

PŘEHLEDY A ODBORNÁ SDĚLENÍ

Genisteín: sľubná molekula modulujúca rast nádorov a hojenie rán?**Genistein: a promising molecule modulating tumour growth and wound healing?**

Petra Mitrengová • Pavel Mučaji • Vlasta Perželová • Erik Dosedla • Peter Gál

Došlo 4. januára 2018 / Prijato 19. januára 2018

Súhrn

Aj keď bola v rôznych štúdiách popísaná stimulácia hojenia rán po estrogénovej substituúnej terapii, mnohé vedľajšie účinky tejto hormonálnej suplementácie zabraňujú jej výraznému rozšíreniu v klinickej praxi. Na druhej strane sa fytoestrogén genisteín (selektívny modulátor estrogénových receptorov patriaci do skupiny izoflavónov) dostal už do klinického skúšania pri liečbe nádorových ochorení a experimenty naznačujú, že by mohol mať pozitívny vplyv aj na hojenie rán. Medzi hlavné a doteraz objasnené mechanizmy účinku patrí indukcia apoptózy, zastavenie bunkového cyklu, inhibícia angiogenézy a tyrozín kinázovej aktivity, ako aj chemoprevenca nádorových ochorení a zmiernenie klimakterických ťažkostí. Žiaľ nie všetky mechanizmy jeho pôsobenia pri biologických procesoch zapojených do hojenia rán a rastu nádorov sú plne objasnené. Z tohto dôvodu táto prehľadová práca sumarizuje doposiaľ známe vplyvy genisteínu na biologické procesy sledované na rôznych modeloch hojenia rán a na jednotlivých nádoroch.

KLúčové slová: genisteín • tkanivová reparácia a regenerácia • karcinóm • koža

Summary

Although it has been shown that oestrogen replacement therapy is able to improve wound healing, several side

P. Mitrengová, P. Mučaji
Katedra farmakognózie a botaniky, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, SR

V. Perželová
Referát biomedicínskeho výskumu, Východoslovenský ústav srdcových a cievnych chorôb, a.s., Košice, SR

E. Dosedla
Gynekologicko-pôrodnická klinika, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika a Nemocnica Košice-Šaca a.s., 1. súkromná nemocnica, Košice-Šaca, SR

RNDr. Peter Gál, Ph.D., MBA (✉)
Východoslovenský ústav srdcových a cievnych chorôb, a.s.
Ondavská 8, 040 66 Košice, SR
e-mail: pgal@vusoch.sk
Ústav farmakológie, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Košice, SR

effects of this replacement therapy have precluded its common use in clinical practice. On the other hand, the phytoestrogen genistein (the selective oestrogen receptor modulator belonging to the group of isoflavones) has been introduced into several clinical trials to improve cancer treatment efficiency and experiments suggest its positive effect on wound healing. The main mechanisms of action, which have been elucidated so far, include induction of apoptosis, cell cycle arrest, inhibition of angiogenesis and tyrosine kinase activity as well as cancer chemoprevention and reduction of climacteric symptoms. Unfortunately, all underlying mechanism in the modulation of biological processes involved in wound healing and tumour growth are not yet fully understood. Therefore, the present review summarizes the effects of genistein on biological processes in different wound healing models and selected tumours.

Key words: genistein • tissue repair and regeneration • carcinoma • skin

Úvod

Vzhľadom na niektoré negatívne účinky hormonálnej substituúnej terapie sa v poslednom období zvyšuje dopyt po alternatívnych produktoch založených na prírodnej báze. Tu sa uplatňujú fytoestrogény (FE), nesteroidné zlúčeniny rastlinného pôvodu, ktoré štruktúrou a funkciou napodobňujú účinky ľudských estrogénov a pripisujú sa im mnohé prospešné vlastnosti v prevencii a terapii nádorových a kardiovaskulárnych ochorení, ako aj menopauzálnych príznakov a osteoporózy¹. FE vykazujú estrogénne aj antiestrogénne účinky (podobne ako selektívne modulátory estrogénových receptorov (SERM – selective estrogen receptor modulator), v závislosti na koncentrácii cirkulujúcich endogénnych estrogénov a expresii estrogénových receptorov (ER)². Veľkou prednosťou SERM-ov je možnosť dosiahnuť prospešný efekt estrogénov v cieľovom tkanive a zároveň minimalizovať ich škodlivé/nežiaduce účinky na ostatné orgány/tkanivá³. Podobne ako estrogény, aj FE sa viažu na ER a zvyšujú syntézu globulínu viažuceho sexuálne hormóny (SHBG – sex hormone binding globuline) v pečeni⁴, ale ako antiestrogény napr. inhibujú aromatázovú aktivi-

tu a proliferáciu nádorových buniek prsníka²). Klinicky najznámejším predstaviteľom FE je genisteín (GEN). GEN sa zaraďuje medzi prírodné SERM a môže mať napríklad pozitívny vplyv na hojenie rán u postmenopauzálnych žien bez nežiadúcich estrogénnych účinkov na prsník a/alebo maternicu⁵). Okrem toho sa ukázalo, že GEN vykazuje aj antioxidantné vlastnosti reguláciou aktivity antioxidantných enzýmov ako superoxidizmutázy (SOD), heme oxygenase-1 (HO-1) a glutatióperoxidázy (GPx)⁶), čím sa podieľa na neutralizácii reaktívnych kyslíkových radikálov (ROS).

Genisteín

GEN (4',5,7-trihydroxyizoflavón) patrí medzi polyfenoly-izoflavóny⁷). Je to lipofilný žltkastobiely svetlocitlivý kryštalický prášok horkej chuti⁸), s nízkou solubilitou vo vode, avšak dobrou rozpustnosťou v metanole, etanole^{7, 9, 10}) a dimetylsulfoxide⁷). GEN sa v najvyššej koncentrácii nachádza v sóji a sójových produktoch (okrem sójovej omáčky), a to najmä vo forme glykozidických konjugátov¹¹). Najčastejšie sa vyskytuje vo forme biologicky aktívneho β -glukozidu genistínu, pričom fermentáciou alebo trávením sóje a sójových produktov sa z neho uvoľňuje molekula sacharidu a vzniká samotný GEN¹¹). Základnú štruktúru jeho planárnej molekuly¹²) tvorí flavónové jadro zložené z dvoch benzénových kruhov spojených cez heterocyklický pyránový kruh¹³). Molekula GEN je podobná štruktúre 17- β -estradiolu (E2) (obr. 1)¹⁴). Presná pozícia a počet hydroxylových substituentov v molekule izoflavónu determinuje väzbovú aktivitu k ER. Príkladom môže byť vysoká väzbová afinita GEN k ER- β , avšak eliminácia jednej hydroxylovej skupiny (daidzeín, biochanín A) alebo dvoch hydroxylových substituentov (formononetín) spôsobuje veľkú stratu väzbovej aktivity¹⁵). Na druhej strane adícia acetylovaných sacharidových hydroxylov s C=C väzbou v molekule sacharidu a α -glykozidickou väzbou v polohe C7 GEN je dôležitá pre cytotoxickú aktivitu voči nádorovým bunkám¹⁶). Ak je prítomná dvojitá väzba v molekule sacharidu viazaného priamo k aglykónu, zvyšuje sa toxicita, ale keď je prítomná v disacharidovej forme, aktivita a aj selektivita k nádorovým bunkám sa zlepšuje¹⁷). Zmeny štruktúry a ná-

slednej funkčnosti molekuly GEN sú schematicky zobrazené na obrázku 2.

Biologická dostupnosť

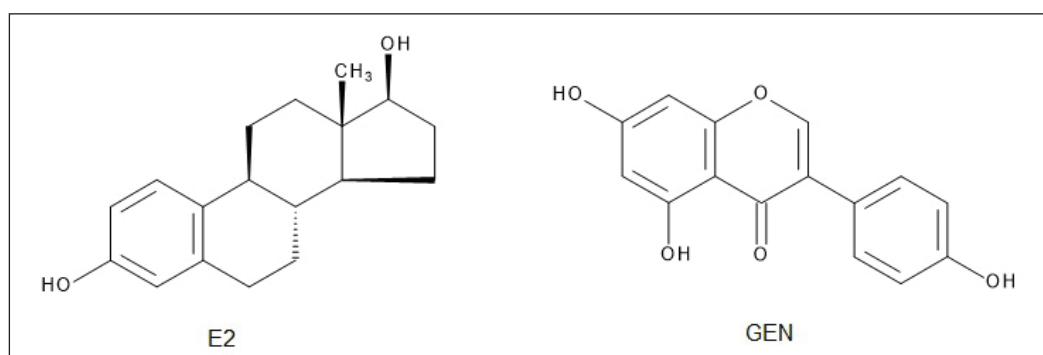
Hoci je GEN rýchlo absorbovaný v tenkom čreve, má nízku biologickú dostupnosť kvôli zlej rozpustnosti vo vode¹⁸) a efektívne nie je ani zvýšenie dávky⁹). Miesto najintenzívnejšieho metabolizmu GEN je tenké črevo a pečeň, pričom jeho hlavnými metabolickými dráhami sú glukuronidácia a v menšom rozsahu sulfonácia^{9, 18, 19}). Niektoré ďalšie tkanivá (obličky, srdce, pľúca) majú takisto vysokú hladinu expresie glukuronyltransferázy a sulfotransferázy, čo umožňuje jeho metabolizovanie⁹). Z uvedených dôvodov je preto efektívnejšie podávať GEN parenterálne²⁰).

