

FITOESTROGENY. I. WYSTĘPOWANIE, METABOLIZM I ZNACZENIE BIOLOGICZNE U SAMIC*

PHYTOESTROGENS. I. OCCURRENCE, METABOLISM AND BIOLOGICAL EFFECTS IN FEMALES

Olga KRASZEWSKA, Anna NYNCA, Barbara KAMIŃSKA,
Renata CIERESZKO

Katedra Fizjologii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Streszczenie: Fitoestrogeny to biologicznie aktywne związki występujące w licznych roślinach. Razem z mykoestrogenami i ksenoestrogenami tworzą grupę tzw. estrogenów środowiskowych, mogących oddziaływać na wiele procesów zachodzących w organizmach zwierzęcych. W niniejszym artykule przedstawiono próbę uporządkowania współczesnej wiedzy dotyczącej klasyfikacji i występowania fitoestrogenów w przyrodzie oraz ich metabolizmu i działania biologicznego u samic.

Słowa kluczowe: fitoestrogeny, genisteina, daidzeina, metabolizm, procesy rozrodcze, steroidogeneza, rak piersi, osteoporoza, menopauza, choroby naczyniowe, samica.

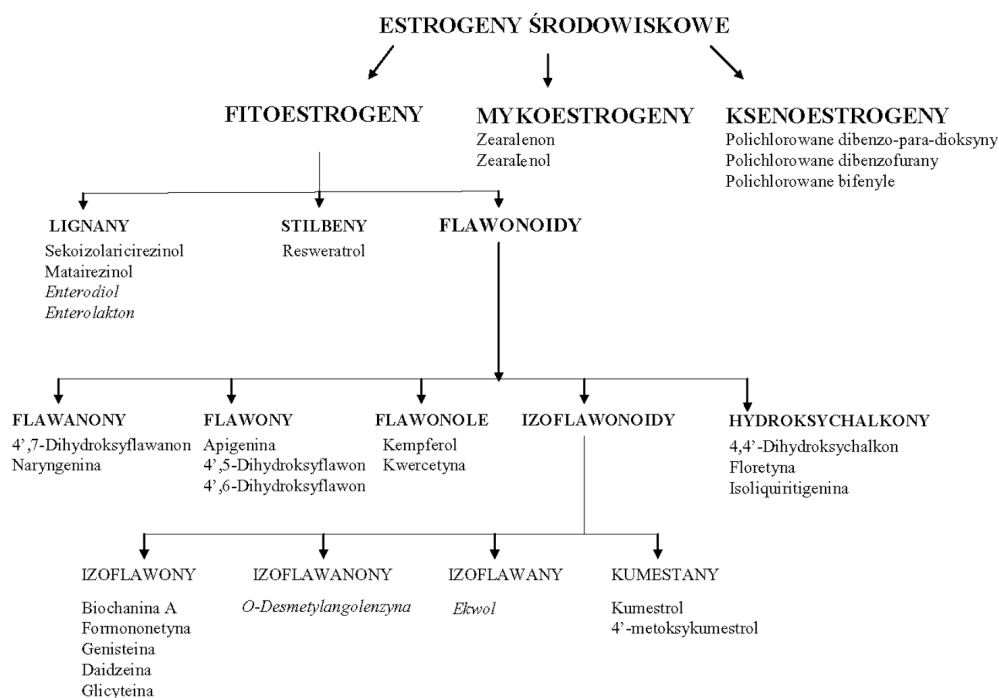
Summary: Phytoestrogens are biological active substances present in many plants. Phytoestrogens, mycoestrogens and xenoestrogens belong to so called environmental estrogens which may affect different biochemical processes in animals. In the review we attempt to present current knowledge on classification and occurrence of phytoestrogens as well as their metabolism and biological effects in females.

Key words: phytoestrogens, genistein, daidzein, metabolism, reproductive processes, steroidogenesis, breast cancer, osteoporosis, menopause, vascular disease, female.

1. KLASYFIKACJA, WYSTĘPOWANIE I BUDOWA FITOESTROGENÓW

Fitoestrogeny to związki naturalnie występujące w roślinach, które pełnią w nich funkcje: grzybobójcze, antyutleniające i budulcowe. Fitoestrogeny mogą być też

*Praca była finansowana przez granty: PBZ-KBN-084/P06/2002 i UWM 528.0206.805 oraz ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach ZPORR (dla AN).



RYCINA 1. Klasyfikacja estrogenów środowiskowych; kursywą zaznaczono metabolity fitoestrogenów powstające w organizmie zwierzęcym

barwnikami kwiatów i chronić roślinę przed promieniami UV. Ponadto, uczestniczą w kiełkowaniu pyłku oraz w sygnalizowaniu stresu [20, 33, 58]. Wyróżnia się trzy główne klasy fitoestrogenów: lignany, stilbeny i flawonoidy (ryc. 1).

Do lignanów zalicza się sekoizolaricirezinol oraz matairezynol, występujące głównie w nasionach lnu i słonecznika. Średnia zawartość lignanów w nasionach lnu wynosi 0,8 mg/g świeżej masy [39]. Mniejsze ich ilości występują w pełnoziarnistych produktach zbożowych, wielu ziołach, warzywach (marchew, cebula), owocach (jabłka, wiśnie, jagody) i orzechach [51, 86]. Ponadto, lignany wykryto w zielonej i czarnej herbacie oraz kawie [65]. Sekoizolaricirezinol i matairezynol, po dostaniu się do układu pokarmowego zwierząt są w nim przekształcane w enterodiol i enterolaktol [33]. Metabolity te różnią się od lignanów roślinnych tym, że w pozycji *meta* pierścienia aromatycznego mają grupę hydroksylową, co czyni je molekułami unikalnymi i stabilnymi pod względem chemicznym, biochemicznym i biologicznym [58, 65, 81].

Przedstawicielem kolejnej klasy fitoestrogenów – stilbenów jest resweratrol. Resweratrol występuje w skórce wielu owoców, m.in. winogron, morwy, a w mniejszych ilościach także w orzeszkach ziemnych. Poziom resweratrolu w winogronach wynosi 50–400 µg/g świeżej masy, a w produkowanych z nich winach czerwonych 0,92–1,37 mg/ml, winach białych 0,04 mg/ml, a w soku winogronowym 0,05 mg/ml.

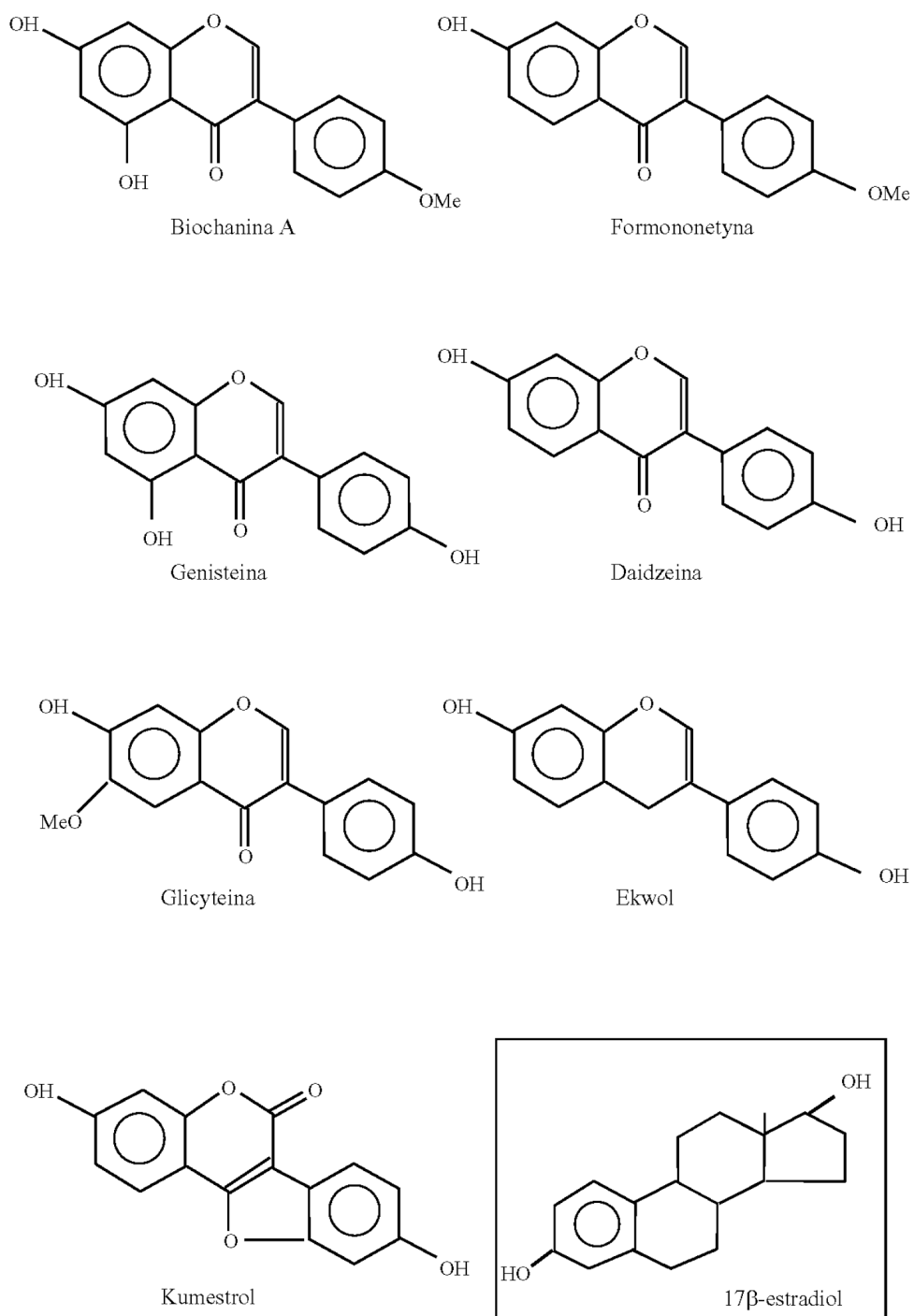
Związek ten jest bardzo skutecznym przeciwutleniaczem oraz nietoksycznym fungicydem [58, 93].

