

MECANISMOS MOLECULARES DE LOS FITOESTRÓGENOS Y SU RELACIÓN CON EL CÁNCER*

Eduardo Izquierdo Torres y Angel Zarain Herzberg**

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. **Autor de correspondencia correo E: zarain@unam.mx

RESUMEN

Los fitoestrógenos son compuestos químicos no esteroideos sintetizados en las plantas, poseen actividad estrogénica o antiestrogénica, y algunos de ellos se encuentran abundantemente en alimentos que conforman la dieta. Son de mucho interés ya que presentan una actividad biológica elevada debido a sus propiedades de modular diversos procesos celulares importantes como el ciclo y la muerte celular, la transcripción, vías de señalización, entre otros. Por resultados de estudios realizados en modelos *in vitro* y animales, así como estudios epidemiológicos en humanos, se les han atribuido beneficios a la salud para diversas condiciones patológicas. Sin embargo, debido a su capacidad de ser agonistas o antagonistas (dependiendo del contexto celular) del receptor de estrógenos, también podrían ocasionar efectos adversos a la salud. En esta revisión, nos enfocaremos en las evidencias que existen sobre los efectos de los fitoestrógenos en diversos modelos de cáncer, así como los mecanismos de acción.

PALABRAS CLAVE:

Fitoestrógenos, dieta, cáncer, vías de señalización, ciclo celular, epigenética.

ABSTRACT

Phytoestrogens are nonsteroidal chemical compounds synthesized by plants, they exert estrogenic or antiestrogenic activity, and some of them are widely found in human diets. They are subject of interest since present high biological activity due to their properties to modulate several important cellular processes such as cell cycle and death, transcription, cell signaling, among others. As a result of several *in vitro* and animal studies, as well as epidemiological studies in humans, they have been attributed health benefits for diverse conditions. However, because of their capacity to function as agonists or antagonists (depending on the cellular context) of estrogen receptor, they might also elicit adverse health effects as well. In this review, we focus on the existing evidence about the effect of phytoestrogens in various cancer models, besides their mechanisms of action.

KEY WORDS:

Phytoestrogens, diet, cancer, treatment, prevention.

INTRODUCCIÓN

Los fitoestrógenos son un grupo de sustancias derivadas de las plantas que son estructural o funcionalmente similares al estradiol. Estas moléculas han atraído el interés debido a una serie de datos epidemiológicos que sugieren un menor riesgo de desarrollar cáncer de mama en mujeres que habitan en países con alto consumo de fitoestrógenos, por ejemplo en Japón (1). El alto consumo de soya (una fuente abundante de fitoestrógenos) se ha asociado con menor riesgo de cáncer de mama. Además, la tasa de cáncer de mama entre inmigrantes de países

con alto consumo de fitoestrógenos hacia países de bajo consumo ha ido en aumento, sugiriendo que cambios en el estilo de vida, incluyendo los cambios dietéticos en la captación de fitoestrógenos juegan un papel importante, aunque podrían no ser los únicos (1). Incluso, algunos estudios han señalado que la exposición a los fitoestrógenos durante la niñez podría proteger contra el cáncer de mama en la edad adulta (2).

También existe la preocupación de que los fitoestrógenos, a través de sus propiedades estrogénicas, puedan incrementar el riesgo de incidencia, recurrencia, o incluso estimular el crecimiento de tumo-

res ya existentes, ya que se ha observado que las isoflavonas (en particular la genisteína estimula el crecimiento de células de cáncer de mama sensibles al receptor de estrógenos (3). En modelos animales y estudios *in vitro*, los fitoestrógenos se unen débilmente a los receptores de estrógenos y pueden tener efecto estrogénico o antiestrogénico. La actividad de un fitoestrógeno depende de su estructura y su metabolismo, su concentración relativa a la de los estrógenos endógenos y a la función biológica evaluada (4).

En un estudio con aproximadamente 15,000 mujeres holandesas de entre 49 y 70 años reclutadas para un programa de seguimiento por 4-8 años con una dieta alta en lignanos e isoflavonas (dos tipos de fitoestrógenos) se identificaron 280 casos de cáncer de mama. Los puntos fuertes del estudio incluyen el uso de un detallado y validado cuestionario semi-cuantitativo de ingesta de alimentos, cuidadosamente desarrollado para detectar los niveles de fitoestrógenos consumidos. No se encontró asociación entre el consumo de isoflavonas y la incidencia de cáncer de mama. Sin embargo, se observó una disminución en el riesgo de cáncer de mama de un 30% para las mujeres que ingerían altas cantidades de lignanos (un promedio de 0.8 mg/día) (5).

Además de la relación con el cáncer de mama, en otros estudios epidemiológicos, así como en meta-análisis se ha reportado que la ingesta de

isoflavonas o el consumo de soya están asociados a un menor riesgo de desarrollar cáncer de pulmón (6, 7); mientras que también se ha asociado a las altas concentraciones de isoflavonas en suero con menor riesgo de cáncer gástrico (8), a las dietas ricas en lignanos e isoflavonas con menor incidencia de cáncer de próstata y testicular (9-11), y menor riesgo de cáncer de tiroides en mujeres pre y postmenopáusicas (12), entre otros tipos de cáncer como cáncer de útero (13), endometrio (14) y de ovario (15).

El propósito de este artículo es proporcionar al lector una visión general de los fitoestrógenos, desde sus fuentes y propiedades hasta las evidencias que existen de sus efectos en modelos de células cancerosas.

CLASIFICACIÓN, FUENTES Y METABOLISMO DE LOS FITOESTRÓGENOS

Existen varias clases principales de fitoestrógenos. En la Tabla 1 se pueden observar estas clases y la fuente en la que pueden ser encontrados. Los fitoestrógenos más estudiados son las isoflavonas, los lignanos y el estilbeno resveratrol (RSV) (16).

