

Received: 15.03.2019
Accepted: 24.02.2020
Published: 25.05.2020

Znaczenie ekspozycji środowiskowej na wybrane ksenoestrogeny w patogenezie raka piersi

The importance of environmental exposure on selected xenoestrogens in the pathogenesis of breast cancer

Ewa Sawicka¹, Kamila Boszkiewicz^{1,2}, Martyna Wolniak³, Agnieszka Piwowar¹

¹Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

²Przedsiębiorstwo Produkcji Farmaceutycznej PPF Hasco-Lek S.A. Wrocław

³Studenckie Naukowe Koło Toksykologiczne, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Streszczenie

Rak piersi jest jednym z najczęstszych nowotworów stwierdzanych u kobiet, a w jego patogenezie, oprócz endogennych estrogenów, znaczącą rolę odgrywają również ksenoestrogeny obecne w środowisku życia człowieka. Jest to liczna grupa związków egzogennych o zróżnicowanej budowie, niewytwarzanych w organizmie ludzkim, które naśladując działanie żeńskich hormonów płciowych, szczególnie estrogenów, wpływają na równowagę hormonalną organizmu. Mimo zróżnicowanej struktury, ich wspólną cechą jest zdolność oddziaływania z receptorami estrogenowymi. Zmieniają w ten sposób funkcjonowanie układu endokrynnego i mogą indukować negatywne zmiany w organizmie ludzkim, zarówno pokolenia rodzicielskiego, jak i jego potomstwa. Niektóre ksenoestrogeny mogą powodować wzrost guza przez stymulację proliferacji komórek, angiogenezy i przerzutowania. Dotychczas właściwości takie stwierdzono dla związków organicznych, ale również dla niektórych jonów metali, określanych jako metaloestrogeny. Z tego powodu niezwykle ważna jest wiedza dotycząca źródeł obecności oraz mechanizmów działania ksenoestrogenów w patogenezie raka gruczołu sutkowego. W artykule omówiono rolę wybranych ksenoestrogenów, takich jak: bisfenol A, ftalany, parabeny czy kadm jako metaloestrogen. Z dużej grupy ksenoestrogenów wyselekcjonowano podane wyżej związki ze względu na ich znaczenie w patogenezie raka piersi oraz ich powszechną obecność w środowisku człowieka, a także aby zwrócić uwagę na wciąż aktualny problem możliwej przewlekłej ekspozycji środowiskowej czy zawodowej człowieka. W pracy omówiono również problem wpływu ksenoestrogenów na skuteczność leczenia raka piersi, przedstawiając możliwe interakcje ksenoestrogen-lek. Wyjaśniono ponadto, w jaki sposób ksenoestrogeny obecne w żywności (fitoestrogeny) mogą wpływać na skuteczność farmakoterapii raka piersi.

Słowa kluczowe: rak piersi • ksenoestrogeny • metaloestrogeny • interakcje

Summary

Breast cancer is one of the most common types of cancer observed in women, and in its pathogenesis, in addition to endogenous estrogens, a significant role is played by xenoestrogens, which are present in the human life environment. It is a large group of exogenous compounds of diverse structure, not produced in the human body, which imitate the action of female sex

hormones, especially estrogens, and in consequence affect the hormonal balance of the body. Despite the diverse structure, their common feature is the ability to interact with estrogen receptors. In this way they change the functioning of the endocrine system and, consequently, they can induce negative changes in the human body and effects on the health of both the parental generation and its offspring. Some xenoestrogens may cause tumor growth by stimulating cell proliferation, angiogenesis and metastasis. So far, such properties have been found for organic compounds, but also for some metal ions, referred to as metalloestrogens. For this reason, it is extremely important to know the sources of the presence and mechanisms of xenoestrogens in the pathogenesis of mammary gland cancer. The presented paper discusses the role of selected xenoestrogens, such as: bisphenol A, phthalates, parabens or cadmium, as a metalloestrogen. A wide range of xenoestrogens has been selected for the compounds given above, due to their importance in the pathogenesis of breast cancer and their widespread presence in the human environment, as well as to draw attention to the still-present problem of possible chronic environmental or occupational exposure of humans. The paper also explores the problem of the effect of xenoestrogens on the efficacy of breast cancer treatment, presenting possible xenoestrogen-drug interactions. It also explains how xenoestrogens present in foods (phytoestrogens) can affect the effectiveness of pharmacotherapy of breast cancer.

Keywords: breast cancer • xenoestrogens • metalloestrogens • interaction

GICID: 01.3001.0014.1542
DOI: 10.5604/01.3001.0014.1542
Word count: 10067
Tables: 1
Figures: 3
References: 80

Adres autorki: dr Ewa Sawicka, Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław; e-mail: ewa.sawicka@umed.wroc.pl

WSTĘP

Nowotwory złośliwe wciąż są poważnym problemem zdrowotnym, społecznym i ekonomicznym na całym świecie. W populacji ogólnej najczęstszym diagnozowanym nowotworem złośliwym i główną przyczyną zgonów jest rak płuca (18,4%), natomiast rak piersi, czyli nowotwór złośliwy wywodzący się z nabłonka sutkowego, jest najczęstszym diagnozowanym nowotworem złośliwym u kobiet i główną przyczyną zgonów w tej grupie (11,6%). Zarówno w Polsce, jak i na całym świecie obserwuje się stały postęp we wczesnym wykrywaniu oraz leczeniu chorych z rakiem piersi, odnotowuje się również rosnącą liczbę zachorowań i umieralność z tego powodu. Według danych światowych pochodzących z raportu GLOBOCAN 2018, w 2018 r. na świecie odnotowano 2 088 849 nowych przypadków zachorowań na raka piersi, natomiast liczba zgonów z powodu tej postaci raka wynosiła 626 679 [5]. Również w Polsce jest on najczęściej występującym nowotworem złośliwym u kobiet oraz drugą przyczyną zgonów, po raku płuca, z powodów onkologicznych w naszym kraju. Najnowsze dane pochodzące z Krajowego Rejestru Nowotworów wykazują, iż w 2016 r. liczba zarejestrowanych nowych zachorowań na raka piersi wynosiła 18615 i stanowiła 22,8% wszystkich zdiagnozowanych nowotworów w tej

grupie, a w stosunku do 1990 r. odsetek ten wzrósł aż o 14%. Natomiast odsetek zgonów z tego powodu wynosił w 2016 r. 14,5% i był drugą po raku płuca (17,1%) przyczyną zgonów u kobiet [18, 76]. Statystyki medyczne wskazują ponadto na istotnie wyższą zachorowalność wśród kobiet zamieszkujących kraje uprzemysłowione oraz wśród tych z wyższym statusem społeczno-ekonomicznym. Współczynnik zachorowalności jest także wyższy u kobiet, które nigdy nie były zamężne oraz nieposiadających dzieci. Występują również różnice w zachorowalności w zależności od miejsca zamieszkania – u kobiet mieszkających na wsi około 1,5 razy rzadziej diagnozuje się raka sutka niż u mieszkających w miastach, co może być jednak związane z dostępnością do badań przesiewowych i mniejszą świadomością prozdrowotną mieszkanek wsi [63].

Etiopatogeneza raka piersi jest złożona i wieloczynnikowa. Zależy od uwarunkowań genetycznych, środowiskowych i hormonalnych. Uważa się, iż transformacja nowotworowa występuje po bezpośrednim wpływie czynników rakotwórczych, natomiast hormony modulują jedynie procesy wzrostu i różnicowania komórek nowotworowych [65]. Coraz więcej dowodów z badań epidemiologicznych, a także coraz lepsze zrozumienie mechanizmów łączących substancje toksyczne

z rozwojem raka piersi, wskazują, że narażenie na niektóre ksenobiotyki środowiskowe, z których wiele występuje powszechnie, w produktach użytku codziennego, jak i produktach ich degradacji, może zwiększać ryzyko rozwoju raka piersi. Wiąże się to również z gwałtownym wzrostem wykorzystania chemikaliów do produkcji pestycydów, np. herbicydów, tworzyw sztucznych czy kosmetyków, a także innych często stosowanych materiałów. Wskazuje się, iż narażenie na powszechnie występujące w środowisku związki chemiczne oraz promieniowanie, zarówno w działaniu pojedynczym, jak i łącznym czy w interakcjach, przyczyniają się do coraz częstszego występowania raka piersi [27, 28].

Dane z badań wskazują, że zmieniona ekspresja i funkcja receptorów estrogenowych (ERs) jest podstawowa dla procesu inicjacji i progresji nowotworów hormonozależnych, jakim jest rak piersi [13]. Znaczącą, niekorzystną rolę w większej zachorowalności na nowotwory hormonozależne przypisuje się również substancjom zaburzającym gospodarkę hormonalną poprzez modulowanie funkcji ERs, nazywanym ksenoestrogenami [53]. Mogą one oddziaływać na ERs, naśladując lub antagonizując działanie endogennych estrogenów, jak również zaburzać ich ekspresję. Określane są również mianem związków endokrynnie czynnych lub tzw. „endokrynnych zaburzaczy” (endocrine disrupting chemicals; EDC). Istnieją trzy możliwe mechanizmy działania ksenoestrogenów, które polegają na:

- naśladowaniu endogennie występujących estrogenów,
- antagonistycznym mechanizmie w porównaniu z endogennymi estrogenami,
- zaburzaniu biosyntezy estrogeny i jego metabolizmu.

Inne proponowane mechanizmy mogą:

- generować prawidłową odpowiedź hormonalną,
- blokować miejsce receptora i zapobiegać wiązaniu naturalnych hormonów,
- wiązać się z innymi receptorami w celu wytworzenia nowych reakcji lub
- ostatecznie zmienić odpowiedź hormonalną organizmu [25].

Ponadto zasugerowano, że EDC mogą działać poprzez złożoną selektywną modulację tkankową receptorów estrogenowych ER i innych ścieżek sygnałowych *in vivo* [1, 14, 21, 26, 42].

Związki te obejmują różnorodnie pod względem chemicznym substancje naturalne, syntetyczne czy metale (tzw. metaloestrogeny) [1, 36]. Wiele powszechnie stosowanych chemikaliów środowiskowych to substancje rakotwórcze dla gruczołów sutkowych. Aktywują odpowiednie szlaki hormonalne lub zwiększają podatność komórek gruczołów sutkowych na kancerogenezę, co dowiedziono w badaniach na zwierzętach. Ze względu na odległe skutki ich działania, pojawiające się po wielu latach narażenia, ocena kancerogennego wpływu tych

związków u ludzi wciąż nie jest jednoznacznie wyjaśniona [48, 54]. Stąd też zrozumienie roli czynników środowiskowych w patogenezie raka gruczołu sutkowego oraz poznanie mechanizmów ich działania wydaje się podstawowe; umożliwi wprowadzenie działań prewencyjnych i profilaktycznych.

Do tej pory zidentyfikowano wiele związków określanym jako ksenoestrogeny, należących do różnych grup. Mogą to być naturalne środki farmaceutyczne (np. niektóre izoflawony, lignany, kumestany), środki syntetyczne, m.in. pestycydy (w tym wymienione: dichlorodifenylotrichloroetan; DDT), detergenty (np. 4-nonylfenol (NP), 4-oktylfenol (OP), bisfenol A (BPA)), ftalany (np. ftalan benzobutylowy (BBP), di-n-butylowy (DBP), di-2-etyloheksylowy (DEHP) itp.), parabeny (np. metyloparaben, etyloparaben, propyloparaben itp.), czy jony metali (np. kadmu, niklu, chromu itp.) [1, 24, 27, 36, 52]. W artykule omówiono literaturę dotyczącą wpływu wybranych przedstawicieli ksenoestrogenów, należących do różnych grup chemicznych, takich jak: bisfenole, parabeny, ftalany i metaloestrogeny, powszechnie występujących w środowisku życia człowieka, co do których istnieje najwięcej dowodów o ich udziale w patogenezie raka piersi. Ponadto zwrócono uwagę na znaczenie interakcji między ekspozycją na ksenoestrogeny, a skutecznością farmakoterapii raka piersi.