Signalizácia

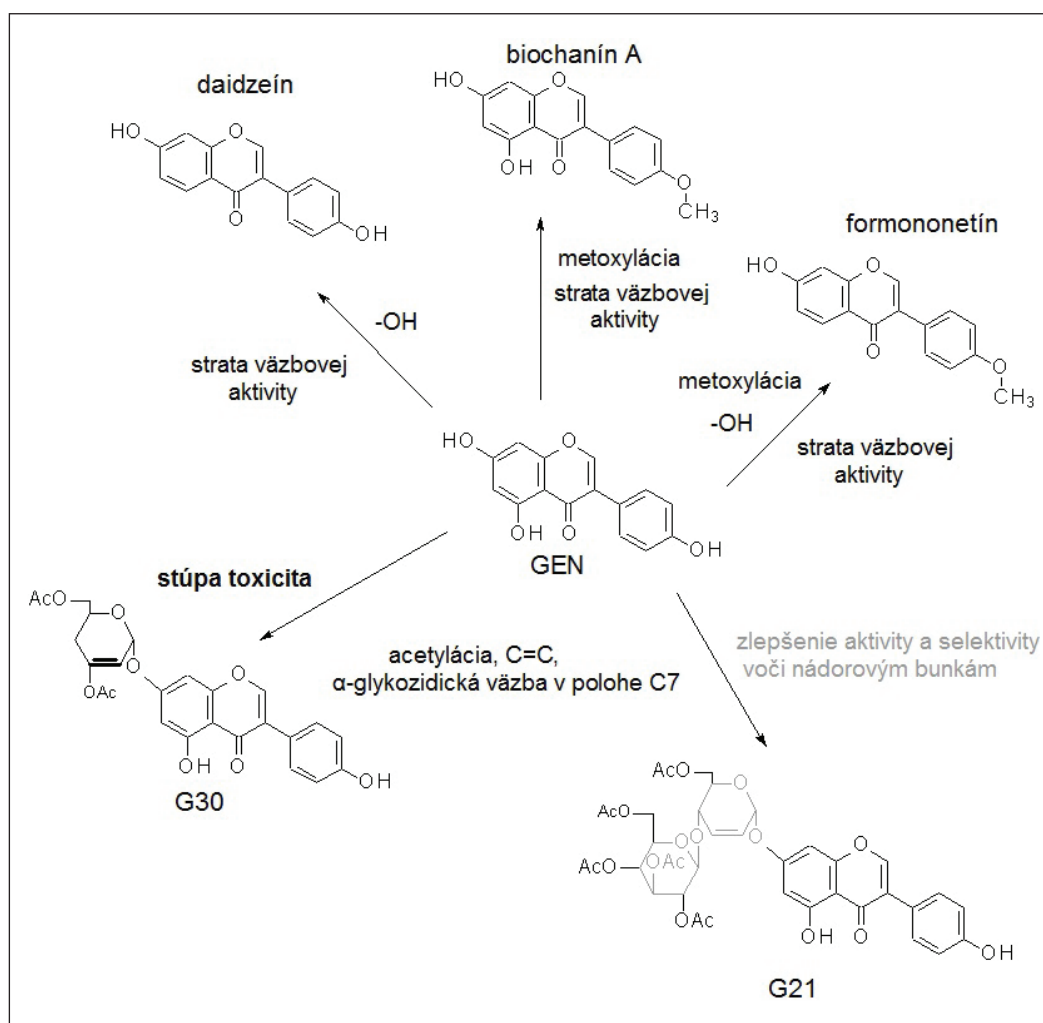
Hlavný farmakologický mechanizmus účinku GEN je kompetitívna väzba k ER. V *in vitro* podmienkach sa ukázalo, že GEN inhibuje tyrozín kinázy, topoizomerázu II, trombocyty aktivujúci faktor (PDGF) a EGF (epidermálny rastový faktor) indukovanú expresiu c-fos, diacylglycerol syntézu a angiogénu^{12, 21}). Mechanizmus účinku GEN ďalej spočíva v indukcii apoptózy a zastavení bunkového cyklu v G₂/M fáze v nádorových bunkách²¹) a ochrane LDL cholesterolu pred jeho oxidáciou a následný aterospektívny účinok²²). Zaujímavá je koncentračná závislosť účinku, pričom GEN pri vyšších koncentráciách napr. inhibuje aktivitu tyrozín-špecifických proteínových kináz (PTK) spojených s EGF receptorom²³), no na druhej strane pri nižších koncentráciách vykazuje estrogénne účinky²⁴). Medzi dôležité protinádorové účinky GEN patrí aj indukcia diferenciácie maligných nádorových buniek, vychytávanie voľných kyslíkových a dusíkových radikálov²⁵) a prevencia aktivácie NF- κ B transkripčného faktora v nádorových bunkách²⁶).

Genisteín a angiogéza

Angiogéza je tvorba ciev z už existujúcich ciev pučaním. Tento biologický proces je kľúčový pri tvorbe nového tkaniva či pri raste nádorov, alebo hojení rán. GEN



Obr. 1. Štruktúra estradiolu (E2) a genisteínu (GEN)



Obr. 2. Zmeny v štruktúre molekuly genisteínu (GEN) vedú k zmenám funkčnosti/účinnosti

moduluje rast a pučanie endotelových buniek, tvorbu kapilár a niektoré signálne dráhy zapojené do angiogenézy²⁷⁾. Vaskulárny endotelový rastový faktor (VEGF) je dôležitý regulátor angiogenézy a inhibícia jeho sekrécie alebo blokáda jeho receptorov sa spája s potlačením tvorby krvných ciev²⁷⁾. Ukázalo sa, že GEN²⁸⁾ inhibuje expresiu VEGF v závislosti od dávky, a to za hypoxických aj normoxických podmienok. V inej štúdii²⁹⁾ zase GEN v dávkach 10–50 μM tlmil rast endotelových buniek izolovaných z pupočníka po stimulácii s VEGF a inhiboval ako bazálnu, tak aj hypoxiou-indukovanú (cez HIF-1 – hypoxiou indukovaný faktor) expresiu VEGF v nádorových a endotelových bunkách²⁷⁾.

Na druhej strane v *in vivo* experimentoch aplikácia GEN výrazne redukovala tvorbu mikrokapilár^{30–32)}. Tieto antiangiogénne vlastnosti sa pripisujú inhibícii proangiogénnych faktorov ako rastový faktor odvodený od trombocytov (PDGF), tkanivový faktor (TF), urokináza (uPA), matrix metaloproteinázy-2 a -9 (MMP-2, a MMP-9)²⁸⁾ a up regulácii antiangiogénnych faktorov (inhibítora aktivátora plazminogénu-1, endostatín, angiostatín a thrombospondín-1)²⁸⁾. Avšak publikovaná bola aj práca, ktorá ukázala, že GEN neblokuje aktivitu MMP-2 a -9³³⁾.

Genisteín a rakovina prsníka

Viac ako 50 % nádorov prsníka sa vyskytuje v rozvinutých krajinách, najmä v Severnej Amerike a Európe, kým v Ázii, kde je vysoká konzumácia sójových produktov už od útleho veku, je dlhodobo pozorovaná najnižšia incidencia³⁴⁾. Toto pozorovanie je dnes vysvetľované tzv. chemopreenciou. Táto teória je podložená aj skutočnosťou, že ázijské ženy, ktoré sa presťahovali do USA, majú v druhej generácii už podobnú incidencia rakoviny prsníka ako americké ženy³⁵⁾. Chemopreventívne účinky GEN sú založené na zvýšení maturácie/diferenciácie buniek prsníka s následnou redukciiu proliferácie buniek prsnej žľazy, a tým aj nižším rizikom rozvoja rakoviny prsníka, predovšetkým v dospelosti^{34–36)}. Tento proces môžeme pozorovať napr. aj pri pôsobení tehotenských hormónov³⁴⁾. Na animálnom modeli nedospelých potkanov GEN upreguloval expresiu receptorov pre EGF (EGFR), čo mohlo indukovať skorú diferenciáciu buniek mliečnej žľazy. Výsledkom je pravdepodobne menej aktívna EGF signálna dráha v dospelosti, čo vedie k potlačeniu rozvoja rakoviny prsníka³⁴⁾. Dôležité je však správne načasovanie podávania terapie. Keď je estrogén podávaný ešte pred maturáciou prsnej žľazy a iniciáciou karcinogenézy, počet nádorov

bude pravdepodobne nižší, avšak keď je estrogén podávaný po rozvoji estrogén-dependentného nádoru, jeho rast bude stimulovaný³⁶⁾.

