

# Wpływ fitoestrogenów na procesy rozrodu

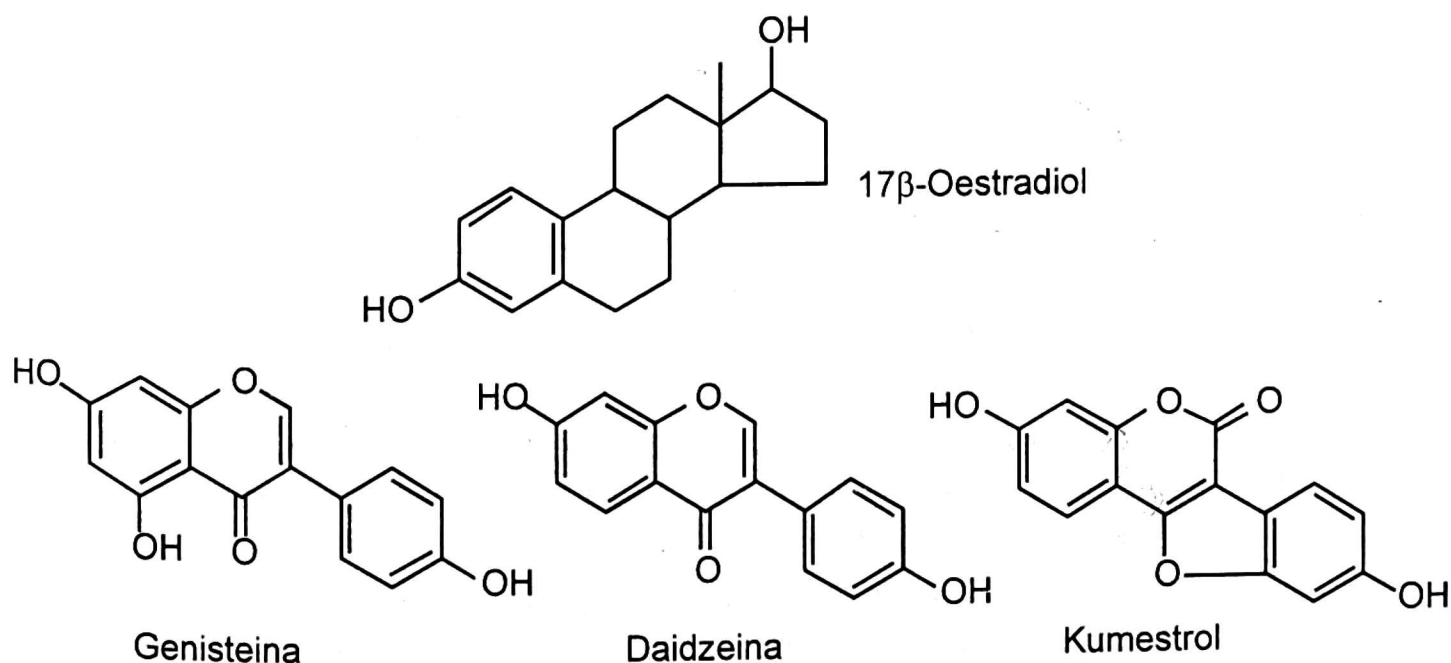
Jolanta Polkowska

Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN,  
ul. Instytucka 3, 05-110 Jabłonna  
e-mail: j.polkowska@ifzz.pan.pl

Słowa kluczowe: fitoestrogeny, genisteina, oś gonadotropowa, owca

## Wstęp

Fitoestrogeny, związki o właściwościach hormonopodobnych, występują naturalnie w roślinach jadalnych i pastewnych, a struktura dwufenyli nadaje im wyjątkową stabilność [3] (rys. 1). Duże zainteresowanie badaczy fitoestrogenami w ostatnich latach, wiąże się z ich biologiczną aktywnością podobną do działania żeńskiego hormonu 17 beta estradiolu. Aktywność ta jest związana z licznymi zdrowotnymi korzyściami dla człowieka, np. fitoestrogeny są stosowane jako dodatki do żywności w celu ochrony przed rakiem oraz polecane jako naturalne alternatywne źródło zastępczej terapii estrogenowej dla kobiet. Z drugiej strony z obserwacji hodowców wynika, że fitoestrogeny mogą wpływać niekorzystnie na rozród zwierząt karmionych roślinami zawierających duże stężenie tych związków [1].



