

# Działanie fitoestrogenów na organizm człowieka i zwierząt\*)

NOWICKA EWA, SZKUDELSKI RAFAŁ, NOGOWSKI LESZEK

Katedra Fizjologii i Biochemii Zwierząt Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt AR, ul. Wołyńska 35, 60-637 Poznań

Nowicka E., Szkudelski R., Nogowski L.

## Influence of phytoestrogens on humans and animals

### Summary

Phytoestrogens are compounds found in plants with estrogenic activity. Their chemical structure is similar to estradiol. Three main classes of phytoestrogens are: isoflavones, lignans and coumestans. The major bioactive isoflavones are genistein and daidzein.

Phytoestrogens are widely present in plants regularly consumed by animals and humans: e.g. oats, barley, wheat, corn, and clover. The most significant sources of isoflavones are soybeans and soy foods. Lignans are present in plant foods: mainly in flaxseed, but also in grains, fruit and vegetables. Phytoestrogens are compounds which exhibit estrogenic activity. This activity was first recognized in sheep and is known as "Clover Disease". In these animals phytoestrogens cause reproductive disorders or even infertility. The feeding of female rats with a soy rich diet induces an increase in uterine weight. Vaginal modifications have also been observed. Phytoestrogens also exhibit anticarcinogenic activity. Animal studies have demonstrated reduced cancer development with soybean consumption. Genistein and other phytoestrogens have a beneficial role in obesity and diabetes mellitus. These compounds cause slight decreases in insulin, total cholesterol and triglycerides content. Phytoestrogens also increase the amount of cholesterol in high density lipoproteins (HDL) and decrease the amount of VLDL- and LDL-cholesterol, they can reduce risk of cardiovascular diseases. Experiments performed on animals demonstrate that genistein and daidzein clearly inhibit lipogenesis and enhance lipolysis. Phytoestrogens also have a special role in the prevention of osteoporosis.

**Keywords:** phytoestrogens, genistein

Fitoestrogeny są grupą biologicznie aktywnych substancji roślinnych o strukturze chemicznej podobnej do hormonów estrogennych. To strukturalne podobieństwo determinuje zdolność tych związków do wiązania się z receptorem estrogenów w różnych komórkach (15) i wywieranie efektów estrogennych lub też antyestrogennych.

### Klasy fitoestrogenów

Trzy większe klasy fitoestrogenów to izoflawony, lignany i kumestany. Izoflawony o dużej aktywności to genisteina i daidzeina. Pochodzą one od prekursorów – biochaniny A i formononetyny, które są przemieniane odpowiednio do genisteiny i daidzeiny, po rozkładzie przez jelitowe glikozydazy (22). Lignany są bardziej rozpowszechnione w królestwie roślin niż pozostałe izoflawony. Dwa główne lignany – enterolakton i enterodiol powstają z matairezynolu i sekoizolaricirezynolu. Najważniejszym związkiem należącym do kumestanów jest kumestrol, rozpowszechniony w pożywieniu ludzi i zwierząt (8).

Biologiczne oznaczenie estrogenów nastąpiło po raz pierwszy w 1923 r. (3), a wykazanie aktywności estrogennych na wyciągach roślinnych – w 1926 r. (16). Obecnie lignany i izoflawony mogą być zmierzone w moczu, osoczu krwi, stolcu, nasieniu, żółci, ślinie i mleku (1).