V nadväznosti na účinky GEN závislé od jeho koncentrácie sa ukázalo, že GEN pri nízkych koncentráciách (< 10 µM) stimuluje rast buniek v ER-pozitívnych nádoroch prsníka *in vitro*, ako aj v xenografických zvieracích modeloch^{35–38)}, pričom tieto *in vivo* účinky sú inhibované tamoxifénom (TAM)³⁹⁾. Na druhej strane pri koncentráciách nad 10 µM GEN inhiboval proliferáciu ER-pozitívnych, (MCF-7)^{36, 40)} ako aj ER-negatívnych MDA-MB-231 nádorových buniek prsníka³⁸⁾, pričom v posledných menovaných zároveň redukoval hladinu cyklínu B1, CDK1 (cyklín dependentné kinázy) a Cdc25 C³⁸⁾ a inhiboval aktivitu PTK³⁵⁾. Usudzuje sa teda, že liečba GEN môže spôsobiť zastavenie bunkového cyklu redukciami aktivity CDK1/cyklín B kinázového komplexu³⁸⁾ a inhibíciou fosforylácie tyrozínu^{36, 37, 41)}. GEN sa viaže na ER-β pri koncentráciách nižších, než je potrebné na aktiváciu ER-α a jeho aktivácia má inhibičný účinok na rast bunky. Selektívna aktivácia ER-β v bunkách môže teda slúžiť na potlačenie rastu estrogén-dependentných nádorových buniek³⁷⁾. Ak je ER-β prítomný spolu s ER-α, pôsobí proti jeho proliferáčnym účinkom na nádorové bunky prsnej žľazy⁴²⁾. ER-β pozitívne nádory sú lepšie liečiteľné/majú lepšiu prognózu než ER-β negatívne kvôli antiproliferačným účinkom tohto receptora. Avšak množstvo ER-β klesá pri nádoroch prsníka, a tým sa zhoršuje aj ich prognóza. Na druhej strane expresia ER-α podporuje rozvoj rezistencie proti antineoplastikám⁴³⁾.

Inaktivácia Akt a NF-κB signálnych dráh sa podieľa na zvýšení apoptózy nádorových buniek. V MDA-MB-231 bunkách predliečených GEN (50 µM) počas 72 h pred stimuláciou EGF došlo k rušeniu EGF a Akt-indukovanej aktivácii NF-κB. GEN teda nielen inhibuje NF-κB DNA väzbovú aktivitu za nestimulovaných podmienok, ale tiež inhibuje EGF-indukovanú NF-κB aktivitu⁴⁴⁾.

Synergické účinky GEN boli pozorované v kombinácii s viacerými protinádorovými liečivami^{45, 46)}. Napríklad kombinácia GEN (25 µM) a tamoxifénu (TAM) (5 µM) v BT-474 nádorových bunkách prsníka synergicky indukovala apoptózu, potencovala inhibičný účinok na rast nádoru a zastavenie bunkového cyklu v G1 fáze, znižovala expresiu survivínu a down regulovala expresiu EGFR, HER2 a ER-α⁴⁵⁾. No nie všetky štúdie preukázali pozitívny účinok FE v kombinácii s TAM. Napríklad nízke dávky GEN rušili inhibičný účinok TAM v humánných MCF-7 a T47D nádorových bunkách prsníka, pričom pri vyšších dávkach tento efekt pozorovaný nebol^{21, 47)}. Za rovnakých podmienok však nebol pozorovaný ani účinok na ER-negatívne bunky MDA-MB-435⁴⁷⁾.

V štúdií realizovanej na bunkovej línii MDA-MB-231 mal GEN silný antiproliferačný účinok závislý od dávky a času podania. Tento účinok bol sprostredkovaný inhibíciou NF-κB signálnej dráhy prostredníctvom Notch-1 expresie⁴⁸⁾. Hladiny NF-κB cieľových proteínov – cyklínu B1, Bcl-2 (B cell lymphoma 2), Bcl-xL (Bcl-2-associated X protein) boli tiež znížené⁴⁸⁾. Naopak, v MCF-7 bunkách GEN zvyšoval expresiu antiapoptického Bcl-2 a proapop-

totických proteínov p53 a Bax⁴⁰⁾. GEN indukoval apoptózu v MCF-7 bunkách aj prostredníctvom Ca²⁺ uvoľňovacieho z endoplazmatického retikula, čo malo za následok aktiváciu calpain-kaspáza 7 kaskády aj aktiváciu ASK1 (apoptosis signalig kinase1) a p38 MAPK (mitogen-activated protein kinase)⁴⁹⁾.

TrxR (thioredoxin reductase) up regulácia a GPx (glutathione peroxidase) down regulácia sú spájané s progresiou rakoviny prsníka⁵⁰⁾. GEN (100 µM) selektívne indukoval bunkovú smrť v MCF-7 bunkách nezávisle od aktivácie ER tým, že redukoval expresiu CuZnSOD, MnSOD a TrxR a zvyšoval GPx s následným nárastom proapoptického pomeru BAX/Bcl-2 a so súčasťou down reguláciou antiapoptického survivínu. Výsledkom bola nerovnováha v antioxidačnom systéme, čo môže podporovať oxidačný stres v MCF-7 bunkách s následnou indukciami apoptózy a autofágie⁵⁰⁾.

Genisteín a rakovina vaječníkov

Rakovina vaječníkov patrí medzi najzhubnejšie gynekologické nádorové ochorenia s najvyššou incidenciou medzi 55. až 64. rokom života. Asi iba 46 % postihnutých žien sa dožíva 5 rokov od prvotného stanovenia diagnózy, a to predovšetkým kvôli neskorej diagnostike a pokročilému štádiu ochorenia⁵¹⁾.

Ukázalo sa, že GEN inhibuje rast nádorových buniek vaječníka OVCAR-3 a expresiu VEGF⁵²⁾. Avšak proliferáciu HO-8910 buniek ovariálneho karcinómu s nízkym metastatickým potenciálom GEN inhiboval len pri vysokých koncentráciách (50 a 100 µM) a naopak pri nízkych koncentráciách (1, 10 a 25 µM) ich proliferáciu zvyšoval⁵³⁾. Zároveň v rozpätí 10–100 µM indukoval poškodenie DNA lineárne s narastajúcou koncentráciou. Pozitívny účinok na indukciu apoptózy a zastavenie bunkového cyklu v G₂/M bol v danej štúdií pozorovaný len pri koncentrácii 100 µM⁵³⁾. Iná štúdia porovnávala účinok GEN, G8CG (genisteín-8-C-glukozidu) a ich kombinácie preukázala inhibičný efekt oboch FE na bunkovú proliferáciu estrogén dependentných nádorových buniek vaječníkov SK-OV-3, ako aj zvýšenie apoptózy v závislosti od dávky, avšak apoptický účinok GEN bol slabší než účinok G8CG pri použití rovnakých koncentrácií⁵⁴⁾.

Taktiež sa ukázalo, že GEN potlačal epitelovo-mezenchýmový prechod (EMT) a migračnú schopnosť BG-1 buniek rakoviny vaječníkov zvýšením účinkom E2 a iných xenoestrogénov antagonizovaním ER signalizácie. Mechanizmus účinku bol spojený s inhibíciou expresie vimentínu a zvýšením expresie E-kaderínu¹⁴⁾.

Genisteín a rakovina hrubého čreva

Tretím najčastejšie diagnostikovaným nádorovým ochorením u mužov aj žien je kolorektálny karcinóm. Väčšina prípadov sa začína z nezhubných polypov vznikajúcich na vnútornej strane sliznice čreva a rozvíja sa počas niekoľkých rokov⁵⁵⁾. Animálne experimenty na potkanoch⁵⁶⁾ demonštrovali, že expozícia sójovým izoflavónom

počas maternicového aj postnatálneho vývoja pôsobí pro-
tektívne pred azoxymetánom indukovanou karcinogé-
nou hrubého čreva (HČ). Táto práca poukazuje na fakt,
že sójové izoflavóny obmedzujú rast nádoru zvýšením
expresie ER- β , pričom mechanizmus účinku je založe-
ný na tvorbe komplexu s ER- β , čo vedie pravdepodobne
k indukcii apoptózy a inhibícii proliferácie nádorových
buniek⁵⁶. Zvýšená expresia ER- β a následný pokles ži-
vých buniek po terapii sójovými izoflavónmi pozorovali
aj u ER- β pozitívnych DLD-1 buniek kolorektálneho kar-
cinómu⁵⁶.