Rysunek 1. Chemiczna struktura estradiolu i wybranych fitoestrogenów

## Mechanizm działania

---

W ostatnich 10 latach wykazano, że fitoestrogeny wywierają biologiczny wpływ na organizm poprzez kilka mechanizmów, z których nie wszystkie są związane z ich aktywnością hormonalną. Najlepiej poznany mechanizm wiąże się z ich działaniem poprzez receptor estrogenowy (RE), co w rezultacie daje efekty hormonalne, które mają wpływ na procesy rozrodu. Podobieństwo chemicznej budowy fitoestrogenów do żeńskiego hormonu  $17\beta$  estradiolu sprawia, że mają one zdolność wiązania się z dwoma izoformami receptora estrogenowego (RE) [19], z większym powinowactwem do  $RE\beta$  niż  $ER\alpha$  [7]. Te dwa receptory występują w różnych tkankach docelowych i mogą pośredniczyć w różnym działaniu estrogenowym o charakterze zarówno agonistycznym jak i antagonistycznym [5, 8]. Wiązanie z RE może wywoływać takie efekty jak ekspresja genów zależnych od estrogenów czy stymulacja wzrostu komórek rakowych estrogeno-zależnych, a ich działanie może być zablokowane przez związki anty-estrogenowe [8, 13]. Inny mechanizm działania fitoestrogenów, niezależny od ich wiązania z RE, to współdziałanie z enzymami biorącymi udział w produkcji hormonów steroidowych. Liczne badania *in vitro* wykazały, że niektóre z fitoestrogenów hamują aktywność enzymów kluczowych dla biosyntezy estrogenów i androgenów, takich jak oksyreduktaza  $17\beta$  hydroksysteroidu typu 1 i 2, aromataza czy  $5\alpha$  reduktaza [wg 21]. Wykazano także, że niektóre fitoestrogeny stymulują produkcję globulin wiążących hormony płciowe [2]. Również w badaniach *in vitro* wykazano jeszcze jeden mechanizm działania fitoestrogenów, niezwiązany z ich hormonalną aktywnością. Jest to działanie o charakterze antyoksydacyjnym, antyproliferacyjnym i hamującym angiogenezę [wg 21]. Teoretycznie te działania mogłyby odgrywać rolę w zapobieganiu chorobom nowotworowym, jednakże najpierw muszą być potwierdzone w badaniach *in vivo* [wg 21].

