania hormonalnego w hodowli komórek błony śluzowej macicy w stosunku do siły działania 17 β -estradiolu przyjętej dla celów porównawczych jako 100 wynosiła dla kumestrolu 0,202 [30]
lignany	Enterodiol i enterolakton	Siemię lniane i nasiona sezamu oraz w mniejszych stężeniach w zbożach, warzywach i owocach	Enterolakton wykazywał działanie estrogenne <i>in vivo</i> indukując ekspresję genów reporterowych specyficznych dla tkanki, reagujących na estrogen zrębu macicy i ekspresję genów endogennych odpowiadających na estrogen (CyclinD1 i Ki67). Działał jak selektywny agonista receptora estrogenowego indukując transkrypcję, w której pośredniczył receptor, zarówno <i>in vitro</i> w różnych liniach komórkowych, jak i <i>in vivo</i> w macicy myszy [21]
	Prekursory lignanu obejmują pinoresinol, lariciresinol, secoisolariciresinol, matairesinol	Prekursory lignanu znajdują się w wielu różnych produktach spożywczych, w tym w siemieniu lnianym, pełnych ziarnach, owocach i warzywach, nasionach sezamu i roślinach strączkowych i stanowią główne źródło fitoestrogenów w diecie zachodniej	Matairesinol może wykazywać bardziej skuteczną aktywność biologiczną w hamowaniu receptora estrogenowego w porównaniu z pinoresinolem, laricirezinolem i sekoizolaricirezinolem. Powinowactwo wiązania tamoksyfenu, matairesinolu, pinoresinolu, laricirezinolu i sekoizolaricirezinolu wynosiło odpowiednio -8,7, -7,5, -6,7, -6,7, -5,8 kcal/mol. Matairesinol wykazał minimalną energię wiązania w porównaniu do innych lignanów. Matairesinol wykazał najbardziej podobne interakcje z receptorem estrogenowym do tamoksyfenu [31]

preferowania receptora estrogenowego ER β przez większość fitoestrogenów dostarczyły badania *in vitro* przeprowadzone przez amerykańskich naukowców na liniach komórkowych raka sutka MCF-7. Autorzy Jiang i wsp. [25] analizowali interakcje genisteiny, daidzeiny, equolu i likirytygeniny z receptorami estrogenowymi ER α i ER β , wraz z kluczowymi koregulatorami (SRC3 i RIP140) i miejscami wiązania chromatyny oraz regulacją ekspresji genów i proliferacji w komórkach raka piersi MCF-7 zawierających receptory ER α i/lub ER β . W przeciwieństwie do endogennego estrogenu związki te wiązały się preferencyjnie z ER β , ale ich selektywność w stymulacji genów względem ER β (340-830-krotnie w porównaniu z endogennym estrogenem) była zwiększona na kilku poziomach (rekrutacja koregulatora, wiązanie chromatyny). Niemniej jednak przy wysokich (0,1 lub 1 μ M) stężeniach związki te również w pełni aktywowały receptor ER α , co wiązało się ze wzrostem proliferacji komórek raka sutka. Mueller i wsp. [21] przeprowadzili wszechstronną analizę i porównanie siły fitoestrogenów i ich ludzkich metabolitów pod kątem wiązania z receptorami estrogenowymi, indukcji/supresji transaktywacji receptorów estrogenowych ER α i ER β oraz rekrutacji koaktywatorów w komórkach ludzkich. Wykazali, że pochodzące z soi genisteina, kumestrol i ekwol wykazywały preferencję do transaktywacji ER β w porównaniu z ER α i były od 10 do 100 razy słabsze niż referencyjny związek - dietylostilbestrol. W przeciwieństwie do tego zearalenon był najsilniejszym badanym fitoestrogenem i preferencyjnie aktywował ER α . Wszystkie inne badane fitoestrogeny, w tym resweratrol i ludzkie metabolity daidzeiny i enterolaktonu, były słabymi agonistami receptorów estrogenowych. Co ciekawe, metabolity daidzeiny 3', 4', 7-izoflawon i 4', 6,7-izoflawon były superagonistami na ER α i ER β . Z kolei zearalenon i resweratrol działały antagonistycznie zarówno na ER α , jak i ER β w dużych dawkach.