V ľudských nádorových bunkách HČ je zvýšená expre-
sia a aktivita EGFR, čím dochádza k zoslabeniu tumor
supresorovej aktivity FOXO3 cez PI3K/Akt dráhu, čo vedie
k zvýšenej proliferácii. Ukázalo sa, že GEN u HT-29
buniek kolorektálneho karcinómu inhibuje EGF-induko-
vanú FOXO3 disociáciu z p53(mut), čo ďalej podporuje
FOXO3 aktivitu a vedie k zvýšenej expresii p27kip1
inhibítora bunkového cyklu s následnou inhibíciou pro-
liferácie nádorových buniek HČ⁵⁷. Okrem toho došlo
k zoslabeniu aktivity PI3K/Akt signálnej dráhy, ktorá je
dôležitá v regulácii progresie kolorektálneho karcinó-
mu⁵⁷.

Pool-Zobel a kol. potvrdili koncentračnú selektivi-
tu GEN voči nádorovým bunkám HČ, pričom zistili,
že koncentrácie 12,5–100 μ M indukujú zlomy DNA
v HT29 (klon 19A) bunkách, avšak koncentrácie do
50 μ M neindukovali zlomy alebo oxidáciu báz v nor-
málnych epitelových bunkách HČ⁵⁸. Poškodenie DNA,
blokádu bunkového cyklu v G₂/M fáze a iniciáciu apo-
ptózy na HCT-116 a SW-480 bunkách kolorektálneho
karcinómu po terapii GEN (25–100 μ M) pozorovali aj
iní autori²⁶. Tieto procesy boli primárne sprostredkova-
né up reguláciou p53/p21waf1/cip1, GADD45 α a down
reguláciou cdc2 a cdc25A²⁶.

Genisteín a rakovina prostaty

Rakovina prostaty (PC) je po rakovine kože druhým
najčastejšie diagnostikovaným nádorovým ochorením
u mužov v USA. Spravidla sa vyskytuje po 50. roku živo-
ta a má relatívne dobrú prognózu prežitia, ak je diagnos-
tikovaná vo včasnom štádiu ochorenia a bez metastáz⁵⁹.
EGFR a EGF podobné peptidy sú často nadmerne expri-
mované v ľudských karcinómoch a sú schopné indukovať
bunkovú transformáciu⁶⁰. Dalu a kol. preukázali, že
GEN prítomný v strave môže down regulovať expresiu
a inhibovať fosforyláciu EGFR aj ErbB2/Neu receptora
lokalizovaných na karcinómových bunkách prostaty
u potkanov bez vedľajších toxických účinkov na hos-
titeľa¹².

Je známe, že bunky v G₂/M fáze bunkového cyklu sú rá-
diosenzitívnejšie než bunky v iných fázach cyklu. Z toho
dôvodu predliečenie PCa buniek GEN spôsobovalo za-
stavenie rastu v G₂/M fáze cyklu. Týmto mechanizmom
sa môže zvyšovať ich rádiosenzitivita a následné usmr-
covanie buniek. Pokles cyklínu B1 a nárast p21_{waf1} po
kombinácii GEN/radiácia, má takisto za následok zasta-
venie rastu v G₂/M fáze a môže byť spojený s inhibí-
ciou NF- κ B DNA väzbovej aktivity⁶¹.

Zaujímavé boli výsledky štúdie, v ktorej GEN (100 μ M) zvyšoval gluta-
tiónperoxidázovú aktivitu v LNCaP aj PC3 bunkách bez
výrazných zmien aktivít iných antioxidantných enzýmov
ako napr. CAT a SOD v porovnaní s kontrolou a nižšou
testovanou dávkou GEN (5 μ M). V LNCaP bunkách
bola navyše down regulovaná expresia mnohých ďal-
ších génov vrátane survivínu (inhibítora apoptózy), DNA
topoizomerázy II, CDC6 a MAPK 6. Z tohto pohľadu
môžeme usudzovať, že aktivácia glutatiónperoxidázy je
jeden z dôležitých mechanizmov účinku genisteínu na
bunky karcinómu prostaty⁶².

V *in vitro* štúdií GEN a β -lapachón (LP) spôsobili za-
stavenie bunkového rastu, apoptózu a nekrozu v PC3
a LNCaP bunkách v závislosti od dávky v monoterapii
aj v kombinovanej terapii GEN a LP. Pri nižších
koncentráciách GEN a LP v oboch bunkových líniiach
spôsobovali smrť apoptózou, pri vyšších koncentráciách
sa progresívne zvyšovala incidencia nekrózy. Avšak
prechod z apoptózy k nekróze môže byť čiastočne spô-
sobený aj toxicitou testovanej látky pri vyšších konc-
tráciách. Môžeme však konštatovať, že bunková línia
PC3 bola na kombinovanú aj monoliečbu citlivejšia než
LNCaP. Ukázalo sa, že LP zastavuje bunkový rast v G₁
a S fáze bunkového cyklu, kým GEN indukuje zastave-
nie v G₂/M fáze. Z týchto výsledkov môžeme vyvodzo-
vať efektívnejšiu inhibíciu delenia buniek za použitia
liečiv, ktoré regulujú rôzne kontrolné body bunkového
cyklu⁶³. V LNCaP bunkách GEN aktivoval kaspázu-3
a -9 a indukoval apoptózu, pričom účinok bol omnoho
silnejší v kombinácii s topotekanom (inhibítora topoizo-
merázy I)⁶⁴.

Genisteín a rakovina pečene

Hepatocelulárny karcinóm (HCC) patrí medzi najzáker-
nejšie nádorové ochorenia kvôli veľkej chemorezistencii
k súčasne dostupným antineoplastikám. Z tohto dôvodu
je najúčinnnejšie chirurgické odstránenie nádoru. Vysoká
incidencia metastáz je však najčastejšou príčinou úmrtia
pacientov s HCC, preto je potrebné získať nové, protiná-
dorovo a antimetastaticky účinné liečivá⁶⁵.

Potencionálne chemopreventívne aj chemoterapeutické
účinky GEN proti rakovine pečene naznačili viaceré
in vitro štúdie. Ukázalo sa, že GEN indukuje apoptózu
v rôznych bunkových líniiach HCC, napr. Bel 7402⁶⁶,
HuH-7⁶⁷, Hep3B⁶⁸ a HepG2⁶⁹. Ďalej môže ovplyvniť pro-
gres HCC reguláciou bunkového cyklu, pričom účinkuje
ako sľubný inhibítora metastatických procesov^{65, 66}. Napr.
v štúdií realizovanej na bunkovej línii HepG2 s TPA
(12-O-Tetradekanoylforbol-13-acetát) indukovanou kar-
cinogénozou, GEN efektívne potlačal expresiu MMP-9
supresiou MAPK/AP-1 a PI3K/AKT/NF- κ B kaskád, čo
následne viedlo k potlačeniu metastatického potenciálu
a invazivity buniek⁷⁰. Terapeuticky zaujímavá je aj schop-
nosť GEN inhibovať EMT indukovaný TGF- β (transfor-
mujúci rastový faktor beta), ktorý je spájaný s procesom
metastázovania. Antimetastatický účinok GEN v liečbe
HCC spočíva aj v inhibícii NFAT1 (nukleárny transkripčný

faktor aktivovaných T-buniek, dôležitý v malignite a progresii tumoru) zapojeného do aktivácie EMT⁷¹).

FAK (focal adhesion kinase) je cytoplazmatická tyrozínkináza asociovaná s bunkovým rastom, bunkovou adhéziou a motilitou. Up regulácia FAK je spojená s onkogenézou, na druhej strane nízka expresia je spojená s poklesom bunkovej migrácie, stratou bunkového uchytenia a indukciou apoptózy. Ukázalo sa, že GEN down reguloval p125FAK, čo naznačuje, že môže slúžiť ako protinádorové agens v progresii HCC blokovaním FAK signálnych dráh⁶⁶. U MHCC97-H⁶⁵ a Bel 7402⁶⁶ buniek HCC došlo po podaní GEN k zastaveniu bunkového cyklu v G₀/G₁ a G₂/M fáze a indukcií apoptózy. GEN navyše redukoval aj adhezívne vlastnosti MHCC97-H buniek⁶⁵.