Jeden gatunek roślin zawiera często fitoestrogeny więcej niż jednej klasy. Np. nasiona soi bogate są w izoflawony, podczas gdy kielki soi są znacznym źródłem kumestanów, głównie kumestrolu (20). Izoflawony występują pierwotnie w roślinach w formie nieaktywnej jako glikozydy. Spożyte glikozydy izoflawonu (genistyna i daidzyna) są hydrolizowane w jelitach przez bakteryjne  $\beta$ -glikozydazy i są przekształcane do odpowiednich bioaktywnych aglikonów (genisteiny i daidzeiny). Aglikony są wchłaniane z odcinka jelitowego i przekształcane, głównie w wątrobie, do glukuronidów, które są następnie wydzielane wraz z żółcią, ponownie reabsorbowane (krążenie jelitowo-wątrobowe) lub wydalane w zmienionej postaci w moczu. Daidzeina może być metabolizowana do ekwolu, dihydrodaidzeiny lub do *O*-desmetyloangolenzyny (*O*-DMA), natomiast genisteina może być metabolizowana do *p*-etylofenolu w okrężnicy. Daidzeina, genisteina, ekwol i *O*-desmetyloangolenzyna są głównymi izoflawonami i mogą być wykrywane we krwi i moczu zwierząt i ludzi. Aktywność biologiczna fitoestrogenów zmienia się – większość tych związków wykazuje znacznie mniejszą aktywność niż estrogeny syntetyczne (20).

### Źródła fitoestrogenów

Substancje o charakterze izoflawonów, przejawiające właściwości estrogenne, stwierdzono prawie wyłącznie w roślinach strączkowych i ziarnach (20). Lignany są obec-

\*) Praca wykonana w ramach projektu badawczego: PBZ-KBN-084/P06/2002/5.3.

ne w dużych ilościach w zbożach, owocach i warzywach. Występują w wysokiej koncentracji w nasionach lnu (22, 30) i w mniejszej koncentracji w pełnym ziarnie zbóż, warzywach, owocach i nasionach (20). Natomiast kumestany pojawiają się w znaczących ilościach wraz z kiełkowaniem roślin (20). Fitoestrogeny występują w różnych gatunkach roślin będących pokarmem i znajdują się w strąkach, nasionach i całych ziarnach (tab. 1). Najbardziej obfite źródło izoflawonów, w tym także genisteiny, to ziarno soi i produkty jego przetwarzania (tab. 2).

Inne nasiona, takie jak soczewica, groch i koniczyna, zawierają bardzo małą ilość izoflawonów. W ziarnie soi izoflawony są ściśle związane z białkiem. Ziarno soi zawiera około 36% białka (11). Znaczenie odżywcze białka soi jest w przybliżeniu równoważne z białkiem zwierzęcym o wysokiej wartości biologicznej. Na przykład, izolowane białko soi zawiera białko strawne o optymalnej ilości aminokwasów egzogennych, podobnie do białka jaja kurzego (32). Nasiona, całe ziarna zbóż, rośliny strączkowe i warzywa stanowią naturalne pożywienie będące źródłem izoflawonów (tab. 2). Lignany obecne są w wysokich stężeniach w nasionach lnu. Jest to około 100 razy większa zawartość niż w innym pokarmie (30).

### Działanie fitoestrogenów

**Działanie estrogenne.** Fitoestrogeny wykazują *in vivo* oraz *in vitro* działanie estrogenne i antyestrogenne (20), ponieważ charakteryzuje je powinowactwo do receptora estrogenów (15). Estrogenne działanie fitoestrogenów zostało po raz pierwszy rozpoznane u owiec pasących się na pastwisku obfitującym w koniczynę, w Australii (6). Zaobserwowano bowiem, że dochodzi u nich do zaburzeń w rozrodzie, a nawet do całkowitej bezpłodności. Efekty te zostały wywołane głównie przez genisteinę i daidzeinę, a choroba ta została nazwana chorobą „koniczynową” (24). U samicy szczurów podanie soi wywołuje szereg zmian – wzrost masy macicy, obrzęk, a także hiperplazję nabłonka. Zaobserwowano także niekorzystne zmiany pochwy, takie jak: stan zapalny, hiperkeratozę i dyskeratozę (9). Także w populacji gepardów izoflawony obecne w diecie przyczyniają się do obniżenia płodności (23).

