

# Wpływ standaryzowanego wyciągu z *Epilobium angustifolium* na ekspresję mRNA receptorów estrogenowych $\alpha$ i $\beta$ w modelu *in vivo*

Influence of standardized extract of *Epilobium angustifolium* on estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  expression in *in vivo* model

Kujawski Radosław<sup>1</sup>, Mrozikiewicz Przemysław M.<sup>1,2</sup>, Bogacz Anna<sup>1,2</sup>,  
Cichocka Joanna<sup>1</sup>, Mikołajczak Przemysław Ł.<sup>1,3</sup>, Czerny Bogusław<sup>1,4</sup>,  
Bobkiewicz-Kozłowska Teresa<sup>3</sup>, Grześkowiak Edmund<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zakład Farmakologii i Biotechnologii, Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich, Poznań

<sup>2</sup> Pracownia Farmakogenetyki Doświadczalnej, Katedra i Zakład Farmacji Klinicznej i Biofarmacji; Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, Poznań

<sup>3</sup> Katedra i Zakład Farmakologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, Poznań

<sup>4</sup> Zakład Farmakologii Ogólnej i Farmakoekonomiki, Wydział Nauk o Zdrowiu, Pomorska Akademia Medyczna, Szczecin

## Streszczenie

**Cel pracy:** Określenie molekularnego mechanizmu działania wyciągu z *Epilobium angustifolium* w indukowanym obecnością testosteronu brzuszny płacie gruczołu krokowego w modelu *in vivo* poprzez ocenę zmian profilu ekspresji mRNA receptora estrogenowego  $\alpha$  ( $ER\alpha$ ) i receptora estrogenowego  $\beta$  ( $ER\beta$ ) oraz zmiany w poziomie estradiolu w surowicy.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 6 grupach po 10 zwierząt z zastosowaniem modelu indukcji testosteronem łagodnego przerostu gruczołu krokowego. Przeprowadzono ocenę względnego poziomu ekspresji mRNA  $ER\alpha$  i  $ER\beta$  w płacie brzuszny szczurzej prostaty metodą real-time PCR z zastosowaniem aparatu Light Cycler. Analizę poziomu wolnego estradiolu w surowicy dokonano metodą immunoenzymatyczną.

**Wyniki:** W zastosowanym modelu badawczym u zwierząt otrzymujących ekstrakt z *E. angustifolium* wraz z testosteronem stwierdzono 9% wzrost ekspresji mRNA  $ER\alpha$  względem grupy indukowanej samym hormonem, a obniżenie poziomu mRNA  $ER\beta$  o 36% oraz nieznaczne zwiększenie stężenia wolnego estradiolu ( $E_2$ ) w surowicy w grupie otrzymującej łącznie hormon z ekstraktem i grupie zwierząt otrzymujących testosteron wraz z finasterydem, kolejno o 35 i 27%.

**Wnioski:** Badany wyciąg z *E. angustifolium* w różnicowany sposób wpływał na ekspresję mRNA receptorów  $\alpha$  i  $\beta$  co sugerować może jego potencjalne właściwości terapeutyczne bądź wywoływanie działań niepożądanych w terapii zaburzeń estrogenozależnych. Zachodzi potrzeba przeprowadzenia bardziej kompleksowych badań mających na celu ustalenie bezpieczeństwa i zwiększenie efektywności badanego wyciągu.

Słowa kluczowe: **estrogeny / receptory estrogenowe  $\alpha$  i  $\beta$  / selektywne modulatory receptorów estrogenowych (SERM) / fitoterapeutyki / *Epilobium angustifolium* /**

## Adres do korespondencji:

Radosław Kujawski  
Zakład Farmakologii i Biotechnologii, Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich,  
Zakład Farmakologii i Biotechnologii  
ul. Wojska Polskiego 71b, 60-630 Poznań  
tel.: +48 (061) 665 95 50, fax: +48 (061) 665 95 51  
email: kujawskiradoslaw@gmail.com; radoslaw.kujawski@iwnirz.pl

Otrzymano: 15.06.2010  
Zaakceptowano do druku: 25.07.2010

## Abstract

**Objective:** Evaluation of the influence of the standardized extract from the herb of *Epilobium angustifolium* on ER $\alpha$  and ER $\beta$  mRNA expression in rat ventral prostate tissue and free serum estradiol level.

**Materials and methods:** Rats were divided into 6 groups with 10 animals. ER $\alpha$  and ER $\beta$  mRNA expression in rat ventral prostate tissue level was performed using real-time PCR method in Light Cycler system. Serum-free estradiol was evaluated using immunoenzymatic technique.

**Results:** In our experimental model there was an increase of ER $\alpha$  mRNA level by 9% and decrease by 36% of ER $\beta$  mRNA level in ventral prostate tissue in rats administrated with testosterone and *E. angustifolium* extract, in comparison with testosterone alone administrated animals.