Genisteín a rakovina žalúdka

Je dobre známe, že nádorové kmeňové bunky sú zodpovedné za relaps ochorenia. Výnimkou nie sú ani kmeňové bunky nádoru žalúdka (GCSC – gastric cancer stem cells). Zistilo sa, že GEN je schopný inhibovať niektoré kľúčové vlastnosti GCSC ako schopnosť sebaobnovy či rezistencie voči liečivám. Navyše GEN inhibuje aj invazivitu a migračnú schopnosť nádorových buniek žalúdka^{72, 73}. Tieto zmeny boli spojené s inhibíciou expisie ABCG2 (ATP-binding cassette subfamily G member 2) transportného proteínu, inhibíciou aktivity ERK^{1/2}⁷² a down reguláciou expisie Gli1⁷³.

V preklinických štúdiách bol GEN (20 mM) schopný indukovať apoptózu u nádorových buniek izolovaných zo žalúdka znížením expisie Bcl-2 a up reguláciou Bax⁷⁴. V humánnej bunkovej línii BGC-823 nádoru žalúdka GEN inhiboval bunkovú proliferáciu a indukoval apoptózu v závislosti od času a dávky⁷⁵. V tomto modeli molekula FE vykazovala značný inhibičný efekt na aktiváciu transkripčného faktora NF-κB, spôsobujúcu redukciiu koncentrácie COX-2 proteínu⁷⁵. V inej *in vivo* štúdií bola u potkanov indukovaná karcinogenéza pomocou N-metyl-N'-nitro-N-nitroso guanidínu. Následne boli potkany liečené GEN (30 mg/kg), čo viedlo k zníženiu mitotickej aktivity a počtu ciev antrálnej mukózy, signifikantnej redukciiu incidencie nádorov žalúdka, indukcií apoptózy a zníženiu angiogenézy už existujúcich nádorov⁷⁶.

Genisteín a rakovina pankreasu

Rakovina pankreasu, predovšetkým jeho exokrinné zložky, patrí medzi najzhubnejšie nádory vôbec a dosahuje v závislosti od štádia ochorenia extrémne vysokú mortalitu⁷⁷. Štúdiá vykonaná za hypoxických podmienok na bunkových línii ľudského adenokarcinómu pankreasu Capan-1, Capan-2, AsPc-1, PANC-1 a Mia PaCa-2 preukázala inhibičný efekt GEN na sekréciu VEGF a aktiváciu HIF-1, čím došlo k inhibícii angiogenézy⁷⁸.

Na druhej strane⁷⁹ samotný GEN neindukoval apoptózu a autofágiu nádorových buniek, ale signifikantne zvyšoval oba tieto procesy indukované 5-fluorouracilom (cytosta-

tikum) spojenú s poklesom expisie bcl-2. Podobne sa ukázalo, že GEN potencuje účinky aj iných protinádorových liečiv. Napr. kombinácia erlotinibu (inhibitor receptorových tyrozín kináz) a GEN viedla k zníženiu prahu pre indukciu apoptózy u BxPC-3, CAPAN-2, a AsPAC-1 bunkových línii⁸⁰. Rovnaký vplyv mala aj trojkombinácia GEN, erlotinib a gemcitabin (cytostatikum) na nádorové bunky COLO-357. Predliečenie GEN blokovalo aj aktiváciu NF-κB netoxickými dávkami antineoplastik dexecatolom alebo cisplatinou v nádorových bunkách pankreasu (BxPC-3) a podieľalo sa na inhibícii bunkového cyklu a indukcií apoptózy⁸¹.

No nie na všetky bunkové línii mal GEN rovnaký synergický účinok. V BxPC-3 bunkách GEN potencoval down reguláciu survivínu indukovanú erlotinibom, ale nie v líniiach HPAC alebo MIAPaCa. V bunkovej línii COLO-357 bola inhibícia NF-κB aktivácie po pridaní GEN spojená so zvýšeným apoptickým účinkom erlotinibu a gemcitabínu, ako aj s down reguláciou EGFR, survivínu a Bcl-xL⁸⁰.

Je známe, že karcinómy v ktorých je vysoký podiel buniek, ktoré prešli EMT, majú výrazne horšiu prognózu. Z tohto dôvodu je cieľom modernej terapie zvrátiť tento nepriaznivý stav procesom zvaným MET (mesenchymal-epithelial transition). Ukázalo sa, že kombinácia GEN a miR-223 (MicroRNA-223) viedla k výraznejšiemu zvráteniu EMT k MET v pankreatických nádorových bunkách AsPC-1 GR a BxPC-3 GR v porovnaní so samotným GEN alebo samotným miR-223. Liečba ďalej inhibovala bunkovú motilitu a invazívny potenciál buniek a zvyšovala ich citlivosť voči gemcitabínu omnoho výraznejšie než monoterapia danými zložkami⁸².

Genisteín a rakovina pľúc

Aj v dnešnej dobe patrí malobunkový karcinóm pľúc medzi najhoršie formy rakoviny s fatálnym koncom. Ukázalo sa, že GEN vykazuje protinádorové účinky na bunkovú línii H446 malobunkového karcinómu pľúc, kde indukoval zastavenie bunkového cyklu v G₂/M fáze a apoptózu, dereguláciu FoxM1 (Forkhead box proteínu M1) a jeho cieľových génov (Cdc25B, cyklín B1 a survivín a i.)⁸³. Na druhej strane v nemalobunkovej línii A549 došlo účinkom GEN k inhibícii proliferácie, indukcií apoptózy a aktivácii kaspázy 3 a 9 prostredníctvom regulácie miR-27 (MicroRNA-27) a MET⁸⁴.

Niektoré štúdié poukazujú aj na synergické účinky GEN, napr. v A549 bunkách GEN (5–10 mM) zosilňoval apoptózu a antiproliferačný efekt indukovaný trichostatínom A (TSA – inhibitor histónových deacetyláz)⁸⁵. V kombinácii s ATRA (all-trans retinoic acid) zase výrazne inhiboval invazivitu A549 buniek *in vitro*, čo bolo spojené so znížením expisie MUC1 a ICAM-1 a so zmenou expisie proteínov regulujúcich bunkový cyklus (CDK4, Rb a p-ERK1/2) a apoptózu (Bax a Bcl-2)⁸⁶. Synergické účinky vykazoval aj v kombinácii s gefitinibom (inhibitorom EGFR) na bunkovej línii H1975 s EGFR s mutáciami L858R a T790M indukciu apoptózy a inhibíciu regulátorov rastových signálnych dráh Akt, EGFR a mTOR⁸⁷.

Genisteín a nádor mozgu

Glioblastóm je najagresívnejší a najčastejšie sa vyskytujúci zhubný nádor mozgu. Väčšina pacientov umiera do 2 rokov od diagnostikovania napriek kombinácii agresívnej chemoterapie, operácie a rádioterapie⁸⁸. Ukázalo sa, že GEN (50 μ M) značne zvyšoval expresiu p21 v rádiosenzitívnych bunkách ľudského glioblastómu A172 a ľudského meduloblastómu ONS76. Zvýšená expresia p21 spolu so zníženou expresiou cyklínu B1 a CDK1 indukovala zastavenie bunkového cyklu⁸⁹. Avšak v rádiorezistentných bunkových líniiach KNS60 a U251MG tento inhibičný účinok nebol pozorovaný⁸⁹.

Inhibícia telomerázových enzýmov je špeciálne cieľná na terapiu nádorov, pretože telomerázové enzýmy sú prítomné v nádorových bunkách a absentujú v normálnych somatických bunkách. GEN (50 μ M) spôsobuje pokles expresie TERT (telometázové reverzné transkriptázy, katalytická podjednotka telomerázy) v nádorových bunkových líniiach A172, ONS76, KNS60 a U251MG, čo vedie k poklesu aktivity telomerázy. I keď GEN ovplyvňuje telomerázovú aktivitu, nevedie to ku skráteniu telomér, čo naznačuje, že GEN má skôr cytostatické než cytotoxické účinky na nádorové bunky mozgu⁸⁹. Zaujímavé bolo pozorovanie, že GEN znižuje kaspázovú aktivitu v bunkách ľudského meduloblastómu (D283Med) s následnou inhibíciou cytotoxických (a teda terapeutických) účinkov cisplatinu⁹⁰. Okrem toho nie je ani vhodné senzitivizujúce agens na C6 gliómové bunky potkanov v kombinácii s As_2O_3 (oxid arzenitý), lebo počas kombinovanej terapie došlo iba k aditívnej inhibícii rastu indukovanej As_2O_3 . Senzitivita C6 buniek k apoptóze alebo zvýšená produkcia ROS nebola po kombinovanej terapii pozorovaná⁹¹.

GEN monoterapia GH3/B6/F10 buniek nádoru hypofýzy s vysokou expresiou ER- α a bez ER- β síce zvyšovala bunkovú proliferáciu, avšak keď bol GEN (v dietetických dávkach) podávaný spolu s E2, pôsobil chemopreventívne a inhiboval proliferáčny účinok E2⁹².