Do flawonoidów zaliczamy flawanony, flawony, flawonole i izoflawonoidy. Izoflawonoidy, z kolei, dzieli się na cztery podstawowe grupy: izoflawony, izoflawanony, izoflawany i kumestany. Bogatym źródłem izoflawonów (genisteina, daidzeina, formononetyna, biochanina A, glicyteina) są przede wszystkim warzywa strączkowe, głównie soja, soczewica, fasola szparagowa, groch, ale także produkty sojowe: kasza i mąka sojowa, tofu, mleko sojowe. Średnia zawartość izoflawonów w soi wynosi 1,2–4,2 mg/g rośliny, a w mące sojowej 1,1–1,4 mg/g. Niewielkie ilości izoflawonów występują również w produktach zbożowych, ziemniakach, warzywach, owocach, piwie, burbonie, krowim mleku oraz mięsie [33]. Izoflawanony (*O*-desmetylangolenzyna) i izoflawany (ekwol) są metabolitami daidzeiny, występującymi tylko w organizmach zwierzęcych.

Najlepiej poznanymi przedstawicielami kumestanów są kumestrol i 4'-metoksykumestrol. Największe ilości kumestanów występują w lucernie, nasionach soi i kielkach koniczyny [33, 58]. Kumestrol po raz pierwszy został wyizolowany z niektórych gatunków koniczyny (*Trifolium repens*, *Trifolium fragiferum*) oraz lucerny [58]. Średnia zawartość kumestrolu w kielkach koniczyny wynosi 5,6 mg/g. Kumestrol uważany jest za izoflawonoid o największym potencjale estrogenym [33].

Pojedyncze rośliny zawierają często więcej niż jedną klasę fitoestrogenów, np. nasiona soi są bogatym źródłem izoflawonów, podczas gdy kielki soi zawierają duże ilości kumestanów [51]. Źródłem fitoestrogenów są nie tylko rośliny i produkty pochodzenia roślinnego, ale również zbiorniki wodne, gdzie związki te dostają się w wyniku rozkładu roślin [20]. Występujące w naturze fitoestrogeny i mykoestrogeny razem z wytwarzanymi przez człowieka ksenoestrogenami zaliczamy do tzw. estrogenów środowiskowych. Mykoestrogeny (np. zearalenon, zearalenol) zostały zidentyfikowane w trawie i warzywach strączkowych zainfekowanych grzybem *Fusarium*, przez który są syntetyzowane [58, 86]. Wszystkie estrogeny środowiskowe wykazują aktywność estrogeną.

Mimo zróżnicowanej budowy chemicznej (ryc. 2), fitoestrogeny są strukturalnie podobne do naturalnych i syntetycznych estrogenów [11, 39, 51]. W roślinach są syntetyzowane z fenylopropanoidów i prostych fenoli [68]. Flawonoidy to polifenole, których podstawowym elementem strukturalnym jest jednostka diarylpropanowa ($C_6-C_3-C_6$). Zbudowane są najczęściej z dwóch pierścieni benzenowych (A i B) połączonych trójwęglowym łańcuchem, który u większości flawonoidów tworzy wraz z atomem tlenu trzeci pierścień C (ryc. 3) [72]. Większość flawonoidów (flawanony, flawony, flawanole) charakteryzuje się obecnością pierścienia fenyłowego B w pozycji C-2. Izoflawonoidy natomiast powstają przez izomeryczne przeniesienie pierścienia B z pozycji C-2 na C-3 [48]. Przedstawiciele danej klasy różnią się między sobą rodzajem i umiejscowieniem podstawników (grupy hydroksylowe, metoksyłowe, metylowe i glikozydowe) w pierścieniach aromatycznych [46, 72].



RYCINA 2. Wzory strukturalne wybranych fitoestrogenów

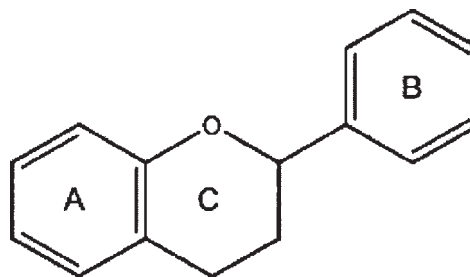
2. METABOLIZM FITOESTROGENÓW

Najintensywniej badano metabolizm izoflawonów, szczególnie genisteiny i daidzeiny. Informacje dotyczące metabolizmu kumestanów są bardzo ograniczone. Wydaje się, że nie można rozpatrywać przemian fitoestrogenów w organizmie zwierzęcym bez kontekstu gatunkowego [69]. Poznanie gatunkowo specyficznych przemian tych związków jest istotne ze względu na fakt, że zarówno formy wyjściowe, jak i poszczególne metabolity mogą wywierać odmienne efekty biologiczne [54].

Istotną rolę w metabolizmie izoflawonów i lignanów odgrywa mikroflora przewodu pokarmowego [69]. Większość izoflawonów występuje w roślinach w formie nieaktywnych β -D-glikozydów (np. genistyny, daidzyny, glicytyny; [50]). U zwierząt przeżuwających, wiązania glikozydowe są hydrolizowane w żwaczu i w wyniku przemian enzymatycznych, glikozydy są przekształcane do aktywnych aglikonów: genisteiny (4',5,7-trihydroksyizoflawonu), daidzeiny (4',7-dihydroksyizoflawonu) i glicyteiny (4',7-dihydroksy-6-metoksyizoflawonu, 6-metoksy analogu daidzeiny [3, 43, 48]). Ponadto, przy udziale mikroflory żwacza, zawarte w koniczynie glikozydy – biochanina A i formononetyna – są łatwo demetylowane. Biochanina A jest przekształcana do genisteiny, natomiast formononetyna jest metabolizowana głównie do daidzeiny [43]. Powstałe w żwaczu aglikony ulegają absorpcji lub są dalej metabolizowane [49]. Genisteina może więc ulec biotransformacji do dihydrogenisteiny, następnie do 6'-hydroxy-*O*-desmetyl-angolenzyny i wreszcie do nieaktywnego *p*-etylfenolu. Daidzeina w wyniku przemian enzymatycznych może być przekształcana do dihydrodaidzeiny, następnie *O*-desmetyl-angolenzyny (*O*-DMA) i dalej do ekwolu [12, 39]. Wspomniana wcześniej glicyteina ulega w nieznacznym stopniu konwersji do daidzeiny i nie jest prekursorem ekwolu [70]. Wydaje się, że ekwol nie ulega już dalszej degradacji.

Lignany: sekoizolaricirezinol i matairezinol są w organizmie zwierzęcym przekształcane przy udziale flory bakteryjnej, odpowiednio, do enterodiolu i enterolaktonu. Enterodiol może być dalej metabolizowany i przekształcany do enterolaktonu. Ostatnio wykryto inne prekursory enterolaktonu: arktigeninę, 7-hydroksymatairezinol, lalicirezinol, pinorezinol i syringarezinol. Zbyt mała ilość informacji nie pozwala na razie na pełną ocenę aktywności biologicznej tych związków [58].