**Conclusions:** *E. angustifolium* standardized extract influenced the expression of estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  mRNAs in differential manner which may suggest its potentially therapeutic properties or causing of adverse effects in pharmacotherapy of estrogen-related disorders. More complex studies should be undertaken to evaluate safety and to improve the efficacy of using this herbal extract.

Key words: **estrogens, estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  / selective estrogen receptor modulators (SERM) / phytotherapeutics / *Epilobium angustifolium* /**

## Wstęp

Estrogeny są hormonami o budowie steroidowej, które cechuje obecność aromatycznego pierścienia A oraz brak charakterystycznej dla innych steroidów grupy metylowej przy C<sub>10</sub> (na styku pierścieni A i B) i podstawnika przy C<sub>17</sub>. Jajniki w cyklu miesięczkowym są głównym narządem biosyntezy estrogenów, ich wytwarzanie zachodzi również w innych tkankach, jak np. w łożysku, kościach, mózgu, w adipocytach (estron), komórkach mezenchymatycznych skóry [1, 2].

Estrogeny regulują wiele procesów fizjologicznych w organizmie człowieka, co szczególnie widoczne jest u kobiet, u których kontrola funkcji rozrodczych jest podstawowym efektem fenotypowym ich działania [1, 2]. Odpowiedzialne są zwłaszcza za kontrolę cyklu miesięczkowego, powodują proliferację komórek endometrium, przerost gruczołów szyjki macicy wydzielających śluz oraz przerost błony śluzowej pochwy [1, 2].

U mężczyzn estradiol wytwarzany jest głównie w tkance tłuszczowej i mózgu, a także w nadnerczach, wątrobie, gruczołach sutkowych i włosach. W najmniejszym stopniu wytwarzany jest on w gonadzie męskiej (5%) [3].

W tkankach docelowych estrogeny oddziałują przy udziale specyficznych receptorów estrogenowych występujących w dwóch izoformach, tj. w postaci receptora estrogenowego  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) oraz receptora estrogenowego  $\beta$  (ER $\beta$ ) należących do podrodziny białek NR3A [4]. Oba typy receptorów charakteryzują się komórkowo i tkankowo-specyficznym poziomem ekspresji i lokalizacji. ER $\alpha$  i ER $\beta$  występują w układzie rozrodczym, krwionośnym, pokarmowym, nerwowym, oddechowym i kostnym [1, 5-9].

Nieprawidłowy poziom hormonów estrogenowych, zmiany w poziomie ekspresji ER $\alpha$  i ER $\beta$  mogą skutkować wystąpieniem niektórych chorób nowotworowych o różnym stopniu złośliwości, wrażliwości na farmakoterapię, np. raka piersi (u osób wykazujących ekspresję obu form ER oraz receptora progesteronu (PR) lub ich brak), prostaty, jelita grubego oraz chorób nienowotworowych jak np. osteoporozy w okresie okołomenopauzalnym i po menopauzie [4, 10-15, 17-21].

Hamowanie lub pobudzanie wytwarzania ER w różnych tkankach u kobiet w okresie klimakterium stanowi podstawowy mechanizm stosowania klasycznej terapii estrogenowej – leków z grupy SERM (*selective estrogen receptor modulators* – selektywne modulatory receptorów estrogenowych; grupy strukturalnie zróżnicowanych związków wiążących się z receptorami estrogenowymi i wywołujących antagonistyczne lub agonistyczne działanie w zależności od tkanki docelowej oraz środowiska hormonalnego) [20, 22-25].

Alternatywę dla SERM stosowanych w leczeniu schorzeń związanych z zaburzonym funkcjonowaniem estrogenów i ich receptorów stanowią mogą preparaty oparte na bazie surowców roślinnych stanowiących głównie suplementy diety oraz leki pochodzenia roślinnego, zyskujące coraz większe znaczenie w zapobieganiu chorobom cywilizacyjnym oraz we wspomaganiu terapii lekiem syntetycznym [26].

Na szczególną uwagę zasługują surowce roślinne charakteryzujące się wysoką zawartością metabolitów wtórnych o zbliżonym mechanizmie działania do leków syntetycznych oraz o podobnej do estrogenów strukturze chemicznej określane terminem fitoestrogenów (m.in. z grupy lignanów, izoflawonów, flawonów, di- i triterpenoidów) [27]. Mając na uwadze fakt, iż oba receptory estrogenowe ulegają ekspresji w poszczególnych kompartmentach gruczołu krokowego na różnym poziomie u mężczyzn w stanie fizjologicznym i w toku progresji łagodnego przerostu gruczołu krokowego (BPH – *benign prostatic hyperplasia*) autorzy podjęli próbę oceny wpływu wyciągu z jednego z przedstawicieli roślin z rodzaju *Epilobium* wykorzystywanych powszechnie w profilaktyce BPH na aktywność receptorów estrogenowych  $\alpha$  i  $\beta$  w brzusznej płacie gruczołu krokowego w modelu *in vivo* na poziomie molekularnym [4, 17, 18].