## Fitoestrogeny w paszach a rozród zwierząt

---

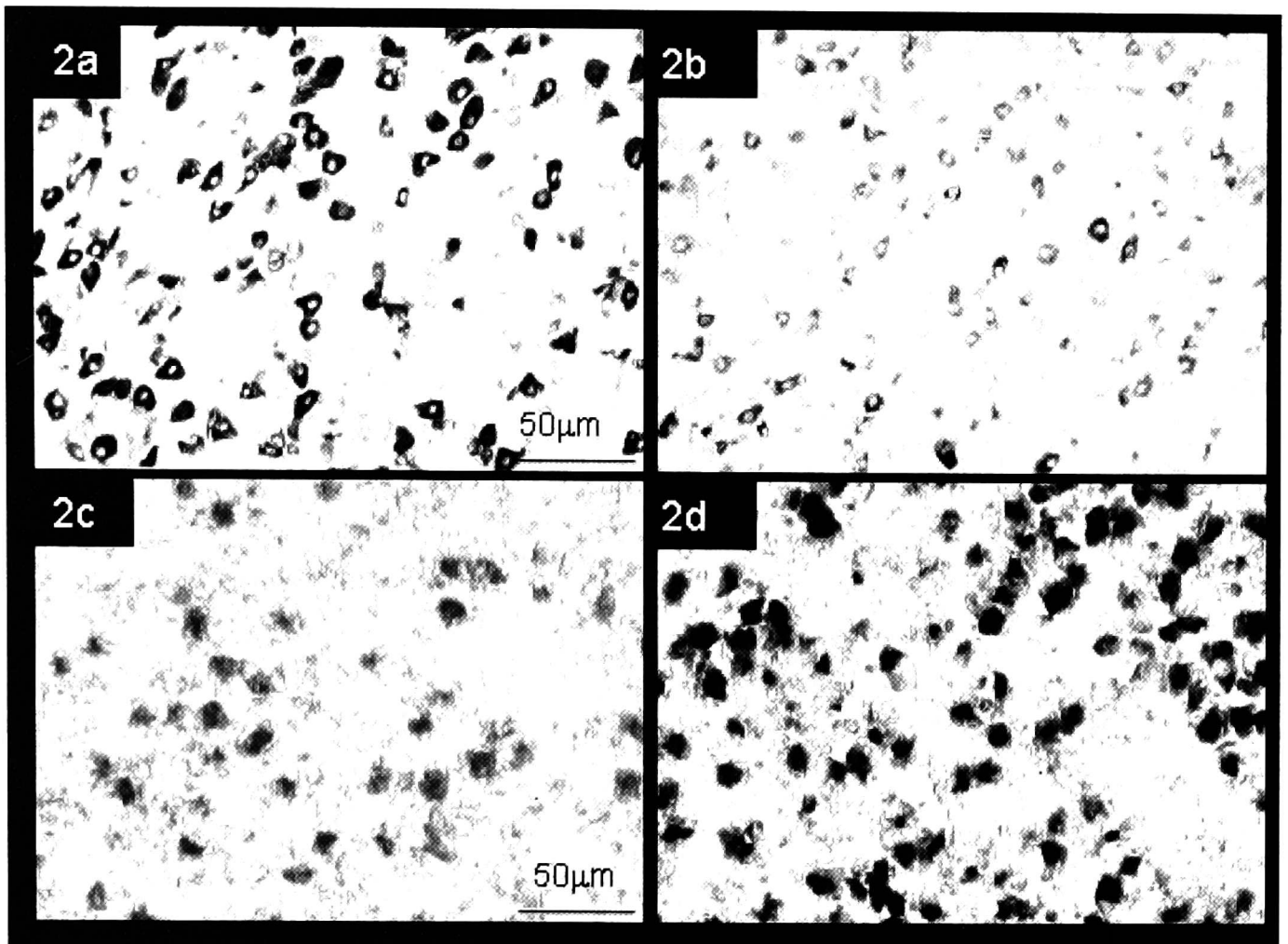
Najsilniej działającą grupą fitoestrogenów są izoflawony, z których najaktywniejsze to genisteina, daidzeina, formononetina, biochanina-A, obecne m.in. w koniczynie (*Trifolium pratense* i *Trifolium subterraneum*) i ziarnach soi. Związki te są nieaktywne estrogenicznie [13], lecz w czasie trawienia są hydrolizowane przez enzymy ssaków, a przede wszystkim przez florę bakteryjną przewodu pokarmowego, do formy aktywnej [10]. Estrogeniczne właściwości fitoestrogenów po raz pierwszy zostały opisane w latach czterdziestych ubiegłego wieku, kiedy zaobserwowano okresową niepłodność u owiec wypasanych na specyficznym gatunku koniczyny *Trifolium subterraneum* [4]. Dopiero późniejsze badania wyjaśniły, że te zaburzenia rozrodu powodujące uszkodzenia funkcji jajnika, a także zmniejszenie ilości owulujących pęche-