Reakcja prenylacji, czyli kowalencyjnego przyłączenia grup prenylowych, będących pochodnymi związku izoprenu nadaje cząsteczkom charakter hydrofobowy oraz wpływa na ich aktywność biologiczną [26]. Wykazano, że wiązanie (prenyloowanych) flawonoidów i izoflawonoidów z ludzkimi receptorami estrogenowymi (hER) może powodować korzystne skutki zdrowotne *in vivo*. Reakcja ta oddziałuje bowiem w sposób modulujący na zdolność i specyficzność wiązania do receptorów estrogenowych. Nieprenylowane flawonoidy wykazywały agonistyczny sposób dzia-

łania, podczas gdy prenylowane (izo) flawonoidy o podwójnym łańcuchu przejawiały *in vitro* antagonistyczny sposób działania względem hER α w teście biologicznym z użyciem komórek drożdży [27].

Niezwykle istotna jest obserwacja dotycząca dawkozależnego efektu działania wszystkich fitoestrogenów, bez względu na preferencję receptorową względem receptorów estrogenowych. Mianowicie, receptory estrogenowe alfa lub beta ulegają aktywacji zależnie od stężenia liganda. Celem związania się z receptorem estrogenowym alfa, estrogen lub fitoestrogen musi posiadać 10 razy większe stężenie niż stężenie wymagane do związania się z receptorem estrogenowym beta. Z kolei, fitoestrogeny mogą wiązać się z receptorami estrogenowymi beta w niższych stężeniach niż z receptorami estrogenowymi alfa [7].

Aktywność przeciwproliferacyjna

Działanie przeciwproliferacyjne fitoestrogenów wynika bezpośrednio i pośrednio z mechanizmu ich działania. Z uwagi na fakt, że receptory estrogenowe alfa biorą udział w proliferacji komórek nowotworowych, podczas gdy receptory beta odpowiadają za apoptozę, ich aktywacja przez fitoestrogeny skutkować będzie aktywacją bądź inhibicją guza [7]. Po związaniu się receptora z ligandem w postaci endogennego estradiolu lub fitoestrogenu, receptor estrogenowy przechodzi z cytoplazmy do jądra komórkowego, wiążąc się i wpływając na obszar kontrolujący proces transkrypcji DNA oraz niskocząsteczkowe RNA, co z kolei wpływa na ekspresję określonych genów. Dlatego właśnie fitoestrogeny mogą potencjalnie wpływać na regulację wszystkich procesów, na które wpływa estrogen, w tym indukcję hormonów płciowych, które wiążą się z globuliną i hamują aromatazę [32].

Interesujące badania dotyczące aktywności przeciwproliferacyjnej prenyloowanych flawonoidów, czyli prenyloflawonoidów przeprowadzili polscy naukowcy, którzy analizowali *in vitro* związki takie jak ksantohumol (XN) i cztery mniejsze prenyloflawonoidy chmielu: α , β -dihydroksantohumol (2HXN), izoksantohumol (IXN), 8-prenylaringeninę (8PN) i 6-prenylaringeninę (6PN) pod kątem aktywności antyproliferacyjnej względem ludzkich komórek nowotworowych. Autorzy zaobserwowali, że najbardziej aktywnymi pod względem działania antyproliferacyjnego na komórki nowotworowe były ksantohumol, α , β -dihydroksantohumol i 6-prenylaringenina. Ksantohumol wykazywał wyższą aktywność prze-

ciwproliferacyjną niż cisplatyna (CP) wobec pięciu linii komórek nowotworowych: jajników opornych na cisplatinę A2780cis, piersi MDA-MB-231 i T-47D, prostaty PC-3 i okrężnicy HT-29. Izoksantohumul był silniejszy niż cisplatyna w stosunku do linii komórek raka piersi MDA-MB-231 i T-47D, podczas gdy 6-prenylaringenina wykazała bardziej znaczącą aktywność hamującą proliferację badanych komórek raka piersi T-47D aniżeli cisplatyna w stosunku do linii komórek raka piersi T-47D [33].