## Cel pracy

Celem pracy było określenie molekularnego mechanizmu działania standaryzowanego suchego wyciągu wodnego z zieleń *Epilobium angustifolium* w indukowanym obecnością testosteronu brzusznej płacie gruczołu krokowego w modelu *in vivo* poprzez ocenę zmian profilu ekspresji mRNA receptora estrogenowego  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) i receptora estrogenowego  $\beta$  (ER $\beta$ ) oraz zmiany w poziomie estradiolu w surowicy szczurzej.

## Materiały i metody

### Surowiec roślinny, standaryzacja

Zawartość substancji czynnych w suchym wodnym wyciągu z zioła *Epilobium angustifolium* wyniosła: flawonoglikozydów w przeliczeniu na kwercetynę [%] – 0,44; związków fenolowych w przeliczeniu na kwas galusowy [%] – 9,39; garbników w przeliczeniu na progallol [%] – 4,03; steroli w przeliczeniu na  $\beta$ -sitosterol [%] – 0,18.

### Schemat doświadczenia, dawkowanie

Samce szczurów rasy Wistar o masie ciała 230-350g w wieku około 4 tygodni poddano kastracji przed przeprowadzeniem doświadczenia. Przerost gruczołu krokowego wywołano podawaniem testosteronu.

Grupy zwierząt podzielono na 6 grup o liczebności 10 szczurów. Grupy badane stanowiły zwierzęta otrzymujące finasteryd (7-krotnie co 3 dni w dawce 50mg/kg) wraz z testosteronem (*Testosteronum prolongatum* 100mg/ml w oleju arachidowym (podskórnie) + woda + PEG 400 1:1, dożołądkowo, 3-krotnie co 7 dni w dawce 40mg/kg – grupa „TF”) oraz testosteron w dawce j.w. wraz z suchym wyciągiem wodnym z zioła *Epilobium angustifolium* rozpuszczonym w roztworze wodnym + PEG 400 1:1 (dożołądkowo) w dawce 100mg/kg m.c. przez 21 dni (grupa „TE”) [28, 29].

Po 21 dniach podawania ww. substancji zwierzęta poddano dekapitacji, do dalszych badań pobrano części brzuszne prostaty oraz krew obwodową. Grupy kontrolne stanowiły zwierzęta, którym podskórnie podawano olej arachidonowy rozpuszczony odpowiednio w DMSO+PEG 300 1:4 (grupa K1) lub w wodzie + PEG 400 1:1 (K2) oraz szczury otrzymujące sam testosteron (*Testosteronum prolongatum* 100mg/ml w oleju arachidowym (podskórnie) + woda + PEG 400 1:1, dożołądkowo, 3-krotnie co 7 dni w dawce 40mg/kg [29]. Badania przeprowadzono zgodnie z ustawą o ochronie zwierząt z dnia 21 stycznia 2005r. (Dz.Ust. nr 33 poz. 289, z dnia 24 lutego 2005) oraz zgodą Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach (Nr 54/2007).

### Ocena poziomu estradiolu w surowicy

Analizę zmian poziomu estradiolu w surowicy prowadzono metodą immunoenzymatyczną (ELISA) z zastosowaniem czytelnika płytek Sunrise (Tecan, Grodig/Salzburg, Austria) z użyciem komercyjnego zestawu firmy Alpha Diagnostics (Alpha Diagnostics International, San Antonio, Texas, USA) postępując zgodnie z zaleceniami producenta. Odczyt i wizualizacje wyników przeprowadzono przy użyciu oprogramowania Magellan Software (v.6.6).

### Ocena zmian poziomów ekspresji mRNA ER $\alpha$ i ER $\beta$

Przeprowadzono izolację całkowitego RNA z fragmentów prostaty szczurzych przy użyciu odczynnika TriPure (Roche, Mannheim, Germany) zgodnie z instrukcją przedstawioną przez producenta.

Reakcje odwrotnej transkrypcji (przepisania puli wyizolowanych z prób mRNA na cDNA) przeprowadzono w systemie *Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit* (Roche, Mannheim, Germany) zgodnie z zaleceniami producenta, biorąc 1 $\mu$ g całkowitego RNA do reakcji. Ilościowe oszacowanie zmian poziomu ekspresji mRNA badanych receptorów przeprowadzono wykorzystując technikę PCR w czasie rzeczywistym (*real-time*

PCR) w systemie kapilarnym Roche Light Cycler (Roche, Mannheim, Germany) z użyciem barwnika Sybr Green zawartym w zestawie Fast Start DNA Master Sybr Green I (Roche, Mannheim, Germany). Uzyskany wynik dla analizowanego genu normalizowano względem referencyjnego – GAPDH (dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego – *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*). Skład mieszaniny reakcyjnej na pojedynczą próbę oraz profil termiczny reakcji PCR dla poszczególnych genów przedstawiono w tabeli nr I.