rzyków jajnikowych [1] były powodowane przez duże ilości formononetiny, która w czasie trawienia jest przekształcana w daidzeinę [18]. Badania na owcach i bydle wykazały, że zmiany w organach rozrodczych wywoływane przez dietę zawierającą fitoestrogeny mogą być skutkiem ich wpływu na ośrodkowy układ nerwowy (OUN) poprzez redukcję częstotliwości pulsów gonadoliberyny (GnRH), a także obniżenie odpowiedzi przysadki na GnRH [12, 15, 16]. Mathieson i Kitts [11] pokazali, że związki fitoestrogenowe wiążą się z RE w owczym podwzgórzu i przysadce, co popiera pogląd, że mogą one włączać się do pozytywnego mechanizmu zwrotnego estradiolu regulującego wyrzut hormonu luteinizującego (LH) [6].

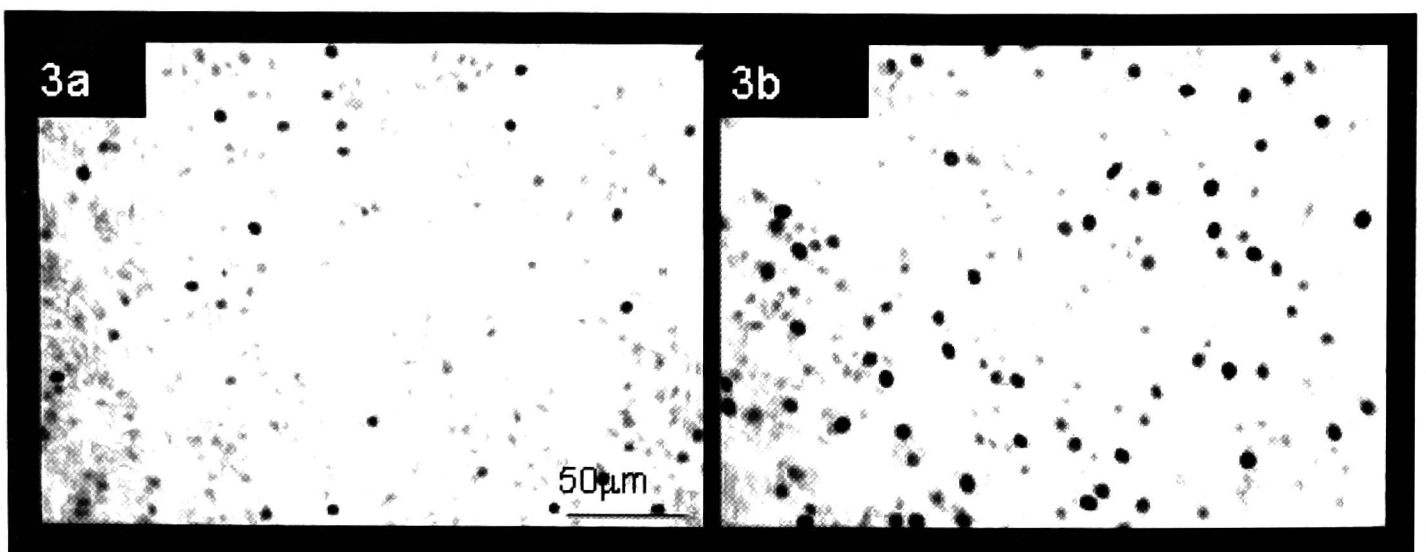
Wpływ fitoestrogenów zawartych w paszach roślinnych na sekrecję LH zależy od gatunku, rodzaju fitoestrogenu, jego koncentracji i czasu ekspozycji. Na przykład kumestrol obniża pulsacyjne uwalnianie LH u owariotomizowanych (OWX) szczurów poprzez zahamowanie podwzgórzowego generatora pulsów GnRH [12]. U OWX owiec wzrastająca koncentracja kumestrolu w diecie obniża amplitudę pulsów LH w sezonie rozrodczym, ale nie w okresie anestrалnym [14]. Wydaje się, że te różnice w odpowiedzi na kumestrol u szczura i owcy mogą być związane z sezonowością rozrodu owcy. Jednym z najsilniej działających fitoestrogenów jest genisteina. Hughes i in. [7] wykazali, że genisteina całkowicie blokuje wywołwane przez GnRH uwolnienie LH u OWX szczurów; autorzy sugerują, że ma ona silniejsze działanie niż estradiol. Co więcej odpowiedź LH na genisteinę zależy od dawki i jest silniejsza raczej przy niższych dawkach. Kumestrol przeciwnie, w tych samych dawkach nie ma takiego wpływu na sekrecję LH [12].