U zwierząt monogastycznych i człowieka, hydroliza glikozydów zachodzi w przewodzie pokarmowym pod wpływem żołądkowego kwasu solnego, jelitowych i bakteryjnych β -glukozydaz oraz β -glukozydaz zawartych w pożywieniu. W wyniku tego procesu powstają aktywne aglikony, m.in. genisteina i daidzeina. Dalszy metabo-



RYCINA 3. Ogólny wzór izoflawonoidów: A, B – pierścienie benzenowe; C – heterocykliczny pierścień piranowy

lizm fitoestrogenów obejmujący reakcje dehydroksylacji, redukcji i demetylacji zachodzi w jelicie i przypomina procesy opisane powyżej dla przeżuwaczy.

W wątrobie i w nabłonku jelita cienkiego ma miejsce koniugacja metabolitów z kwasem glukuronowym i/lub kwasem siarkowym. UDP-glukuronylotransferaza katalizuje glukuronidację genisteiny, natomiast izoenzym odpowiedzialny za koniugację ekwolu nie został dotąd poznany [70]. Koniugację izoflawonów z kwasem siarkowym katalizuje sulfotransferaza (SULT). Skoniugowane metabolity fitoestrogenów trafiają następnie do krążenia wątrobowo-jelitowego. Po wydaleniu do żółci, formy skoniugowane mogą ulec ponownej dekonjugacji pod wpływem bakterii jelitowych, a następnie ulec reabsorpcji i degradacji w jelicie grubym [39]. Obecność fitoestrogenów i ich metabolitów stwierdzono, oprócz żółci, także we krwi, moczu, kale, spermie, ślinie i mleku [12, 39, 51, 67, 70, 75]. Niezwiązane izoflawony (aglikony) wykazują silniejsze działanie estrogenne *in vitro* oraz są bardziej bioaktywne *in vivo* niż formy skoniugowane [96].

Wykazano, że izoflawony i lignany są obecne we krwi ludzi w stężeniach nanomolowych [86]. Koncentracja izoflawonów u przedstawicieli populacji azjatyckiej, której tradycyjna dieta jest bogata w soję, osiąga nawet 1000 nM. W populacji europejskiej i północnoamerykańskiej, stężenie tych związków jest dużo niższe (~70 nM). We krwi wegetarian natomiast wykryto około 400 nM izoflawonów i 800 nM lignanów [2]. Znaczące ilości ekwolu odnotowano tylko u 30–40% ludzi spożywających izoflawony [39]. W ostatnim czasie Gu i in. [28] badali metabolizm izoflawonów u kobiet i samic szczurów, świń i małp. Badacze ci stwierdzili, że u samic szczura i małpy ekwól stanowił odpowiednio 77% i 52% wszystkich osoczowych izoflawonów (izoflawony i metabolity). Przeciwnie, w osoczu kobiet i samic świń ekwól nie został zidentyfikowany. Mocz samic małp i szczurów zawierał wysokie poziomy aglikonów (odpowiednio >85% i >32%), podczas gdy izoflawony u ludzi i świń były wydalone głównie w formie skoniugowanej z kwasem glukuronowym (>80%), zaś aglikony stanowiły mniej niż 10%.

Rozmiar i zakres metabolizmu fitoestrogenów jest zmienny i zależy od gatunku zwierzęcia oraz stosowanej diety. Wydaje się, że zmienność ta wynika też z osobniczych różnic w absorpcji poszczególnych fitoestrogenów oraz ich metabolitów, jak również z indywidualnych różnic w strukturze flory bakteryjnej odpowiedzialnej za metabolizm tych związków [51]. Wykazano także, że składniki diety (błonnik i inne polisacharydy), stymulujące fermentację w jelicie grubym, odgrywają znaczącą rolę w konwersji daidzeiny do ekwolu [12, 33]. Ponadto, stosowanie antybiotyków oraz choroby przewodu pokarmowego znacznie wpływają na jakość mikroflory i tym samym na metabolizm fitoestrogenów [51]. Mimo różnic w ilości i jakości fitoestrogenów opuszczających przewód pokarmowy, obecność roślinnych estrogenów i ich metabolitów we krwi ludzi i zwierząt sugeruje możliwość ich oddziaływania na funkcjonowanie wielu komórek i narządów.

3. EFEKTY BIOLOGICZNE FITOESTROGENÓW

Działanie fitoestrogenów na komórki docelowe może być zarówno korzystne, jak i szkodliwe. Obserwowano hamujący wpływ tych związków na rozwój raka gruczołu mlekowego, osteoporozy oraz chorób układu krążenia u człowieka i zwierząt. Wyniki badań wskazują również na potencjalną aktywność fitoestrogenów jako endokrynnego czynnika zakłócającego funkcjonowanie wielu układów organizmu, w tym układu rozrodczego. Fitoestrogeny ze względu na strukturalne podobieństwo do 17- β -estradiolu (E_2 ; żeńskiego hormonu płciowego) wykazują zdolność do wiązania się z receptorami estrogenowymi α i β ($ER\alpha$ i β) [38]. W ten sposób związki te mogą działać jak agoniści lub antagoniści tych receptorów, konkurując z estradiolem o miejsce wiązania [12]. Fitoestrogeny mogą również działać poprzez mechanizmy niezwiązane z receptorami estrogenowymi.

Układ nerwowy, endokrynnny i immunologiczny

Fitoestrogeny mogą oddziaływać na układ nerwowy, co objawia się między innymi zmianami w behawiorze seksualnym szczurów [30]. U samców myszy niska dawka genisteiny obniżała agresję i potęgowała zachowania obronne [87]. Pan i in. [59] wykazali, że fitoestrogeny zawarte w soi zwiększają ekspresję mRNA dla acetylotransferazy cholinowej w korze czołowej szczurzym.

Analiza biochemiczna wykazała, że niektóre rośliny zawierają związki o działaniu pożądanym w terapii cukrzycy. Z ekstraktu rośliny *Pterocarpus marsupium* wyizolowano m.in. flawonoid – epikatechinę, działający hipoglikemicznie. Badania *in vitro* na komórkach trzustki szczura wykazały, że epikatechina wywołuje wzrost syntezy i wydzielania insuliny. Ponadto, doniesiono, że daidzeina spowalnia wchłanianie glukozy poprzez hamowanie aktywności α -amylazy i α -glukozydazy, enzymów zaangażowanych w hydrolizę węglowodanów w przewodzie pokarmowym [46].

Nieliczne jak dotąd badania wskazują, że fitoestrogeny mogą znaleźć zastosowanie w terapii AIDS. Kwercetyna, jako inhibitor odwrotnej transkryptazy wykazuje spowalniający wpływ na namnażanie wirusa HIV. Fitoestrogen ten hamuje również działanie wirusowego białka Vpr, odpowiedzialnego za zmiany w cyklu komórkowym gospodarza, prowadzące do zwiększenia wydajności namnażania wirusa. Ponadto, kwercetyna jest inhibitorem integrasy – enzymu odpowiedzialnego za włączanie wirusowego DNA do chromosomów gospodarza oraz proteinazę wirusa HIV, która bierze udział w procesie dojrzewania wirusa [8, 46].

Rak gruczołu mlekowego

Badania in vitro. W badaniach *in vitro* (cytowane za [75]) analizowano przede wszystkim wpływ genisteiny i daidzeiny na proliferację komórek raka piersi, pochodzących z różnych linii komórkowych (głównie MCF-7, charakteryzującej się ekspresją $ER\alpha$). Genisteina wykazuje zróżnicowany wpływ na proliferację badanych linii komórkowych. Fizjologiczne dawki genisteiny (od ≤ 10 nM do $1 \mu M$) stymulują

proliferaację komórek rakowych. Uważa się, że efekt ten jest wywierany poprzez aktywację ER. Podobne dawki genisteiny, ale stosowane w obecności E_2 nie wpływają (hamują w sposób nieistotny statystycznie) na proliferację komórek nowotworowych. W interpretacji tego zjawiska podkreśla się możliwość kompetycji między genisteiną a estradiolem o wiązanie przez receptor estrogenowy. Dawki farmakologiczne ($>10 \mu\text{M}$) genisteiny znacząco hamują komórkową proliferację w sposób najprawdopodobniej niezależny od ER. Proliferacyjna aktywność fitoestrogenów w badaniach *in vitro* wydaje się zależeć głównie od stosowanej dawki fitoestrogenu oraz koncentracji estradiolu w medium hodowlanym [29, 19, 35, 44].