Sekwencje użytych w reakcji PCR starterów (primerów) zaprezentowano w tabeli nr II.

### Analiza statystyczna

Wyniki uzyskane metodą PCR w czasie rzeczywistym, zarówno dla genu badanego jak i standardu wewnętrznego zestawiono w stosunku do kontroli przyjmowanej jako 1. Wartości dla genu badanego normalizowano do standardu wewnętrznego (GAPDH) i uśredniano. Wpływ substancji badanych na poziom estradiolu w surowicy, poziom ekspresji badanych genów oszacowano za pomocą analizy wariancji (*ANOVA*) z wykorzystaniem oprogramowania SPSS v.17 (Amos Development Corp., Chicago, USA). Wartości  $p < 0,005$  przyjmowano jako statystycznie istotne.

## Wyniki

Średnie wartości stężeń estradiolu w surowicy u poszczególnych grup zwierząt (grupy „K1”, „K2”, „T”, „TE” i „TF”) wynosiły odpowiednio: 41,06; 45,86; 47,603; 64,07 ( $p < 0,001$ ) i 60,59 pg/ml ( $p < 0,001$ ). W grupach zwierząt przyjmujących hormon (testosteron) wraz z wyciągiem roślinnym (grupa „TE”) oraz finasterydem („TF”) nastąpiło nieznaczne zwiększenie stężenia wolnego estradiolu (E2) w surowicy, względem grupy otrzymującej sam testosteron („T”), kolejno o 35 i 27%. Wyciąg z zioła *E. angustifolium* spowodował pojawienie się największego stężenia testosteronu względem grup kontrolnych oraz grupy przyjmującej jedynie sam androgen. Wpływ ww. ekstraktu roślinnego oraz finasterydu na poziom E2 był zbliżony.

W grupie zwierząt otrzymujących testosteron wraz z finasterydem (grupa „TF”) nastąpił 16% wzrost poziomu ekspresji mRNA ER $\alpha$  w płacie brzusznej szczurzej prostaty względem zwierząt kontrolnych. W grupach „T” i „TE” efekt był przeciwny - stwierdzono obniżenie poziomu ekspresji jego mRNA o 24 i 15% względem zwierząt kontrolnych. U zwierząt otrzymujących ekstrakt z *E. angustifolium* wraz z hormonem (grupa „TE”) nastąpił 9% wzrost ekspresji jego mRNA względem grupy indukowanej testosteronem. Ekstrakt ten wykazał zatem słabszą zdolność indukującą jego ekspresję aniżeli finasteryd. (Rycina 1).

W grupach „T”, „TE”, „TF”, stwierdzono znaczny wzrost poziomu ekspresji mRNA ER $\beta$ , kolejno o 299, 263, 299% względem zwierząt kontrolnych („K1”, „K2”). U zwierząt otrzymujących testosteron wraz z ekstraktem roślinnym nastąpiło obniżenie jego poziomu ekspresji względem grupy „T”, tj. o 36%. Nie stwierdzono zmian w poziomie ekspresji badanego mRNA w grupie kontrolnej stymulowanej testosteronem (grupa „T”) oraz otrzymującej hormon wraz z lekiem syntetycznym – finasterydem (grupa „TF”). (Rycina 2).

Obecność *E. angustifolium* spowodowała wzrost poziomu ekspresji mRNA ER $\alpha$ , a obniżenie ER $\beta$  w brzusznej płacie prostaty szczurów względem grupy „T”.

**Tabela I.** Skład mieszaniny reakcyjnej na pojedynczą próbę warunkującej prawidłową amplifikację określonego fragmentu cDNA genu ER $\alpha$  i ER $\beta$  oraz profil termiczny reakcji PCR dla badanych genów.

Odczynnik	ER $\alpha$			ER $\beta$	
	Stężenie	Objętość [ $\mu$ l]	Stężenie	Objętość [ $\mu$ l]	
H <sub>2</sub> O	----	6,7		6,3	
MgCl <sub>2</sub>	3mM	0,8	4mM	1,2	
Starter Forward	0,25 $\mu$ M	0,25	0,25 $\mu$ M	0,25	
Starter Reverse	0,25 $\mu$ M	0,25	0,25 $\mu$ M	0,25	
Light Cycler Fast-Start Reaction Mix SYBR Green I (10x stężony)	1x	1	1x	1	
cDNA	----	1	----	1	
Warunki reakcji PCR					
Badany gen	Liczba cykli	Denaturacja wstępna	Wiązanie starterów (annealing)	Synteza nici komplementarnej (elongacja)	Chłodzenie
GAPDH	30	95°C, 600s.	95°C, 4s.	56°C, 8s.	40°C, 30s
ER $\alpha$	50		95°C, 8s.	60°C, 3s.	
ER $\beta$	45		95°C, 5s.	61°C, 3s.	