Los lignanos existen en muchas plantas, donde son parte fundamental de la pared celular, además de estar presentes también en las porciones leñosas de la planta y en las semillas (17). La semilla de lino es la mayor fuente dietética de lignanos,

Tabla 1
Principales clases de fitoestrógenos y sus fuentes dietéticas comunes

Flavonoides	Isoflavonoides	Lignanos	Coumestranos	Estilbenos
Apigenina Quercetina Narigenina Catequina	Genisteína Biocanina A Daidzeína	Enterodiol Enterolactona	Coumestrol	Resveratrol
Fuentes Frutas amarillas y rojas, vegetales, té	Fuentes Soya, vegetales	Fuentes Linaza, granos enteros, frutas, vegetales	Fuentes Guisantes, frijoles, alfalfa, semillas de girasol	Fuentes Piel de las uvas, vino tinto, arándanos, frambuesas, moras, nueces
Estructura de un miembro representativo (Quercetina)	Estructura de un miembro representativo (Genisteína)	Estructura de un miembro representativo (Enterodiol)	Estructura de un miembro representativo (Coumestrol)	Estructura de un miembro representativo (Resveratrol)

pero los granos enteros, las verduras y el té son también fuentes importantes y más típicamente ingeridos en la dieta occidental (18). Las isoflavonas son la forma más común de fitoestrógenos y se pueden encontrar en diversas plantas, pero mayoritariamente en la soya. Aunque otras legumbres como garbanzos y guisantes contienen también isoflavonas, sus niveles son alrededor de dos órdenes de magnitud menores con respecto a la soya (19, 20). La cantidad de fitoestrógenos en plantas varía considerablemente en función de la ubicación y condiciones del cultivo, el tiempo de cosecha, el procesamiento y la preparación (21).

En los alimentos, los fitoestrógenos se encuentran generalmente como conjugados glucosídicos biológicamente inactivos que contienen restos de glucosa o algún otro carbohidrato. Su concentración en sangre puede variar dependiendo de varios factores como las preferencias dietéticas de los individuos, así como del contenido de fitoestrógenos en alimentos procesados (22). Por ejemplo, en países asiáticos el consumo de isoflavonas puede alcanzar los 50 mg/día comparados con los 1-3 mg/día de una dieta típica en países occidentales, aunque con una dieta vegetariana o el uso de suplementos se pueden alcanzar los niveles de una dieta asiática (23, 24).

En el intestino, los fitoestrógenos son hidrolizados por glucosidasas a sus respectivas agliconas permitiendo una absorción más eficiente, aunque también algunas bacterias intestinales pueden metabolizar estos productos (24, 25). Una vez que se absorben, son conjugados principalmente con ácido glucurónico y, en menor medida, con ácido sulfúrico en el intestino y en el hígado para después desconjugarse antes de excretarse por vía urinaria (26). Solamente existe un pequeño porcentaje (alrededor del 3% del total) de fitoestrógenos libres biológicamente activos y los valores en sangre se encuentran en el orden de magnitud de ng/mL o hasta menor (23, 27). Lo anterior es la principal causa del cuestionamiento acerca de la relevancia de los estudios *in vitro* que muestran que dosis micromolares de fitoestrógenos no conjugados o dosis muy altas comparadas con la ingesta normal en modelos *in vivo* pueden inhibir la proliferación de células cancerosas, inhibir la transcripción dependiente de estrógeno o algunas vías de señalización (28-30).

La concentración de fitoestrógenos puede medirse en orina, plasma, heces, semen, bilis, saliva y leche materna. La concentración puede variar de persona a persona incluso cuando se administren de manera controlada debido al metabolismo individual (31). Se ha observado que el uso de antibióticos, así como enfermedades gastrointestinales modifican el

metabolismo de fitoestrógenos, esto debido a que su metabolismo está determinado principalmente por la flora intestinal (31).

ACTIVIDAD ESTROGÉNICA DE LOS FITOESTRÓGENOS

Los fitoestrógenos tienen una actividad estrogénica muy débil, que va desde diez mil veces menor (daidzeína) hasta cien veces menor (coumestrol) por mol con respecto al 17 β -estradiol (32). Sin embargo, a pesar de la débil actividad estrogénica de los fitoestrógenos, su concentración en el cuerpo es alrededor de 100-1000 veces mayor que la del estradiol endógeno en mujeres pre-menopáusicas. De hecho, la genisteína y la daidzeína han mostrado efectos estrogénicos incluso mayores que el estradiol endógeno a altas dosis *in vitro*, aunque fuera del rango de concentraciones típicamente encontradas en humanos (33-35).

Es difícil puntualizar sobre las actividades biológicas de los fitoestrógenos en modelos *in vivo* debido a una gran variedad de factores como la variabilidad en el metabolismo individual, entre otras. A pesar de esto, de varios estudios se ha podido concluir que niveles bajos de genisteína fisiológicamente relevantes (<10 μ mol/L) estimulan tumores positivos para el receptor de estrógenos (RE+), mientras que dosis altas (>10 μ mol/L) tienen el efecto opuesto. Es importante resaltar que una concentración de fitoestrógenos de 10 μ mol/L es difícil de alcanzar solamente con la dieta (36, 37).

La actividad estrogénica de los fitoestrógenos también depende de la afinidad relativa por RE específicos en el cuerpo. Parece ser que los fitoestrógenos se unen preferencialmente al receptor de estrógenos beta (RE- β) (38, 39). El RE- β puede tener un papel protector en el desarrollo del cáncer de mama a través de la inhibición de la proliferación de células mamarias, así como inhibiendo los efectos estimuladores del RE- α . Además, los fitoestrógenos también han mostrado ser inhibidores de la aromatasa (una enzima que convierte androstenediona y testosterona en estrona y estradiol, respectivamente), la cual es blanco de los inhibidores de aromatasa que actualmente se utilizan para el tratamiento de cáncer de mama (38, 40-42).