Badania in vivo. Wyniki badań *in vivo* u ludzi wskazują na istnienie zależności między regionem geograficznym a ryzykiem wystąpienia raka piersi. Wysokie ryzyko zachorowania zanotowano w Stanach Zjednoczonych, sześciokrotnie niższe zaś u Azjatek [73]. Jednakże, u Azjatek, które wyemigrowały do Stanów Zjednoczonych, ryzyko zachorowania na raka piersi zwiększało się z pokolenia na pokolenie [94]. Przyczyn takiego zjawiska należy się więc doszukiwać w czynnikach środowiskowych, szczególnie diecie. Dieta Azjatek znacząco różni się od diety Amerykanek i zawiera mniej tłuszczu, a więcej włókna [75]. Regularne spożywanie dużych ilości białka sojowego, produktów sojowych oraz tofu (produkt spożywczy przygotowywany z soi, przypominający biały ser) było związane ze zmniejszającym się ryzykiem zachorowania na raka piersi Chinek oraz Amerykanek pochodzenia azjatyckiego zarówno przed, jak i po menopauzie [18, 94, 95]. Jednakże, efekt ten był modyfikowany poprzez indeks masy ciała (BMI) – ryzyko było mniejsze u kobiet regularnie spożywających produkty sojowe z niskim BMI (<25) [18].

Wiele badań sugeruje, że dużą rolę w ryzyku wystąpienia raka gruczołu mlekowego stanowi okres życia, w którym badane osobniki spożywały fitoestrogeny. Genisteina wykazywała wyraźne działanie ochronne przed rozwojem komórek rakowych u szczurów, którym podawano ją w okresie noworodkowym lub przed osiągnięciem dojrzałości płciowej. Efekt ten nie był tak wyraźny przy podawaniu fitoestrogenu w późniejszym okresie życia szczurów [9, 10, 25, 40, 41, 52, 62].

Shu i in. [71] badali ryzyko wystąpienia raka piersi u dorosłych Chinek, które spożywały izoflawony we wcześniejszym okresie życia (dziewczynki w wieku 13–15 lat, czyli w okresie, kiedy tkanki są najbardziej wrażliwe na działanie czynników środowiskowych). Uczestniczkami badań były kobiety z rozpoznanym rakiem piersi oraz kobiety zdrowe. Od wszystkich kobiet zbierano informacje o pokarmach (szczególnie o produktach sojowych: mleko sojowe, tofu), jakie spożywały przed osiągnięciem dojrzałości płciowej. Stwierdzono, że duże spożycie pokarmów bogatych w soję we wczesnym okresie życia wiązało się z mniejszym wystąpieniem raka piersi u kobiet dojrzałych, badanych zarówno w okresie przed, jak i po menopauzie. Podsumowując, badania epidemiologiczne wykazały, że długotrwałe stosowanie diety bogatej w fitoestrogeny, szczególnie we wczesnym okresie życia, ogranicza ryzyko wystąpienia raka piersi u kobiet. Podobny wniosek można wysnuć z niektórych badań na samicach szczurów.

Krótkotrwałe (14 dni) stosowanie diety sojowej stymulowało proliferację komórek nabłonkowych piersi u kobiet przed menopauzą [47]. Badania te były prowadzone

na histologicznie zdrowej tkance, pochodzącej od kobiet zaatakowanych łagodną lub złośliwą formą raka piersi. Ponadto, Hsieh i in. [32] wykazali zwiększony wzrost zdrowej tkanki gruczołu mlekowego u 28-dniowych, ovariectomizowanych i pozbawionych grasicy myszy, którym przez 5 dni podawano genisteinę. W ostatniej dekadzie ukazało się kilka publikacji, opisujących eksperymenty wykorzystujące powyższy model doświadczalny, z tą tylko różnicą, że myszom bez jajników i grasicy implantowano komórki MCF-7. U zwierząt tych genisteina [9, 32, 34] i daidzeina [35] również zwiększały rozmiary guzów nowotworowych. Wzrostu guzów nie obserwowano natomiast po podaniu ekwolu [35]. W niektórych z powyższych doświadczeń fitoestrogeny podawano przez okres wielu tygodni [9, 34, 35], w innych kilku dni [32]. Wyniki badań *in vivo* dotyczące działania fitoestrogenów na komórki gruczołu mlekowego zwierząt są więc niejednoznaczne. Wydaje się, że to czy fitoestrogeny działają na proliferację komórek gruczołu mlekowego stymulująco, czy hamująco, zależy od wielu czynników: gatunku zwierzęcia, rodzaju, dawki i sposobu podania fitoestrogenu, koncentracji estrogenów endogennych, modelu doświadczalnego oraz czasu trwania i okresu ekspozycji na fitoestrogeny.

Uderzenia gorąca i inne dolegliwości w okresie okołomenopauzalnym

Fitoestrogeny, ze względu na ich podobieństwo do estrogenów, można wykorzystywać w leczeniu objawów menopauzy. Uderzenia gorąca, najczęściej występującą dolegliwość okresu okołomenopauzalnego, zaobserwowano u 70–80% kobiet w Europie i 10–20% w Azji [76]. Istnieją doniesienia, że dieta bogata w fitoestrogeny w 40–55% redukuje występowanie uderzeń gorąca u kobiet w tym okresie [69, 78]. Wyniki innych doświadczeń nie potwierdzają jednak tych obserwacji [76]. Niewykluczone, że skuteczność działania roślinnych estrogenów w łagodzeniu dolegliwości okresu okołomenopauzalnego zależy od rodzaju stosowanej diety sojowej, czasu jej stosowania oraz dawek fitoestrogenów.

Osteoporoza

Spadek stężenia endogennych hormonów płciowych uważa się za jedną z przyczyn ubytku masy kostnej oraz dezorganizacji struktury przestrzennej kości [6]. Z tego powodu kobiety w okresie okołomenopauzalnym są szczególnie narażone na osteoporozę [22]. Objawy choroby mogą być eliminowane lub redukowane dzięki hormonalnej terapii zastępczej (HRT). Jednak z powodu licznych skutków ubocznych HRT oraz indywidualnych przeciwwskazań do jej stosowania rośnie zainteresowanie naturalnymi środkami (np. fitoestrogenami), które mogą stanowić alternatywę dla HRT [6, 22, 69, 73].

Wykazano, że fitoestrogeny zapobiegają postępującej osteoporozie [39]. U Azjatek, których dieta jest bogata w fitoestrogeny, zaobserwowano znacznie mniejszą liczbę pęknięć kości biodrowej niż u białych kobiet [22]. Stwierdzono również, że genisteina [13] oraz biochanina A [42] hamują tworzenie osteoklastów (komórek kościogubnych), natomiast stymulują aktywność osteoblastów (komórek kościotwórczych). Ponadto, spożywanie przez kobiety po menopauzie isoflawonu (syntetyczna

pochodna naturalnych izoflawonów) oraz białka sojowego, powodowało remineralizację oraz wzrost gęstości mineralnej kośćca [58, 69, 73]. Arjmandi i in. [7] wykazali, że białko sojowe znacząco obniża sekrecję dezoksypirydynoliny (biomarkera resorpcji kości, biorącego udział w obrocie kostnym) oraz nie zmienia wydzielania wapnia w moczu u kobiet w okresie postmenopauzalnym. Dodatkowo, badacze ci stwierdzili stymulujący wpływ izoflawonów na sekrecję insulinopodobnego czynnika wzrostu typu I (IGF-I) u kobiet. IGF-I znany jest m.in. z tego, że bezpośrednio stymuluje syntezę kolagenu *in vitro* przez osteoblasty oraz może pośredniczyć w działaniach parathormonu (regulującego przemianę wapniową i fosforanową, zwiększającego koncentrację wapnia we krwi) na kości [7].

Podobnie u owariektomizowanych szczurzy stwierdzono, że dieta bogata w soję zapobiega znacznej utracie masy kości. Wykazano dwufazowy wpływ genisteiny na gęstość mineralną kośćca: niskie dawki fitoestrogenu stymulowały omawiany parametr w kości udowej, a wysokie go hamowały [5, 79]. Kumestrol i zearalenol podawane domięśniowo wykazywały pozytywny wpływ na strukturę kości u owariektomizowanych szczurzy [21]. Ponadto, u szczurów i kurcząt, kumestrol hamował resorpcję oraz stymulował mineralizację tkanki kostnej w hodowlach kości płodów [79]. Dalsze badania pozwolą sprecyzować odpowiednie dawki fitoestrogenów oraz określić bezpieczeństwo ich stosowania, a także ocenić skuteczność działania jako alternatywy w leczeniu farmakologicznym osteoporozy.