Genisteín a hojenie rán

Už v roku 1986 opísal Harold Dvorak vo svojom článku „Nádory: rany, ktoré sa nehoja“ veľkú podobnosť biologických vlastností spojivového tkaniva v ranách a nádoroch⁹³. Ďalšie štúdie, ktoré porovnávali tkanivovú regeneráciu/reparáciu s malignitami preukázali, že tieto dva procesy majú veľa spoločného^{94–96}. Rozdiel je však v tom, že hojenie rán charakterizuje skôr nedostatok kmeňových buniek a ich predčasná diferenciácia, čo môže proces predlžovať a v niektorých prípadoch viesť k tvorbe rozsiahlych jaziev. Vzhľadom na protikladné účinky SERM-ov v rôznych tkanivách bolo správne predpokladať, že GEN by mohol mať pozitívny vplyv na hojenie rán. Ukázalo sa, že⁹⁷ GEN urýchlí hojenie viacerými mechanizmami. Zrýchlenie migrácie keratinocytov, fibroblastov aj makrofágov patria medzi tie základné. Zaujímavé bolo predovšetkým pozorovanie, že reepitelizácia bola urýchlená po liečbe s GEN ešte výraznejšie ako po

liečbe s E2⁹⁷. GEN navyše inhiboval fosforyláciu EGFR a aktiváciu MAPK. Okrem toho GEN tlmil aj expresiu prozápalových cytokínov IL-6 (interleukin 6), MIF (migráciu makrofágov inhibujúci faktor) a TNF- α (tumor nekrotizujúci faktor alfa) v ranách ovarektomizovaných myši, a to dokonca v podobnom rozsahu ako E2⁹⁷.

Vekom podmienené spomalenie hojenia rán je spájané s nízkymi hladinami TGF- β ⁹⁸. V pokusoch uskutočnených na ovarektomizovaných potkanoch sa ukázalo, že GEN podávaný s.c. (1 a 10 mg/kg) výrazne zvyšoval expresiu TGF- β 1, TG2 (tkanivová transglutamináza 2) a VEGF v rane v porovnaní s kontrolou, pričom nižšia dávka GEN bola účinnejšia⁹⁹. Autori ďalej pozorovali, že GEN (opäť s lepšími výsledkami pri nižšej koncentrácii) výrazne zvyšoval pevnosť rany v porovnaní s kontrolou a potkanmi dostávajúcimi raloxifén alebo E2. Na druhej strane ovarektomizované potkany liečené s E2 mali oproti GEN takmer trojnásobne nižšiu pevnosť rán. Histologický obraz rán bol charakteristický kompletnou reepitelizáciou, dobre formovaným granulačným tkanivom a adekvátnou prítomnosťou kolagénu v rane. V inej štúdií lokálna aplikácia masť s extraktom izoflavónov z *Trifolium canescens* L. a *Trifolium pratense* L. takisto zvyšovala pevnosť incízných rán a kontrakciu excíznych rán u potkanov. Hojivý potenciál *T. canescens* bol však vyšší než u *T. pratense*, čo mohlo byť spôsobené vyšším obsahom izoflavónov v testovanom extrakte¹⁰⁰.

Proliferácia fibroblastov, ich rezistencia k apoptóze a nerovnováha medzi syntézou a degradáciou ECM (najmä kolagénu) sú charakteristické znaky vzniku keloidných jaziev^{101, 102}. CTGF (connective tissue growth factor) je proteín indukovaný TGF- β 1 v bunkách spojivového tkaniva. Zvýšená a najmä pretrvávajúca expresia CTGF podporuje predĺženú syntézu kolagénu a jeho ukládanie a následnú fibrózu¹⁰¹. GEN potláčal génovú expresiu TGF- β 1, β 2, β 3, následkom čoho došlo pravdepodobne k poklesu expresie CTGF mRNA a CTGF proteínu v keloidných fibroblastoch *in vitro*. Génová expresia p53 a p21 ostala nezmenená, preto autori dedukujú, že GEN nespôsobuje apoptózu v monokultúre keloidných fibroblastov¹⁰¹.

Rastové faktory ako napr. EGF, PDGF, TGF- β , FGF a IGF podporujú proliferáciu a diferenciáciu fibroblastov v hypertrofických jazvách, preto zohrávajú dôležitú úlohu v regulácii tvorby jaziev a fibrózy¹⁰². Väčšina týchto rastových faktorov pôsobí na bunky prostredníctvom TPK signálnej transdukcie. Stimulácia hypertrofických fibroblastov s GEN (50 μ mol/l alebo 100 μ mol/l) potláčala PDGF-stimulovanú TPK aktiváciu a signifikantne inhibovala RTK-Ras-MAPK (ERK/p38) signálnu dráhu, účinne inhibovala rast a syntézu kolagénu I a III, pričom tieto procesy neboli výrazne inhibované v normálnych kožných fibroblastoch¹⁰².

Okrem toho sa ukázalo, že GEN redukoval veľkosť rany, hladinu TNF- α a NF- κ B v závislosti od dávky a zároveň znižoval expresiu Cu/Zn-SOD a Mn-SOD v skorých fázach hojenia kože^{103, 104}. Teda relatívne nízka koncentrácia endogénnych enzýmov s GEN bola dostačujúca na vyrovnanie sa s oxidačným stresom¹⁰³.

Naopak, GEN zvyšoval hladiny NLRP3 (gén kódujúci kryopyrín) aj IL-1 β , čím pravdepodobne urýchlil hojenie rán diabetických myši¹⁰⁴.

Záver

Monoterapia nádorových ochorení v mnohých prípadoch nedosahuje dostatočnú klinickú účinnosť liečby. Naproti tomu kombinovanou terapiou je možné dosiahnuť inhibíciu viacerých/všetkých dôležitých regulačných dráh, a tým efektívnejšie potlačiť rast nádoru a znížiť jeho metastatický potenciál. Kombinovaná terapia navyše znižuje riziko rezistencie nádorových buniek voči liečivám, teda zvyšuje pravdepodobnosť remisie ochorenia/úplného vyliečenia pacienta. Preto individuálne navrhnutá terapia komplexom antineoplastík, ktoré ovplyvňujú všetky fázy rastu nádoru, je rozhodujúca pre celkový výsledok liečby. Okrem toho je nutné vykonať ďalšie štúdie zamerané na optimálne rozvrhnutie kombinácie liečiv, čomu sa stále nevenuje dostatočná pozornosť¹⁰⁵.

Na druhej strane lepšie pochopenie interakcií medzi nádorovými bunkami a nádorovou strómou môže pomôcť zlepšiť hojenie rán podporou tvorby granulačného tkaniva a procesu reepitelizácie rozsiahlych a chronických rán. Podobne ako u nádorov, monoterapia nemusí byť dostatočná na optimálnu liečbu rán, pretože expresia rôznych faktorov sa mení v závislosti od fázy hojenia rany a času. Preto je dôležité do klinickej praxe zaviesť priestorovo a časovo riadené systémy dodávania liečiv so správnym načasovaním liečby, aby sa aktivovali rozhodujúce regeneračné procesy¹⁰⁶.

Podakovanie

Táto práca vznikla s podporou Vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky (VEGA-1/0404/15, VEGA-1/0048/15 a VEGA-1/0561/18), Agentúry na podporu výskumu a vývoja (APVV-14-0731, APVV-16-0446 a APVV-16-0207) a grantu Univerzity Komenského UK/109/2017.

Stret záujmov: žiadny.