**Działanie przeciwnowotworowe.** Wiele efektów powodowanych przez fitoestrogeny to jednak zmiany korzystne. Jednym z nich jest działanie przeciwnowotworowe. Wykazano, że genisteina może w warunkach *in vitro* wykazywać – w zależności od stężenia – działanie zarówno proliferacyjne (estrogenowe), jak i antyproliferacyjne (antyestrogenowe) w stosunku do komórek raka gruczołu sutkowego (21). Genisteina oraz niektóre inne fitoestrogeny powodują zahamowanie rozwoju nowotworu poprzez hamowanie aktywności kinazy tyrozynowej, aktywowanej przez różne czynniki o działaniu prokancerogennym. Stwierdzono także, że genisteina hamuje, między innymi, autofosforylację kinazy tyrozynowej receptora epidermalnego czynnika wzrostu (2).

W stanie całkowitego braku fizjologicznych estrogenów, genisteina w stężeniach nanomolarnych wykazuje słabe efekty estrogenne (33). Jednak działając w wyższych stężeniach, hamuje proliferację komórek raka gruczołu sutkowego (18). Wspomniano już, że genisteina jest silnym inhibitorem kinazy tyrozynowej (2). Wiele peptydowych czynników wzrostowych zaangażowanych w rozwój niektórych typów nowotworów działa na komórki poprzez wzrost aktywności kinazy tyrozynowej. Dlatego też genisteina, hamując aktywność tego enzymu, może mieć ko-

Tab. 1. Klasyfikacja i źródła fitoestrogenów w pożywieniu (20)

Rodzaj fitoestrogenu	Źródło
Izoflawony	rośliny strączkowe: soja, soczewica, fasola, groch
Lignany	całe ziarna zbóż: pszenica i jej zarodki, jęczmień, żyto, ryż, owies, otręby, owoce, warzywa i nasiona: wiśnie, jabłka, pestkowce, len, nasiona słonecznika, marchew, koper, cebula, czosnek, oleje roślinne łącznie z olejem oliwkowym, chmiel
Inne	kiełki sojowe, lucerna, koniczyna

Tab. 2. Całkowita zawartość izoflawonów w produktach sojowych w porównaniu z zawartością genisteiny (8)

Produkt sojowy	Całkowita zawartość izoflawonów (µg/g)	Zawartość genisteiny (µg/g)
Soja po obróbce termicznej	2661	1426
Izolowane białko soi	987	640
Tempeh (sfermentowane ziarno soi)	865	422
Koncentrat białkowy	73	19

rzystne efekty w leczeniu raka (19). Jednak komórkowych mechanizmów antynowotworowego działania genisteiny jest znacznie więcej. Działanie tego fitoestrogenu może wynikać z wpływu na różnicowanie komórki czy na aktywność topoizomerazy DNA – hamuje on aktywność topoizomerazy I i II, które uczestniczą w replikacji i transkrypcji DNA (5). Przez hamowanie aktywności kinazy tyrozynowej i topoizomerazy (głównie II), genisteina może zatrzymywać wzrost i proliferację komórek nowotworowych. Działanie przeciwnowotworowe tego fitoestrogenu może wynikać także z wpływu na apoptozę. Przeprowadzone badania *in vitro* na linii komórek nowotworowych żołądka wykazały bowiem, że genisteina i biochanina A uruchamiają szlak prowadzący do apoptozy (31). Fitoestrogen ten wykazuje także (*in vivo* oraz *in vitro*) własności przeciwutleniające – zwiększa bowiem aktywność enzymów antyoksydacyjnych (5).

Zaobserwowano, że spożywanie przez gryzonie karmy wzbogaconej soją (zawierającą izoflawony) stanowi ochronę przed wywoływaniem eksperymentalnie nowotworem gruczołu mlekowego oraz jelita grubego (29).

**Działanie metaboliczne.** Korzystne działanie fitoestrogenów zaznacza się także w niektórych zaburzeniach metabolicznych, takich jak otyłość i cukrzyca. Zaobserwowano bowiem, że spożywanie genisteiny i daidzeiny związane jest z niższym współczynnikiem masy ciała oraz z obniżeniem koncentracji insuliny (8, 17, 27). Z najnowszych badań wynika także, że genisteina może obniżyć stężenie leptyny we krwi oraz ograniczać sekrecję tego hormonu przez izolowane adipocyty szczura (28).