**Tabela II.** Sekwencje starterów użytych do reakcji PCR w czasie rzeczywistym. GAPDH – dehydrogenaza gliceroaldehidofosforanowa.

Izoformy	Sekwencja startera Forward (5' → 3')	Sekwencja startera Reverse (5' → 3')	Wielkość produktu (pz)
ER $\alpha$	TGGAGATTCAAGTCCCCAAA	GATGGGCTTATTGACCAACC	201
ER $\beta$	GAGGTGCTAATGGTGGGACT	CGAGGTCGGGAGCGAAA	238
GAPDH	GATGGTGAAGGTCGGTGTG	ATGAAGGGGTCGTTGATGG	108

## Dyskusja

Z uwagi na fakt, iż receptory estrogenowe  $\alpha$  i  $\beta$  regulują wiele funkcji w organizmie człowieka dla kobiet cierpiących na schorzenia związane z zaburzonym funkcjonowaniem receptorów estrogenowych, wykorzystywanie preparatów opartych na bazie surowców roślinnych o wysokiej zawartości metabolitów oddziałujących z receptorami estrogenowymi, głównie fitoestrogenów może stanowić alternatywę dla leków syntetycznych należących do grupy SERM [5, 26].

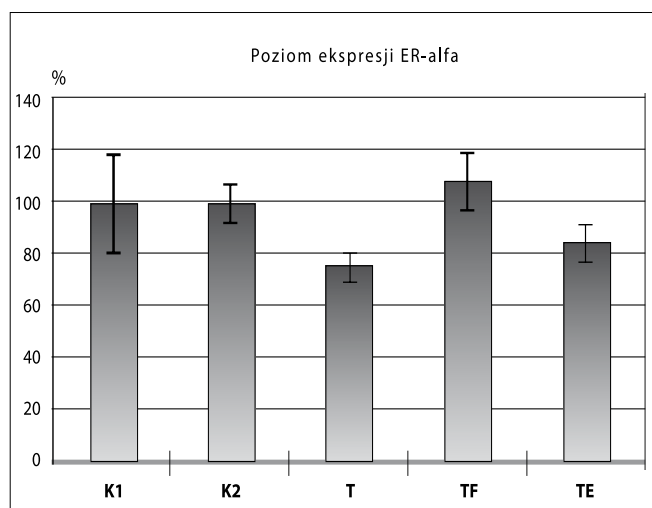
W profilaktyce i łagodzeniu objawów towarzyszącym BPH powszechnie stosuje się surowce roślinne takie jak boczniak piłkowany (*Serenoa repens*), śliwa afrykańska (*Pygeum africanum*), a coraz częściej również przedstawiciele z rodzaju *Epilobium* (*Epilobium angustifolium*, *E. parviflorum*, *E. roseum*, *E. palustre*, *E. adnatum*, *E. hirsutum* i in.) - wykazujące działanie antyproliferacyjne, przeciwoestrogenowe, przeciwoestrogenowe i charakteryzujące się względnie wysoką zawartością fitosteroli oraz flawonoidów [20, 30-35].

Obserwowane właściwości biologiczne przypisuje się stwierdzonym w ziele i oleju uzyskanego z nasion roślin *Epilobium* sp. oraz uzyskiwanych z nich wyciągach flawonoidom, ich glikozydowym pochodnym oraz taninom (głównie należącym do grupy ellagitanin, tj. oenoteina A i B) [32, 36-38].