Choroby naczyniowe

W okresie okołomenopauzalnym ryzyko wystąpienia choroby wieńcowej serca oraz miażdżycy znacznie wzrasta. Czynnikiem odpowiedzialnym za to zjawisko jest prawdopodobnie spadek endogennych estrogenów. Fitoestrogeny działają zazwyczaj przeciwnie do czynników sprzyjających rozwojowi chorób naczyniowych: obniżają poziom tłuszczu, zwiększają elastyczność naczyń krwionośnych oraz zapobiegają zakrzepicy [4, 77].

Stwierdzono, że fitoestrogeny obniżały we krwi poziom całkowitego cholesterolu, frakcji lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) oraz trójglicerydów. Wpływ ten tłumaczy się osłabioną absorpcją cholesterolu oraz zwiększoną sekrecją soli kwasów żółciowych [39]. Dodatkowo, fitoestrogeny regulują poziom tłuszczu poprzez redukcję endogennej syntezy cholesterolu [26]. Izoflawony mogą również działać jako antyoksydanty, w sposób bezpośredni lub pośredni, wpływając na aktywność różnych enzymów antyoksydacyjnych: katalazę, dysmutazę ponadtlenkową, peroksydazę i reduktazę glutationową [11]. W ten sposób związki te mogą redukować utlenianie LDL i powstawanie miażdżycy [61, 80]. Wykazano również, że genisteina jako inhibitor kinaz tyrozynowych zmniejsza agregację krwinek czerwonych [74].

Ten krótki przegląd literatury uświadamia, jak duży potencjał terapeutyczny kryje się w fitoestrogenach. Poznanie wszystkich tajemnic tych związków na pewno wymaga wzmoczonego wysiłku wielu grup badawczych.

4. FITOESTROGENY A UKŁAD ROZRODCZY

Fitoestrogeny mogą wpływać na rozmnażanie zwierząt poprzez działanie na narządy układu rozrodczego, naśladując lub antagonizując działanie endogennych estrogenów. Mogą również oddziaływać na funkcjonowanie komórek nerwowych i endokrynnych zaangażowanych w regulację procesów rozrodczych. Do komórek tych zaliczamy między innymi neurony wyniosłości pośrodkowej podwzgórza, komórki gonadotropowe przysadki i steroidogenne komórki jajnika. Wśród tych ostatnich wyróżniamy komórki osłonki wewnętrznej i komórki ziarniste występujące w pęcherzyku jajnikowym oraz komórki lutealne tworzące ciało żółte.

Wpływ fitoestrogenów na procesy rozrodcze po raz pierwszy został zaobserwowany u australijskich owiec karmionych koniczyną *Trifolium subterraneum*. Zwierzęta te cierpiały na zaburzenia funkcjonowania układu rozrodczego, których efektem była okresowa niepłodność [1]. Główną przyczyną niepłodności u gepardów trzymanych w niewoli była dieta bogata w izoflawony [39]. Obniżoną płodność zaobserwowano u myszy traktowanych kumestrolą [14]. Ponadto, długotrwałe (ponad 5 tygodni) podawanie kumestrolu wywoływało zaburzenia w cyklu rujowym szczurzy [84]. U krów karmionych fitoestrogenami występowały nieregularne cykle bądź ich brak, a także zmienione zachowania płciowe, np. nimfomania [1].

Dieta bogata w fitoestrogeny w różnorodny sposób wpływa na morfologię i rozwój układu rozrodczego zwierząt. Opisano zwiększenie masy macicy u szczurzy traktowanych genisteiną [37]. Ponadto, u owarietomizowanych świń, domięśniowo podana genisteina zwiększała masę macicy i szyjki macicy oraz indukowała podziały komórek nabłonka wyścielającego macicę [24]. Przeciwnie, Lamartiniere i in. [41] dokonując analizy histomorfologicznej układu rozrodczego 50-dniowych szczurzy, traktowanych w okresie okołoporodowym daidzeiną, nie stwierdzili żadnych patologicznych zmian tkanek pochwy, macicy, jajników oraz gruczołu mlekowego. Podobnie, u małąp karmionych przez rok dietą bogatą w soję nie stwierdzono zmian w długości cyklu miesięczkowego, ilości krwi miesięczkowej oraz poziomów hormonów [91]. Świadczy to o istnieniu zmienności gatunkowej w zakresie wpływu fitoestrogenów na procesy rozrodcze.

Działanie fitoestrogenów, głównie genisteiny, na komórki jajnika badano u człowieka i kilku przedstawicieli świata zwierząt. Genisteina (0,1–50 μM) obniżała podstawową i stymulowaną (LH, FSH, forskolina, prolaktyna) produkcję progesteronu (P_4) przez komórki ziarniste szczura [55, 82], świni [57] i człowieka [83] oraz komórki osłonki wewnętrznej [17, 27] i komórki lutealne [16] świni. Podobny, hamujący wpływ na sekrecję P_4 przez pęcherzykowe komórki ziarniste opisano dla fitoestrogenów innych niż genisteina, a mianowicie dla daidzeiny i biochaniny A [23]. Ponadto, Piotrowska i in. [63] wykazali hamujący wpływ ekwolu (metabolitu daidzeiny) na stymulowaną LH sekrecję P_4 przez bydłące ciała żółte. Dwufazowe działanie genisteiny zostało zaobserwowane w bydłących [36] i szczurzych [31] komórkach ziarnistych, gdzie niskie dawki (185 nM i 0,3–3 μM) stymulowały, a wysokie (1850 nM i 30–100 μM) obniżały produkcję P_4 . Z kolei Makarevich i in. [45] wykazali stymulujący wpływ

genisteiny na komórki ziarniste bydła i królika. W tej samej pracy autorzy opisali również brak wpływu genisteiny na steroidogenną funkcję całych pęcherzyków jajnikowych świni. Przedstawiony powyżej przegląd literatury pokazuje, że dominujący jest pogląd o hamującym działaniu fitoestrogenów na produkcję P_4 przez steroidogenne komórki jajnikowe. Pojedyncze, odmienne obserwacje mogą wynikać z różnic gatunkowych lub metodycznych.

Mniej jednoznaczne są wyniki dotyczące wpływu fitoestrogenów na produkcję E_2 . Hamujące działanie genisteiny na podstawową i stymulowaną gonadotropinami produkcję E_2 przez luteinizujące komórki ziarniste człowieka oraz szczura wykazali odpowiednio, Whitehead i in. [83] – 50 μM oraz Haynes-Johnson i in. [31] – 30 i 100 μM . Podobnie, Myllymäki i in. [53], stosując pięciodniową hodowlę stwierdzili hamujące działanie genisteiny (0,1 μM) na sekrecję E_2 przez całe pęcherzyki jajnikowe niedojrzałych szczurów. Przeciwnie, w tej samej pracy, w hodowlach trzydniowych wykazano brak wpływu genisteiny na produkcję E_2 . Nie stwierdzono również wpływu genisteiny i daidzeiny na podstawową i stymulowaną LH sekrecję E_2 przez komórki ziarniste świni izolowane z dużych, przedowulacyjnych pęcherzyków jajnikowych [23, 57]. Przeciwnie, stymulujące działanie genisteiny na podstawową i stymulowaną FSH sekrecję E_2 obserwowano w komórkach ziarnistych pochodzących ze średnich pęcherzyków jajnikowych świni [23, 56]. Sekrecja E_2 była też stymulowana przez genisteinę w niedojrzałych, całych pęcherzykach jajnikowych świni oraz komórkach ziarnistych królika [45]. Wpływ fitoestrogenów na produkcję E_2 wydaje się zależeć od badanej struktury jajnikowej (komórki ziarniste lub całe pęcherzyki jajnikowe), stopnia dojrzałości pęcherzyków jajnikowych stanowiących źródło badanych komórek ziarnistych, a także gatunku zwierzęcia i czasu trwania hodowli.