ETIOLOGIA RAKA GRUCZOŁU SUTKOWEGO

Jak wspomniano wcześniej, etiologia raka piersi jest złożona i wieloczynnikowa. Wśród najczęstszych czynników ryzyka zachorowania wymienia się przede wszystkim: wiek kobiet, otyłość, predyspozycje genetyczne, wcześniejsze przebyte choroby nowotworowe lub nienowotworowe piersi, działanie estrogenów endogennych, a ponadto czynników egzogennych, np. ksenoestrogenów znajdujących się w środowisku i w pożywieniu [21, 33, 63]. Zaobserwowano, iż liczba zachorowań na raka piersi zwiększa się po 35. roku życia, a najwięcej zachorowań odnotowuje się w okresie pomenopauzalnym, między 50. a 70. rokiem życia. U kobiet otyłych nadmiar tkanki tłuszczowej przez wydzielanie swoistych adipokiny zaburza równowagę hormonalną, sprzyjając w ten sposób rozwojowi raka piersi. Czynniki genetyczne, w tym zwłaszcza występujące zachorowania na raka piersi u krewnych pierwszego stopnia (np. u siostry, matki) oraz potwierdzony zespół zwiększonego ryzyka zachorowania na raka piersi (występowanie mutacji genów tzw. BRCA1/2, zwiększa ryzyko wystąpienia raka piersi w ciągu całego życia o 50–90%). Również wcześniejsze rozpoznanie innych, niezłośliwych chorób piersi (np. tzw. atypowych rozrostów w obrębie gruczołu sutkowego), a także rozpoznanie w przeszłości raka drugiej piersi zwiększa to ryzyko. Wpływ hormonów, zarówno związanych z naturalnym cyklem hormonalnym, menstruacyjnym (ryzyko zwiększa wczesna pierwsza miesiączka lub menopauza występująca po 55. roku życia, a także brak ciąży lub późna pierwsza ciąża), jak i estrogeny egzogenne (w postaci doustnych środków antykoncepcyjnych czy hormonalnej terapii zastępczej) zwiększa ryzyko wystąpienia raka piersi [41, 45, 63].

ROLA ESTROGENÓW I RECEPTORÓW ESTROGENOWYCH W PATOGENEZIE RAKA SUTKA

Estrogeny odgrywają główną rolę w utrzymaniu homeostazy hormonalnej organizmu. Są ważnymi hormonami odpowiedzialnymi za prawidłowy rozwój tkanek i regulują wiele funkcji fizjologicznych, w tym rozwój narządów i cech płciowych wtórnych, cykl menstruacyjny i reprodukcję u kobiet [8]. Główne estrogeny krążące w organizmie człowieka to estradiol (17 β -estradiol; E2) i estron (E1), a także estriol (E3). Wśród nich estradiol jest najbardziej biologicznie aktywnym estrogenem, wydzielanym głównie przez komórki żółte jajnika. U kobiet przed menopauzą E2 jest najważniejszym estrogenem, podczas gdy u kobiet po menopauzie przeważa E1, syntetyzowany w tkankach obwodowych [58]. Estradiol i estron są metabolizowane w trzech szlakach, obejmujących nieodwracalne hydroksylacje katalizowane przez enzymy cytochromu P450, w tym CYP1A1, CYP1B1 i CYP1A2. Estradiol i estron są hydroksylowane w pozycjach C-2, C-4 i C-16 i przekształcane w estrogeny katecholowe (2-hydroksyestradiol, 4-hydroksyestradiol, 2-hydroksyestron i 4-hydroksyestron) i 16 α -hydroksyestron. Katecholowe estrogeny są następnie metabolizowane (metylowane) do metoksyestrogenów [58]. Mimo działania regulatorowego, możliwy jest również udział estrogenów endogennych w patogenezie raka sutka. Jako najistotniejsze działanie prokancerogenne wskazywane jest: długotrwałe oddziaływanie podwyższonego stężenia estrogenów na tkankę gruczołu sutkowego oraz biotransformacja estrogenów, która często determinuje właściwości metabolitów. Estrogeny mogą indukować wzrost komórek nowotworowych za pośrednictwem receptora estrogenowego oraz mogą działać genotoksycznie w wyniku zwiększania szybkości mutacji komórek [8, 57]. Badania epidemiologiczne wskazują na 2–3-krotny wzrost ryzyka raka piersi u kobiet po menopauzie z podwyższonym stężeniem estradiolu we krwi [58]. Wyniki badań wpływu metabolitów estrogenów na patogenezę tej choroby są jednak niejednoznaczne. Wskazuje się, iż wśród estrogenów katecholowych, 16 α -hydroksyestron i 4-hydroksylowe pochodne reagują z receptorem estrogenowym i mają potencjał genotoksyczny, podczas gdy metabolity 2-hydroksylowe mają niewielką aktywność estrogenową, słabo reagując z receptorem estrogenowym, a dla 2-metoksyestradiolu wskazywane jest działanie antykancerogenne [22, 58].

Estrogeny wpływają biologicznie przez oddziaływanie z receptorami estrogenowymi. Główny estrogen – 17 β -estradiol działa poprzez receptor estrogenowy (ER) i przez receptor GPER1 (G protein-coupled estrogen receptor 1; receptor oddziałujący z białkami G), regulując transkrypcję genu docelowego. Receptory ER α i ER β są powiązane z bezpośrednimi i pośrednimi genomowymi szlakami sygnałowymi, które prowadzą do ekspresji genu docelowego.

Oba receptory estrogenowe należą do grupy białek wewnątrzkomórkowych: receptor α składa się z 595 aminokwasów, natomiast receptor β z 485 aminokwasów.

Działają jako czynniki transkrypcyjne aktywowane przez ligand. Ich struktura jest podobna, wspólna dla wszystkich receptorów jądrowych, składa się z 6 domen oznaczonych literami od A do F. Każda domena spełnia określone funkcje, najważniejsze z nich to przyłączanie hormonu, za które odpowiada domena LBD (ligand binding domain), a także przyłączenie utworzonego kompleksu hormon-receptor do DNA z udziałem domeny DBD (DNA binding domain). Domena ta we wszystkich receptorach jądrowych ma strukturę tzw. palców cynkowych [6, 70]. Natomiast związany z błoną receptor GPER1 jest odpowiedzialny za szybkie niegenomowe działanie estrogenów, które aktywują kaskady białkowo-kinazowe, np. kinazy aktywowane mitogenami (mitogen-activated protein kinases; MAPK) czy kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (phosphatidylinositol 3-kinases; PI3K). Sygnalizacja estrogenowa jest również związana z mechanizmami epigenetycznymi. Wykazano, że potranslacyjne modyfikacje histonów, metylacja mikroRNA i DNA wpływają na ekspresję genów receptorów estrogenowych i są regulowane przez sygnalizację estrogenową. Wpływ estrogenów na wewnątrzkomórkowe procesy jest wypadkową mechanizmów genomowych i niegenomowych [67, 70, 80]. Wskazuje się na udział receptorów ER β jako czynników proapoptotycznych oraz receptorów ER α o prokancerogenym działaniu. Zatem receptory ER α i ER β mogą wywierać przeciwne działanie na proliferację komórek gruczołu sutkowego i narastanie guzów. W patogenezie tego raka główną rolę odgrywają ER α , znaczenie ER β w procesie kancerogenezy nie jest jeszcze dokładnie wyjaśnione [50, 67].

KSENOESTROGENY – ROLA W PATOGENEZIE RAKA SUTKA

Dane z piśmiennictwa potwierdzają, iż zmieniona ekspresja i funkcja receptorów estrogenowych jest podstawowa w procesie inicjacji i progresji nowotworów hormonozależnych, jakim jest rak piersi [13]. Częstsze występowanie tego typu nowotworów jest również związane z rosnącą obecnością w środowisku ksenoestrogenów, które definiowane są jako związki endokrynnie czynne działające podobnie do naturalnych (17 β -estradiol, estriol, estron) bądź syntetycznych (etynyloestradiol, stilbestrol) estrogenów [53]. Występują powszechnie w tworzywach sztucznych, środkach ochrony roślin, opakowaniach żywności, kosmetykach czy detergentach [27]. Związki te wiążą się z ERs oddziałując jako ich agoniści bądź antagoniści [1]. Agoniści ERs naśladują działanie endogennych estrogenów, natomiast antagoniści ERs blokują interakcję endogennych estrogenów z receptorami estrogenowymi [44]. Na ryc. 1 przedstawiono schematycznie wpływ estrogenów i substancji estrogenopodobnych, a także innych czynników na ryzyko zachorowania na raka piersi.

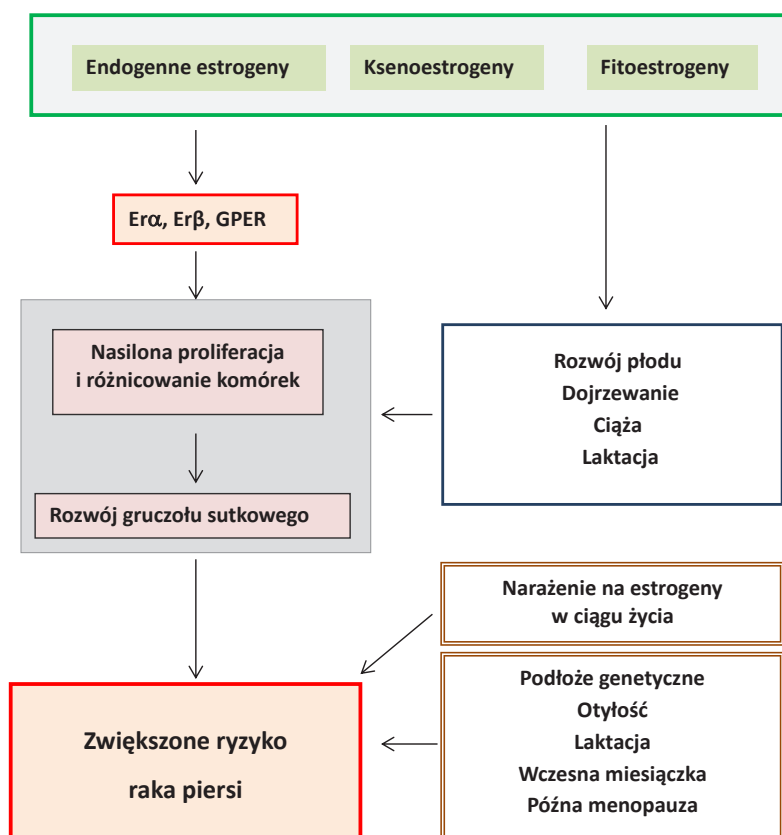
Zwraca się uwagę, iż narażenie na wiele ksenoestrogenów, powszechnie występujących w zanieczyszczonym środowisku, w większym stopniu zakłóca działania sygnalizacyjne fizjologicznych estrogenów niż narażenie na pojedyncze związki, stąd istotnego znaczenia nabiera problem ich działania łącznego [75]. Pastor-Barriuso i wsp. [51]

wykazali, iż łączna aktywność estrogenowa mieszanin chlorowcoorganicznych ksenoestrogenów indukowała ryzyko raka gruczołu sutkowego, chociaż żaden pojedynczy związek nie wykazywał istotnego, negatywnego wpływu. Badanie to udowadnia znaczenie interakcji i wpływu mieszanin tych „zaburzaczy endokrynnych” na rozwój raka piersi. Dane z piśmiennictwa sugerują, iż ksenoestrogeny zwiększają ryzyko raka piersi, zwłaszcza w przypadku ekspozycji prenatalnej i przedurodzeniowej. Gruczoł mleczny jest jednym z głównych celów estrogenów i cząsteczek estrogenopodobnych. 17 β -estradiol oraz inne hormony steroidowe są odpowiedzialne za prawidłowy wzrost, rozwój i dojrzewanie gruczołu sutkowego. Badania przeprowadzone na gruczołach sutkowych gryzoni wskazują, że wpływ estrogenopodobnych związków zależy od dawki, czasu ekspozycji i etapu rozwojowego w chwili narażenia. Ingerencja ksenoestrogenów, może zmienić prawidłowy proces dojrzewania, co upośledza funkcję gruczołu sutkowego lub ostatecznie wywołuje proces nowotworowy [1, 36].

BISFENOLE

Do grupy bisfenoli należy bisfenol A (BPA) oraz jego liczne analogi, m.in.: bisfenol S (BPS) i bisfenol F (BPF), a także bisfenol AF (BPAF). Bisfenol A wpływa szkodliwie

na organizm człowieka, działa endokrynnie, ma również wpływ na rozwój nowotworów, cukrzycy, otyłości, chorób serca, astmy czy alergii, dlatego jest sukcesywnie zastępowany w produkcji artykułów codziennego użytku przez analogii o niższej toksyczności [55]. Najpowszechniej występującym w środowisku jest BPA, który wykazuje właściwości imitujące działanie estrogenów i z tego też względu najwięcej danych dotyczy jego działania jako „zaburzacza endokrynnego”. BPA jest związkiem difenylowym, który zawiera dwie grupy hydroksylowe w pozycji para, co czyni go podobnym do syntetycznego estrogenu, dietylostilbestrolu – silnego agonisty receptora estrogenowego [24, 59]. Jest syntetycznym surowcem chemicznym używanym do produkcji tworzyw sztucznych i żywic epoksydowych. Do organizmu absorbowany jest z plastikowych pojemników na żywność i napoje, a także uwalniany z materiałów dentystycznych, powłok ochronnych czy papieru termicznego [24, 52]. Należy do związków, który posiada zdolność do kumulacji w tkankach. Obecność BPA wykryto w różnych stężeniach w osoczu matki i płodu, tkance łożyska, płynie owodniowym kobiet w ciąży, mleku matek karmiących, a także w próbkach moczu ludzkiego [15, 31]. Badania wykazały stężenie BPA w surowicy krwi płodu 0,03–2,6 ng/ml, co mogło wskazywać, że rozwijający



Ryc. 1. Wpływ estrogenów i substancji estrogenopodobnych na ryzyko zachorowania na raka piersi; Era – receptor estrogenowy α (estrogen receptor alpha), Er β – receptor estrogenowy β (estrogen receptor beta), GPER – receptor estrogenowy oddziałujący z białkami G (G protein-coupled estrogen receptor) [wg 1]

się płód ludzki i noworodek są narażone na działanie tej substancji chemicznej. Powszechne stosowanie BPA zwiększa ryzyko ekspozycji rozwijającego się płodu, przez wpływ na organizm matki, a następnie bezpośrednio na noworodka [19].