Udowodniono w badaniach *in vitro*, że fitoestrogeny działają przeciwproliferacyjnie na komórki nowotworowe na kilku poziomach inhibicji, mianowicie poprzez hamowanie regulatorów cyklu komórkowego, hamowanie proliferacji komórkowej i indukcję apoptozy komórek nowotworowych [34]. Mianowicie, izoflawony, lignany i analogi resweratrolu zmieniają profil ekspresji regulatorów cyklu komórkowego, prowadząc w ten sposób do zahamowania cyklu komórkowego i proliferacji komórek raka piersi. Dowodzą temu badania, które wykazały, że zarówno resweratrol (100 μM), jak i analogi resweratrolu HPIMBD (50 μM), TIMBD (50 μM) oraz pterostilben (50 μM), formononetyna (20, 40, 80 μM), daidzeina (100 μM), kumesterol (50 μM) istotnie hamowały poziom ekspresji cykliny D1, stymulującej namnażanie się komórek nowotworowych, w komórkach raka piersi MCF-7, T47D i MDA-MB-231 [35-40]. Inne badania *in vitro* wskazują, że obecność genisteiny (0,01–100 μM) po upływie 72 godzin może obniżyć tempo proliferacji komórek MCF-7 o około 40% w porównaniu do komórek kontrolnych, które nie zareagowały w ogóle na ten fitoestrogen, co sugeruje, że genisteina celuje w komórki rakowe oszczędzając komórki nienowotworowe [41].

Większość badań *in vitro* sugeruje w związku z powyższym, że analogi fitoestrogenów i ich pochodne są silniejsze w hamowaniu proliferacji komórek raka w porównaniu z ich związkami macierzystymi. Wpływ fitoestrogenów i ich analogów na apoptozę odbywa się wysoce prawdopodobnie poprzez zwiększenie poziomu ekspresji białka Bax, hamowanie Bcl-2 i oddziaływanie na kaspazy 9 i 3 [42]. Związki te hamowały w badaniach *in vitro* niekontrolowaną proliferację komórek raka piersi. Genisteina (10–9–10–7 mol/l) i resweratrol (10–9–10–5 mol/l) indukowały apoptozę poprzez znaczne zwiększenie ligandu Fas (Fas-L), wpływ na ekspresję FADD, cytochrom C i kaspazy 3 i 9. Daidzeina (25, 50 i 100 μM) zwiększała poziom ekspresji białka Bax i zmniejszała ekspresję białka Bcl-2, indukując śmierć

komórki, z kolei pochodna resweratrolu, indukowała śmierć komórki, arktigenina (0,4, 0,8, 1,2 μM), equol (100 μM), izotiocyjanian pterostilbenu (10 i 20 μM) i pterostilben (25, 50, 75 μM) wywierały aktywność apoptotyczną przez szlaki zależne od kaspazy lub przez wzrost stosunku Bax/Bcl-2 i innych proapoptycznych markerów w komórkach raka. Fitoestrogeny i ich odpowiednie analogi i pochodne wykazywały potencjał hamowania podziałów komórek nowotworowych również poprzez zakłócanie genomowych i niegenomowych szlaków sygnałowych, takich jak NF- κ B, PI3K/Akt lub MAPK/ERK, kontrolowanie progresji cyklu komórkowego, inicjowanie apoptozy, hamowanie angiogenezy i przerzutów, modulacje epigenetyczne, hamowanie biosyntezy estrogenów, modulowanie metabolizmu estrogenów i odwracanie zjawiska oporności wielolekowej [34].