Otyłość jest zachwianiem równowagi energetycznej – jest ona związana z hiperinsulinemią, insulinopornością i nieprawidłowościami metabolizmu lipidów. Te nieprawidłowości obejmują wzrost syntezy lipidów w połączeniu ze wzrostem stężenia kwasów tłuszczowych i triglicerydów w osoczu. Hiperinsulinemia w połączeniu z zaburzeniami lipidowymi jest dobrze znanym czynnikiem prowadzącym do miażdżycy tętnic i choroby sercowo-naczyniowej. Natomiast cukrzyca jest skomplikowanym zaburzeniem metabolicznym, związanym z nieprawidłowościami

wydzielania insuliny i jej działania na komórki docelowe. Zaburzenia w układzie endokrynnym oraz endogennej produkcji glukozy prowadzą do postępującego pogorszenia się tolerancji glukozy i hiperglikemii. Fitoestrogeny działają korzystnie przez poprawianie profilu lipidów w surowicy krwi i ograniczenie utleniania LDL oraz poprawiając działanie insuliny na utlenianie glukozy. Izoflawony i lignany również oddziałują na metabolizm energetyczny, dlatego też spożywanie pokarmów bogatych w fitoestrogeny ma korzystny wpływ na otyłość i cukrzycę (22). Hamilton i wsp. (10) po raz pierwszy zaobserwowali pozytywne działanie białka sojowego u królików, u których białko to (wraz z fitoestrogenami) spowodowało obniżenie stężenia cholesterolu. Dalsze badania potwierdziły te obserwacje. Białko soi nie pozbawione izoflawonów zmniejsza stężenie cholesterolu całkowitego i triglicerydów, podwyższa zawartość cholesterolu we frakcji HDL oraz obniża w LDL i VLDL (12). Także doświadczenie przeprowadzone na samcach szczurów, którym przez 3 dni podawano genisteinę, pozwoliło zaobserwować, że związek ten wpływa na niektóre parametry metaboliczne. Zmniejszyło się znacznie stężenie insuliny w osoczu, a stężenie glukozy nieznacznie się zwiększyło. Zaobserwowano również, że genisteina spowodowała obniżenie zawartości triglicerydów w mięśniach (26). We wcześniej prowadzonych badaniach na owariotomizowanych szczurach uzyskano bardzo zbliżone wyniki (17).

W doświadczeniach na świniach zaobserwowano, że podawanie karmy bogatej w białko sojowe spowodowało zmniejszenie stężenia insuliny i glukozy. Odnotowano także znaczną redukcję ilości cholesterolu całkowitego, cholesterolu we frakcji LDL oraz triglicerydów (7). Kardioprotekcyjne działanie fitoestrogenów pochodzących z soi może więc wynikać z ich wpływu na gospodarkę lipidową organizmu. Inne badania wskazują także na hamowanie agregacji płytek krwi i efekty antyoksydacyjne (20).

Fitoestrogeny wpływają także na lipolizę i lipogenezę w izolowanych adipocytach szczura. Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że genisteina i daidzeina hamują lipogenezę, a zwiększają lipolizę (27). Działanie genisteiny jest najbardziej znaczące. Związek ten wyraźnie hamuje lipogenezę podstawową oraz stymulowaną insuliną (14). Fitoestrogen ten ogranicza transport glukozy do adipocytów przez wywoływanie zmian konformacyjnych w transporterze glukozy GLUT4 (25). Można zatem sądzić, że hamujące działanie genisteiny i innych fitoestrogenów na lipogenezę w izolowanych adipocytach szczura wynika z faktu, że związki te zmniejszają działanie insuliny oraz ograniczają transport i metabolizm glukozy (14).

**Inne działanie fitoestrogenów.** Dobrze udokumentowane jest działanie fitoestrogenów w ograniczaniu osteoporozy. Choroba ta jest związana z wieloma czynnikami, takimi jak: wiek, niedobór estrogenów i dieta. Zaobserwowano, że u szczurów żywności białkiem sojowym znacznie zmniejszony jest ubytek masy kości. Opóźniony jest także początek utraty masy kości spowodowany wiekiem (13). Soja zawarta w pokarmie chroni istotnie również kości przed ubytkiem u owariotomizowanych szczurów (4).