Se ha observado actividad estrogénica en la genisteína a través de ensayos con genes reporteros en células de osteosarcoma humano U20S, esta actividad es dosis-dependiente y mayor que la reportada para otros fitoestrógenos como la daidzeína, aunque sigue siendo menor que la del estradiol (43). Funcionalmente esto se traduce en

un aumento de la proliferación en células de cáncer de mama T47D pero solamente a altas concentraciones ($\geq 0.5 \mu\text{M}$), cuando la concentración es baja (20-80 nM) se observa una proliferación reducida con respecto a las células tratadas solamente con el vehículo (43). Para el caso de las células de cáncer de mama MCF-7 se observó lo contrario, dosis de genisteína entre 10 nM y 1 μM mostraron efectos mitogénicos, mientras que concentraciones de 10 μM o mayores tienden a mostrar efectos antiproliferativos (32, 44), se cree que algunos de estos efectos pueden ser explicados por las interacciones de los fitoestrógenos con las distintas isoformas del RE (45).

Sin embargo, en una amplia revisión de la literatura se llegó a la conclusión de que los fitoestrógenos son menos potentes que el estradiol para la activación tanto del RE- α como del RE- β , uniéndose preferencialmente al RE- β (46).

FITOESTRÓGENOS Y VÍAS DE SEÑALIZACIÓN CELULAR

Las principales vías de señalización que se encuentran desreguladas en cáncer pueden ser modificadas por varios fitoestrógenos. Estas incluyen el metabolismo, reparación del DNA, proliferación, apoptosis, inflamación, inmunidad, diferenciación y angiogénesis (47, 48).

El factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- κB) es un complejo de proteínas que funciona como factor de transcripción que induce la expresión de muchos genes que suprimen la apoptosis, inducen transformación celular, proliferación, metástasis e inflamación (49, 50). Algunos fitoestrógenos como el RSV han mostrado capacidad para ser potentes inhibidores de NF- κB , lo cual podría explicar su actividad anti-carcinogénica (51, 52).

La angiogénesis es un proceso fisiológico normal donde existe la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de otros ya existentes. Una angiogénesis regulada de manera deficiente promueve el crecimiento tumoral a través del incremento de oxígeno y nutrientes (53). El RSV y la curcumina reducen la angiogénesis inducida por inflamación, inhiben al factor inducible por hipoxia-1 α (HIF-1 α) y reducen la expresión del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) a través de la disminución de la actividad de las vías de la cinasa Akt y de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK) en las líneas celulares de cáncer de ovario A2780/CP70 y OVCAR-3 (54).

Los fitoestrógenos también pueden modular la respuesta a factores de crecimiento o activar/inhibir cinasas que pueden alterar la actividad transcrip-

cional independiente de ligando de los receptores de estrógeno y de otros factores de transcripción como la proteína activadora 1 (AP-1) (55). Por ejemplo, la genisteína y el RSV son inhibidores de cinasas de tirosina y han mostrado alterar tanto la actividad como la expresión de ERK1/2 y la vía de la fosfoinositol 3-cinasa y Akt (PI-3K/Akt) (56, 57). El tratamiento con genisteína por tiempos largos a concentraciones fisiológicas (10^{-8} mol/L) también disminuye la expresión de Akt en células de cáncer de mama MCF-7 (58).

Por otro lado, se ha visto que la activación de las vías de las MAPK y PI-3K/Akt es capaz de suprimir los efectos inhibitorios del ER- β sobre la proliferación en células de epitelio mamario y en líneas celulares de cáncer de mama (59), situando a la exposición a fitoestrógenos de la dieta como una estrategia para potenciar los efectos inhibitorios de la proliferación del ER- β .

REGULACIÓN DEL CICLO CELULAR POR FITOESTRÓGENOS

En células normales la proliferación se encuentra estrictamente regulada por el balance entre las señales de crecimiento y aquellas señales que lo inhiben. Sin embargo, las células cancerosas se caracterizan por presentar una proliferación descontrolada ya sea porque adquieren la capacidad de generar sus propias señales de crecimiento o mediante la insensibilidad a las señales anti-crecimiento (60).

Las ciclinas son una familia de proteínas que regulan la transición de varias fases del ciclo celular, lo hacen a través de la formación de complejos con cinasas dependientes de ciclinas (CDK, por sus siglas en inglés) modulando la transcripción de sus genes blanco. La ciclina D1, que regula la transición de la fase G1 a S del ciclo celular es una de las más estudiadas y derivado de estas investigaciones fue catalogada como un oncogén ya que se encuentra sobre-expresada en muchos tipos de cáncer (61). Varios estudios han mostrado que altas concentraciones de fitoestrógenos ($\geq 10 \mu\text{mol/L}$) inhiben la expresión de ciclina D1 (62, 63).

La actividad de los complejos ciclina/CDK es regulada por los inhibidores de CDK (CDI, por sus siglas en inglés), por lo que estos pueden inhibir la progresión del ciclo celular (64). Los dos CDI más estudiados son p21^{CIP1/WAF1} y p27^{Kip1}. La expresión de p21 es regulada positivamente por el supresor tumoral p53 (64, 65). Altas dosis de fitoestrógenos han mostrado incrementar la actividad y expresión de p21, p27 y p53, provocando disminución en los niveles de ciclina D1 (66-70). Mediante análisis por microarreglos se observó que bajas concentracio-

nes de genisteína que estimulaban el crecimiento de células de cáncer de mama MCF-7 no tenían efecto sobre la expresión de p53 ni sobre sus genes blanco, mientras que dosis altas (25 µmol/L) tenían el efecto contrario, promoviendo una proliferación disminuida y apoptosis (71).

INDUCCIÓN DE APOPTOSIS MEDIANTE FITOESTRÓGENOS

La apoptosis es quizá el arma más potente para combatir al cáncer ya que es un proceso que se encarga de eliminar células que poseen mutaciones potencialmente dañinas, entre otras funciones. Los procesos que inducen apoptosis incluyen el daño al DNA, desregulación del ciclo celular, hipoxia, desprendimiento celular de su tejido circundante y pérdida señalización mediada por factores de crecimiento (72). Las caspasas son una familia de proteasas involucradas en la iniciación y ejecución de la apoptosis. La desregulación de estas enzimas tanto en su expresión como en su actividad puede provocar enfermedades como el cáncer o procesos inflamatorios (73).