Ponieważ kontrolę nad prawidłowym funkcjonowaniem komórek steroidogennych jajnika sprawują przysadka i podwzgórze, możliwy jest też pośredni wpływ fitoestrogenów na komórki jajnika. Rzeczywiście, ekspresja mRNA podjednostki β hormonu luteinizującego (LH β) w przysadce zwiększała się po infuzji genisteiny do trzeciej komory mózgu owiec [64, 92]. Podobnie, ilość komórek przysadki pozytywnie barwionych na obecność LH oraz immunoekspresja LH β wzrastały po infuzji genisteiny do trzeciej komory mózgu owariotomizowanych owiec będących w sezonie rozrodczym [92]. Przeciwnie wyniki otrzymali Polkowska i in. [64], infundując genisteinę do mózgu owiec będących w okresie anestrus. Genisteina podana w ten sam sposób owariotomizowanym owcom obniżała osoczowe poziomy LH [66]. Redukcję wydzielania LH i FSH jako wynik podania izoflawonów obserwowano również u kobiet przed i po menopauzie [15]. Przeciwnie, daidzeina podawana doustnie (100 nM i 200 nM, w formie kapsułek) owariotomizowanym świniom, zwiększała podstawową i stymulowaną GnRH sekrecję LH przez perfundowane przysadki [60]. Efekt działania fitoestrogenów na syntezę i wydzielanie gonadotropin zależy prawdopodobnie od rodzaju fitoestrogenu, gatunku i statusu rozrodczego zwierzęcia oraz sposobu podania badanego czynnika i używanego modelu doświadczalnego.

Dostępne są też doniesienia dotyczące wpływu fitoestrogenów na sekrecję lub syntezę hormonów innych niż steroidy i gonadotropiny. Genisteina hamowała sekrecję dopaminy, powodując wzrost ilości prolaktyny (PRL) we krwi u szczurów [85].

Wzrost osoczowej PRL stwierdzono także u owariektomizowanych owiec, którym do trzeciej komory mózgu infundowano genisteinę [66]. Ponadto, genisteina wpływała na syntezę prostaglandyn ($\text{PGF}_{2\alpha}$ i PGE_2) przez komórki ciała żółtego i endometrium krów [88, 89, 90]. Jak widać z prezentowanego powyżej przeglądu literatury, możliwości oddziaływania fitoestrogenów na procesy rozrodcze zwierząt są niemałe. Z kolei obecność fitoestrogenów w diecie ludzi i zwierząt powoduje, że ich wpływ na funkcje komórek i narządów układu rozrodczego w warunkach *in vivo* jest fizycznie możliwy. Bez wątpienia, potrzebne są dalsze badania, które pozwolą jednoznacznie ocenić różnorodne efekty działania fitoestrogenów i ustalić, kiedy mogą być one korzystne dla ludzi i zwierząt.

PODZIĘKOWANIA

Autorki pragną podziękować Pani prof. Luizie Duszy za cenne uwagi dotyczące przygotowywanego do druku manuskryptu.

PIŚMIENNICTWO

- [1] ADAMS NR. Detection of the effects of phytoestrogens on sheep and cattle. *J Anim Sci* 1995; **73**: 1509–1515.
- [2] ADLERCREUTZ H, YAMADA T, WAHALA K, WATANABE S. Maternal and neonatal phytoestrogens in Japanese women during birth. *Am J Obstet Gynecol* 1999; **180**: 737–743.
- [3] ALLRED CD, TWADDLE NC, ALLRED KF, GOEPPINGER TS, CHURCHWELL MI, JU YH, HELFERICH WG, DOERGE DR. Soy processing affects metabolism and disposition of dietary isoflavones in ovariectomized balb/c mice. *J Agric Food Chem* 2005; **53**: 8542–8550.
- [4] ANDERSON JJB, ANTHONY M, MESSINA M, GARNER SC. Effects of phyto-oestrogens on tissues. *Nutr Res Rev* 1999; **12**: 75–116.
- [5] ARJMANDI BH, ALEKEL L, HOLLIS BW. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *J Nutr* 1996; **126**: 161–167.
- [6] ARJMANDI BH, SMITH BJ. Soy isoflavones' osteoprotective role in postmenopausal women: mechanism of action. *J Nutr Biochem* 2002; **13**: 130–137.
- [7] ARJMANDI BH, KHALIL DA, SMITH BJ, LUCAS EA, JUMA S, PAYTON ME, WILD RA. Soy protein has a greater effect on bone in postmenopausal women not on hormone replacement therapy, as evidenced by reducing bone resorption and urinary calcium excretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: 1048–1054.
- [8] ASRES K, SEYOUM A, VEERESHAM C, BUCAR F, GIBBONS S. Naturally derived anti-HIV agents. *Phytother Res* 2005; **19**: 557–581.
- [9] BARNES S. The chemopreventive properties of soy isoflavonoids in animal models of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1997; **46**: 169–179.
- [10] BARNES S. Soy isoflavones-phytoestrogens and what else? *J Nutr* 2004; **134**: 1225S–1228S.
- [11] BENASSAYAG C, PERROT-APPLANAT M, FERRE F. Phytoestrogens as modulators of steroid action in target cells. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2002; **777**: 233–248.
- [12] BINGHAM SA, ATKINSON C, LIGGINS J, BLUCK L, COWARD A. Phyto-oestrogens: where are we now? *Br J Nutr* 1998; **79**: 393–406.
- [13] BRANCA F. Dietary phyto-oestrogens and bone health. *Proc Nutr Soc* 2003; **62**: 877–887.
- [14] BURROUGHS CD, MILLS KT, BERN HA. Reproductive abnormalities in female mice exposed neonatally to various doses of coumestrol. *J Toxicol Environ Health* 1990; **30**: 105–122.
- [15] CASSIDY A, BINGHAM S, SETCHELL KDR. Biological effects of isoflavones present in soy in premenopausal woman: implications for the prevention of breast cancer. *Am J Clin Nutr* 1994; **60**: 333–340.