Fitoestrogeny w badaniach klinicznych nad nowotworami hormonozależnymi

Badania *in vitro* dostarczają wiele dowodów na przeciwnowotworowe działanie estrogenów, jednak z drugiej strony budzą liczne kontrowersje z uwagi na dwoisty charakter oddziaływania na receptory estrogenowe typu alfa i beta. Nadal dyskusyjna pozostaje kwestia stosowanych dawek oraz odmiennych odpowiedzi farmakologicznych z uwagi na polimorficzną zmienność międzyosobniczą czy też występowanie interakcji z innymi substancjami farmakologicznie czynnymi. Dotychczas przeprowadzono niewiele badań klinicznych dotyczących spożycia fitoestrogenów wśród pacjentów z rakiem, w związku z tym, na chwilę obecną brakuje jednoznacznych i spójnych wyników stanowiących o wdrożeniu tych związków do diety oraz jako suplementację u osób obciążonych nowotworami hormonozależnymi. W metaanalizie przeprowadzonej przez Chi i wsp. [43] analizującej pięć badań kohortowych (11 206 pacjentów) odnotowano, że spożycie soi było skorelowane ze zmniejszoną zapaadalnością i śmiertelnością na raka piersi oraz nawrotem choroby nie tylko u pacjentów z hormonozależnymi nowotworami, ale również u pacjentów z brakiem ekspresji receptora estrogenowego w komórkach rakowych, tak przed menopauzą, jak i po menopauzie. Podobne działanie obserwowano w przypadku spożycia daidzeiny przez kobiety po nowotworze piersi przyjmujące tamoksyfen (n = 1954). Odnotowano około 60% redukcję nawrotów raka piersi w porównaniu z najwyższym i najniższym spożyciem daidzeiny

(>1,453 vs. <7,7 µg/dobę; HR, 0,48; 95% CI, 0,21-0,79, P. = 0,008) [44]. W innym dużym populacyjnym badaniu kohortowym, w którym uczestniczyło 5042 kobiet z rakiem piersi, odnotowano, że spożycie soi, mierzone spożyciem białka sojowego lub izoflawonu sojowego, było skorelowane ze zmniejszoną śmiertelnością i nawrotami choroby [45]. Inne randomizowane, kontrolowane *placebo*, podwójnie zaślepienie badanie suplementacji siemieniem lnianym przez miesiąc u pacjentek po menopauzie z rakiem piersi wykazało istotne zmniejszenie proliferacji komórek nowotworowych i ich zwiększoną apoptozę [46]. Z kolei w badaniu z wykorzystaniem mąki pełnoziarnistej zawierającej wysoką zawartość lignanów 7 kobiet po raku piersi i po menopauzie otrzymywało suplementację 138 mg izoflawonów sojowych dziennie przez 24 dni, a po dwutygodniowym okresie wyplukiwania pacjentki przeniesiono do grupy *placebo*. Podawanie lignanów znacząco zwiększyło poziom i aktywność enzymu dysmutazy ponadtlenkowej (SOD1), której podwyższone poziomy wiązały się z mniejszym ryzykiem nawrotu raka piersi [4]. Zaskakujące i budzące niepokój wydaje się inne badanie przekrojowe przeprowadzone na 100 kobietach leczonych z powodu raka piersi. Wykazało ono, że 65% pacjentów spożywało żywność sojową przy średnim dziennym spożyciu 11,6 mg (43 µmol) genisteiny i 7,4 mg (29 µmol) daidzeiny zanim zachorowało na nowotwór. Dawka izoflawonu była równoważna dziennemu spożyciu ¼ szklanki tofu [47]. Autorzy sugerowali jakoby ilość przyjmowanych fitoestrogenów była znacznie wyższa od zalecanej, co z kolei potwierdza obserwacje poczynione w badaniach *in vitro*, dotyczące dawkozależnej aktywności pro lub antyproliferacyjnej na komórki raka w zależności od typu aktywowanego receptora estrogenowego.