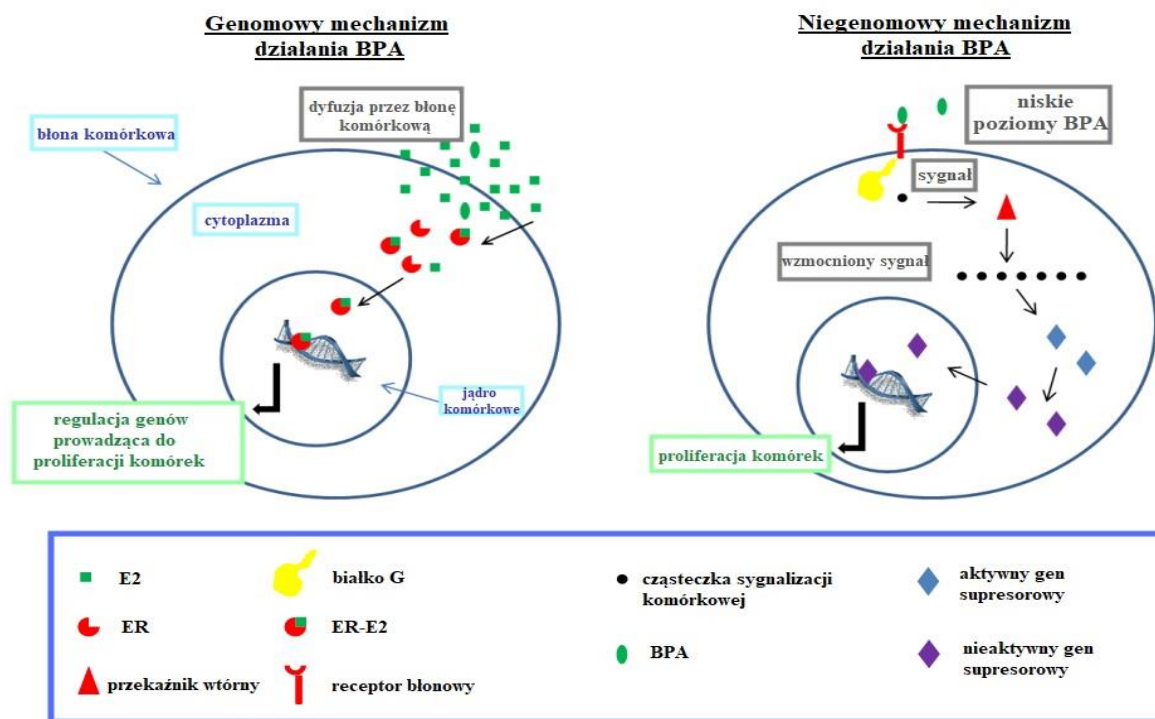
Większość badań oceniających mechanizm oddziaływania BPA na kancerogenezę gruczołu piersiowego jest prowadzona na modelach hodowli komórkowych lub na zwierzętach doświadczalnych. Natomiast badania u kobiet z rakiem piersi są nieliczne. Potencjalny wpływ BPA na raka piersi został oceniony w badaniach epidemiologicznych u 167 pacjentek chorujących. Podwyższone stężenie BPA w surowicy korelowało z większą gęstością gruczołów sutkowych w badaniach mammograficznych, jednak nie odnotowano istotnych statystycznie różnic w poziomach BPA w surowicy między chorymi, a grupą kontrolną (mediana dla przypadków 0,61 µg/L; mediana dla kontroli 0,03 µg/L) [73]. Estrogenopodobne działanie BPA odbywa się głównie poprzez wiązanie z klasycznymi estrogenowymi receptorami jądrowymi alfa i beta, a także przez sygnalizację niegenomową inicjowaną przez receptor GPER [59]. BPA wiąże obie podjednostki receptora estrogenu: ERα i ERβ, jednak ma 10-krotnie wyższe powinowactwo do ERβ niż ERα. Badania mechanizmów molekularnych wykazały, że BPA oddziałuje odmiennie niż E2 z domeną wiążącą ligand receptora ER i angażuje różne regulatory transkrypcji w komórkach docelowych. Ponieważ rekrutacja koregulatorów przez kompleks BPA-ER jest nieproporcjonalna do powinowactwa BPA do ER, to rodzaj i poziom ekspresji docelowych białek regulowanych przez ER są ważnymi determinantami specyficzności komórki i tkanki wrażliwej na bisfenol A. Związek ten może się także wiązać z receptorem ERRγ (estrogen-related receptor gamma), ale również z receptorem GPR30 (G protein-coupled receptor for estrogen), wywołując szybką odpowiedź komórkową poprzez sygnalizację niegenomową. Na ryc. 2 przedstawiono genomowy oraz niegenomowy mechanizm działania bisfenolu A.

Działanie estrogenne BPA, za pomocą wiązania z wyżej wymienionymi receptorami estrogenowymi, przyczynia się znacząco do rozwoju raka piersi. Zwrócono uwagę, na jego działanie rakotwórcze również w niskich dawkach, poniżej tzw. dawek referencyjnych (reference dose; RfD), które najczęściej występują w środowisku [61, 73]. Badania na szczurach i myszach wskazują na zwiększoną podatność na raka gruczołu sutkowego po ekspozycji na BPA w dawkach poniżej RfD, która dla BPA wynosi 0,016 mg/kg/dobę. Prenatalne narażenie na niskie dawki bisfenolu A, które zgodnie z definicją powinny być bezpieczne, zmienia morfogenezę gruczołów sutkowych, w tym proliferację i szlaki apoptotyczne oraz zwiększa ryzyko raka sutka w późniejszym okresie życia przy ekspozycji na dawki poniżej RfD. Ekspozycja gryzoni na BPA, we wczesnym etapie życia, zmienia wzory metylacji kilku genów ulegających ekspresji w gruczołach sutkowych gryzoni, co może być również czynnikiem indukującym raka piersi u ludzi [59]. Ksenoestrogen ten, reagując z receptorami estrogenowymi alfa i beta, może dopro-

wadzić do wymienionych wyżej zmian w proliferacji komórek, apoptozie, a także migracji, a tym samym przyczynić się do rozwoju i progresji raka sutka. Na poziomie genetycznym wykazano, że BPA uczestniczy w wielu szlakach sygnałowych, takich jak STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3), MAPK i PI3K/AKT (phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B). Bisfenol A może również oddziaływać z innymi receptorami steroidowymi, takimi jak receptor androgenowy, i w ten sposób odgrywać rolę w rozwoju raka stercza [7, 16]. Szlaki sygnałowe estrogenów odgrywają kluczową rolę nie tylko w rozwoju gruczołu sutkowego, ale również kancerogenezy komórek tego narządu. Zarówno ERα, jak i ERβ są ekspresjonowane w stadium zarodkowym w mezenchymie otaczającej pączek ektodermalny i stymulują wzrost przewodów gruczołu mlekowego podczas rozwoju prenatalnego i noworodkowego. Liczne dowody wskazują, że ekspozycja płodu na niskie dawki BPA zmienia proliferację, apoptozę i czas rozwoju gruczołów sutkowych, co może dodatkowo wywołać raka sutka [2, 47, 72].

W badaniu Kim i wsp. [36] na linii komórkowej raka piersi (MCF-7 CV) oceniano, czy BPA i jego analogi (BPS i BPF) mogą prowadzić do proliferacji, migracji i procesu określanego jako nabłonkowe przejście mezenchymalne (epithelial-mesenchymal transition; EMT) komórek raka piersi. Wykazano, że wszystkie rodzaje badanych związków znacząco zwiększały proliferację komórek MCF-7, ale także ekspresję białek genów progresji cyklu komórkowego, takich jak cyklina D1 i E1. Ponadto przyspieszyły zdolność migracji komórek MCF-7, podobnie jak 17β-estradiol. Wpływając na proces EMT, bisfenole – BPA, BPS i BPF, zwiększały ekspresję białka N-kadheryny, natomiast zmniejszyły ekspresję E-kadheryny. Wyniki te sugerują, że zarówno BPA, jak i jego analogi biorą udział w indukcji proliferacji i migracji komórek MCF-7 przez regulację ekspresji białek w genach związanych z cyklem komórkowym i markerami EMT poprzez ścieżkę zależną od ER [36].

Deb i wsp. [15] zaobserwowali powiązanie między ekspresją genu *HOXB9* (homeobox protein Hox-B9) i narażeniem na BPA. *HOXB9* jest genem należącym do grupy genów homeotycznych (homeoboxenes), który odgrywa główną rolę w rozwoju gruczołu sutkowego i jest związany z występowaniem raka piersi. Nadekspresja *HOXB9* indukuje przerzutowanie raka sutka, zmieniając mikrośrodowisko guza i stymulując progresję choroby. Wskazuje to na potencjalną regulację tego genu przez hormony steroidowe, zwłaszcza takie jak np. 17β-estradiol. Wykazano, że *HOXB9* ulega nadmiernej ekspresji w tkankach raka sutka i jest regulowana na poziomie transkrypcji przez 17β-estradiol. Wykazano również, że zaburzający gospodarkę hormonalną bisfenol A indukuje ekspresję *HOXB9* *in vitro* na linii komórkowej raka sutka MCF-7, jak również *in vivo* w gruczołach sutkowych szczurów szczepu OVX (ovariectomized rat) z usuniętymi jajnikami. Dane te wskazują, że ekspozycja na BPA, podobnie jak na E2, zwiększa ekspresję *HOXB9* w komórkach sutka przez mechanizm, który obejmuje zwiększoną rekrutację czynników transkrypcyjnych i modyfikację chromatyny.



Ryc. 2. Genomowy oraz niegenomowy mechanizm działania bisfenolu A; E2-17 β -estradiol, ER – receptor estrogenowy, BPA – bisfenol A [wg 4]

Fernandez i wsp. [20] wykazali, że BPA indukuje zmiany metylacji DNA w genach związanych z apoptozą i naprawą DNA w komórkach ludzkiego nabłonka gruczołu sutkowego MCF-10A. Komórki linii MCF-10A po ekspozycji na BPA przez dwa tygodnie wykazywały zwiększoną ekspresję genów zaangażowanych w naprawę DNA (*BRCA1*, *BARD1*, *CHP*, *RAD51* i *BRCC3*) oraz zmniejszoną ekspresję genów zaangażowanych w apoptozę (*PDCD5* i *BCL2L11*). Jednym ze wskazywanych mechanizmów, za pomocą których estrogeny i BPA mogą inicjować proces nowotworowy w gruczole sutkowym, jest generowanie adduktów DNA, które niepoddawane naprawie, mogą prowadzić do transformacji nowotworowej komórek. Oprócz tworzenia adduktów DNA, indukowanie stresu oksydacyjnego może być innym mechanizmem zmian wytwarzanych przez BPA w DNA. Badania na liniach komórkowych wskazały, że po ekspozycji komórek na BPA zachodziła aktywacja genów zaangażowanych w naprawę DNA, co sugeruje, że BPA mogło wytwarzać dwuniciowe pęknięcia DNA, a prawidłowe komórki nabłonka sutka zwiększały ekspresję genów naprawy DNA, aby przeciwdziałać i korygować uszkodzenia [20].

Chociaż badania epidemiologiczne i doświadczalne wykazały, że narażenie na BPA przyczynia się do rozwoju raka piersi, to nie wszystkie mechanizmy jego działania są w pełni wyjaśnione. BPA jest powszechnie występującym ksenoestrogenem w środowisku, a zatem nieuchronnie oddziałuje z innymi ksenoestrogenami, a także z estrogenami [15, 31, 36, 59, 73].