- [16] CIERESZKO R, OPAŁKA M, KAMIŃSKA B, WOJTCZAK M, OKRASA S, DUSZA L. Luteotrophic action of prolactin during the early luteal phase in pigs: the involvement of protein kinases and phosphatases. *Reprod Biol* 2001; **1**: 63–83.
- [17] CIERESZKO R, OPAŁKA M, KAMIŃSKA B, GORSKA T, DUSZA L. Prolactin signaling in porcine theca cells: involvement of porcine kinases and phosphatases. *Reprod Fertil Dev* 2003; **15**: 27–35.
- [18] DAI Q, SHU X-O, JIN F, POTTER JD, KUSHI LH, TEAS J, GAO Y-T, ZHENG W. Population-based case-control study of soyfood intake and breast cancer risk in Shanghai. *Br J Cancer* 2001; **85**: 372–378.
- [19] DAVE B, EASON RR, TILL SR, GENG Y, VELARDE MC, BADGER TM, SIMMEN CM. The soy isoflavone genistein promotes apoptosis in mammary epithelial cells by inducing the tumor suppressor PTEN. *Carcinogenesis* 2005; **26**: 1793–1803.
- [20] DELUCA D, KRAZEISEN A, BREITLING R, PREHN C, MÖLLER G, ADAMSKI J. Inhibition of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases by phytoestrogens: comparison with other steroid metabolizing enzymes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; **93**: 285–292.
- [21] DRAPER CHR, EDEL MJ, DICK IM, RANDALL AG, MARTIN GB, PRINCE RL. Phytoestrogens reduce bone loss and bone resorption in oophorectomized rats. *J Nutr* 1997; **127**: 1795–1799.
- [22] DUNCAN AM, PHIPPS WR, KURZER MS. Phyto-oestrogens. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003; **17**: 253–271.
- [23] DUSZA L, CIERESZKO R, SKARZYŃSKI DJ, NOGOWSKI L, OPAŁKA M, KAMIŃSKA B, NYNCA A, KRASZEWSKA O, SŁOMCZYŃSKA M, WOCLAWEK-POTOCKA I, KORZEKWA A, PRUSZYŃSKA-OSZMALEK E, SZKUDELSKA K. Mechanizm of phytoestrogen action in reproductive processes of mammals and birds. *Reprod Biol* 2006; **6** (Suppl. 1): 151–174.
- [24] FORD JA, CLARK SG, WALTERS EB, WHEELER ML, HURLEY WL. Estrogenic effects of genistein on reproductive tissues of ovariectomized gilts. *J Anim Sci* 2006; **84**: 834–842.
- [25] FRITZ WA, COWARD L, WANG J, LAMARTINIERE CA. Dietary genistein: perinatal mammary cancer prevention, bioavailability and toxicity testing in the rat. *Carcinogenesis* 1998; **19**: 2151–2158.
- [26] GLAZIER MG, BOWMAN MA. A review of the evidence for the use of phytoestrogens as a replacement for traditional estrogen replacement therapy. *Arch Intern Med* 2001; **161**: 1161–1172.
- [27] GREGORASZCZUK E, SŁOMCZYŃSKA M, STOKŁOSOWA S. Effect of genistein, tyrphostin and herbimycin on prolactin-stimulated progesterone production by porcine theca and luteal cells. *J Physiol Pharmacol* 1999; **50**: 477–484.
- [28] GU L, HOUSE SE, PRIOR RL, FANG N, RONIS MJJ, CLARKSON TB, WILSON ME, BADGER TM. Metabolic phenotype of isoflavones differ among female rats, pigs, monkeys, and women. *J Nutr* 2006; **136**: 1215–1221.
- [29] GUO JM, XIAO BX, LIU DH, GRANT M, ZHANG S, LAI YF, GUO YB, LIU Q. Biphasic effect of daidzein on cell growth of human colon cancer cells. *Food Chem Toxicol* 2004; **42**: 1641–1646.
- [30] HADDAD NG, FUQUA JS. Phytoestrogens: effects on the reproductive system. *Endocrinologist* 2001; **11**: 498–505.
- [31] HAYNES-JOHNSON D, LAI M-T, CAMPEN C, PALMER S. Diverse effects of tyrosine kinase inhibitors on follicle-stimulating hormone-stimulated estradiol and progesterone production from rat granulosa cells in serum-containing medium and serum-free medium containing epidermal growth factor. *Biol Reprod* 1999; **61**: 147–153.
- [32] HSIEH CY, SANTELL RC, HASLAM SZ, HELFERICH WG. Estrogenic effects of genistein on the growth of estrogen receptor-positive human breast cancer (MCF-7) cells *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res* 1998; **58**: 3833–3838.
- [33] IBARRETA D, DAXENBERGER A, MEYER HHD. Possible health impact of phytoestrogens and xenoestrogens in food. *APMIS* 2001; **109**: 161–184.
- [34] JU YH, ALLRED CD, ALLRED KF, KARKO KL, DOERGE DR, HELFERICH WG. Physiological concentrations of dietary genistein dose-dependently stimulate growth of estrogen-dependent human breast cancer (MCF-7) tumors implanted in athymic nude mice. *J Nutr* 2001; **131**: 2957–2962.
- [35] JU YH, FULTZ J, ALLRED KF, DOERGE DR, HELFERICH WG. Effects of dietary daidzein and its metabolite, equol, at physiological concentrations on the growth of estrogen-dependent human breast cancer (MCF-7) tumors implanted in ovariectomized athymic mice. *Carcinogenesis* 2006; **27**: 856–863.
- [36] KAPLANSKI O, SHEMAH M, BERMAN A. Effects of phyto-oestrogens on progesterone synthesis by isolated bovine granulosa cells. *J Endocrinol* 1981; **89**: 343–348.
- [37] KIM EJ, SHIN HK, PARK JH. Genistein inhibits insulin-like growth factor-I receptor signaling in HAT-29 human colon cancer cells: a possible mechanism of growth inhibitory effect of genistein. *J Med Food* 2005; **8**: 431–438.

- [38] KUIPER GGJM, LEMMEN JG, CARLOSSON B, CORTON JC, SAFE SH, van der SAAG PT, van der BURG B, GUSTAFSSON J. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor β . *Endocrinology* 1998; **139**: 4252–4263.
- [39] KURZER MS, XU X. Dietary phytoestrogens. *Annu Rev Nutr* 1997; **17**: 353–381.
- [40] LAMARTINIERE CA, MOORE J, HOLLAND M, BARNES S. Neonatal genistein chemoprevents mammary cancer. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995; **208**: 120–123.
- [41] LAMARTINIERE CA, WANG J, SMITH-JOHNSON M, ELTOUM IE. Daidzein: bioavailability, potential for reproductive toxicity, and breast cancer chemoprevention in female rats. *Toxicol Sci* 2002; **65**: 228–238.
- [42] LEE KH, CHOI EM. Biochanin A stimulates osteoblastic differentiation and inhibits hydrogen peroxide-induced production of inflammatory mediators in MC3T3-E1 cells. *Biol Pharm Bull* 2005; **28**: 1948–1953.
- [43] LUNDH T. Metabolism of estrogenic isoflavones in domestic animals. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995; **208**: 33–39.
- [44] MAGEE PJ, ROWLAND IR. Phyto-oestrogens, their mechanism of action: current evidence for a role in breast and prostate cancer. *Br J Nutr* 2004; **91**: 513–531.
- [45] MAKAREVICH A, SIROTKIN A, TARADAJNIK T, CHRENEK P. Effects of genistein and lavendustin on reproductive processes in domestic animals *in vitro*. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1997; **63**: 329–337.
- [46] MALIŃSKA D, KIERSZTAN A. Flavonoids-characteristics and significance for therapy. *Post Biochem* 2004; **50**: 182–196.
- [47] McMICHAEL-PHILLIPS DF, HARDING C, MORTON M, ROBERTS SA, HOWELL A, POTTEN CHS, BUNDRED NJ. Effects of soy-protein supplementation on epithelial proliferation in the histologically normal human breast. *Am J Clin Nutr* 1998; **68**: 1431S–1436S.
- [48] MESSINA MJ. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *Am J Clin Nutr* 1999; **70**: 439S–450S.
- [49] MIDDLETON Jr. E, KANDASWAMI C, THEOHARIDES TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev* 2000; **52**: 673–751.
- [50] MIKSICEK RJ. Estrogenic flavonoids: structural requirements for biological activity. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995; **208**: 44–50.
- [51] MURKIES AL, WILCOX G, DAVIS SR. Phytoestrogens. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; **83**: 297–303.
- [52] MURRILL WB, BROWN NM, ZHANG JX, MANZOLILLO PA, BARNES S, LAMARTINIERE CA. Prepubertal genistein exposure suppresses mammary cancer and enhances gland differentiation in rats. *Carcinogenesis* 1996; **17**: 1451–1457.
- [53] MYLLYMÄKI S, HAAVISTO T, VAINIO M, TOPPARI J, PARANKO J. *In vitro* effects of diethylstilbestrol, genistein, 4-tert-butylphenol, and 4-tert-octylphenol on steroidogenic activity of isolated immature rat ovarian follicles. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; **204**: 69–80.
- [54] NAFTOLIN F, STANBURY MG. Phytoestrogens: are they really estrogen mimics? *Fertil Steril* 2002; **77**: 15–17.
- [55] NEJATY H, LACEY M, WHITEHEAD SA. Differing effects of endocrine-disrupting chemicals on basal and FSH-stimulated progesterone production in rat granulosa-luteal cells. *Exp Biol Med* 2001; **226**: 570–576.
- [56] NYNCA A, KRASZEWSKA O, SŁOMCZYŃSKA M, CIERESZKO R. Phytoestrogens action in granulosa cells derived from small ovarian follicles in pigs: steroidogenesis, proliferation and expression of estrogen receptors. Abstract; IV Sympozjum TBR (Towarzystwo Biologii Rozrodu) Kraków, 22–24.09.2005.
- [57] NYNCA A, CIERESZKO RC. Effect of genistein on steroidogenic response of granulosa cell populations from porcine preovulatory follicles. *Reprod Biol* 2006; **6**: 31–50.
- [58] OSOSKI AL, KENNELLY EJ. Phytoestrogens: a review of the present state of research. *Phytother Res* 2003; **17**: 845–869.
- [59] PAN Y, ANTHONY M, CLARKSON TB. Effect of estradiol and soy phytoestrogens on choline acetyltransferase and nerve growth factor mRNAs in the frontal cortex and hippocampus of female rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; **221**: 118–125.
- [60] PARVIZI N. Effects of an estrogenic and a non-estrogenic xenobiotic on LH-secretion and reproductive performance in the pig and in the rat. *Reprod Dom Anim* 1998; **33**: 209–211.