Se ha visto que fitoestrógenos como la quercetina, el RSV y la genisteína inducen apoptosis en células de cáncer de mama, involucrando tanto la vía intrínseca como la extrínseca, mientras que estos efectos no se observan en líneas celulares de tejido mamario no neoplásico como la línea MCF-10A (74, 75). También en células de cáncer de mama se observó que la quercetina y genisteína producían fracciones apoptóticas por la vía extrínseca a través de la inducción de la expresión de p53, así como mediante la inhibición de la fosforilación del inhibidor de kappa B (IkB), interfiriendo con la señalización de NF-κB (76).

En células de cáncer de mama MCF-7 y MDA-MB-231 se observó que el tratamiento con RSV aumentó la actividad de diversas caspasas y que las bombas de calcio SERCA son un mediador importante, ya que su silenciamiento por RNA de interferencia (RNAi) disminuyó parcialmente la apoptosis inducida por RSV (77).

En células de cáncer de pulmón A549 y H1299 se observó que cuando se les administra vino tinto (la fuente más abundante de RSV) disminuyen dramáticamente los niveles de fosforilación en Akt en el residuo de Treonina 308, modificación que es importante para su activación. De manera similar, se observó una disminución en la fosforilación de ERK1/2 en estas células con dicho tratamiento (78).

Otro estudio reciente demostró que el RSV imita estructuralmente a la tirosina y es capaz de unirse a la enzima tirosil tRNA sintetasa provocan-

do su translocación al núcleo y la transcripción de genes protectores para el organismo, entre ellos p53 (79). Además, se demostró que en células de cáncer de mama, la unión del RSV al monómero β3 de la integrina αβV3 es esencial para la inducción de apoptosis dependiente de p53 en estas células (80).

FITOESTRÓGENOS COMO MODULADORES EPIGENÉTICOS

En los últimos años, muchos laboratorios han hecho hincapié en estudiar cómo los mecanismos epigenéticos están involucrados en el desarrollo y progresión del cáncer, muchos de estos estudios han incluido a los fitoestrógenos para intentar determinar si son o no útiles para su prevención o incluso su tratamiento (2, 81). Las modificaciones epigenéticas provocan cambios heredables en la expresión de genes sin que existan cambios en la secuencia de nucleótidos del DNA. Una gran variedad de procesos celulares son regulados a través de modificaciones epigenéticas, estos procesos incluyen la diferenciación, la impronta y el silenciamiento de grandes dominios cromosómicos como el cromosoma X. Estos cambios incluyen la metilación del DNA, modificaciones post-traduccionales de histonas y RNAs no codificantes (82).

La metilación del DNA es un proceso enzimático llevado a cabo por las DNA metil transferasas (DNMT, por sus siglas en inglés) que transfieren un grupo metilo desde la S-adenosilmetionina (SAM, un donador universal de grupos metilo) hacia la posición 5 del anillo pirimídico de las citosina ubicadas en un contexto conocido como islas CpG (83). La metilación en regiones promotoras de muchos genes se ha asociado con una actividad transcripcional reprimida y se ha demostrado que las regiones que contienen DNA metilado están asociadas a regiones heterocromáticas (84).

La estructura de la cromatina también puede verse modificada por las modificaciones post-traduccionales en histonas. Se ha postulado desde hace algunos años, que las modificaciones post-traduccionales (MPT, por sus siglas en inglés) en las histonas actúan por separado y conjuntamente para formar un lenguaje o código que es leído por proteínas especializadas para facilitar las funciones río abajo de la cromatina (85). La acetilación es la modificación postraduccional más estudiada, la acetilación de los residuos de lisina presentes en las colas externas de las histonas H3 y H4 tiende a reducir las interacciones entre el DNA y los nucleosomas, permitiendo el acceso de diversos factores de transcripción. La acetilación es llevada a cabo por histonas acetiltransferasas (HAT, por sus