FTALANY

Ftalany, w tym: ftalanbenzobutylowy (BBP), ftalan di-n-butylu (DBP) i ftalan di-2-etyloheksylu (DEHP) są syntetycznymi ksenoestrogenami, występującymi w niezwyrodniciowych produktach, zdolnymi do wiązania się z receptorami estrogenowymi [9]. Ftalany są stosowane jako plastyfikatory w produkcji opakowań żywności i w preparatach kosmetycznych, materiałach budowlanych, środkach czyszczących, środkach owadobójczych, lekach czy produktach do pielęgnacji niemowląt oraz preparatach kosmetycznych. Niektóre ftalany są zakazane do stosowania w kosmetykach, szczególnie u dzieci np. ftalanizopentylu n-pentylu, ftalan di-n-pentylu czy ftalandiizopentylu. Wykaz substancji zakazanych w produktach kosmetycznych zawarty jest w Rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego. Zestawienie to sporządzono na podstawie szczegółowej oceny bezpieczeństwa produktów kosmetycznych, przeznaczonych dla dzieci poniżej trzech lat oraz produktów kosmetycznych przeznaczonych wyłącznie do zewnętrznej higieny intymnej. Ocenie podlegały również możliwe interakcje ftalanów zawartych w produkcie kosmetycznym [27, 56].

Ftalany są wchłaniane przez skórę, a także mogą dostawać się do organizmu drogą inhalacyjną. Różne rodzaje ftalanów przedostają się do żywności podczas uprawy warzyw, pakowania i przetwarzania środków żywnościowych. Związki te wykryto w surowicy krwi niemowląt, dzieci i dorosłych, a ponadto w moczu, mleku matki i ślinie znaleziono metabolity BBP, DBP i DEHP.

Związki te mogą wpływać na płód, ponieważ przenikają przez łożysko [27, 29]. Wykazano, że ekspozycja na ftalany wiąże się nie tylko z rozwojem raka piersi, ale również rozwojem takich chorób jak: alergie, astma czy choroby układu rozrodczego. Dowiedziono, że BBP indukuje transformację nowotworową komórek nabłonkowych sutka oraz zwiększa proliferację i progresję komórek macierzystych raka sutka, a także komórek nowotworowych [29]. Ftalany są powszechnie uznawane za substancje zaburzające gospodarkę hormonalną ze względu na ich działanie estrogenowe i antyandrogenne. Chen i wsp. [9] wykazali, że nawet w bardzo niskim stężeniu – 10 nM, BBP, DBP i DEHP były wciąż zdolne do aktywności estrogenowej oraz do indukowania, łącznie z E2, addytywnego efektu proliferacyjnego komórek MCF-7 poprzez szlak sygnalizacji PI3K/AKT, a także do zapobiegania apoptozie w obecności E2. Dane epidemiologiczne sugerują, że ryzyko raka piersi wzrasta po ekspozycji na ftalandietyl (DEP). W kanadyjskim badaniu kliniczno-kontrolnym wykazano prawie pięciokrotny wzrost ryzyka wystąpienia raka piersi u kobiet pracujących w przemyśle motoryzacyjnym i przetwórstwie żywności, prawdopodobnie z powodu ekspozycji na ftalany. Chociaż ekspozycja na mieszaninę ftalanów i E2 nie ma tak znaczącego wpływu, w porównaniu do samego 17 β -estradiolu, na apoptozę komórek raka sutka, to jednak jednoczesne oddziaływanie tych dwóch związków hamuje wewnętrzne szlaki apoptozy. Dodatkowy efekt proliferacyjny ftalanów na komórki raka piersi u osób leczonych E2 może być powiązany z ich wspólnym oddziaływaniem na receptor estrogenowy. W badaniu tym stężenie fosforylowanych białek PI3K, AKT i PCNA (proliferating cell nuclear antigen; jądrowy antygen komórek proliferujących) był istotnie zwiększony zarówno po traktowaniu samodzielnym E2 lub poszczególnymi pochodnymi (BBP, DBP lub DEHP), jak i po ekspozycji na mieszaninę ftalanów z E2. Aktywacja szlaków sygnałowych AKT może być jednym z mechanizmów molekularnych, charakterystycznych dla łącznego oddziaływania E2 z ftalanami [9].

DBP, BBP i ftalan di-izobutyli (DiBP) również w niewielkim stopniu wiążą się z receptorem androgenowym, zakłócając mechanizmy komórkowe zwykle inicjowane przez androgeny. Ftalany mogą indukować proliferację, złośliwą inwazję i tworzenie nowotworu w liniach komórkowych raka sutka, które nie wykazują ekspresji receptora ER. Zmiany indukowane BBP w profilu ekspresji genów komórek sutka były zgodne z zaburzeniami różnicowania komórkowego i komunikacji międzykomórkowej. Wykazano, że DEHP zmienia mechanizmy komórkowe, w tym indukcję uszkodzeń DNA prowadzącą do zmienionej mitozy czy apoptozy, wzrostu proliferacji oraz mobilności komórek nowotworowych oraz ich inwazyjności [27].

Mikrośrodowisko guza (tumor microenvironment; TME) odgrywa nie tylko ważną rolę w procesie nowotworzenia, progresji nowotworu i przerzutowaniu, ale także wpływa na skuteczność terapeutyczną cytostatyków. Oporność na leki zależna od rodzaju nowotworu jest uzależniona od wielu wzajemnych oddziaływań między komórkami

rakowymi i różnymi typami komórek występującymi w TME. Hsu i wsp. [29] wykazują, że BBP indukuje zmianę w chemiowrażliwości komórek raka piersi na doksorubicynę i cyklofosfamid, poprzez zmianę TME. BBP wpływał na komórki dendrytyczne związane z nowotworem (tumor-associated dendritic cells; TADC) w ten sposób, że wytwarzały swoiste białka wiążące wapń S100 A8/A9 (calcium-binding protein), które bezpośrednio zmniejszały wrażliwość komórek raka sutka na doksorubicynę i cyklofosfamid, powodując MDR (multidrug resistance). Dodatkowo BBP stymulował TADC do wydzielania chemokiny CXCL1 (C-X-C motif chemokine ligand 1), co wzmacniało angiogenezę nowotworową, powodując przerzuty komórek raka sutka. Badanie to wykazało, że komórki TADC zmniejszają wrażliwość raka sutka na leczenie doksorubicyną i cyklofosfamidem, szczególnie przy ekspozycji na BBP. Oporność na chemioterapię raka sutka wystąpiła w wyniku hamowania indukowanej przez doksorubicynę i cyklofosfamid apoptozy [29].

PARABENY

Parabeny, czyli estry alkilowe kwasu p-hydroksybenzoesowego, ze względu na ich właściwości antybakteryjne, są szeroko stosowane jako środki konserwujące. Najpowszechniej stosowanymi estrami są metyloparaben (MP), etyloparaben (EP), n-propyloparaben (PP), n-butyloparaben (BP) i izobutyloparaben (iso-BuP). Szerokie zastosowanie parabenów doprowadziło do znacznego wzrostu narażenia ludzi i zwierząt na te związki o charakterze zaburzaczy endokrynych [66, 77]. Chociaż badania epidemiologiczne sugerujące związek między stosowanymi dezodorantami a zachorowalnością na raka piersi u kobiet są ograniczone, to jednak informacje na temat genetycznego i rodzinnego występowania raka piersi sugerują, że tylko niewielka liczba zachorowań ma etiologię genetyczną. Dlatego większość nowotworów gruczołu sutkowego jest prawdopodobnie wynikiem zmian epigenetycznych indukowanych przez czynniki środowiskowe i styl życia. Analiza próbek tkanek piersi, pobranych podczas mastektomii, od chorych z pierwotnym rakiem piersi w Anglii, wykazała, że co najmniej jeden ester parabenu był wykrywalny prawie we wszystkich pobranych od pacjentek próbkach (99%). Odkrycie to wzbudziło obawy dotyczące właściwości estrogenowych parabenów, szczególnie przy ewentualnej koekspozycji z estrogenami [25, 77]. Sun i wsp. [66] wykazali, że parabeny mają wyraźne działanie agonistyczne na receptor ERR γ przy stężeniu 20 mg/kg m.c./dobę. Receptor ten odgrywa kluczową rolę w indukcji ekspresji aromatazy cytochromu P450 CYP19 w ludzkich trofoblastach, która jest odpowiedzialna za główny etap w biosyntezie estrogenów. Wszystkie te aktywności biologiczne mogą się przyczyniać do estrogennych właściwości metylo- i etyloparabenu w warunkach *in vivo*, a populacje narażone na znaczne ilości MP i EP mogą być obciążone chorobami związanymi z ich działaniem estrogennym i indukowaniem raka piersi. Parabeny mogą się również wiązać z receptorami estrogenowymi w macicy gryzoni oraz w ludzkich komórkach raka sutka MCF-7.

Wykazano, że zwiększają ekspresję genu reporterowego w ludzkich komórkach raka sutka i mogą zwiększać ekspresję endogennego genu regulowanego estrogenem (pS2) w komórkach nowotworowych piersi [66].

Wróbel i Gregoraszczyk [79] porównywali skutki pojedynczego i wielokrotnego narażenia *in vitro* dwóch typów komórek: ludzkich komórek raka sutka (MCF-7) i ludzkich prawidłowych komórek nabłonkowych sutka (MCF-10A) na trzy postaci chemiczne parabenów: metylo-, butylo- i propyloparabenu. Oceniano proliferację oraz wydzielanie 17 β -estradiolu przez wymienione komórki. Wykazano ich wpływ na ekspresję genu CYP19A1, ekspresję białka CYP19A1 i wydzielanie E2 w obu liniach komórkowych. Estrogenowe działanie parabenów jest nie tylko spowodowane zdolnością wiązania do receptora estrogenowego, ale również stymulacji przez te ksenoestrogeny do wydzielania E2. Wzrost sekrecji E2 w komórkach MCF-7 wynika głównie ze stymulującego działania parabenów na gen CYP19A1 i ekspresję białka. Odwrotny efekt odnotowano na linii MCF-10A; opisano hamujące działanie wszystkich testowanych parabenów na gen CYP19A1, ekspresję białka CYP19A1 i wydzielanie E2. Aktywność stymulującą proliferację linii MCF-10A zaobserwowano natomiast tylko po zastosowaniu niskich stężeń metylo- i butyloparabenu, a na MCF-7 przy wszystkich stosowanych dawkach testowych ksenoestrogenu (tj. 0,2, 2, 20, 200 nM i 2 μ M). Przedstawione wyniki pozwalają przypuszczać, że ekspozycja nawet na niskie stężenia parabenów może prowadzić do indukowania proliferacji komórek gruczołu sutkowego [79].

Wykazano, że parabeny mogą się wiązać z receptorami ER α i ER β , ale z większym powinowactwem do ER β , zwiększając przez to ekspresję genów reagujących na estrogeny, zaangażowanych we wzrost i proliferację komórek, a także w hamowanie apoptozy. Siedemnastodniowa ekspozycja niezłośliwych ludzkich komórek raka piersi na parabeny metylowe, propylowe i butylowe doprowadziła do indukcji transformowanego fenotypu związanego z procesem karcynogenezy komórek sutka. Dłuższe (>20 tygodni) traktowanie komórek MCF-7 tymi samymi parabenami zwiększyło proliferację komórek. W prawidłowych komórkach nabłonka sutka pochodzących od kobiet z wysokim ryzykiem rozwoju raka gruczołu sutkowego, metyloparaben przeciwdziałała apoptotycznemu wpływowi tamoksifenu, często stosowanego w terapii nowotworu gruczołu sutkowego [25, 27].