### **Wpływ genisteiny na oś podwzgórowo-przysadkowo-gonadotropową u owcy**

W Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt, we współpracy z Rolniczym Uniwersytetem w Uppsali (Szwecja), przeprowadzono szereg doświadczeń nad wpływem genisteiny podawanej do OUN owcy, w różnych stanach fizjologicznych i okresach rozrodczych, na podwzgórzowo-przysadkowy układ GnRH/gonadotropiny. U owiec OWX w okresie anestrалnym dokomorowe infuzje genisteiny (40 i 10  $\mu\text{g}$ ) tylko w wyższej dawce obniżały zarówno koncentrację jak i częstotliwość pulsów LH, natomiast obydwie dawki podnosiły poziom prolaktyny [18]. U owiec OWX w sezonie rozrodczym, wpływ genisteiny na uwalnianie LH miał charakter dwufazowy, hamujący kilka godzin po infuzji i stymulujący po jednej dobie [22]. Genisteina powodowała również u tych owiec zwiększenie aktywności perykarionów GnRH i zmniejszenie immunoreaktywnego GnRH nagromadzonego w wyniosłości pośredniej podwzgórza, co wskazywało na zwiększone uwalnianie tego hormonu. W komórkach gonadotropowych przysadki obserwowano wzrost mRNA dla LH $\beta$  i zwiększone magazynowanie tego hormonu [22]. U samic fizjologicznych w okresie anestrалnym wy-



**Rysunek 2.** (a–b) Immunoreaktywne komórki-LH w przysadce mózgowej u dwóch reprezentatywnych owiec z grup: kontrolnej (a); z infuzjami genisteiny do trzeciej komory mózgu (b) (c–d) reakcja hybrydyzacji z sondą mRNA dla LHβ w komórkach gonadotropowych przysadki mózgowej u dwóch reprezentatywnych owiec z grup: kontrolnej (c); z infuzjami genisteiny (d); wyraźnie zmniejszona ilość immunoreaktywnego materiału u owcy z infuzjami genisteiny (b) świadczy o wzmożonym uwalnianiu LH, a wzmocniony sygnał hybrydyzacyjny u owcy z tej samej grupy (d) świadczy o zwiększonej syntezie mRNA podjednostki beta dla LH



**Rysunek 3.** Immunoreaktywny receptor estrogenowy α (REα) w komórkach gruczołowych przysadki mózgowej u dwóch reprezentatywnych owiec z grup: kontrolnej (a) i z infuzjami genisteiny do trzeciej komory mózgu (b). Wyraźny wzrost liczby komórek zawierających REα (reakcja immunologiczna widoczna w jądrach komórkowych) u owcy z infuzjami genisteiny

kazano stymulujący wpływ genisteiny działającej ośrodkowo na syntezę mRNA dla LH $\beta$ , uwalnianie tej gonadotropiny zmagazynowanej w komórkach przysadki mózgowej (rys. 2), a także na wzrost ilości RE $\alpha$  w komórkach LH. (rys. 3). Takiego działania genisteiny nie obserwowano natomiast w komórkach dopęcherzykowych (FSH) [17]. Badania te potwierdzają hipotezę, że fitoestrogeny działają na poziomie podwzgórza na neuralny układ GnRH, a także na procesy syntezy i uwalniania LH w komórkach gonadotropowych przysadki mózgowej za pośrednictwem RE $\alpha$ . Stymulujący lub hamujący wpływ na te procesy zależy przede wszystkim od aktywności rozrodczej związanej z sezonowością rozrodu owcy.