Podsumowanie

Wnikliwa analiza biochemiczna, molekularna i kliniczna związków farmakologicznie aktywnych pochodzenia roślinnego o działaniu plejotropowym prozdrowotnym na organizm stanowi ważny aspekt poszukiwania substancji nie tylko wspomagających klasyczną farmakoterapię, ale również skutecznych w przeciwdziałaniu rozwojowi chorób cywilizacyjnych.

W kontekście powyższych wymagań obiecujące wydają się grupy naturalnych związków określanych wspólnie terminem fitoestrogenów, o działaniu zbliżonym do endogennego estrogenu, a występujących w wielu roślinach i obecnych w diecie. Dotychczas przeprowadzone badania w modelach *in vitro* potwierdzają wszechstronne oddziaływanie tych związków na wiele ścieżek sygnałowych odpowiedzialnych za rozwój nowotworów, przede wszystkim raków hormonozależnych. Wyniki tych badań sugerują bezsprzecznie jakoby fitoestrogeny wykazywały działanie przeciwnowotworowe poprzez oddziaływanie na receptory estrogenowe beta, jednakże wyższe dawki tych związków mogą działać odwrotnie, doprowadzając do aktywacji receptora estrogenowego alfa. Obserwacje kliniczne zdają się potwierdzać analizy na liniach komórkowych zarówno w kontekście przeciwnowotworowego oddziaływania fitoestrogenów na organizm, jak również dawkozależnego charakteru tej aktywności.

Mając na uwadze powyższe oraz fakt, iż zmienność osobnicza w zakresie ekspresji poszczególnych typów receptorów estrogenowych może być znaczna, podobnie jak zróżnicowana może okazać się odpowiedź molekularna w postaci aktywacji określonych ścieżek sygnałowych, na chwilę obecną trudno jednoznacznie ustanowić właściwy profil bezpieczeństwa stosowania fitoestrogenów u osób z nowotworami hormonozależnymi oraz u osób z grup ryzyka. Istnieje w związku z tym potrzeba dalszych badań i obserwacji klinicznych dotyczących indywidualizacji dawek, farmakokinetyki i występowania ewentualnych interakcji farmakologicznych z udziałem wszystkich grup fitoestrogenów.