KADM JAKO METALOESTROGEN

Metalooestrogeny to jonowe metale i niemetale, które aktywują receptor estrogenowy. Metalooestrogeny należą do dwóch oddzielnych podklas: oksyanionów, które obejmują m.in. takie związki/pierwiastki/jony jak arsenit, antymon i anion azotanowy (III) oraz do klasy dwuwartościowych kationów, które obejmują jony metali, takich jak m.in.: kadm, kobalt, nikiel, chrom, ołów, rtęć i cyna. Populacja ogólna jest narażona głównie środowiskowo na działanie jonów tych metali [6, 14]. Dane z piśmien-

nictwa wskazują, że ekspozycja na kadm w diecie zwiększa ryzyko raka piersi w okresie pomenopauzalnym, co potwierdzają wcześniejsze badania, mówiące, iż szeroka gama różnych jonów metali, które są obecnie coraz bardziej powszechne w środowisku człowieka, reprezentuje ważną klasę „zaburzaczy endokrynych” – metalooestrogenów, które mogą znacząco zwiększać obciążenie hormonozależnym rakiem piersi u kobiet [14, 38]. Badania laboratoryjne wykazały, że metale, w tym: miedź, kobalt, nikiel, ołów, rtęć, cyna, chrom i kadm działają estrogenie na komórki raka piersi MCF-7, a spośród metali kadm przejawiał największą aktywność estrogenową. Obecność wyższych stężeń jonów metali, w tym kadmu, zaobserwowano w tkankach nowotworowych raka piersi. W badaniu Ionescu i wsp. [30] porównano stężenia 12 metali (żelaza, kadmu, ołowiu, chromu, cyny, niklu, miedzi, rtęci, srebra, złota, palladu oraz cynku) w biopsjach raka piersi względem materiału kontrolnego, stanowiącego biopsję pochodzące z tkanek piersi kobiet bez nowotworu. Stwierdzono istotnie wyższą statystycznie akumulację żelaza (p <0,0001), niklu (p <0,00005), chromu (p <0,00005), cynku (p <0,00001), kadmu (p <0,005), rtęci (p <0,005) i ołowiu (p <0,05) w tkance nowotworowej. Mediana stężeń poszczególnych metali w biopsjach raka piersi względem mediany materiału kontrolnego wynosiła odpowiednio dla żelaza: 53,174 μ g/kg vs 10,937 μ g/kg, dla niklu: 995 μ g/kg vs 21 μ g/kg, dla chromu: 816 μ g/kg vs 39 μ g/kg, dla cynku: 17,075 μ g/kg vs 3,741 μ g/kg, dla rtęci: 6,9 μ g/kg vs 2,1 μ g/kg, dla kadmu: 42 μ g/kg vs 16 μ g/kg oraz dla ołowiu: 105 μ g/kg vs 64 μ g/kg. Stężenia miedzi i srebra nie wykazały znaczących różnic w porównaniu z grupą kontrolną, podczas gdy obecności cyny, złota i palladu nie wykryto w żadnych biopsjach [30].

Miedź, kobalt, nikiel, ołów, rtęć, cyna i chrom (II) indukują również w badaniach *in vitro* proliferację komórek raka piersi zależnych od estrogenów, powodują wzrost transkrypcji i ekspresję genów regulowanych estrogenem, a także aktywują ER α *in vitro* [10]. Dane z piśmiennictwa wskazują, że aktywacja receptora estrogenowego przez metalooestrogeny może się znacząco przyczyniać do rozwoju raka piersi. W ostatnich latach ekspozycja środowiskowa na metalooestrogeny znacznie wzrosła. Jedną z cech charakterystycznych większości metalooestrogenów jest długi biologiczny okres półtrwania (np. kadm ma okres półtrwania wynoszący 10–30 lat), stąd nagromadzenie metalooestrogenów w organizmie, np. w tkance gruczołu sutkowego ma bardzo negatywne skutki [6, 33, 38].

Kadm należy do toksycznych metali ciężkich, stwarzających poważne zagrożenie dla zdrowia zarówno ludzi, jak i zwierząt. Dane epidemiologiczne wskazują na związek przyczynowy ekspozycji na jony kadmu z patogenezą raka gruczołu krokowego, piersi czy płuc. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (International Agency for Research on Cancer; IARC) i Narodowy Program Toksykologii Stanów Zjednoczonych (National Toxicology Program of the United States of America; NTP) umieścili ten pierwiastek na czele listy czynników rakotwórczych

u ludzi i zaklasyfikowali jony Cd^{2+} do klasy I substancji rakotwórczych dla człowieka [11, 39, 68]. Coraz więcej dowodów wskazuje, że narażenie na kadm zarówno w miejscu pracy, jak i poza nim, wiąże się z zachorowaniem na nowotwory złośliwe płuca, stercza, trzustki, nerek, wątroby, żołądka i pęcherza moczowego. Ekspozycja na kadm jest również skorelowana ze wzrostem zachorowalności na raka piersi [39, 41, 71]. Kadm jest powszechnym zanieczyszczeniem uwalnianym do środowiska z takich gałęzi przemysłu jak: galwanizacja, produkcja farb, pigmentów i wytwarzanie baterii. Jest produktem ubocznym spawania, powlekania galwanicznego, wydobycia rud cynku i ołowiu, procesu wytwarzania baterii. Jego źródłem są także tworzywa sztuczne, pigmenty i farby [12, 62]. Metal ten utrzymuje się w osadach rzecznych, ulega bioakumulacji w ekosystemach i wbudowuje się w łańcuch pokarmowy człowieka [62]. Kadm dostaje się do gleby z nawozami chemicznymi (których zanieczyszczeniem może być), z komunalnych osadów ściekowych i wraz z zanieczyszczeniami wód. Dym papierosowy jest również ważnym źródłem ekspozycji ludzi na kadm. Szacuje się, że wypalenie jednej paczki papierosów dziennie jest narażeniem na kadm 2–4 μg [23]. Doświadczenia na zwierzętach udowadniają, że kadm może przenikać przez łożysko i oddziaływać na rozwijający się płód [6]. Komórkowe i molekularne skutki działania kadmu w karcynogenezie gruczołu piersiowego podkreślają znaczenie badania wpływu przewlekłej ekspozycji na ten metal [39]. W badaniach prospektywnych wykazano istotną zależność między wysokim narażeniem na kadm zawarty w diecie, a występowaniem raka endometrium (RR = 1,39; 95% CI = 1,04–1,86) i raka piersi u kobiet po menopauzie (RR = 1,21; 95% CI = 1,07–1,36). W raku piersi efekt był szczególnie istotny dla chorych z ER-dodatnim rakiem piersi (RR = 1,23; 95% CI = 1,02–1,49) (CI-przedział ufności, Confidence Interval; RR – ryzyko względne, relative risk) [27].

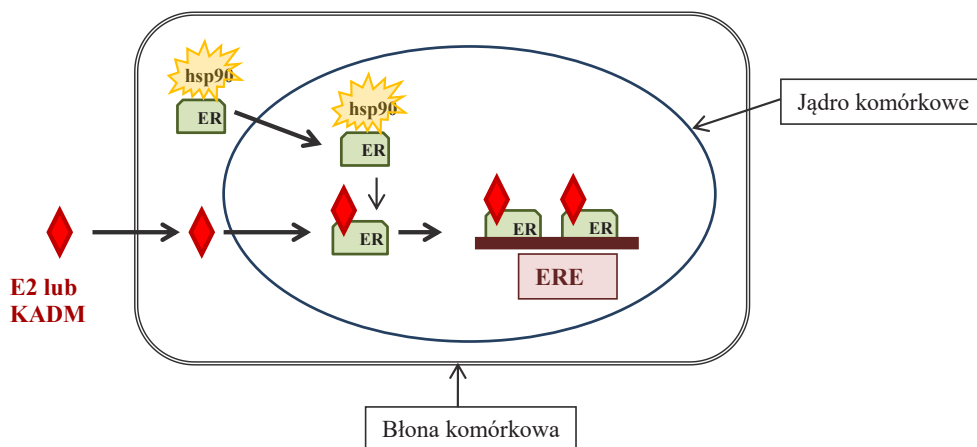
Oceniając skutki estrogenowe kadmu, wykazano, że metal ten zakłóca wiele prawidłowych sygnalizacyjnych ścieżek estrogenozależnych. Kadm może się wiązać i aktywować receptory estrogenowe komórek sutka, oddziałuje również i reguluje transkrypcję genów zależnych od estrogenu, wpływających na syntezę białek i aktywność szlaków sygnalizacji komórkowej w sposób podobny do naturalnego estrogenu – 17 β -estradiolu [27]. Chociaż kadm nie ma właściwości oksydacyjno-redukcyjnych, wykazano, że indukuje stres oksydacyjny, zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Ponieważ kadm nie ulega reakcjom redoks w warunkach fizjologicznych, zwiększone wytwarzanie reaktywnych form tlenu i oksydacyjne uszkodzenie komórek może być spowodowane pośrednio przez hamujące działanie kadmu na enzymy antyoksydacyjne, a także na mechanizm naprawy DNA [64, 69].

Receptor estrogenowy ma strukturalną domenę wiążącą DNA (DNA binding domain; DBD), w której wyróżnia się dwa motywy palca cynkowego. Są to odcinki zbudowane z 30–40 aminokwasów, a ich struktura przestrzenna jest stabilizowana przez wiązania koor-

dynacyjne występujące między jonem cynku a grupami imidazolowymi histydyn lub tiolowymi cystein. Kadm może zaburzać strukturę palców cynkowych przez wypieranie cynku i stworzenie stabilnego wiązania z grupami tiolowymi. W wyniku tego, białka mające palce cynkowe tracą zdolność wiązania się z DNA oraz zaburzona zostaje ekspresja genów regulowana przez szlak zależny od receptora estrogenowego. Jony kadmu są również zdolne do wiązania z domeną wiążącą ligand (ligand binding domain; LBD) z wysokim powinowactwem, w konsekwencji czego blokują możliwość przyłączenia właściwego liganda – 17 β -estradiolu, do receptora [21]. Na ryc. 3 przedstawiono główne szlaki genomowe oddziaływania kadmu na komórki.

Ekspozycja na kadm może również prowadzić do transformacji prawidłowych komórek nabłonkowych sutka MCF-10A poprzez mechanizm, który nie wymaga obecności ER α . Kadm może także wpływać na komórki przez mechanizmy wykraczające poza konwencjonalne szlaki skierowane na ER, w tym prawdopodobnie przez wiązanie z receptorem błonowym GPR30. Oprócz skutków hormonalnych, kadm może sprzyjać rozwojowi raka piersi poprzez mechanizmy epigenetyczne, w tym zmiany we wzorach metylacji DNA, a także przez możliwe modyfikacje histonów związanych z genami [27]. Bezpośrednia interakcja kadmu z DNA poprzez mechanizm genotoksyczny nie jest najważniejsza bowiem – jak już wspomniano – metal ten może działać pośrednio również poprzez mechanizmy epigenetyczne, zmieniając sygnały o zdarzeniach poprzedzających naprawę i apoptozę DNA. Hamowanie naprawy DNA przez kadm prawdopodobnie również będzie odgrywać ważną rolę w indukowanej jonami tego metalu karcynogenezie. Kadm hamuje efektywność wiązania białka p53 do DNA, co w konsekwencji hamuje naprawę DNA. Ludzka 8-okso-dGTPaza, enzym który chroni przed inkorporacją 8-okso-dGTP do DNA, jest także hamowany przez jony kadmu. Tak więc ten metaloestrogen jest zdolny do hamowania naprawy DNA na różnych poziomach i prowadzi do niestabilności genomu, inicjując proces nowotworzenia [40].

W badaniach modelowych na liniach komórkowych MCF-7 wykazano, że kadm indukuje wiele zmian biochemicznych, w tym nieprawidłową ekspresję genów i transdukcję sygnału. Dysfunkcja E-kadheryny, hamowanie metylacji DNA, aktywacja genów wczesnej odpowiedzi komórkowej (*c-fos*, *c-jun* i *c-myc*) oraz indukcja białek odpowiedzi na stres komórkowy, takich jak metalotioneina i białka szoku termicznego, są związane z transformacją indukowaną przez kadm [40]. E-kadheryny to transbłonowe glikoproteiny, które są odpowiedzialne za prawidłową adhezję komórek w tkance, natomiast β -kateniny to cząsteczki sygnalizacyjne w komórkach. Mogą się przemieszczać do jądra, łączyć z czynnikami transkrypcyjnymi, które odpowiadają za zmianę ekspresji wielu genów, np. *c-myc* i *c-jun*. Jest to związane z substytucją jonów wapnia przez jony kadmu w E-kadherynie. Wymiana powoduje zmiany konfor-



Ryc. 3. Rola kadmu w klasycznym szlaku genomowym receptora estrogenowego; E2 – 17 β -estradiol, ER – receptor estrogenowy, ERE – element odpowiedzi estrogenowej (estrogen response element), hsp90 – białko szoku cieplnego (heat shock protein 90) [wg 68]

macyjne białek, w wyniku czego niszczone są połączenia międzykomórkowe oraz aktywowane β -kateniny i dochodzi do niekontrolowanej proliferacji, zakłócenia apoptozy i rozwoju nowotworu [12]. Zwiększone wytwarzanie reaktywnych form tlenu jest często związane z cytotoksycznością wywołaną przez kadmu, co zaobserwowano w różnych modelach hodowli komórkowych, prowadząc do dysfunkcji mitochondriów, indukcji stresu oksydacyjnego oraz peroksydacji lipidów, a także pęknięcia nici DNA i aberracji chromosomowych [40]. W badaniu oceniającym wpływ kadmu w stężeniu 1 μ M obserwowano znaczącą proliferację komórek trzech linii nowotworowych ER α -dodatnich (tj. MCF-7, T-47D i ZR-75-1), co było związane z aktywacją genów *c-fos*, *c-jun* oraz *c-myc*. Wyciszenie ER α lub blokowanie receptora za pomocą konkurencyjnego antagonisty łagodziły pobudzający wpływ kadmu na linie komórkowe ER-dodatnie raka sutka, wskazując w ten sposób na zaangażowanie ER α w komórkowym działaniu kadmu. Ekspozycja na związki kadmu może więc być istotnym czynnikiem przyczyniającym się do rozwoju raka piersi [39, 40, 60].