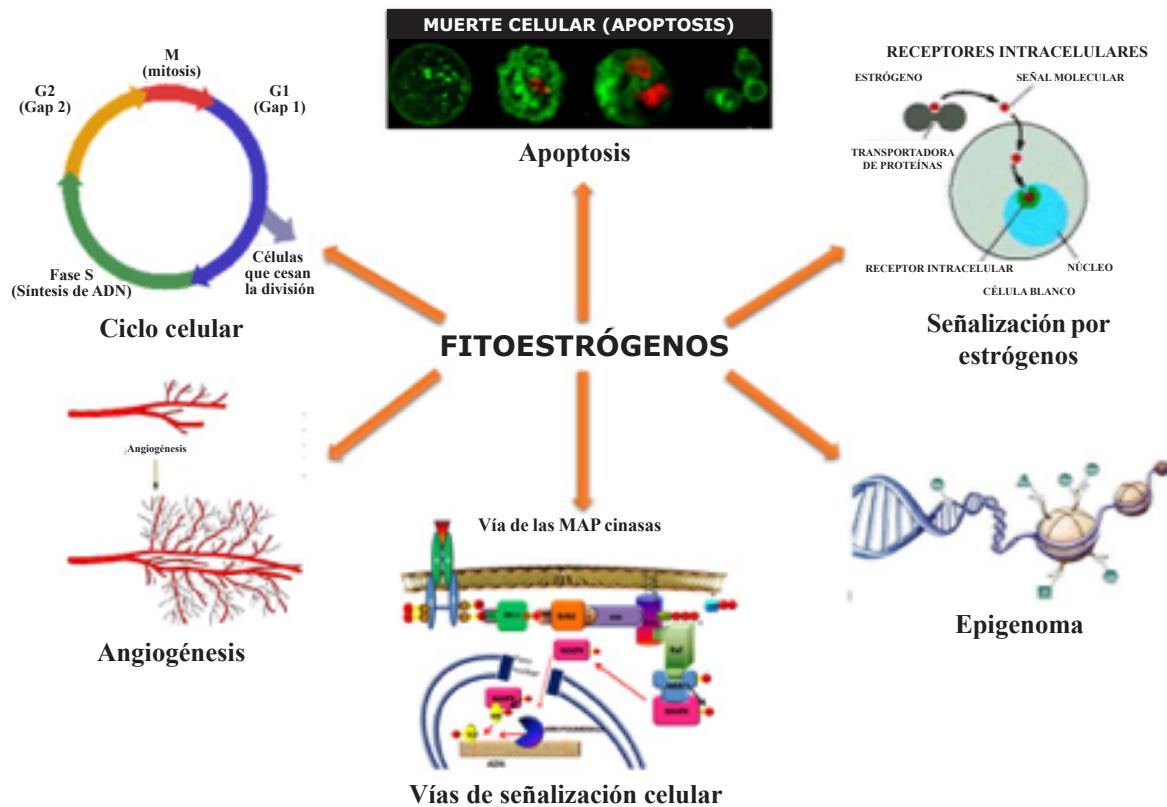


Figura 1. Algunos blancos celulares de los fitoestrógenos. Los fitoestrógenos ejercen una gran cantidad de acciones a nivel celular. Estos efectos incluyen actividades estrogénicas o antiestrogénicas, modulación de vías de señalización, regulación del ciclo celular, inhibición enzimática, propiedades antioxidantes, angiogénesis y alteraciones epigenéticas.

siglas en inglés) y el proceso opuesto por histonas desacetilasas (HDAC, por sus siglas en inglés) (86).

Se ha visto que en células de cáncer de mama negativas para ER- α , dosis de 20-40 $\mu\text{mol/L}$ de genisteína estimulan la expresión de los supresores tumorales p21 y p16, lo cual fue asociado con una disminución en la actividad de HDAC (87). Además, se observó que la genisteína puede reactivar la expresión del ER- α en células deficientes de éste a través del enriquecimiento de las marcas de acetilación en el promotor proximal del ER- α (88).

Adicionalmente, en células de cáncer de mama MCF-7 y MDA-MB-231 se ha visto que la genisteína, la curcumina y el RSV disminuyen la expresión de DNMT1, HDAC1 y la proteína de unión a CpG metilada 2 (MeCP2), proteínas que están involucradas con el establecimiento de heterocromatina y por lo tanto represión transcripcional, y además este efecto estuvo asociado con la reactivación transcripcional de p21 (89). Mediante análisis *in silico* se observó que el RSV tenía potencial de unirse al sitio activo de diversas HDAC de las clases I y II, y experimentalmente se determinó que disminuye la actividad de todas las HDAC conocidas en un

modelo de hepatoblastoma, además de disminuir la proliferación de estas células en una manera dosis-dependiente (90).

Otro blanco del RSV es el gen del factor nuclear derivado de células eritroides 2 (*Nrf2*), que se encuentra silenciado en cáncer de mama y que codifica para un factor de transcripción que funciona como regulador de la respuesta antioxidante. Se observó que el RSV puede reactivar la expresión de *Nrf2*, así como de sus genes blanco en modelos *in vitro* e *in vivo* a través de la disminución de la metilación en la región proximal de su promotor, además de disminuir la expresión del microRNA miR-93, el cual puede unirse a la región no traducida 3'-UTR del mensajero de *Nrf2*, inhibiendo su traducción (91).

CONCLUSIONES

Los fitoestrógenos tienen múltiples blancos celulares (Fig. 1) y cada vez existe más evidencia emergente de que tienen la capacidad de modular procesos celulares que convergen en un efecto contra las células cancerosas. Los datos epidemiológicos pueden no ser tan claros, pero se observa un patrón constante

de menor incidencia de cáncer de mama (y otros tipos de cáncer) en poblaciones con alto consumo de fitoestrógenos. Es importante continuar realizando más investigaciones, para conocer a fondo sus mecanismos moleculares con la finalidad de poder desarrollar nuevas terapias ya sea solas, o en conjunto contra diversas condiciones, principalmente el cáncer; así como para entender el papel de la dieta en el establecimiento del proceso carcinogénico.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el proyecto DGAPA-UNAM-PAPIIT IN217216 para A.Z.-H., y por la beca doctoral de CONACYT No. 434893 para E. I.-T.