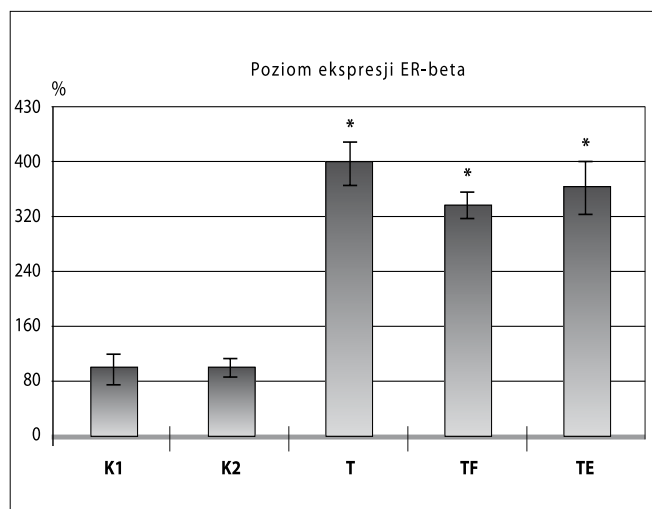
Postęp wiedzy tłumaczący mechanizmy działania standaryzowanych ekstraktów z roślinnych surowców leczniczych skłonił autorów do oceny efektywności i poznania molekularnego wpływu standaryzowanego suchego wyciągu z ziele wierzbownicy wąskolistnej (*Epilobium angustifolium*) na poziom ekspresji receptorów estrogenowych  $\alpha$  i  $\beta$  w płacie brzusznej prostaty u szczurów. Wyniki stężeń estradiolu w surowicy badanych zwierząt są zbliżone do otrzymanych przez Brewster i wsp. oraz Lane i wsp., a obserwowane wysokie wartości według oceny autorów mogą być efektem stosowanej dawki testosteronu oraz czasu trwania doświadczenia [39,40].

Wyniki dotychczasowych badań wskazują, iż oba receptory estrogenowe ulegają ekspresji w poszczególnych kompartmentach gruczołu krokowego na różnym poziomie, w komórkach zrębu przeważają ER $\alpha$ , natomiast w częściach bazalnych komórek nabłonka stwierdza się obecność obu receptorów [4, 17, 18]. Na podstawie analizy literaturowej przypuszczać można, iż wzrost poziomu ekspresji mRNA ER $\alpha$  i ER $\beta$ , a w szczególności izoformy  $\beta$  w grupie otrzymującej testosteron wraz z finasterydem (grupa „TF”) względem grup kontrolnych zwierząt może być efektem działania samego androgeny, leku syntetycznego – każdego z osobna lub ich synergizmu na czynniki białkowe, regulujących procesy transkrypcji mRNA badanych receptorów, co miało również swoje odzwierciedlenie w stężeniu wolnego estradiolu w surowicy badanych szczurów.

Wpływ standaryzowanego wyciągu z *Epilobium angustifolium* na ekspresję mRNA receptorów estrogenowych...



**Rycina 1.** Graficzne przedstawienie zmian poziomu ekspresji mRNA receptora estrogenowego  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) w poszczególnych grupach płata brzusznej prostaty szczurzej. „K1”, „K2” – grupy kontrolne zwierząt nieotrzymujących substancji czynnych; T – grupa kontrolna zwierząt otrzymująca testosteron; „TE”, „TF” – zwierzęta stymulowane testosteronem otrzymujące kolejno wyciąg z *E. angustifolium* i finasteryd. \* P <0,05. Na wykresie przedstawiono średnie wartości dla poszczególnych grup z zaznaczoną wartością SEM.



**Rycina 2.** Graficzne przedstawienie zmian poziomu ekspresji mRNA receptora estrogenowego  $\beta$  (ER $\beta$ ) w poszczególnych grupach płata brzusznej prostaty szczurzej. Opis poszczególnych grup zwierząt – patrz Rycina 1. \* P <0,05. Na wykresie przedstawiono średnie wartości dla poszczególnych grup z zaznaczoną wartością SEM.

## Wnioski

Obserwowany w eksperymencie molekularny mechanizm działania suchego wyciągu wodnego z zioła *Epilobium angustifolium* pozwala na podkreślenie wagi i znaczenia podjęcia bardziej kompleksowych badań przedklinicznych z udziałem badanego surowca roślinnego oraz innych przedstawicieli *Epilobium* sp. mających wpływ na aktywność molekularną receptorów estrogenowych  $\alpha$  i  $\beta$ .

Otrzymane dane eksperymentalne mogą potwierdzić istotne właściwości profilaktyczne lub terapeutyczne badanych wyciągów u kobiet cierpiących na schorzenia postępujące wraz z wiekiem, u podstaw których leży zaburzona gospodarka estrogenów bądź wykazać potencjalne działania niepożądane w farmakoterapii zaburzeń estrogenozależnych.