Dokładny mechanizm, w jakim kadmu promuje wzrost komórek nowotworowych nie został w pełni wyjaśniony, jednak badania nad sygnalizacją wewnątrzkomórkową ujawniają, że pierwiastek ten aktywuje szlaki kinazy białkowej aktywowanej mitogenem w komórkach raka sutka. Szlaki MAPK to główne układy sygnałowe wykorzystywane przez komórkę do regulowania proliferacji, różnicowania, przeżycia i apoptozy w odpowiedzi na różne sygnały pozakomórkowe, w tym: czynniki wzrostu, hormony i cytokiny. Nieprawidłowa sygnalizacja MAPK wzmacnia kancerogenezę. Jako trzy główne szlaki MAPK zaangażowane w patogenezę raka piersi wskazywane są: ERK (extracellular signal-regulated kinases; kinazy regulowane sygnałem zewnątrzkomórkowym), JNK i białka. Szlak ERK jest związany z proliferacją i różnicowaniem komórek, a szlaki JNK i P38 są związane z przeżywalno-

ścią i apoptozą. To, która z tych ścieżek jest aktywowana, zależy od stężenia jonów kadmu, na które są narażone komórki. Kadmu w wysokim stężeniu (1-3 μ M) powoduje śmierć komórki i aktywuje wszystkie trzy szlaki MAPK przez generowanie reaktywnych form tlenu. Jednak przy poziomach niższych, mikromolowych, kadmu aktywuje szlak MAPK/ERK i stymuluje proliferację komórek [62]. Zestawienie najważniejszych skutków działania omawianych ksenoestrogenów na linie komórkowe przedstawiono w tabeli 1.

INTERAKCJE KSENOESTROGENÓW Z LEKAMI STOSOWANYMI W RAKU PIERSI

Ponad 70% przypadków raka piersi charakteryzuje się wysoką ekspresją receptorów estrogenowych, stąd też podstawą leczenia chorych jest hormonoterapia. Powodem stosowania hormonoterapii w raku piersi jest wyeliminowanie pobudzającego wpływu estrogenów na komórki nowotworowe. Uzyskuje się to przez zastosowanie kilku grup leków [74]. Najczęściej stosowany – tamoksyfen – jest selektywnym modulatorem receptora estrogenowego (selective estrogen receptor modulator; SERM), który wiążąc się z ERs na komórkach nowotworowych, blokuje możliwość ich stymulacji przez estrogeny [32]. Innym mechanizmem działania charakteryzuje się fulwestrant, będący selektywnym antagonistą receptora estrogenowego (selective estrogen receptor down-regulator; SERD), który w przeciwieństwie do tamoksyfenu jest pozbawiony jakiegokolwiek działania agonistycznego. Fulwestrant prowadzi do degradacji ER i umożliwia całkowite wyeliminowanie wpływu estrogenów na komórkę [17]. Zmniejszenie oddziaływania estrogenów na komórki nowotworu można również uzyskać przez zastosowanie leków hamujących wytwarzanie estrogenów w organizmie [32]. U chorych kobiet przed menopauzą, u których estrogeny są wytwarzane przede wszystkim w jajnikach, stosuje się analogi gonadoliberyny (gonadotropin-releasing hormone analogues; aGnRH),

Tabela 1. Zestawienie najważniejszych skutków działania ksenoestrogenów na linie komórkowe

KSENOESTROGEN	LINIA KOMÓRKOWA	EFEKTY EKSPOZYCJI
BPA, BPS, BPF [36]	MCF-7 MCF-7 CV	wzrost proliferacji komórek, wzrost ekspresji białek genów progresji cyklu komórkowego - cykliny D1 i E1, przyspieszenie zdolności migracji komórek raka piersi
BPA [15]	MCF-7	indukcja ekspresji genu HOXB9 (nadekspresja HOXB9 indukuje przerzutowanie raka sutka)
BPA [20]	MCF-10A	zwiększona ekspresja genów zaangażowanych w naprawę DNA (BRCA1, BARD1, CHP, RAD51, BRCC3), zmniejszona ekspresja genów zaangażowanych w apoptozę (PDCD5, BCL2L11)
ftalany – BBP, DBP, DEHP [9]	MCF-7	wzrost proliferacji poprzez szlak sygnalizacji PI3K/AKT (w obecności E2), zapobieganie apoptozie (w obecności E2)
metylo-, butylo-, propyloparaben [79]	MCF-7	wzrost ekspresji genu CYP19A1, ekspresji białka CYP19A1 i wydzielania E2; aktywność stymulująca proliferację wszystkich dawek ksenoestrogenów
	MCF-10A	zmniejszenie ekspresji genu CYP19A1, ekspresji białka CYP19A1 i wydzielania E2; wzrost proliferacji niskich stężeń metylo- i butyloparabenu
Cu, Co, Ni, Pb, Hg, Sn, Cr (III) [10]	MCF-7	wzrost proliferacji komórek, aktywacja ERα
Cd [40]	MCF-7	dysfunkcja E-kadheryny, hamowanie metylacji DNA, aktywacja genów wczesnej odpowiedzi komórkowej, indukcja białek odpowiedzi na stres komórkowy
Cd [60]	MCF-7, T-47D, ZR-75-1	wzrost proliferacji komórek
Cd [27]	MCF-10A	transformacja prawidłowych komórek nabłonkowych sutka

które blokując wydzielanie gonadotropin przez przysadkę mózgową, hamują wytwarzanie estrogenów w jajnikach [32]. U kobiet po menopauzie, u których głównym źródłem estrogenów stają się tkanki obwodowe (tkanka tłuszczowa, wątroba, skóra), zastosowanie znalazły inhibitory aromatazy – steroidowe (eksemestan) i niesteroidowe (letrozol, anastrozol), które hamują konwersję androgenów do estrogenów [17, 32]. Zgodnie z zaleceniami Polskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej, leczenie farmakologiczne hormonozależnego wczesnego raka piersi u pacjentek przed menopauzą opiera się przede wszystkim na stosowaniu tamoksyfenu przez 5–10 lat. U kobiet po menopauzie, stosuje się tamoksyfen, inhibitory aromatazy lub ich sekwencję, również przez łączny okres 5–10 lat. W przypadku zaawansowanego raka piersi (stadium IV), w pierwszej linii leczenia istnieje możliwość zastosowania tamoksyfenu, fulwestrantu w wysokich dawkach lub terapii skojarzonej [letrozol + inhibitor kinaz zależnych od cyklin CDK4/6 (np. palbocycylib)], która w Polsce jest refundowana dopiero od września 2019 r. [32].

Jak przedstawiono wyżej, liczne dane z piśmiennictwa potwierdzają, iż wiele ksenoestrogenów, w tym meta-loestrogenów, może się łączyć z ERs, a tym samym konkurować lub naśladować działanie endogennych estrogenów (np. pobudzać proliferację komórek nowotworowych) [42, 43, 46]. Zdecydowanie mniej wiadomo natomiast na temat wpływu ksenoestrogenów na skuteczność zwalczania raka piersi, a więc ewentualnych interakcji ksenoestrogen–lek. Pod tym kątem najlepiej przebadaną grupą ksenoestrogenów są fitoestrogeny, których źródłem może być pożywienie (m.in. soja, siemię lniane, sezam, owies, soczewica, kawa), ale także leki oraz suplementy diety przeznaczone do łagodzenia objawów menopauzy [1]. Wskazuje się na genisteinę, należąca do flawonoidów i występująca w dużych ilościach w roślinach z rodziny bobowatych (w tym w ziarnie soi) oraz mykoestrogeny – zearalenon, zanieczyszczający chleb i różne rodzaje zbóż – kukurydzy, jęczmienia, pszenicy, ryżu [78]. Ju i wsp. [34] wykazali, że pochodząca z diety genisteina zmniejsza działanie terapeutyczne

tamoksyfenu. Badanie przeprowadzono na owariecto-mizowanych myszach, którym wszczepiono komórki raka piersi zależnego od estrogenów (MCF-7) i losowo podzielono na 6 grup w zależności od podanych substancji lub ich kombinacji: (1) kontrola; (2) 0,25 mg estradiol; (3) 0,25 mg estradiol + 2,5 mg tamoksyfen; (4) 0,25 mg estradiol + 5 mg tamoksyfen; (5) 0,25 mg estradiol + 2,5 mg tamoksyfen + 1000 ppm genisteina; (6) 0,25 mg estradiol + 5 mg tamoksyfen + 1000 ppm genisteina. Głównym badanym parametrem była powierzchnia guza w 32 tygodniu eksperymentu. Zaobserwowano, iż leczenie tamoksyfenem w obu dawkach hamowało stymulowany przez estradiol wzrost guza nowotworowego u myszy, natomiast dodanie fitoestrogenu – genisteiny hamowało to działanie [34]. Ten sam zespół oceniał również wpływ genisteiny na leczenie inhibitorem aromatazy – letrozolem w tym samym modelu badawczym [35]. Wyodrębniono 10 grup w zależności od podanych myszom substancji lub ich kombinacji: (1) kontrola; (2) 250 ppm genisteina; (3) 500 ppm genisteina; (4) 1000 ppm genisteina; (5) 5 mg androstendion (substrat aromatazy); (6) 1 mg letrozolu; (7) androstendion + letrozol; (8) androstendion + letrozol + 250 ppm genisteina; (9) androstendion + letrozol + 500 ppm genisteina; (10) androstendion + letrozol + 1000 ppm genisteina. Głównym badanym parametrem była powierzchnia guza ocenianego w tym przypadku w 19 tygodniu eksperymentu. Wykazano, że letrozol skutecznie hamował wzrost guza nowotworowego u myszy, jednak było to hamowane przez obecność genisteiny (w każdym badanym stężeniu). Zaobserwowano tym większy wzrost nowotworu, im wyższa była dawka genisteiny [35]. Autorzy obu badań podkreślają, iż kobiety leczone tamoksyfenem lub letrozolem powinny zachować szczególną ostrożność i ograniczyć spożycie genisteiny, zarówno z pożywienia, jak i suplementów diety, gdyż może to negatywnie wpływać na skuteczność farmakoterapii [34, 35].

W 2015 r. Amerykańska Agencja Żywności i Leków (Food and Drug Administration; FDA) w przyspieszonym trybie zatwierdziła stosowanie skojarzonej terapii letrozol + palbocyklid w zaawansowanym raku piersi u kobiet po menopauzie. Wyniki badania klinicznego PALOMA-1 wskazywały, że zastosowanie terapii skojarzonej w porównaniu do zastosowania terapii standardowej – samego letrozolu, poprawia wskaźniki przeżycia bez progresji choroby o 10 miesięcy (terapia skojarzona 20,2 miesiąca; leczenie letrozolem 10,2 miesiąca). Był to duży postęp w leczeniu zaawansowanego raka piersi u kobiet po menopauzie [3]. Warth i wsp. [74] w badaniu *in vitro*, z użyciem linii komórkowej raka piersi MCF-7 oraz T47D, oceniali wpływ ksenoestrogenów obecnych w diecie (genisteina, zearalenon) na skuteczność leczenia letrozolem i palbocyklidem. Do medium hodowlanego dodawano poszczególne substancje lub ich kombinacje: (1) kontrola, (2) genisteina, (3) zearalenon, (4) letrozol + palbocyklid, (5) letrozol + palbocyklid + genisteina, (6) letrozol + palbocyklid + zearalenon. Wykazano, iż połączenie letrozolu i palbocyklidu skutecznie hamowało proliferację komórek nowotworowych, podczas gdy dodanie zarówno geni-

steiny, jak i zearalenonu przeciwdziało temu efektowi. Ponadto wykazano, iż połączenie letrozolu i palbocyklidu hamuje aktywność szlaku mTOR (odpowiedzialnego m.in. za występowanie oporności na leczenie), co również jest odwracalne po dodaniu genisteiny lub zearalenonu. Autorzy wskazują, iż uzyskane wyniki rzucają światło na to, jak znaczący wpływ mogą mieć ksenoestrogeny na skuteczność leczenia raka piersi. Potwierdzenie uzyskanych wyników na modelu zwierzęcym, a także w badaniach z udziałem pacjentek, pozwoli na stworzenie szczegółowych zaleceń żywieniowych pacjentkom poddanym hormonoterapii raka piersi [74].