- [61] PATEL RP, BOERSMA BJ, CRAWFORD JH, HOGG N, KIRK M, KALYANARAMAN B, PARKS DA, BARNES S, DARLEY-USMAR V. Antioxidant mechanisms of isoflavones in lipid systems: paradoxical effects of peroxyl radical scavenging. *Free Radic Biol Med* 2001; **31**: 1570–1581.
- [62] PEI RJ, SATO M, YURI T, DANBARA N, NIKAIIDO Y, TSUBURA A. Effect of prenatal and prepubertal genistein exposure on N-methyl-N-nitrosourea-induced mammary tumorigenesis in female Sprague-Dawley rats. *In Vivo* 2003; **17**: 349–357.
- [63] PIOTROWSKA KK, WOCLAWEK-POTOCKA I, BAH MM, PISKULA MK, PILAWSKI W, BOBER A, SKARZYŃSKI DJ. Phytoestrogens and their metabolites inhibit the sensitivity of the bovine corpus luteum to luteotropic factors. *J Reprod Dev* 2006; **52**: 33–41.
- [64] POLKOWSKA J, RIDDERSTRALE Y, WANKOWSKA M, ROMANOWICZ K, MISZTAŁ T, MADEJ A. Effects of intracerebroventricular infusion of genistein on gonadotropin subunit mRNA and immunoreactivity of gonadotrophins and oestrogen receptor-alpha in the pituitary cells of the anoestrous ewe. *J Chem Neuroanat* 2004; **28**: 217–224.
- [65] RAFFAELLI B, HOIKKALA A, LEPPÄLÄ E, WÄHÄLÄ K. Enterolignans. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2002; **777**: 29–43.
- [66] ROMANOWICZ K, MISZTAŁ T, BARCIKOWSKI B. Genistein, a phytoestrogen, effectively modulates luteinizing hormone and prolactin secretion in ovariectomized ewes during seasonal anestrus. *Reprod Neuroendocr* 2004; **79**: 73–81.
- [67] ROWLAND I, WISEMAN H, SANDERS T, ADLERCREUTZ H, BOWEY E. Metabolism of oestrogens and phytoestrogens: role of the gut microflora. *Biochem Soc Trans* 1999; **27**: 304–308.
- [68] SETCHELL KD. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones. *Am J Clin Nutr* 1998; **68**: 1333S–1346S.
- [69] SETCHELL KDR, CASSIDY A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. *J Nutr* 1999; **129**: 758S–767S.
- [70] SETCHELL KDR, BROWN NM, LYDEKING-OLSEN E. The clinical importance of the metabolite equol – a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *J Nutr* 2002; **132**: 3577–3584.
- [71] SHU XO, JIN F, DAI Q, WEN W, POTTER JD, KUSHI LH, RUAN Z, GAO Y, ZHENG W. Soyfood intake during adolescence and subsequent risk of breast cancer among Chinese Women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; **10**: 483–488.
- [72] SIMONS AL, RENOUF M, HENDRICH S, MURPHY PA. Human gut microbial degradation of flavonoids: structure-function relationships. *J Agric Food Chem* 2005; **53**: 4258–4263.
- [73] STOKŁOSA-KWARCIŃSKA H, SKRZYPULEC V, ROZMUS-WARCHOLIŃSKA W. Czy fitoestrogeny zastępują hormonalną terapię zastępczą. *Gin Prakt* 2003; **5**: 39–44.
- [74] THAM DM, GARDNER CD, HASKELL WL. Clinical Review 97: potential benefits of dietary phytoestrogens: a review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; **83**: 2223–2235.
- [75] THIS P, de la ROCHEFORDIERE A, CLOUGH K, FOURQUET A, MAGDELENAT H. Breast Cancer Group of the Institut Curie. Phytoestrogens after breast cancer. *Endocr-Relat Cancer* 2001; **8**: 129–134.
- [76] USUI T. Pharmaceutical prospects of phytoestrogens. *Endocr J* 2006; **53**: 7–20.
- [77] van der SCHOUW YT, KLEIJN MJJ, PEETERS PHM, GROBBEE DE. Phyto-oestrogens and cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2000; **10**: 154–167.
- [78] van de WEIJER PH, BARENTSEN R. Isoflavones from red clover (Promensil) significantly reduce menopausal hot flush symptoms compared with placebo. *Maturitas* 2002; **42**: 187–193.
- [79] VINCENT A, FITZPATRICK LA. Soy isoflavones: are they useful in menopause? *Mayo Clin Proc* 2000; **75**: 1174–1184.
- [80] WAGNER JD, CEFALU WT, ANTHONY MS, LITWAK KN, ZHANG L, CLARKSON TB. Dietary soy protein and estrogen replacement therapy improve cardiovascular risk factors and decrease aortic cholesteryl ester content in ovariectomized cynomolgus monkeys. *Metabolism* 1997; **46**: 698–705.
- [81] WANG L. Mammalian phytoestrogens: enterodiol and enterolactone. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2002; **777**: 289–309.
- [82] WHITEHEAD SA, LACEY M. Protein tyrosine kinase activity of the phytoestrogen genistein and lavendustin A on progesterone synthesis in cultured ovarian cells of the rat. *Fertil Steril* 2000; **73**: 613–619.
- [83] WHITEHEAD SA, CROSS JE, BURDEN C, LACEY M. Acute and chronic effects of genistein, tyrphostin, and lavendustin A on steroid synthesis in luteinized human granulosa cells. *Hum Reprod* 2002; **17**: 589–594.

- [84] WHITTEN PL, NAFTOLIN F. Effects of a phytoestrogen diet on estrogen-dependent reproductive processes in immature female rats. *Steroids* 1992; **57**: 56–61.
- [85] WHITTEN PL, NAFTOLIN F. Reproductive action of phytoestrogens. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1998; **12**: 667–690.
- [86] WHITTEN PL, PATISAUL HB. Cross-species and interassay comparisons of phytoestrogen action. *Environ Health Perspect* 2001; **109**: 5–20.
- [87] WIŚNIEWSKI AB, CERNETICH A, GEARHART JP, KLEIN SL. Perinatal exposure to genistein alters reproductive development and aggressive behavior in male mice. *Physiol Behav* 2005; **84**: 327–334.
- [88] WOCLAWEK-POTOCKA I, ACOSTA TJ, KORZEKWA A, BAH MM, SHIBAYA M, OKUDA K, SKARŻYŃSKI DJ. Phytoestrogens modulate prostaglandin production in bovine endometrium: cell type specificity and intracellular mechanisms. *Exp Biol Med* 2005; **230**: 326–333.
- [89] WOCLAWEK-POTOCKA I, OKUDA K, ACOSTA TJ, KORZEKWA A, PILAWSKI W, SKARŻYŃSKI DJ. Phytoestrogen metabolites are much active than phytoestrogens themselves in increasing prostaglandin $F_{2\alpha}$ synthesis via prostaglandin $F_{2\alpha}$ synthase-like 2 stimulation in bovine endometrium. *Prostag Oth Lipid M* 2005; **78**: 202–217.
- [90] WOCLAWEK-POTOCKA I, BOBER A, KORZEKWA A, OKUDA K, SKARŻYŃSKI DJ. Equol and para ethyl phenol stimulate prostaglandin $F_{2\alpha}$ secretion in bovine *corpus luteum*: Intracellular mechanisms of action. *Prostag Oth Lipid M* 2006; **79**: 287–297.
- [91] WOOD CE, KAPLAN JR, STUTE P, CLINE M. Effects of soy on the mammary glands of premenopausal female monkeys. *Fertil Steril* 2006; **85**: 1179–1186.
- [92] WÓJCIK-GŁADYSZ A, ROMANOWICZ K, MISZTAŁ T, POLKOWSKA J, BARCIKOWSKI B. Effects of intracerebroventricular infusion of genistein on the secretory activity of the GnRH/LH axis in ovariectomized ewes. *Anim Reprod Sci* 2005; **86**: 221–235.
- [93] WU JM, WANG ZR, HSIEH TC, BRUDER JL, ZOU JG, HUANG YZ. Mechanism of cardioprotection by resveratrol, a phenolic antioxidant present in red wine (Review). *Int J Mol Med* 2001; **8**: 3–17.
- [94] WU AH, ZIEGLER RG, HORN-ROSS PL, NOMURA AM, WEST DW, KOLONEL LN, ROSENTHAL JF, HOOVER RN, PIKE MC. Tofu and risk of breast cancer in Asian-Americans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; **5**: 901–906.
- [95] YUAN JM, WANG QS, ROSS RK, HENDERSON BE, YU MC. Diet and breast cancer in Shanghai and Tianjin, China. *Br J Cancer* 1995; **71**: 1353–1358.
- [96] ZHANG Y, SONG TT, CUNNICK JE, MURPHY PA, HENDRICH S. Daidzein and genistein glucuronides *in vitro* are weakly estrogenic and activate human natural killer cells at nutritionally relevant concentrations. *J Nutr* 1999; **129**: 399–405.

Redaktor prowadzący – Maciej Zabel

Otrzymano: 16.11. 2006 r.

Przyjęto: 17.01. 2006 r.

ul. Oczapowskiego 1A, 10-719 Olsztyn;

reniac@uwm.edu.pl