**Praca finansowana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach grantu nr N405101934.**

## Piśmiennictwo

- Simpson E, Rubin G, Clyne C, [et al.]. Local estrogen biosynthesis in males and females. *Endocr Relat Cancer*. 1999, 6, 131-137.
- Frye C. Steroids, reproductive endocrine function, and affect. A review. *Minerva Ginecol*. 2009, 61, 541-562.
- Kula K, Słowikowska-Hilczer J, Walczak-Jędrzejowska R, [i wsp.]. Znaczenie fizjologiczne estrogenów u mężczyzn - przełom w endokrynologii. *IV Konferencja Sekcji Endokrynologii Molekularnej PTE*, Poznań, 2-3.10.2004.
- Prins G, Korach K. The role of estrogens and estrogen receptors in normal prostate growth and disease. *Steroids*. 2008, 73, 233-244.
- Drummond A, Fuller P. The importance of ERbeta signalling in the ovary. *J Endocrinol*. 2010, 205, 15-23.
- Waters K, Safe S, Gaido W. Differential gene expression in response to methoxychlor and estradiol through ERalpha, ERbeta, and AR in reproductive tissues of female mice. *Toxicol Sci*. 2001, 63, 47-56.
- Gustafsson J. Estrogen receptor beta - a new dimension in estrogen mechanism of action. *J Endocrinol*. 1999, 163, 379-383.
- Morani A, Warner M, Gustafsson J. Biological functions and clinical implications of oestrogen receptors alpha and beta in epithelial tissues. *J Intern Med*. 2008, 264, 128-142.
- Bord S, Horner A, Beavan S, [et al.]. Estrogen receptors alpha and beta are differentially expressed in developing human bone. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001, 86, 2309-2314.
- McGuire W. Hormone receptors: their role in predicting prognosis and response to endocrine therapy. *Semin Oncol*. 1978, 5, 428-433.
- Iwao K, Miyoshi Y, Egawa Ch, [et al.]. Quantitative analysis of estrogen receptor - alpha and - beta messenger RNA expression in breast carcinoma by real-time polymerase chain reaction. *Cancer*. 2000; 89, 1732-1738.
- Mann S, Laucirica R, Carlson N, [et al.]. Estrogen receptor beta expression in invasive breast cancer. *Hum Pathol*. 2001, 32, 113-118.
- Jarvinen T, Pelto-Huikko M, Holli K, [et al.]. Estrogen receptor beta is coexpressed with ER alpha and PR and associated with nodal status, grade and proliferation rate in breast cancer. *Am J Pathol*. 2000, 156, 29-35.
- Paruthiyil S, Parmar H, Kerekatte V, [et al.]. Estrogen receptor beta inhibits human breast cancer cell proliferation and tumor formation by causing a G2 cell cycle arrest. *Cancer Res*. 2004, 64, 4234-8.
- Lapidus R, Nass S, Davidson N. The loss of estrogen and progesterone receptor gene expression in human breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 1998, 3, 85-94.
- Fitzpatrick J, Schulman C, Zlotta A, [et al.]. Prostate cancer: a serious disease suitable for prevention. *BJU Int*. 2009, 103, 864-870.
- Untergasser R, Madersbacher S, Berger P. Benign prostatic hyperplasia: age-related tissue-remodeling. *Exp Gerontol*. 2005, 40, 121-128.
- Prins G, Marmor M, Woodham C, [et al.]. Estrogen receptor- $\beta$  messenger ribonucleic acid ontogeny in the prostate of normal and neonatally estrogenized rats. *Endocrinology*. 1998, 139, 874-883.
- Janakiram N, Steele V, Rao C. Estrogen receptor-beta as a potential target for colon cancer prevention: chemoprevention of azoxymethane-induced colon carcinogenesis by raloxifene in F344 rats. *Cancer Prev Res (Phila Pa)*. 2009, 2, 52-59.
- Dhingra K. Antiestrogens-tamoxifen, SERMs and beyond. *Invest New Drugs*. 1999, 17, 285-311.

Kujawski R, et al.