Goodson i wsp. [26] wykazali, że ekspozycja pozyskanych od dawczyń (będących w grupie wysokiego ryzyka zachorowania na raka piersi) odnawialnych komórek nabłonka gruczołu sutkowego (high-risk donor breast-epithelial cell; HRBEC) na stężenia bisfenolu A wykrywalne w ludzkiej krwi, łożysku i mleku powoduje zmianę ekspresji genów związanych z aktywacją szlaku kinazy mTOR, wpływając na zwiększenie przeżywalności komórek nowotworowych. Autorzy zbadali również wpływ bisfenolu A oraz metyloparabenu na skuteczność terapeutyczną jednego z głównych czynnych metabolitów tamoksyfenu – 4-hydroksytamoksyfenu. Wykazali, iż przy jednoczesnym stosowaniu 4-hydroksytamoksyfenu oraz BPA lub metyloparabenu (4-hydroksybenzoesan metylu), zmniejsza się terapeutyczny efekt 4-hydroksy-tamoksyfenu, mierzony jako procent ulegających apoptozie komórek – zarówno komórek linii raka piersi (T47D, SKBR3), jaki i HRBEC. Efekt był tym większy, im wyższe było stężenie ksenoestrogenu [26]. Wyniki badań Osuny i wsp. [49] sugerują, iż metyloparaben przyczynia się do występowania chemiooporności na leki stosowane w raku piersi (tamoksyfen, fulwestrant). Może być to spowodowane bezpośrednim jego wpływem na komórki inicjujące wzrost nowotworu (tumor initiating cells; TICs), jak i poprzez modulowanie aktywności komórek macierzystych, które pozostają odporne na działanie antyestrogenów [49].

U większości chorych na raka piersi, jako jeden z podstawowych elementów leczenia, zaleca się chemioterapię (przedoperacyjną lub pooperacyjną), opartą na sekwencyjnym stosowaniu wielolekowych schematów podawania cytostatyków – antracyklin (m.in. doksorubicyna, epirubicyna) i taksoidów (m.in. docetaksel, paklitaksel) [32]. Chemioterapia stosowana jest zarówno u pacjentek z rakiem piersi z ekspresją receptorów estrogenowych, jak i bez ich obecności. Oporność na chemioterapię jest poważnym problemem terapeutycznym, stąd też wyjaśnienie mechanizmów prowadzących do jej powstania to istotne badania, a poznanie powiązania z efektem ksenoestrogenów stanowi nowy aspekt tego problemu. Lapensee i wsp. [37] ocenili, czy występujący w środowisku BPA wpływa na działanie powszechnie stosowanych cytostatyków – doksorubicyny, cisplatyny i winblastyny oraz jaki jest mechanizm ewentualnych interakcji. W tym celu przeprowadzili badania *in vitro* zarówno na komórkach raka piersi wrażliwego na estro-

geny (T47D), jak i komórkach raka piersi niewrażliwego na estrogeny (MDA-MB-468). Cytotoksyczność chemioterapeutyków oceniano w 3 różnych stężeniach (doksorubicyna – 2, 25, 125 ng/ml; cisplatyna – 100, 200 i 400 ng/ml; winblastyna – 1, 5, 25 ng/ml) bez i w obecności bisfenolu A (w stężeniu 1 nM). Zaobserwowano, iż wszystkie cytostatyki w każdym ze stężeń, przy nieobecności bisfenolu A działają cytotoksycznie na komórki raka piersi obu linii (z obecnością receptorów estrogenowych oraz niewrażliwego na estrogeny), natomiast dodanie BPA antagonizowało ten efekt. Wykazano, iż oddziaływanie to nie jest związane z działaniem bisfenolu A poprzez receptory estrogenowe, a jest wynikiem zwiększenia ekspresji białek antyapoptotycznych (Bcl-2 i Bcl-xL). Tym samym autorzy potwierdzili, iż BPA w stężeniach nanomolarnych, występujących u ludzi w wyniku narażenia środowiskowego, może zmniejszać skuteczność chemioterapii [37]. Jak przedstawiono wyżej również przy ekspozycji na BBP zaobserwowano obniżoną wrażliwość komórek raka sutka na stosowaną chemioterapię doksorubicyną oraz cyklofosfamidem [29].

Podobnie jak inne substancje naśladujące estrogeny i zaburzające gospodarkę endokrynologiczną dowiedziono, że również kadm wpływa na skuteczność chemioterapii, zakłócając efektywność środka chemioterapeutycznego, 5-fluorouracylu (5-FU), często stosowanego u kobiet w terapii raka piersi. W badaniu oceniającym wpływ samodzielnego działania Cd²⁺ lub 5-FU oraz ich działania łącznego na strukturę subkomórkową i aktywność metaboliczną hodowanych komórek raka sutka MCF-7, stwierdzono, że jednoczesna inkubacja z Cd²⁺ zniósła działanie przeciwnowotworowe 5-FU, co stanowi ważny aspekt w skuteczności stosowanej terapii przy braku informacji o ekspozycji na ten metaloestrogen [27]. Przytoczone dane wskazują, że

ksenoestrogeny mogą obniżać skuteczność chemioterapeutyków stosowanych w leczeniu raka piersi, a to jest dodatkowym dowodem na niekorzystne działanie tych endokrynnie czynnych związków.

PODSUMOWANIE

Ze względu na ciągły wzrost zachorowań na raka piersi oraz dużą liczbę zidentyfikowanych związków egzogenych o potencjalnym działaniu endokrynnym – ksenoestrogenów, m.in. metaloestrogenów – należy zwrócić uwagę na ich wpływ na funkcjonowanie organizmu. Związki te, uruchamiając różne szlaki wewnątrzkomórkowe, przyczyniają się do promocji i progresji procesu nowotworowego. Jednym z narządów, który jest bardzo wrażliwy na niekorzystne działanie ksenoestrogenów jest gruczoł piersiowy. Badania na modelach *in vivo* oraz *in vitro* potwierdzają hipotezę, że wiele ksenoestrogenów występujących powszechnie w żywności, produktach konsumenckich, a także w środowisku wiąże się ze zwiększonym ryzykiem predysponowania tkanki piersiowej do rozwoju nowotworów. Zaprezentowany przegląd literaturowy wskazuje na niezaprzeczną rolę takich ksenoestrogenów jak: bisfenole, ftalany, parabeny czy kadm jako metaloestrogeny, w inicjacji, promocji oraz progresji raka gruczołu sutkowego. Zwrócono również uwagę na możliwe interakcje ksenoestrogenów z lekami stosowanymi w terapii raka piersi. Rak piersi jest bardzo niejednorodną chorobą, na którą wpływa środowisko hormonalne i ksenoestrogeny środowiskowe, które zostały epidemiologicznie powiązane jako czynniki ryzyka. Ich mechanizmy działania są złożone i często nie w pełni zrozumiane. Opracowanie jest próbą usystematyzowania obecnych poglądów dotyczących udziału ksenoestrogenów nie tylko w patogenezie raka piersi, ale i ich wpływu na efektywność stosowanych terapii.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Albini A., Rosano C., Angelini G., Amaro A., Esposito A., Maramotti S., Noonan D.M., Pfeiffer U.: Exogenous hormonal regulation in breast cancer cells by phytoestrogens and endocrine disruptors. *Curr. Med. Chem.*, 2014; 21: 1129–1145
- [2] Ayyanan A., Laribi O., Schuepbach-Mallepell S., Schrick C., Gutierrez M., Tanos T., Lefebvre G., Rougemont J., Yalcin-Ozuysal Ö., Brisken C.: Perinatal exposure to bisphenol A increases adult mammary gland progesterone response and cell number. *Mol. Endocrinol.*, 2011; 25: 1915–1923
- [3] Beaver J.A., Amiri-Kordestani L., Charlab R., Chen W., Palmy T., Tilley A., Zirkelbach J.F., Yu J., Liu Q., Zhao L., Crich J., Chen X.H., Hughes M., Bloomquist E., Tang S. i wsp.: FDA approval: Palbociclib for the treatment of postmenopausal patients with estrogen receptor-positive, HER2-negative metastatic breast cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2015; 21: 4760–4766
- [4] Bisphenol A. *Environmental Chemicals*. Version current 4 April 2014. <http://flipper.diff.org/app/items/6697> (23.04.2018)
- [5] Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A.: Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *C. A. Cancer J. Clin.*, 2018; 68: 394–424
- [6] Byrne C., Divekar S.D., Storch G.B., Parodi D.A., Martin M.B.: Metals and breast cancer. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 2013; 18: 63–73
- [7] Castro B., Sánchez P., Torres J.M., Preda O., del Moral R. G., Ortega E.: Bisphenol A exposure during adulthood alters expression of aromatase and 5 α -reductase isozymes in rat prostate. *PLoS One*, 2013; 8: e55905
- [8] Chang Y.W., Singh K.P.: Long-term exposure to estrogen enhances chemotherapeutic efficacy potentially through epigenetic mechanism in human breast cancer cells. *PLoS One*, 2017; 12: e0174227
- [9] Chen F.P., Chien M.H., Chern I.Y.: Impact of low concentrations of phthalates on the effects of 17 β -estradiol in MCF-7 breast cancer cells. *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.*, 2016; 55: 826–834
- [10] Choe S.Y., Kim S.J., Kim H.G., Lee J.H., Choi Y., Lee H., Kim Y.: Evaluation of estrogenicity of major heavy metals. *Sci. Total Environ.*, 2003; 312: 15–21
- [11] Czeczot H., Majewska M.: Kadm – zagrożenie i skutki zdrowotne. *Farm. Pol.*, 2010; 66: 243–250
- [12] Czeczot H., Skrzycki M.: Kadm – pierwiastek całkowicie zbędny dla organizmu. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 38–49
- [13] Dall G.V., Britt K.L.: Estrogen effects on the mammary gland in early and late life and breast cancer risk. *Front. Oncol.*, 2017; 7: 110–117
- [14] Darbre P.D.: Metalloestrogens: an emerging class of inorganic xenoestrogens with potential to add to the oestrogenic burden of the human breast. *J. Appl. Toxicol.*, 2006; 26: 191–197