Konflikt interesów / Conflict of interest

Brak/None

Adres do korespondencji / Correspondence address

✉ Joanna Bartkowiak-Wieczorek

Katedra i Zakład Fizjologii, Uniwersytet Medyczny

im. Karola Marcinkowskiego

ul. Święcickiego 6, 61-001 Poznań

☎ (+48 61) 854-65-28

✉ joannawieczorek@ump.edu.pl

Piśmiennictwo/References

1. Chen MN, Lin CC, Liu CF. Efficacy of phytoestrogens for menopausal symptoms: a meta-analysis and systematic review. *Climacteric*. 2015;18(2):260-9.
2. Levine LD, Kim K, Purdue-Smithe A, et al. Urinary Phytoestrogens and Relationship to Menstrual Cycle Length and Variability Among Healthy, Eumenorrheic Women. *J Endocr Soc*. 2019;4(2):bvz003.
3. Liu T, Li N, Yan YQ, et al. Recent advances in the anti-aging effects of phytoestrogens on collagen, water content, and oxidative stress. *Phytother Res*. 2020;34(3):435-47.
4. Virk-Baker MK, Nagy TR, Barnes S. Role of phytoestrogens in cancer therapy. *Planta Med*. 2010;76(11):1132-42.
5. Patisaul HB, Jefferson W. The pros and cons of phytoestrogens. *Front Neuroendocrinol*. 2010;31(4):400-19.
6. Rietjens IMCM, Louisse J, Beekmann K. The potential health effects of dietary phytoestrogens. *Br J Pharmacol*. 2017;174(11):1263-80.
7. Rietjens IM, Sotoca AM, Vervoort J, et al. Mechanisms underlying the dualistic mode of action of major soy isoflavones in relation to cell proliferation and cancer risks. *Mol Nutr Food Res* 2013;57:100-13.
8. Alferéz DG, Simões BM, Howell SJ, et al. The Role of Steroid Hormones in Breast and Effects on Cancer Stem Cells. *Curr Stem Cell Rep*. 2018;4(1):81-94.
9. Fabian CJ. The what, why and how of aromatase inhibitors: hormonal agents for treatment and prevention of breast cancer. *Int J Clin Pract*. 2007;61(12):2051-63.
10. Hewitt SC, Korach KS. Estrogen Receptors: New Directions in the New Millennium. *Endocr Rev*. 2018;39(5):664-75.
11. Marino M, Galluzzo P, Ascenzi P. Estrogen signaling multiple pathways to impact gene transcription. *Curr Genomics*. 2006; 7(8): 497-508.
12. McDonnell DP, Norris JD. Connections and regulation of the human estrogen receptor. *Science*. 2002;296(5573):1642-4.
13. Pearce ST, Jordan VC. The biological role of estrogen receptors alpha and beta in cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2004;50:3-22.
14. Ikeda K, Horie-Inoue K, Inoue S. Identification of estrogen-responsive genes based on the DNA binding properties of estrogen receptors using high-throughput sequencing technology. *Acta Pharmacol Sin*. 2015;36(1):24-31.
15. Arnal JF, Lenfant F, Metivier R, et al. Membrane and Nuclear Estrogen Receptor Alpha Actions: From Tissue Specificity to Medical Implications. *Physiol Rev*. 2017;97(3):1045-87.
16. Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov*. 2012;2(5):401-4.
17. Kregel JH, Hodgins JB, Couse JF, et al. Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor β . *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:15677-82.
18. Thomas C, Gustafsson JÅ. The different roles of ER subtypes in cancer biology and therapy. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(8):597-608.
19. Kuiper GGJM, Lemmen JG, Carlsson B, et al. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor β . *Endocrinology*. 1998;139:4252-63.
20. Kuiper GGJM, Carlsson B, Grandien K, et al. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors α and β . *Endocrinology*. 1997;138:863-70.
21. Mueller SO, Simon S, Chae K, et al. Phytoestrogens and Their Human Metabolites Show Distinct Agonistic and Antagonistic Properties on Estrogen Receptor α (ER α) and ER β in Human Cells. *Toxicol Sci*. 2004;80(1):14-25.
22. Sareddy GR, Vadlamudi RK. Cancer therapy using natural ligands that target estrogen receptor beta. *Chin J Nat Med*. 2015;13(11):801-7.
23. Oseni T, Patel R, Pyle J, et al. Selective estrogen receptor modulators and phytoestrogens. *Planta Med*. 2008;74:1656-65.
24. Kushner PJ, Agard DA, Greene GL, et al. Estrogen receptor pathways to AP-1. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2000;74(5):311-7.
25. Jiang Y, Gong P, Madak-Erdogan Z, et al. Mechanisms enforcing the estrogen receptor β selectivity of botanical estrogens. *FASEB J*. 2013;27(11):4406-18.
26. Palsuledesai CC, Distefano MD. Protein prenylation: enzymes, therapeutics, and biotechnology applications. *ACS Chem Biol*. 2015;10(1): 51-62.
27. Simons R, Gruppen H, Bovee TFH, et al. Prenylated isoflavonoids from plants as selective estrogen receptor modulators (phytoSERMs). *Food Funct*. 2012;3:810-27.
28. Hsieh RW, Rajan SS, Sharma SK, et al. Identification of ligands with bicyclic scaffolds provides insights into mechanisms of estrogen receptor subtype selectivity. *J Biol Chem*. 2006;281:17909-19.
29. Beekmann K, de Haan LH, Actis-Goretta L, et al. The effect of glucuronidation on isoflavone induced estrogen receptor (ER) α and ER β mediated coregulator interactions. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2015;154:245-53.
30. Amin A, Buratovich M. The anti-cancer charm of flavonoids: a cup-of-tea will do! *Recent Pat Anticancer Drug Discov*. 2007;2(2):109-17.
31. Mohamadyar-Toupkanlou F, Esfandiari M, Kashef-Saberi MS, et al. The Structural Bioinformatics analysis of Biophenolic Lignan-Estrogen Receptor interaction. *Curr Cancer Drug Targets*. 2017.
32. Sirotkin AV, Harrath AH. Phytoestrogens and their effects. *Eur J Pharmacol*. 2014;741:230-6.
33. Bartmańska A, Tronina T, Popłoński J, et al. Highly Cancer Selective Antiproliferative Activity of Natural Prenylated Flavonoids. *Molecules*. 2018;23(11):2922.