REFERENCIAS

1. Duffy C, Perez K, Partridge A (2007) Implications of phytoestrogen intake for breast cancer. *CA Cancer J Clin* 57: 260-277.
2. Khan SI, Aumsuwan P, Khan IA, Walker LA, Dasmahapatra AK (2012) Epigenetic events associated with breast cancer and their prevention by dietary components targeting the epigenome. *Chem Res Toxicol* 25: 61-73.
3. Messina M, McCaskill-Stevens W, Lampe JW (2006) Addressing the soy and breast cancer relationship: review, commentary, and workshop proceedings. *J Natl Cancer Inst* 98: 1275-1284.
4. Ziegler RG (2004) Phytoestrogens and breast cancer. *Am J Clin Nutr* 79: 183-184.
5. Keinan-Boker L, van Der Schouw YT, Grobbee DE, Peeters PH (2004) Dietary phytoestrogens and breast cancer risk. *Am J Clin Nutr* 79: 282-288.
6. Shimazu T, Inoue M, Sasazuki S, Iwasaki M, Sawada N, Yamaji T, Tsugane S, Group JS (2011) Plasma isoflavones and the risk of lung cancer in women: a nested case-control study in Japan. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 20: 419-427.
7. Yang WS, Va P, Wong MY, Zhang HL, Xiang YB (2011) Soy intake is associated with lower lung cancer risk: results from a meta-analysis of epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr* 94: 1575-1583.
8. Ko KP, Park SK, Park B, Yang JJ, Cho LY, Kang C, Kim CS, Gwack J, Shin A, Kim Y, Kim J, Yang HK, Kang D, Chang SH, Shin HR, Yoo KY (2010) Isoflavones from phytoestrogens and gastric cancer risk: a nested case-control study within the Korean Multicenter Cancer Cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 19: 1292-1300.
9. He J, Wang S, Zhou M, Yu W, Zhang Y, He X (2015) Phytoestrogens and risk of prostate cancer: a meta-analysis of observational studies. *World J Surg Oncol* 13: 231.
10. Zhang Q, Feng H, Qluwakemi B, Wang J, Yao S, Cheng G, Xu H, Qiu H, Zhu L, Yuan M (2017) Phytoestrogens and risk of prostate cancer: an updated meta-analysis of epidemiologic studies. *Int J Food Sci Nutr* 68: 28-42.
11. Maffini MV, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM (2006) Endocrine disruptors and reproductive health: the case of bisphenol-A. *Mol Cell Endocrinol* 254-255: 179-186.
12. Haselkorn T, Stewart SL, Horn-Ross PL (2003) Why are thyroid cancer rates so high in southeast asian women living in the United States? The bay area thyroid cancer study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 12: 144-150.
13. Persson I (2000) Estrogens in the causation of breast, endometrial and ovarian cancers - evidence and hypotheses from epidemiological findings. *J Steroid Biochem Mol Biol* 74: 357-364.
14. Eden JA (2012) Phytoestrogens for menopausal symptoms: a review. *Maturitas* 72: 157-159.
15. Qu XL, Fang Y, Zhang M, Zhang YZ (2014) Phytoestrogen intake and risk of ovarian cancer: a meta- analysis of 10 observational studies. *Asian Pac J Cancer Prev* 15: 9085-9091.
16. Bilal I, Chowdhury A, Davidson J, Whitehead S (2014) Phytoestrogens and prevention of breast cancer: The contentious debate. *World J Clin Oncol* 5: 705-712.
17. Webb AL, McCullough ML (2005) Dietary lignans: potential role in cancer prevention. *Nutr Cancer* 51: 117-131.
18. Cornwell T, Cohick W, Raskin I (2004) Dietary phytoestrogens and health. *Phytochemistry* 65: 995-1016.
19. Messina MJ, Loprinzi CL (2001) Soy for breast cancer survivors: a critical review of the literature. *J Nutr* 131: 3095S-3108S.

20. Liggins J, Bluck LJ, Runswick S, Atkinson C, Coward WA, Bingham SA (2000) Daidzein and genistein contents of vegetables. *Br J Nutr* 84: 717-725.
21. Knight DC, Eden JA (1996) A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obstet Gynecol* 87: 897-904.
22. Mortensen A, Kulling SE, Schwartz H, Rowland I, Ruefer CE, Rimbach G, Cassidy A, Magee P, Millar J, Hall WL, Kramer Birkved F, Sorensen IK, Sontag G (2009) Analytical and compositional aspects of isoflavones in food and their biological effects. *Mol Nutr Food Res* 53 Suppl 2: S266-309.
23. Patisaul HB, Jefferson W (2010) The pros and cons of phytoestrogens. *Front Neuroendocrinol* 31: 400-419.
24. Vitale DC, Piazza C, Melilli B, Drago F, Salomone S (2013) Isoflavones: estrogenic activity, biological effect and bioavailability. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 38: 15-25.
25. Atkinson C, Frankenfeld CL, Lampe JW (2005) Gut bacterial metabolism of the soy isoflavone daidzein: exploring the relevance to human health. *Exp Biol Med (Maywood)* 230: 155-170.
26. Karr SC, Lampe JW, Hutchins AM, Slavin JL (1997) Urinary isoflavonoid excretion in humans is dose dependent at low to moderate levels of soy-protein consumption. *Am J Clin Nutr* 66: 46-51.
27. Verkasalo PK, Appleby PN, Allen NE, Davey G, Adlercreutz H, Key TJ (2001) Soya intake and plasma concentrations of daidzein and genistein: validity of dietary assessment among eighty British women (Oxford arm of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition). *Br J Nutr* 86: 415-421.
28. Leclercq G, Jacquot Y (2014) Interactions of isoflavones and other plant derived estrogens with estrogen receptors for prevention and treatment of breast cancer-considerations concerning related efficacy and safety. *J Steroid Biochem Mol Biol* 139: 237-244.
29. Jenkins S, Betancourt AM, Wang J, Lamartiniere CA (2012) Endocrine-active chemicals in mammary cancer causation and prevention. *J Steroid Biochem Mol Biol* 129: 191-200.
30. Rietjens IM, Sotoca AM, Vervoort J, Louisse J (2013) Mechanisms underlying the dualistic mode of action of major soy isoflavones in relation to cell proliferation and cancer risks. *Mol Nutr Food Res* 57: 100-113.
31. Murkies AL, Wilcox G, Davis SR (1998) Clinical review 92: Phytoestrogens. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 297-303.
32. Wang TT, Sathyamoorthy N, Phang JM (1996) Molecular effects of genistein on estrogen receptor mediated pathways. *Carcinogenesis* 17: 271-275.
33. Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Ha Ggblad J, Nilsson S, Gustafsson JK (1997) Comparison of the Ligand Binding Specificity and Transcript Tissue Distribution of Estrogen Receptors alpha and beta. *Endocrinology* 138: 863-870.
34. Freyberger A, Schmuck G (2005) Screening for estrogenicity and anti-estrogenicity: a critical evaluation of an MVLN cell-based transactivation assay. *Toxicol Lett* 155: 1-13.
35. Totta P, Acconcia F, Virgili F, Cassidy A, Weinberg PD, Rimbach G, Marino M (2005) Daidzein-sulfate metabolites affect transcriptional and antiproliferative activities of estrogen receptor-beta in cultured human cancer cells. *J Nutr* 135: 2687-2693.
36. Magee PJ, Rowland IR (2004) Phyto-oestrogens, their mechanism of action: current evidence for a role in breast and prostate cancer. *Br J Nutr* 91: 513-531.
37. de Lemos ML (2001) Effects of soy phytoestrogens genistein and daidzein on breast cancer growth. *Ann Pharmacother* 35: 1118-1121.
38. An J, Tzagarakis-Foster C, Scharschmidt TC, Lomri N, Leitman DC (2001) Estrogen receptor beta-selective transcriptional activity and recruitment of coregulators by phytoestrogens. *J Biol Chem* 276: 17808-17814.
39. Brzezinski A, Debi A (1999) Phytoestrogens: the "natural" selective estrogen receptor modulators? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 85: 47-51.
40. Strom A, Hartman J, Foster JS, Kietz S, Wimalasena J, Gustafsson JA (2004) Estrogen receptor beta inhibits 17beta-estradiol-stimulated proliferation of the breast cancer cell line T47D. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 1566-1571.
41. Rice S, Mason HD, Whitehead SA (2006) Phytoestrogens and their low dose combinations inhibit mRNA expression and activity of aromatase in human granulosa-luteal cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 101: 216-225.
42. Rice S, Whitehead SA (2006) Phytoestrogens and breast cancer--promoters or protectors? *Endocr Relat Cancer* 13: 995-1015.
43. Islam MA, Bekele R, Vanden Berg JH, Kuswanti Y, Thapa O, Soltani S, van Leeuwen FX, Rietjens IM, Murk AJ (2015) Deconjugation of soy isoflavone glucuronides needed for estrogenic activity. *Toxicol In Vitro* 29: 706-715.