Fitoestrogeny – związki występujące w roślinach – są bardzo rozpowszechnione i wykazują działanie estrogenne, przeciwnowotworowe czy metaboliczne. Wiele z nich pełni funkcję kardioprotekcyjną, ograniczają także osteoporozę. W nadmiarze mogą jednak doprowadzać do zaburzeń w rozrodczości. Z kilkunastu badanych fitoestrogenów najbardziej skuteczna okazała się genisteina.

## Piśmiennictwo

1. Adlercreutz H.: Phytoestrogens: epidemiology and a possible role in cancer protection. *Environ. Health Perspect.* 1995, 103, 103-112.
2. Akiyama T., Ishida J., Nakagawa S., Ogawara H., Watanabe S.-I., Itoh N., Shibuya M., Fukami Y.: Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J. Biol. Chem.* 1987, 262, 5592-5595.
3. Allen E., Doisy E. A.: An ovarian hormone. Preliminary report on its localization, extraction and purification, and action in test animals. *JAMA* 1923, 81, 819-821.
4. Arjmandi B. H., Alekel L., Hollis B. W.: Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *J. Nutr.* 1996, 126, 161-167.
5. Barnes S., Peterson T. G., Coward L.: Rationale for the use of genistein-containing soy matrices in chemoprevention trials for breast and prostate cancer. *J. Cell Biochem.* 1995, 22, 181-187.
6. Bennetts H. W., Underwood E. J., Shier F. L.: A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in western Australia. *Aust. Vet. J.* 1996, 22, 2-12.
7. Beynen A. C., West C. E., Spaaij C. J., Huisman J., Van Leeuwen P., Schutte J. B., Hackeng W. H.: Cholesterol metabolism, digestion rates and postprandial changes in serum of swine fed purified diets containing either casein or soybean protein. *J. Nutr.* 1990, 120, 422-430.
8. Bhathena S. J., Velasquez M. T.: Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *Amer. J. Clin. Nutr.* 2002, 76, 1191-1201.
9. Gallo D., Cantalemo F., Distefano M., Ferlini C., Zannini G. F., Riva A., Morazzoni P., Bombardelli E., Mancuso S., Scambia G.: Reproductive effects of dietary soy in female Wistar rats. *Food Chem. Toxicol.* 1999, 37, 493-502.
10. Hamilton R. M. G., Carroll K. K.: Plasma cholesterol levels in rabbits fed low-fat, low-cholesterol diets: Effects of dietary proteins, carbohydrates and fibre from different sources. *Atherosclerosis* 1976, 24, 47-62.
11. Haytowitz D. B., Matthews R. H.: Legumes and legume products. Washington, DC: US Department of Agriculture 1986, 1-156.
12. Honore E. K., Williams J. K., Anthony M. S.: Soy isoflavones enhance coronary vascular reactivity in atherosclerotic female macaques. *Fertil. Steril.* 1997, 87, 148-154.
13. Kalu D. N., Masoro E. J., Yu B. P., Hardin R. R., Hollic B. W.: Modulation of age-related hyperparathyroidism and senile bone loss in Fischer rats by soy protein and food restriction. *Endocrinology* 1988, 122, 1847-1854.
14. Kandulska K., Nogowski L., Szkudelski T.: Effect of some phytoestrogens on metabolism of rat adipocytes. *Reprod. Nutr. Dev.* 1999, 39, 497-501.
15. Kuiper G. G., Lemmen J. G., Carlsson B., Corton J. C., Safe S. H., van der Saag P. T., van der Burg B., Gustafsson J. A.: Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology* 1998, 139, 4252-4263.
16. Loewe S., Lange F., Spohr E.: Über weibliche Sexualhormone (Thelytropine). *Biochem. Zeitschr.* 1927, 180, 1-26.