Literatúra

- Ososki A. L., Kennelly E. J. Phytoestrogens: a review of the Present State of Research. *Phytother. Res.* 2003; 17, 845–869.
- Brzezinski A., Debi A. Phytoestrogens: the “natural” selective estrogen receptor modulators? *Eur J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 1999; 85, 47–51.
- Kelly P. M., Keely N. O., Bright S. A., Yassin B., Ana G., Fayne D., Zisterer D. M., Meegan M. J. Novel selective estrogen receptor ligand conjugates incorporating endoxifen-combretastatin and cyclofenil-combretastatin hybrid scaffolds: Synthesis and biochemical evaluation. *Molecules* 2017; 22, 1440.
- Lee I. R., Dawson S. A., Watherall J. D., Hahnel R. Sex hormone-binding globulin secretion by human hepatocarcinoma cells is increased by estrogens and androgens. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1987; 64, 825–831.
- Cassidy A. Potential risks and benefits of phytoestrogen-rich diets. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 2003; 73, 120–126.
- Mezei O., Banz W. J., Steger R. W., Peluso M. R., Winters T. A., Shay N. Soy isoflavones exert antidiabetic and hypolipidemic effects through the PPAR pathways in obese Zucker rats and murine RAW 264.7 cells. *J. Nutr.* 2003; 133, 1238–1243.
- Chemical Book. © 2016 citované 2017-01-27). Dostupné na: http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB6163787.htm
- Roland W. S., Vincken J. P., Gouka R. J., van Buren L., Gruppen H., Smit G. Soy Isoflavones and Other Isoflavonoids Activate the Human Bitter Taste Receptors hTAS2R14 and hTAS2R39. *J. Agric. Food Chem.* 2011; 59, 11764–11771.
- Yang Z., Kulkarni K., Zhu W., Hu M. Bioavailability and Pharmacokinetics of Genistein: Mechanistic Studies on its ADME. *Anticancer Agents Med. Chem.* 2012; 12, 1264–1280.
- Wu J. G., Ge J., Zhang Y. P., Yu Y., Zhang X. Y. Solubility of Genistein in Water, Methanol, Ethanol, Propan-2-ol, 1-Butanol, and Ethyl Acetate from (280 to 333) K. *J. Chem. Eng. Data* 2010; 55, 5286–5288.
- Fukutake M., Takahashi M., Ishida K., Kawamura H., Sugimura T., Wakabayashi K. Quantification of Genistein and Genistin in Soybean and Soybean products. *Food Chem. Toxicol.* 1996; 34, 457–461.
- Dalu A., Haskell J. F., Coward L., Lamartiniere C. A. Genistein, a Component of Soy, Inhibits the Expression of the EGF and ErbB2/Neu Receptors in the Rat Dorsolateral Prostate. *Prostate.* 1998; 37, 36–43.
- Banerjee S., Li Y., Wang Z., Sarkar F. H. Multi-targeted therapy of cancer by genistein. *Cancer Lett.* 2008; 269, 226–242.
- Kim Y. S., Choi K. C., Hwang K. A. Genistein suppressed epithelial-mesenchymal transition and migration efficacies of BG-1 ovarian cancer cells activated by estrogenic chemicals via estrogen receptor pathway and down-regulation of TGF- β signaling pathway. *Phytomedicine* 2015; 22, 993–999.
- Kuiper G. G., Lemmen J. G., Carlsson B., Corton J. C., Safe S. H., van der Saag P. T., van der Burg B., Gustafsson J. A. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor β . *Endocrinology* 1998; 139, 4252–4263.
- Polkowski K., Popiolkiewicz J., Krzeczynski P., Ramza J., Pucko W., Zegrocka-Stendel O., Boryski J., Skierski J. S., Mazurek A. P., Gryniewicz G. Cytostatic and cytotoxic activity of synthetic genistein glycosides against human cancer cell lines. *Cancer Lett.* 2004; 203, 59–69.
- Popiolkiewicz J., Polkowski K., Skierski J. S., Mazurek A. P. In vitro toxicity evaluation in the development of new anticancer drugs – genistein glycosides. *Cancer Lett.* 2005; 229, 67–75.
- Kwon S. H., Kang M. J., Huh J. S., Ha K. W., Lee J. R., Lee S. K., Lee B. S., Han I. H., Lee M. S., Lee M. W., Lee J., Choi Y. W. Comparison of oral bioavailability of genistein and genistin in rats. *Int. J. Pharm.* 2007; 337, 148–154.
- Steensma A., Faassen-Peters M. A., Noteborn H. P., Rietjens I. M. Bioavailability of Genistein and Its Glycoside Genistin As Measured in the Portal Vein of Freely Moving Unanesthetized Rats. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54, 8006–8012.
- Pasqualini J. R. *Breast Cancer: Prognosis, Treatment, and Prevention.* New York, Basel: CRC Press 2002.
- Liu B., Edgerton S., Yang X., Kim A., Ordonez-Ercan D., Mason T., Alvarez K., McKimmey C., Liu N., Thor A. Low-dose dietary phytoestrogen abrogates tamoxifen-associated mammary tumor prevention. *Cancer Res.* 2005; 65, 879–886.
- Kapiotis S., Hermann M., Held I., Seelos C., Ehringer H., Gmeiner B. M. Genistein, the dietary-derived angiogenesis inhibitor, prevents LDL oxidation and protects endothelial cells from damage by atherogenic LDL. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997; 17, 2868–2874.
- Akiyama T., Ishida J., Nakagawa S., Ogawara H., Watanabe S., Itoh N., Shibuya M., Fukami Y. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J. Biol. Chem.* 1987; 262, 5592–5595.
- Stahl S., Chun T. Y., Gray W. G. Phytoestrogens act as estrogen agonists in an estrogen-responsive pituitary cell line. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1998; 152, 41–48.
- Jurzak M., Ramos P., Pilawa B. The influence of genistein on free radicals in normal dermal fibroblasts and keloid fibroblasts examined by EPR spectroscopy. *Med. Chem. Res.* 2017; 26, 1297–1305.