## Podsumowanie

---

Fitoestrogeny, związki chemiczne o budowie podobnej do żeńskiego hormonu 17 $\beta$  estradiolu syntetyzowane przez rośliny, są wykorzystywane zarówno jako pasze dla zwierząt jak i pożywienie dla człowieka. Zdolność wiązania z RE to główny mechanizm, poprzez który fitoestrogeny wpływają na procesy rozrodu, a charakter tego działania może mieć skutki zarówno pozytywne jak i negatywne. W badaniach nad wpływem genisteiny na funkcje rozrodcze u owcy wykazano, że ich wpływ na czynność jajnika odbywa się pośrednio poprzez działanie na poziomie ośrodkowego układu nerwowego. Genisteina wywołuje zmiany w uwalnianiu podwzgórzowego GnRH, a także ma wpływ na uwalnianie i syntezę hormonu luteinizującego w komórkach przysadki mózgowej za pośrednictwem RE $\alpha$ . Charakter tych zmian w dużej mierze zależy od wielkości podanej dawki, a także stanu aktywności rozrodczej tego gatunku.

## Literatura

---

- [1] Adams N.R. 1995. Detection of the effects of phytoestrogens on sheep and cattle. *J. Anim. Sci.* 73: 1509–1515.
- [2] Adlercreutz H., Hockerstedt K., Bannwart C., Bloigu S., Hamalainen E., Fortsis T., Ollus A. 1987. Effect of dietary components, including lignans and phytoestrogens on enterohepatic circulation and liver metabolism of oestrogens and on sex hormone binding globulin (SHBG). *J. Steroid. Biochem.* 27: 1135–1144.
- [3] Adlercreutz H., Mazur W. 1997. Phyto-oestrogens and Western diseases. *Ann Med.* 29: 95–120.
- [4] Bennets H. W., Underwood E. J., Shier F. L. 1946. A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in Western Australia. *Aust. J. Agricult Res.* 22: 131–138.
- [5] Bingham S.A., Atkinson C., Liggins J., Bluck L., Coward A. 1998. Phyto-oestrogens: where are we now? *British J. Nutr.* 79: 393–406.
- [6] Findley J.K., Buckmaster J.M., Chamley W.A., Cumming I.A., Hearnshaw H., Goding J.R. 1973. Release of luteinizing hormone by oestradiol-17 $\beta$  and gonadotrophin-releasing hormone in ewes affected with clover disease. *Neuroendocrinology* 11: 57–66.