44. Hsieh CY, Santell RC, Haslam SZ, Helferich WG (1998) Estrogenic effects of genistein on the growth of estrogen receptor-positive human breast cancer (MCF-7) cells in vitro and in vivo. *Cancer Res* 58: 3833-3838.
45. Lecomte S, Demay F, Ferriere F, Pakdel F (2017) Phytochemicals Targeting Estrogen Receptors: Beneficial Rather Than Adverse Effects? *Int J Mol Sci* 18
46. Rietjens I, Louisse J, Beekmann K (2017) The potential health effects of dietary phytoestrogens. *Br J Pharmacol* 174: 1263-1280.
47. Martin KR (2007) Using nutrigenomics to evaluate apoptosis as a preemptive target in cancer prevention. *Curr Cancer Drug Targets* 7: 438-446.
48. Mathers JC, Coxhead JM, Tyson J (2007) Nutrition and DNA repair--potential molecular mechanisms of action. *Curr Cancer Drug Targets* 7: 425-431.
49. Baldwin AS, Jr. (1996) The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol* 14: 649-683.
50. Pahl HL (1999) Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. *Oncogene* 18: 6853-6866.
51. Cal C, Garban H, Jazirehi A, Yeh C, Mizutani Y, Bonavida B (2003) Resveratrol and cancer: chemoprevention, apoptosis, and chemoimmunosensitizing activities. *Curr Med Chem Anticancer Agents* 3: 77-93.
52. Estrov Z, Shishodia S, Faderl S, Harris D, Van Q, Kantarjian HM, Talpaz M, Aggarwal BB (2003) Resveratrol blocks interleukin-1beta-induced activation of the nuclear transcription factor NF-kappaB, inhibits proliferation, causes S-phase arrest, and induces apoptosis of acute myeloid leukemia cells. *Blood* 102: 987-995.
53. Ii M, Yamamoto H, Adachi Y, Maruyama Y, Shinomura Y (2006) Role of matrix metalloproteinase-7 (matrilysin) in human cancer invasion, apoptosis, growth, and angiogenesis. *Exp Biol Med (Maywood)* 231: 20-27.
54. Stakleff KS, Sloan T, Blanco D, Marcanthony S, Booth TD, Bishayee A (2012) Resveratrol exerts differential effects in vitro and in vivo against ovarian cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 13: 1333-1340.
55. Heldring N, Pike A, Andersson S, Matthews J, Cheng G, Hartman J, Tujague M, Strom A, Treuter E, Warner M, Gustafsson JA (2007) Estrogen receptors: how do they signal and what are their targets. *Physiol Rev* 87: 905-931.
56. Barnes S (2010) The biochemistry, chemistry and physiology of the isoflavones in soybeans and their food products. *Lymphat Res Biol* 8: 89-98.
57. Shimizu M, Weinstein IB (2005) Modulation of signal transduction by tea catechins and related phytochemicals. *Mutat Res* 591: 147-160.
58. Anastasiou N, Boston S, Lacey M, Storing N, Whitehead SA (2009) Evidence that low-dose, long-term genistein treatment inhibits oestradiol-stimulated growth in MCF-7 cells by down-regulation of the PI3-kinase/Akt signalling pathway. *J Steroid Biochem Mol Biol* 116: 50-55.
59. Cotrim CZ, Fabris V, Doria ML, Lindberg K, Gustafsson JA, Amado F, Lanari C, Helguero LA (2013) Estrogen receptor beta growth-inhibitory effects are repressed through activation of MAPK and PI3K signalling in mammary epithelial and breast cancer cells. *Oncogene* 32: 2390-2402.
60. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144: 646-674.
61. Tobin NP, Bergh J (2012) Analysis of Cyclin D1 in Breast Cancer: A Call to Arms. *Curr Breast Cancer Rep* 4: 171-173.
62. Hsieh TC, Wu JM (2008) Suppression of cell proliferation and gene expression by combinatorial synergy of EGCG, resveratrol and gamma-tocotrienol in estrogen receptor-positive MCF-7 breast cancer cells. *Int J Oncol* 33: 851-859.
63. Rahal OM, Simmen RC (2010) PTEN and p53 cross-regulation induced by soy isoflavone genistein promotes mammary epithelial cell cycle arrest and lobuloalveolar differentiation. *Carcinogenesis* 31: 1491-1500.
64. Chu IM, Hengst L, Slingerland JM (2008) The Cdk inhibitor p27 in human cancer: prognostic potential and relevance to anticancer therapy. *Nat Rev Cancer* 8: 253-267.
65. May P, May E (1999) Twenty years of p53 research: structural and functional aspects of the p53 protein. *Oncogene* 18: 7621-7636.
66. Sakamoto T, Horiguchi H, Oguma E, Kayama F (2010) Effects of diverse dietary phytoestrogens on cell growth, cell cycle and apoptosis in estrogen-receptor-positive breast cancer cells. *J Nutr Biochem* 21: 856-864.
67. Seo HS, Ju JH, Jang K, Shin I (2011) Induction of apoptotic cell death by phytoestrogens by up-regulating the levels of phospho-p53 and p21 in normal and malignant estrogen receptor alpha-negative breast cells. *Nutr Res* 31: 139-146.