- [15] Deb P., Bhan A., Hussain I., Ansari K.I., Bobzean S.A., Pandita T.K., Perrotti L.I., Mandal S.S.: Endocrine disrupting chemical, bisphenol-A, induces breast cancer associated gene HOXB9 expression *in vitro* and *in vivo*. *Gene*, 2016; 590: 234–243
- [16] Derouiche S., Warnier M., Mariot P., Gosset P., Mauroy B., Bonnal J.L., Slomianny C., Delcourt P., Prevarskaya N., Roudbaraki M.: Bisphenol A stimulates human prostate cancer cell migration via remodelling of calcium signalling. *Springerplus*, 2013; 2: 54
- [17] Dębska-Szmich S., Zięba A., Potemski P.: Fulvestrant in hormonal treatment of breast cancer. *Oncol. Clin. Pract.*, 2017; 13: 14–23
- [18] Didkowska J., Wojciechowska U., Olasek P.: Nowotwory złośliwe w Polsce w 2015 roku. Krajowy Rejestr Nowotworów, Warszawa 2017, 8–13
- [19] EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF) Scientific opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A in foodstuffs: Toxicological assessment and risk characterisation. 2015 EFSA J., 2015; 13: 1–396
- [20] Fernandez S.V., Huang Y., Snider K.E., Zhou Y., Pogash T.J., Russo J.: Expression and DNA methylation changes in human breast epithelial cells after bisphenol A (BPA) exposure. *Int. J. Oncol.*, 2012; 41: 369–377
- [21] Forma E., Szymczyk A., Krześlak A.: Wybrane ksenoestrogeny i ich wpływ na zdrowie człowieka. *Folia Med. Lodz.*, 2013; 40: 79–97
- [22] Fuhrman B.J., Schairer C., Gail M.H., Boyd-Morin J., Xu X., Sue L.Y., Buys S.S., Isaacs C., Keefer L.K., Veenstra T.D., Berg C.D., Hoover R.N., Ziegler R.G.: Estrogen metabolism and risk of breast cancer in postmenstrual women. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2012; 104: 326–339
- [23] Gallagher C.M., Chen J.J., Kovach J.S.: Environmental cadmium and breast cancer risk. *Aging*, 2010; 2: 804–814
- [24] Gao H., Yang B.J., Li N., Feng L.M., Shi X.Y., Zhao W.H., Liu S.J.: Bisphenol A and hormone-associated cancers: Current progress and perspectives. *Medicine*, 2015; 94: e211
- [25] Golden R., Gandy J., Vollmer G.: A review of the endocrine activity of parabens and implications for potential risks to human health. *Crit. Rev. Toxicol.*, 2005; 35: 435–458
- [26] Goodson W.H.3rd, Luciani M.G., Sayeed S.A., Jaffee I.M., Moore D.H.2nd, Dairkee S.H.: Activation of the mTOR pathway by low levels of xenoestrogens in breast epithelial cells from high-risk women. *Carcinogenesis*, 2011; 32: 1724–1733
- [27] Gray J.M., Rasanayagam S., Engel C., Rizzo J.: State of the evidence 2017: an update on the connection between breast cancer and the environment. *Environ. Health*, 2017; 16: 94
- [28] Hiatt R.A., Brody J.G.: Environmental determinants of breast cancer. *Annu. Rev. Public Health*, 2018; 39: 113–133
- [29] Hsu Y.L., Hung J.Y., Tsai E.M., Wu C.Y., Ho Y.W., Jian S.F., Yen M.C., Chang W.A., Hou M.F., Kuo P.L.: Benzyl butyl phthalate increases the chemoresistance to doxorubicin/cyclophosphamide by increasing breast cancer-associated dendritic cell-derived CXCL1/GRO α and S100A8/A9. *Oncol. Rep.*, 2015; 34: 2889–2900
- [30] Ionescu J.G., Novotny J., Stejskal V., Lätsch A., Blaurock-Busch E., Eisenmann-Klein M.: Increased levels of transition metals in breast cancer tissue. *Neuro. Endocrinol. Lett.*, 2006; 27: 36–39
- [31] Jadhav R.R., Santucci-Pereira J., Wang Y.V., Liu J., Nguyen T.D., Wang J., Jenkins S., Russo J., Huang T.H., Jin V.X., Lamartiniere C.A.: DNA methylation targets influenced by bisphenol A and/or genistein are associated with survival outcomes in breast cancer patients. *Genes*, 2017; 8: 144
- [32] Jassem J., Krzakowski M.: Breast cancer. *Oncol. Clin. Pract.*, 2018; 14: 171–215
- [33] Jouybari L., Saei Ghare Naz M., Sanagoo A., Kiani F., Sayehmiri F., Sayehmiri K., Hasanpour, Dehkordi A.H.: Toxic elements as biomarkers for breast cancer: A meta-analysis study. *Cancer Manag. Res.*, 2018; 10: 69–79
- [34] Ju Y.H., Doerge D.R., Allred K.F., Allred C.D., Helferich W.G.: Dietary genistein negates the inhibitory effect of tamoxifen on growth of estrogen-dependent human breast cancer (MCF-7) cells implanted in athymic mice. *Cancer Res.*, 2002; 62: 2474–2477
- [35] Ju Y.H., Doerge D.R., Woodling K.A., Hartman J.A., Kwak J., Helferich W.G.: Dietary genistein negates the inhibitory effect of letrozole on the growth of aromatase-expressing estrogen-dependent human breast cancer cells (MCF-7Ca) *in vivo*. *Carcinogenesis*, 2008; 29: 2162–2168
- [36] Kim J.Y., Choi H.G., Lee H.M., Lee G.A., Hwang K.A., Choi K.C.: Effects of bisphenol compounds on the growth and epithelial mesenchymal transition of MCF-7 CV human breast cancer cells. *J. Biomed. Res.*, 2017; 31: 358–369
- [37] Lapensee E.W., Tuttle T.R., Fox S.R., Ben-Jonathan N.: Bisphenol A at low nanomolar doses confers chemoresistance in estrogen receptor- α -positive and -negative breast cancer cells. *Environ. Health Perspect.*, 2009; 117: 175–180
- [38] Lim D.S., Roh T.H., Kim M.K., Kwon Y.C., Choi S.M., Kwack S.J., Kim K.B., Yoon S., Kim H.S., Lee B.M.: Non-cancer, cancer, and dermal sensitization risk assessment of heavy metals in cosmetics. *J. Toxicol. Environ. Health A*, 2018; 81: 432–452
- [39] Lubovac-Pilav Z., Borràs D.M., Ponce E., Louie M.C.: Using expression profiling to understand the effects of chronic cadmium exposure on MCF-7 breast cancer cells. *PLoS One*, 2013; 8: e84646
- [40] Luevano J., Damodaran C.: A review of molecular events of cadmium-induced carcinogenesis. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 2014; 33: 183–194
- [41] Makowski M., Połać I., Pertyński T.: Estrogeny a rak sutka. *Prz. Menopauz.*, 2007; 3: 150–154
- [42] Marino M., Pellegrini M., La Rosa P., Acconcia F.: Susceptibility of estrogen receptor rapid responses to xenoestrogens: Physiological outcomes. *Steroids*, 2012; 77: 910–917
- [43] Martínez-Campa C.M., Alonso-González C., Mediavilla M.D., Cos S., González A., Sanchez-Barcelo E.J.: Melatonin down-regulates hTERT expression induced by either natural estrogens (17- β estradiol) or metalloestrogens (cadmium) in MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer Lett.*, 2008; 268: 272–277
- [44] Matejczyk M., Zalewski P.: Związki endokrynnie aktywne i ich aktywność biologiczna. *Kosmos*, 2011; 1–2: 17–32
- [45] Mędreła-Kuder M.: Czynniki ryzyka raka piersi – Porównanie wiedzy na ten temat u „Amazonek” i kobiet zdrowych w wieku 40–60 lat. *Pol. Przegl. Nauk Zdr.*, 2016; 2: 142–147
- [46] Mlynarcikova A., Macho L., Fickova M.: Bisphenol A alone and in combination with estradiol modulates cell cycle- and apoptosis-related proteins and genes in MCF-7 cells. *Endocr. Regul.*, 2013; 47: 189–199
- [47] Murray T.J., Maffini M.V., Ucci A.A., Sonnenschein C., Soto A.M.: Induction of mammary gland ductal hyperplasias and carcinoma *in situ* following fetal bisphenol A exposure. *Reprod. Toxicol.*, 2007; 23: 383–390
- [48] Osborne G., Rudel R., Schwarzman M.: Evaluating chemical effects on mammary gland development: A critical need in disease prevention. *Reprod. Toxicol.*, 2015; 54: 148–155
- [49] Osuna M.A.L., Nichols C., Perry C., Runke S., Krutilina R., Seagroves T.N., Miranda-Carboni G.A., Krum S.A.: Methylparaben stimulates tumor initiating cells in ER+ breast cancer models. *J. Appl. Toxicol.* 2017; 37: 417–425
- [50] Paruthiyil S., Parmar H., Kerekatte V., Cunha G.R., Firestone G.L., Leitman D.C.: Estrogen receptor β inhibits human breast cancer cell proliferation and tumor formation by causing a G2 cell cycle arrest. *Cancer Res.*, 2004; 64: 423–428
- [51] Pastor-Barruso R., Fernández M.F., Castaño-Vinyals G., Whelan D., Pérez-Gómez B., Llorca J., Villanueva C.M., Guevara M., Molina-

- Molina J.M., Artacho-Cordón F., Barriuso-Lapresa L., Tusquets I., Dierssen-Sotos T., Aragonés N., Olea N., Kogevinas M., Pollán M.: Total effective xenoestrogen burden in serum samples and risk for breast cancer in a population-based multicase-control study in Spain. *Environ. Health Perspect.*, 2016; 124: 1575–1582
- [52] Paulose T., Speroni L., Sonnenschein C., Soto A.M.: Estrogens in the wrong place at the wrong time: fetal BPA exposure and mammary cancer. *Reprod. Toxicol.*, 2015; 54: 58–65
- [53] Rochefort H.: Endocrine disruptors (EDs) and hormone-dependent cancers: Correlation or causal relationship? *C.R. Biol.*, 2017; 340: 439–445
- [54] Rodgers K.M., Udesky J.O., Rudel R.A., Brody J.G.: Environmental chemicals and breast cancer: An updated review of epidemiological literature informed by biological mechanisms. *Environ. Res.*, 2018; 160: 152–182
- [55] Rogala D., Kulik-Kupka K., Spychała A., Śnieżek E., Janicka A., Moskalenko O.: Bisfenol A – niebezpieczny związek ukryty w tworzywach sztucznych. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2016; 97: 213–219
- [56] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1907/2006 (rozporządzenie REACH) oraz nr 1223/2009 (rozporządzenie dotyczące produktów kosmetycznych)] Scientific Committee on Consumer Safety SCCS. OPINION ON Parabens https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety_en
- [57] Russo J., Russo I.H.: The role of estrogen in the initiation of breast cancer. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, 2006; 102: 89–96
- [58] Samavat H., Kurzer M.S.: Estrogen metabolism and breast cancer. *Cancer Lett.*, 2015; 356: 231–243
- [59] Seachrist D.D., Bonk K.W., Ho S.M., Prins G.S., Soto A.M., Keri R.A.: A review of the carcinogenic potential of bisphenol A. *Reprod. Toxicol.*, 2016; 59: 167–182
- [60] Siewit C.L., Gengler B., Vegas E., Puckett R., Louie M.C.: Cadmium promotes breast cancer cell proliferation by potentiating the interaction between ER α and c-Jun. *Mol. Endocrinol.*, 2010; 24: 981–992
- [61] Song H., Zhang T., Yang P., Li M., Yang Y., Wang Y., Du J., Pan K., Zhang K.: Low doses of bisphenol A stimulate the proliferation of breast cancer cells via ERK1/2/ERR γ signals. *Toxicol. In Vitro* 2015; 30: 521–528
- [62] Song X., Wei Z., Shaikh Z.A.: Requirement of ER α and basal activities of EGFR and Src kinase in Cd-induced activation of MAPK/ERK pathway in human breast cancer MCF-7 Cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2015; 287: 26–34
- [63] Sowa M., Smuczyński W., Tarkowski M., Wójcik K., Kocharński B.: Analiza wybranych czynników ryzyka raka piersi – przegląd piśmiennictwa = Analysis of the selected risk factors for breast cancer – literature review. *J. Educ. Health Sport*, 2015; 5: 245–250
- [64] Stohs S.J., Bagchi D., Hassoun E., Bagchi M.: Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 2001; 20: 77–88
- [65] Stopińska-Głuszak U., Głuszak O.: Rak gruczołu piersiowego: epidemiologia i patogeneza. *Postępy Nauk Med.*, 2008; 3: 159–164
- [66] Sun L., Yu T., Guo J., Zhang Z., Hu Y., Xiao X., Sun Y., Xiao H., Li J., Zhu D., Sai L., Li J.: The estrogenicity of methylparaben and ethylparaben at doses close to the acceptable daily intake in immature Sprague-Dawley rats. *Sci. Rep.*, 2016; 6: 25173
- [67] Świtalska M., Strzdała L.: Niegienomowe działanie estrogenów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2007; 61: 541–547
- [68] Tomczyńska M., Saluk J., Sawicka E.: Estrogenne działanie kadmu i glinu. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2016; 97: 1–5
- [69] Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M.: Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.*, 2006; 160: 1–40
- [70] Vrtačnik P., Ostanek B., Mencej-Bedrač S., Marc J.: The many faces of estrogen signaling. *Biochem. Med.*, 2014; 24: 329–342
- [71] Wallace D.R.: Nanotoxicology and metalloestrogens: Possible involvement in breast cancer. *Toxics*, 2015; 3: 390–413
- [72] Wang J., Jenkins S., Lamartiniere C.A.: Cell proliferation and apoptosis in rat mammary glands following combinational exposure to bisphenol A and genistein. *BMC Cancer*, 2014; 14: 379
- [73] Wang Z., Liu H., Liu S.: Low-dose bisphenol A exposure: a seemingly instigating carcinogenic effect on breast cancer. *Adv. Sci.*, 2016; 4: 1600248
- [74] Warth B., Raffener P., Granados A., Huan T., Fang M., Forsberg E.M., Benton H.P., Goetz L., Johnson C.H., Siuzdak G.: Metabolomics reveals that dietary xenoestrogens alter cellular metabolism induced by palbociclib/letrozole combination cancer therapy. *Cell. Chem. Biol.*, 2018; 25: 291–300.e3
- [75] Watson C.S., Hu G., Paulucci-Holthausen A.A.: Rapid actions of xenoestrogens disrupt normal estrogenic signaling. *Steroids*, 2014; 81: 36–42
- [76] Wojciechowska U., Czaderny K., Ciuba A., Olasek P., Didkowska J.: Nowotwory złośliwe w Polsce w 2016 roku. Krajowy Rejestr Nowotworów, Warszawa 2018
- [77] World Health Organization, Breast cancer. Internet: <http://www.who.int/cancer/prevention/diagnosis-screening/breast-cancer/en/> (23.04.2018)
- [78] Woźniak M., Murias M.: Ksenoestrogeny: substancje zakłócające funkcjonowanie układu hormonalnego. *Ginekol. Pol.*, 2008; 79: 785–790
- [79] Wróbel A., Gregoraszczyk E.L.: Effects of single and repeated *in vitro* exposure of three forms of parabens, methyl-, butyl- and propylparabens on the proliferation and estradiol secretion in MCF-7 and MCF-10A cells. *Pharmacol. Rep.*, 2013; 65: 484–493
- [80] Zielniok K., Gajewska M., Motyl T.: Molekularne aspekty działania 17 β -estradiolu i progesteronu w komórkowych szlakach sygnałowych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 777–792

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.