- [7] Hughes Jr. C.L., Kaldas R.S., Weisinger A.S., McCants C.E., Basham K.B. 1991. Acute and subacute effects of naturally occurring estrogens on luteinizing hormone secretion in the ovariectomized rat (part 1). *Reprod. Toxicol.* 5: 127–132.
- [8] Kuiper G.G., Carlsson B., Grandien K., Enmark e., Haggblad J., Nilsson S., Gustafsson J. 1997. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology* 138: 863–870.
- [9] Kuiper G., Lemmen J., Carlson B., Corton J., Safe S., Van der Saag P., Van der Burg B., Gustafsson J. 1998. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology*, 139: 4252–4263.
- [10] Magee P.J., Rowland I.R. 2004. Phyto-oestrogens, their mechanism of action: current evidence for a role in breast and prostate cancer. *British J. Nutr.* 91: 513–531.
- [11] Mathieson R.A., Kitts W.D. 1980. Binding of phyto-oestrogen and oestradiol-17 $\beta$  by cytoplasmic receptors in the pituitary gland and hypothalamus of the ewe. *J. Endocrinol.* 85: 317–325.
- [12] Mc Garvey C., Cates P.A., Brooks A., Swanson I.A., Milligan S.R., Coen C.W., O'Byrne K.T. 2001. Phytoestrogens and gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity and pituitary luteinizing hormone release in the rat. *Endocrinology* 142: 1202–1208.
- [13] Miksicek R.J. 1995. Estrogenic flavonoids: structural requirements for biological activity. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 208: 44–50.
- [14] Montgomery G.W., Martin G.B., Le Bars J., Pelletier J. 1985. Gonadotrophin release in ovariectomized ewes fed different amounts of coumestrol. *J. Reprod. Fertil.* 73: 457–463.
- [15] Nwannenna A., Lundh T. F., Madej A., Fredriksson G., Bjornhag G. 1995. Clinical changes in ovariectomized ewes exposed to phytoestrogens and oestradiol-17 $\beta$  implants. *Proc. Soc. Exp. Med.* 208: 92–97.
- [16] Nwannenna A., Madej A., Lundh T.F., Fredriksson G. 1994. Effects of oestrogenic silage on some clinical and endocrinological parameters in ovariectomized heifers. *Acta Vet. Scand*, 35: 173–183.
- [17] Polkowska J., Ridderstrale Y., Wańkowska M., Romanowicz K., Misztal T., Madej A. 2004. Effects of intracerebroventricular infusion of genistein on gonadotrophin subunit mRNA and immunoreactivity of gonadotrophins and oestrogen receptor- $\alpha$  in the pituitary cells of the anoestrous ewe. *J. Chem. Neuroanat.* 28: 217–224.
- [18] Romanowicz K., Misztal T. 2005. Effect of intracerebroventricular infusion of genistein on prolactin and LH secretion in ovariectomized ewes during short days. *J. Anim. Feed Sci.* 14: 255–265.
- [19] Setchell K.D.R. 2001. Soy isoflavones-benefits and risks from nature's selective estrogen receptor modulator. (SERMs) *J. Am. Coll Nutr.* 20: 354S–362S.
- [20] Shutt DA. 1976. The effect of plant oestrogens on animal reproduction. *Endeavour* 35: 110–113.
- [21] Strauss L., Santi R., Saarinen N., Streng T., Joshi S., Mäkelä S. 1998. Dietary phytoestrogens and their role in hormonally dependent disease. *Toxicol. Lett.* 102–103: 349–354.
- [22] Wójcik-Gładysz A., Romanowicz K., Misztal T., Polkowska J., Barcikowski B. 2005. Effects of intracerebroventricular infusion of genistein on the secretory activity of the GnRH/LH axis in ovariectomized ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 86: 221–235.

## **Phyto-oestrogens and reproduction processes**

---

**Key words:** phyto-oestrogens, genistein, hypothalamo-pituitary-gonadotrophic axis, sheep

### Summary

Research studies on the role of phyto-oestrogens in reproduction of the animals and human deal with the diets containing high concentrations of phyto-oestrogens as well as individual isolated components, among which the best examined are genistein, daidzein and coumestrol. Due to their structural similarity to the human female hormone 17- $\beta$  estradiol, they have ability to bind to oestrogen receptors and can act as oestrogens agonist or antagonist. This receptor-dependent mechanism is related to the participation of phytoestrogens in reproductive processes. Phyto-oestrogens present in natural feeds can negatively influence the function of ovaries through their direct action on the gonadoliberrine/luteinizing hormone (GnRH/LH) secretory functions. Their effect on the LH secretion depends on the species, the kind of phyto-oestrogens and their concentrations. The studies on the effects of exogenous genistein on reproductive functions of the female sheep were presented. These data show, that genistein infused into the central nervous system affects the release of GnRH and synthesis and release of LH via oestrogen receptor  $\alpha$ . The mode of these actions, stimulatory or restraining, is dependent on the sexual activity connected with periodical properties of this species.