17. Nogowski L., Mackowiak P., Kandulska K., Szkudelski T., Nowak K. W.: Genistein-induced changes in lipid metabolism of ovariectomized rats. *Ann. Nutr. Metab.* 1998, 42, 360-366.
18. Peterson T. G., Barnes S.: Genistein inhibits both estrogen and growth factor stimulated proliferation of human breast cancer cells. *Cell Growth Diff.* 1996, 7, 1345-1351.
19. Powis G., Kozikowski A.: Growth factor and oncogene signalling pathways as targets for rational anticancer drug development. *Clin. Biochem.* 1991, 24, 385-397.
20. Price K. R., Fenwick G. R.: Naturally occurring oestrogens in foods – a review. *Food Addit. Contam.* 1985, 2, 73-106.
21. Sathyamoorthy N., Wang T. T. Y., Phang J. M.: Stimulation of pS2 expression by diet-derived compounds. *Cancer Res.* 1994, 54, 957-961.
22. Setchell K. D. R., Adlercreutz H.: Mammalian lignans and phytoestrogens. Recent studies on their formation, metabolism, and biological role in health and disease. [w:] Rowland I.: Role of the Gut Flora in Toxicity and Cancer. Academic Press, London 1988, 315-345.
23. Setchell K. D. R., Gosselin S. J., Welsh M. B., Johnston J. O., Balistreri W. F.: Dietary estrogens – a probable cause of infertility and liver disease in captive cheetahs. *Gastroenterology* 1987, 93, 225-233.
24. Shutt D. A., Cox R. I.: Steroid and phytoestrogen binding to sheep uterine receptors in vitro. *Endocrinology* 1972, 52, 299-310.
25. Smith R. M., Tiesinga J. J., Shah N., Smith J. A., Jarett L.: Genistein inhibits insulin-stimulated glucose transport and decreases immunocytochemical labeling of GLUT4 carboxyl-terminus without affecting translocation of GLUT4 in isolated rat adipocytes: additional evidence of GLUT4 activation by insulin. *Arch. Biochem. Biophys.* 1993, 300, 238-246.
26. Szkudelska K., Nogowski L., Kaczmarek P., Pruszyńska-Oszmiatek E., Szkudelski R., Sieczka A., Szkudelski T.: Hormonal and metabolic effects of genistein and daidzein in male rat. *J. Anim. Feed Sci.* 2003, 12, 841-849.
27. Szkudelska K., Szkudelski T., Nogowski L.: Daidzein, coumestrol and zearalenone affect lipogenesis and lipolysis in rat adipocytes. *Phytomedicine* 2002, 9, 338-345.
28. Szkudelski T., Nogowski L., Pruszyńska-Oszmiatek E., Kaczmarek P., Szkudelska K.: Genistein restricts leptin secretion from rat adipocytes. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 2005, 96 (praca w druku).
29. Thiagarajan D. G., Bennink M. R., Bourguin L. D., Kavas F. A.: Prevention of precancerous colonic lesions in rats by soy flakes, soy flour, genistein, and calcium. *Amer. J. Clin. Nutr.* 1998, 68, 1394-1399.
30. Thompson L. U., Robb P., Serrano M., Cheung F.: Mammalian lignan production from various foods. *Nutr. Cancer* 1991, 16, 43-52.
31. Yanagihara K., Ito A., Toge T., Numoto M.: Antiproliferative effects of isoflavones on human cancer cell lines established from the gastrointestinal tract. *Cancer Res.* 1993, 53, 5815-5821.
32. Young V. R.: Soy protein in relation to human protein and amino acid nutrition. *J. Am. Diet. Assoc.* 1991, 91, 828-835.
33. Zava D. T., Duwe G.: Estrogenic and antiproliferative properties of genistein and other flavonoids in human breast cancer cells in vitro. *Nutr. Cancer* 1997, 27, 31-40.

Adres autora: mgr Ewa Nowicka, ul. Wołyńska 35, 60-637 Poznań;  
e-mail: ewa-nowicka@tlen.pl