68. Choi EJ, Kim GH (2008) Daidzein causes cell cycle arrest at the G1 and G2/M phases in human breast cancer MCF-7 and MDA-MB-453 cells. *Phytomedicine* 15: 683-690.
69. Eto I (2006) "Nutritional and chemopreventive anti-cancer agents up-regulate expression of p27Kip1, a cyclin-dependent kinase inhibitor, in mouse JB6 epidermal and human MCF7, MDA-MB-321 and AU565 breast cancer cells". *Cancer Cell Int* 6: 20.
70. Privat M, Aubel C, Arnould S, Communal Y, Ferrara M, Bignon YJ (2010) AKT and p21 WAF1/CIP1 as potential genistein targets in BRCA1-mutant human breast cancer cell lines. *Anticancer Res* 30: 2049-2054.
71. Lavigne JA, Takahashi Y, Chandramouli GV, Liu H, Perkins SN, Hursting SD, Wang TT (2008) Concentration-dependent effects of genistein on global gene expression in MCF-7 breast cancer cells: an oligo microarray study. *Breast Cancer Res Treat* 110: 85-98.
72. Rodriguez M, Schaper J (2005) Apoptosis: measurement and technical issues. *J Mol Cell Cardiol* 38: 15-20.
73. McIlwain DR, Berger T, Mak TW (2013) Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 5: a008656.
74. Chen FP, Chien MH (2014) Phytoestrogens induce apoptosis through a mitochondria/caspase pathway in human breast cancer cells. *Climacteric* 17: 385-392.
75. Chen FP, Chien MH (2014) Phytoestrogens induce differential effects on both normal and malignant human breast cells in vitro. *Climacteric* 17: 682-691.
76. Seo HS, Choi HS, Choi HS, Choi YK, Um JY, Choi I, Shin YC, Ko SG (2011) Phytoestrogens induce apoptosis via extrinsic pathway, inhibiting nuclear factor-kappaB signaling in HER2-overexpressing breast cancer cells. *Anticancer Res* 31: 3301-3313.
77. Izquierdo-Torres E, Rodriguez G, Meneses-Morales I, Zarain-Herzberg A (2017) ATP2A3 gene as an important player for resveratrol anticancer activity in breast cancer cells. *Mol Carcinog* 56: 1703-1711.
78. Barron CC, Moore J, Tsakiridis T, Pickering G, Tsiani E (2014) Inhibition of human lung cancer cell proliferation and survival by wine. *Cancer Cell Int* 14: 6.
79. Sajish M, Schimmel P (2015) A human tRNA synthetase is a potent PARP1-activating effector target for resveratrol. *Nature* 519: 370-373.
80. Lin HY, Lansing L, Merillon JM, Davis FB, Tang HY, Shih A, Vitrac X, Krisa S, Keating T, Cao HJ, Bergh J, Quackenbush S, Davis PJ (2006) Integrin alphaVbeta3 contains a receptor site for resveratrol. *FASEB J* 20: 1742-1744.
81. Huang Y, Nayak S, Jankowitz R, Davidson NE, Oesterreich S (2011) Epigenetics in breast cancer: what's new? *Breast Cancer Res* 13: 225.
82. Jones PA, Baylin SB (2007) The epigenomics of cancer. *Cell* 128: 683-692.
83. Gronbaek K, Hother C, Jones PA (2007) Epigenetic changes in cancer. *APMIS* 115: 1039-1059.
84. Fuks F (2005) DNA methylation and histone modifications: teaming up to silence genes. *Curr Opin Genet Dev* 15: 490-495.
85. Rothbart SB, Strahl BD (2014) Interpreting the language of histone and DNA modifications. *Biochim Biophys Acta* 1839: 627-643.
86. Fucito A, Lucchetti C, Giordano A, Romano G (2008) Genetic and epigenetic alterations in breast cancer: what are the perspectives for clinical practice? *Int J Biochem Cell Biol* 40: 565-575.
87. Li Y, Chen H, Hardy TM, Tollefsbol TO (2013) Epigenetic regulation of multiple tumor-related genes leads to suppression of breast tumorigenesis by dietary genistein. *PLoS One* 8: e54369.
88. Li Y, Meeran SM, Patel SN, Chen H, Hardy TM, Tollefsbol TO (2013) Epigenetic reactivation of estrogen receptor-alpha (ERalpha) by genistein enhances hormonal therapy sensitivity in ERalpha-negative breast cancer. *Mol Cancer* 12: 9.
89. Mirza S, Sharma G, Parshad R, Gupta SD, Pandya P, Ralhan R (2013) Expression of DNA methyltransferases in breast cancer patients and to analyze the effect of natural compounds on DNA methyltransferases and associated proteins. *J Breast Cancer* 16: 23-31.
90. Venturelli S, Berger A, Bocker A, Busch C, Weiland T, Noor S, Leischner C, Schleicher S, Mayer M, Weiss TS, Bischoff SC, Lauer UM, Bitzer M (2013) Resveratrol as a pan-HDAC inhibitor alters the acetylation status of histone [corrected] proteins in human-derived hepatoblastoma cells. *PLoS One* 8: e73097.
91. Singh B, Shoulson R, Chatterjee A, Ronghe A, Bhat NK, Dim DC, Bhat HK (2014) Resveratrol inhibits estrogen-induced breast carcinogenesis through induction of NRF2-mediated protective pathways. *Carcinogenesis* 35: 1872-1880.