34. Basu P, Maier C. Phytoestrogens and breast cancer: In vitro anticancer activities of isoflavones, lignans, coumestans, stilbenes and their analogs and derivatives. *Biomed Pharmacother.* 2018;107:1648-66.
35. Ronghe A, Chatterjee B, Singh P, et al. Differential regulation of estrogen receptors α and β by 4- (E)-{(4-hydroxyphenylimino)-methylbenzene,1,2-diol}, a novel resveratrol analog. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;144:500-12.
36. Ronghe A, Chatterjee B, Singh P, et al. 4-(E)-{(p-tolylimino)-methylbenzene-1,2-diol}, a novel resveratrol analog, differentially regulates estrogen receptors α and β in breast cancer cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2016;301:1-13.
37. Ma Z, Molavi O, Haddadi A, et al. Resveratrol analog trans 3,4,5,4'-tetramethoxystilbene (DMU-212) mediates anti-tumor effects via mechanism different from that of resveratrol. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2008;63(1):27-35.
38. Wang Y, Ding L, Wang X, et al. Pterostilbene simultaneously induces apoptosis, cell cycle arrest and cyto-protective autophagy in breast cancer cells. *Am J Transl Res.* 2012;4:44-51.
39. Chen J, Zeng J, Xin M, et al. Formononetin induces cell cycle arrest of human breast cancer cells via IGF1/PI3K/Akt pathways in vitro and in vivo. *Horm Metab Res.* 2011;43:681-6.
40. Choi EJ, Kim GH. Daidzein causes cell cycle arrest at the G1 and G2/M phases in human breast cancer MCF-7 and MDA-MB-453 cells. *Phytomedicine.* 2018;15:683-90.
41. Prietsch RF, Monte LG, Da Silva FA, et al. Genistein induces apoptosis and autophagy in human breast MCF-7 cells by modulating the expression of proapoptotic factors and oxidative stress enzymes. *Mol Cell Biochem.* 2014;390:235-42.
42. Park YJ, Choi CI, Chung KH, et al. Pharbilignan C induces apoptosis through a mitochondria-mediated intrinsic pathway in human breast cancer cells. *Bioorg Med Chem Lett.* 2016;26:4645-9.
43. Chi F, Wu R, Zeng YC, et al. Post-diagnosis soy food intake and breast cancer survival: a meta-analysis of cohort studies. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14(4):2407-12.
44. Guha N, Kwan ML, Quesenberry CP Jr, et al. Soy isoflavones and risk of cancer recurrence in a cohort of breast cancer survivors: the Life After Cancer Epidemiology study. *Breast Cancer Res Treat.* 2009;118(2):395-405.
45. Shu XO, Zheng Y, Cai H, et al. Soy food intake and breast cancer survival. *JAMA.* 2009;302(22):2437-43.
46. Thompson LU, Chen JM, Li T, et al. Dietary flaxseed alters tumor biological markers in postmenopausal breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2005;11(10):3828-35.
47. Lammersfeld CA, King J, Walker S, et al. Prevalence, sources, and predictors of soy consumption in breast cancer. *Nutr J.* 2009;8:2.