KOMUNIKAT

21. Gallagher J. Advances in bone biology and new treatments for bone loss. *Maturitas*. 2008, 20, 65-69.
22. Tkaczyk M, Kalita K. Estrogen receptor beta--structure, regulation and function. *Postepy Biochem.*, 2001, 47, 72-79. Polish.
23. Wright J, Stouffer R, Rodland K. High-dose estrogen and clinical selective estrogen receptor modulators induce growth arrest, p21, and p53 in primate ovarian surface epithelial cells. *J. Clin Endocrinol Metab.* 2001, 90, 3688-3695.
24. Nattinger A. In the clinic. Breast cancer screening and prevention. *Ann Intern Med.* 2010, 152, ITC41.
25. Baumann C, Castiglione-Gertsch M. Clinical use of selective estrogen receptor modulators and down regulators with the main focus on breast cancer. *Minerva Ginecol.* 2009, 61, 517-539.
26. Kronenberg F, Fugh-Berman A. Complementary and alternative medicine for menopausal symptoms: a review of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med.* 2002, 137, 805-813.
27. Stoklosa-Kwarcirńska H, Skrzypulec V, Rozmus-Warcholińska W. Czy fitoestrogeny zastąpią hormonalną terapię zastępczą? *Gin Prakt.* 2003, 11, 39-44.
28. Verleye M, Akwa Y, Liere P, [et al.]. The anxiolytic etifoxine activates the peripheral benzodiazepine receptor and increases the neurosteroid levels in rat brain. *Pharmacol Biochem Behav.* 2005, 82, 712-720.
29. Kosowicz J, Miskowiak B, Konwerska A, [et al.]. Pneumadin in the rat ventral prostate and its hormonal regulation. *Horm Metab Res.* 2004, 36, 78-81.
30. Vitalone A, Bordi F, Baldazzi C, [et al.]. Anti-proliferative effect on a prostatic epithelial cell line (PZ-HPV-7) by *Epilobium angustifolium* L. *Farmaco.* 2001, 56, 483-489.
31. Vitalone A, Guizzetti M, Costa L, [et al.]. Extracts of various species of *Epilobium* inhibit proliferation of human prostate cells. *J Pharm Pharmacol.* 2003, 55, 683-690.
32. Ducrey B, Marston A, Göhring S, [et al.]. Inhibition of 5 alpha-reductase and aromatase by the ellagitannins oenotherin A and oenotherin B from *Epilobium* species. *Planta Med.* 1997, 63, 111-114.
33. Lesuisse D, Berjonneau J, Ciot C, [et al.]. Determination of oenotherin B as the active 5-alpha-reductase-inhibiting principle of the folk medicine *Epilobium parviflorum*. *J Nat Prod.* 1996, 59, 490-492.
34. Vitalone A, McColl J, Thome D, [et al.]. Characterization of the effect of *Epilobium* extracts on human cell proliferation. *Pharmacology.* 2003, 69, 79-87.
35. Steenkamp V. Phytomedicines for the prostate. *Fitoterapia.* 2003, 74, 545-552.
36. Kiss A, Kowalski J, Melzig M. Induction of neutral endopeptidase activity in PC-3 cells by an aqueous extract of *Epilobium angustifolium* L. and oenotherin B. *Phytomedicine.* 2006, 13, 284-289.
37. Hevesi B, Houghton P, Habtemariam S, [et al.]. Antioxidant and antiinflammatory effect of *Epilobium parviflorum* Schreb. *Phytother Res.* 2009, 23, 719-724.
38. Hevesi B, Blazics B, Kéry A. Polyphenol composition and antioxidant capacity of *Epilobium* species. *J Pharm Biomed Anal.* 2009, 49, 26-31.
39. Brewster M, Anderson W, Pop E. Effect of sustained estradiol release in the intact male rat: correlation of estradiol serum levels with actions on body weight, serum testosterone, and peripheral androgen-dependent tissues. *Physiol Behav.* 1997, 61, 225-229.
40. Lane K, Ricci M, Ho S. Effect of combined testosterone and estradiol-17 beta treatment on the metabolism of E2 in the prostate and liver of noble rats. *Prostate.* 1997, 30, 256-262.



## Polskie Towarzystwo Ginekologiczne

### I Katedra i Klinika Ginekologii Onkologicznej i Ginekologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

### Klinika Położnictwa i Patologii Ciąży Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

### Stowarzyszenie „Zdrowie Kobiety”

Serdecznie zapraszają na:

## Konferencję „Zaburzenia hemostazy w ginekologii i położnictwie”

która odbędzie się w dniach **10-11 września 2010 roku**  
w hotelu „Król Kazimierz” w Kazimierzu Dolnym nad Wisłą

#### Tematyka Konferencji:

- Zaburzenia hemostazy
- Powikłania zatorowo-zakrzepowe w ginekologii
- Krwawienia w praktyce ambulatoryjnej
- Zaburzenia hemostazy w ginekologii operacyjnej
- Zaburzenia hemostazy w okresie okołoporodowym
- Zaburzenia hemostazy w okresie ciąży
- Powikłania zakrzepowo-zatorowe w położnictwie
- Prezentacja przypadków klinicznych

#### Biuro Organizacyjne Konferencji:

I Katedra i Klinika Ginekologii Onkologicznej i Ginekologii  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
20-081 Lublin, ul. Staszica 16  
tel. (81) 532 78 47, 534 74 87  
fax: (81) 532 06 08, 534 74 87

e-mail: [ginonkol@am.lublin.pl](mailto:ginonkol@am.lublin.pl), [konferencja@zdzrowiekobiety.lublin.pl](mailto:konferencja@zdzrowiekobiety.lublin.pl)

Szczegółowe informacje na temat Konferencji dostępne będą  
na stronie internetowej:

**[www.zdzrowiekobiety.lublin.pl](http://www.zdzrowiekobiety.lublin.pl)**

Przewodniczący Komitetu Naukowego Konferencji  
Prof. dr hab. Jan Kotarski

Przewodniczące Komitetu Organizacyjnego Konferencji  
dr hab. Wiesława Bednarek, prof. dr hab. Anna Kwaśniewska