26. Zhang Z., Wang C. Z., Du G. J., Qi L. W., Calway T., He T. C., Du W., Yuan C. S. Genistein induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis via ATM/p53- dependent pathway in human colon cancer cells. *Int. J. Oncol.* 2013; 43, 289–296.
27. Varinská L., Gál P., Mojžišová G., Mirossay L., Mojžiš J. Soy and breast cancer: focus on angiogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16, 11728–11749.
28. Su S. J., Yeh T. M., Chuang W. J., Ho C. L., Chang K. L., Cheng H. L., Liu H. S., Cheng H. L., Hsu P. Y., Chow N. H. The novel targets for anti-angiogenesis of genistein on human cancer cells. *Biochem. Pharmacol.* 2005; 69, 307–318.
29. Guo Y., Wang S., Hoot D. R., Clinton S. K. Suppression of VEGF-mediated autocrine and paracrine interactions between prostate cancer cells and vascular endothelial cells by soy isoflavones. *J. Nutr. Biochem.* 2007; 18, 408–417.
30. Zhou J. R., Gugger E. T., Tanaka T., Guo Y., Blackburn G. L., Clinton S. K. Soybean phytochemicals inhibit the growth of transplantable human prostate carcinoma and tumor angiogenesis in mice. *J. Nutr.* 1999; 129, 1628–1635.
31. Bakkiyanathan A., Joseph A. M., Tharani L., Malathi R. Genistein, the phytoestrogen induces heart-and-soul (has) phenotypes in zebrafish embryo. *J. Dev. Biol. Tissue Eng.* 2010; 2, 18–22.
32. Mukhopadhyay S., Ballard B. R., Mukherjee S., Kabir S. M., Das S. K. Beneficial effects of soy protein in the initiation and progression against dimethylbenz(a) anthracene-induced breast tumors in female rats. *Mol. Cell Biochem.* 2006; 290: 169–176.
33. Farina H. G., Pomies M., Alonso D. F., Gomez D. E. Antitumor and antiangiogenic activity of soy isoflavone genistein in mouse models of melanoma and breast cancer. *Oncol. Rep.* 2006; 16, 885–891.
34. Lamartiniere, C.A. Protection against breast cancer with genistein: a component of soy. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; 71, 1705–1707.
35. Allred C. D., Allred K. F., Ju Y. H., Virant S. M., Helferich W. G. Soy diets containing varying amounts of genistein stimulate growth of estrogen-dependent (MCF-7) tumors in a dose-dependent manner. *Cancer Res.* 2001; 61, 5045–5050.
36. Hsieh C. Y., Santell R. C., Haslam S. Z., Helferich W. G. Estrogenic effects of genistein on the growth of estrogen receptor-positive human breast cancer (MCF-7) cells in vitro and in vivo. *Cancer Res.* 1998; 58, 3833–3838.
37. Chang E. C., Charn T. H., Park S. H., Helferich W. G., Komm B., Katzenellenbogen J. A., Katzenellenbogen B. S. Estrogen receptors α and β as determinants of gene expression: influence of ligand, dose, and chromatin binding. *Mol. Endocrinol.* 2008; 22, 1032–1043.
38. Li Z., Li J., Mo B., Hu C., Liu H., Qi H., Wang X., Xu J. Genistein induces G2/M cell cycle arrest via stable activation of ERK1/2 pathway in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Cell Biol. Toxicol.* 2008; 24, 401–409.
39. Wang T. T. Y., Sathyamoorthy N., Phang J. M. Molecular effects of genistein on estrogen receptor mediated pathways. *Carcinogenesis* 1996; 17, 271–275.
40. Leung L. K., Wang T. T. Bcl-2 is not reduced in the death of MCF-7 cells at low genistein concentration. *J. Nutr.* 2000; 130, 2922–2926.
41. Pagliacci M. C., Smacchia M., Migliorati G., Grignani F., Riccardi C., Nicoletti I. Growth-inhibitory effects of the natural phytoestrogen genistein in MCF-7 human breast cancer cells. *Eur. J. Cancer.* 1994; 30, 1675–1682.
42. 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.
43. Jiang Y., Gong P., Madak-Erdogan Z., Martin T., Jeyakumar M., Carlson K., Khan I., Smillie T. J., Chittiboyina A. G., Rotte S. C. K., Helferich W. G., Katzenellenbogen J. A., Katzenellenbogen B. S. Mechanisms enforcing the estrogen receptor β selectivity of botanical estrogens. *FASEB J.* 2013; 27, 4406–4418.
44. Gong L., Li Y., Nedeljkovic-Kurepa A., Sarkar F. H. Inactivation of NF- κ B by genistein is mediated via Akt signaling pathway in breast cancer cells. *Oncogene* 2003; 22, 4702–4709.
45. Mai Z., Blackburn G. L., Zhou J. R. Genistein sensitizes inhibitory effect of tamoxifen on the growth of estrogen receptor-positive and HER2-overexpressing human breast cancer cells. *Mol. Carcinog.* 2007; 46, 534–542.
46. Li Y., Ahmed F., Ali S., Philip P. A., Kucuk O., Sarkar F. H. Inactivation of nuclear factor KB by soy isoflavone genistein contributes to increased apoptosis induced by chemotherapeutic agents in human cancer cells. *Cancer Res.* 2005; 65, 6934–6942.
47. Seo H. S., DeNardo D. G., Jacquot Y., Laios L., Vidal D. S., Zambrana C. R., Leclercq G., Brown P. H. Stimulatory effect of genistein and apigenin on the growth of breast cancer cells correlates with their ability to activate ER alpha. *Breast Cancer Res. Treat.* 2006; 99, 121–134.
48. Pan H., Zhou W., He W., Liu X., Ding Q., Ling L., Zha X., Wang S. Genistein inhibits MDA-MB-231 triple-negative breast cancer cell growth by inhibiting NF- κ B activity via the Notch-1 pathway. *Int. J. Mol. Med.* 2012; 30, 337–343.
49. Shim H. Y., Park J. H., Paik H. D., Nah S. Y., Kim D. S., Han Y. S. Genistein-induced apoptosis of human breast cancer MCF-7 cells involves calpain-caspase and apoptosis signaling kinase 1–p38 mitogen-activated protein kinase activation Cascades. *Anticancer Drugs* 2007; 18, 649–657.
50. Prietsch R. F., Monte L. G., da Silva F. A., Beira F. T., Del Pino F. A., Campos V. F., Collares T., Pinto L. S., Spanevello R. M., Gamaro G. D., Braganhol E. Genistein induces apoptosis and autophagy in human breast MCF-7 cells by modulating the expression of proapoptotic factors and oxidative stress enzymes. *Mol. Cell. Biochem.* 2014; 390, 235–242.
51. **Ovarian Cancer Research Fund Alliance** © 2016 citované 2017-11-22). Dostupné na: <https://ocrfa.org/patients/about-ovarian-cancer/statistics/>
52. Luo H., Jiang B. H., King S. M., Chen Y. C. Inhibition of Cell Growth and VEGF Expression in Ovarian Cancer Cells by Flavonoids. *Nutr. Cancer* 2008; 60, 800–809.
53. Ouyang G., Yao L., Ruan K., Song G., Mao Y., Bao S. Genistein induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis of human ovarian cancer cells via activation of DNA damage checkpoint pathways. *Cell. Biol. Int.* 2009; 33, 1237–1244.
54. Antosiak A., Milowska K., Maczynska K., Rozalska S., Gabryelak T. Cytotoxic activity of genistein-8-C-glucoside form *Lupinus luteus* L. and genistein against human SK-OV-3 ovarian carcinoma cell line. *Med. Chem. Res.* 2016; 26, 64–73.
55. **American Cancer Society.** Colorectal Cancer Facts & Figures 2014–2016. Atlanta: American Cancer Society © 2014 citované 2017-11-23). Dostupné na: <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/colorectal-cancer-facts-and-figures/colorectal-cancer-facts-and-figures-2014-2016.pdf>
56. Raju J., Bielecki A., Caldwell D., Lok E., Taylor M., Kapal K., Curran I., Cooke G. M., Bird R. P., Mehta R. Soy isoflavones modulate azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis exposed pre- and postnatally and inhibit growth of DLD-1 human colon adenocarcinoma cells by increasing the expression of estrogen receptor-b 1–3. *J. Nutr.* 2009; 139, 474–481.
57. Qi W., Weber C. R., Wasland K., Savkovic S. D. Genistein inhibits proliferation of colon cancer cells by attenuating a negative effect of epidermal growth factor on tumor suppressor FOXO3 activity. *BMC Cancer* 2011; 11, 219.
58. Pool-Zobel B. L., Adlercreutz H., Gleis M., Liegibel U. M., Sittlington J., Rowland I., Wähälä K., Rechkemmer G. Isoflavonoids and lignans have different potentials to modulate oxidative genetic damage in human colon cells. *Carcinogenesis* 2000; 21, 1247–1252.
59. **American Cancer Society** © 2016 citované 2017-11-27). Dostupné na: <https://www.cancer.org/cancer/prostate-cancer.html>
60. Normanno N., De Luca A., Bianco C., Strizzi L., Mancino M., Maiello M. R., Carotenuto A., De Feo G., Caponigro F., Salomon D. S. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. *Gene* 2006; 366, 2–16.
61. Raffoul J. J., Wang Y., Kucuk O., Forman J. D., Sarkar F. H., Hillman G. G. Genistein inhibits radiation-induced activation of NF- κ B in prostate cancer cells promoting apoptosis and G2/M cell cycle arrest. *BMC Cancer* 2006; 6, 107.

62. Suzuki K., Koike H., Matsui H., Ono Y., Hasumi M., Nakazato H., Okugi H., Sekine Y., Oki K., Ito K., Yamamoto T., Fukabori Y., Kurokawa K., Yamanaka H. Genistein, a soy isoflavone, induces glutathione peroxidase in the human prostate cancer cell lines LNCaP a PC-3. *Int. J. Cancer* 2002; 99, 846–852.
63. Kumi-Diaka J. Chemosensitivity of human prostate cancer cells PC3 and LNCaP to genistein isoflavone and β -lapachone. *Biol. Cell.* 2002; 94, 37–44.
64. Hörmann V., Kumi-Diaka J., Durity M., Rathinavelu A. Anticancer activities of genistein-topotecan combination in prostate cancer cells. *J. Cell. Mol. Med.* 2012; 16, 2631–2636.
65. Gu Y., Zhu C. F., Dai Y. L., Zhong Q., Sun B. Inhibitory effects of genistein on metastasis of human hepatocellular carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 2009; 15, 4952–4957.
66. Gu Y., Zhu C. F., Iwamoto H., Chen J. S. Genistein inhibits invasive potential of human hepatocellular carcinoma by altering cell cycle, apoptosis, and angiogenesis. *World J. Gastroenterol.* 2005; 11, 6512–6517.
67. Mansoor T. A., Ramalho R. M., Luo X., Ramalhte C., Rodrigues C. M., Ferreira M. J. Isoflavones as apoptosis inducers in human hepatoma HuH-7 cells. *Phytother. Res.* 2011; 25, 1819–1824.
68. Yeh T. C., Chiang P. C., Li T. K., Hsu J. L., Lin C. J., Wang S. W., Peng C. Y., Guh J. H. Genistein induces apoptosis in human hepatocellular carcinomas via interaction of endoplasmic reticulum stress and mitochondrial insult. *Biochem. Pharmacol.* 2007; 73, 782–792.
69. Chodon D., Ramamurty N., Sakthisekaran D. Preliminary studies on induction of apoptosis by genistein on HepG2 cell line. *Toxicol. In Vitro* 2007; 21, 887–891.
70. Wang S. D., Chen B. C., Kao S. T., Liu C. J., Yeh C. C. Genistein inhibits tumor invasion by suppressing multiple signal transduction pathways in human hepatocellular carcinoma cells. *BMC Complement. Altern. Med.* 2014; 14, 26.
71. Dai W., Wang F., He L., Lin C., Wu S., Chen P., Zhang Y., Shen M., Wu D., Wang C., Lu J., Zhou Y., Xu X., Xu L., Guo C. Genistein inhibits hepatocellular carcinoma cell migration by reversing the epithelial-mesenchymal transition: partial mediation by the transcription factor NFAT1. *Mol. Carcinog.* 2015; 54, 301–311.
72. Huang W., Wan C., Luo Q., Huang Z., Luo Q. Genistein-inhibited cancer stem cell-like properties and reduced chemoresistance of gastric cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15, 3432–3443.
73. Yu D., Shin H. S., Lee Y. S., Lee D., Kim S., Lee Y. C. Genistein attenuates cancer stem cell characteristics in gastric cancer through the down-regulation of Gli1. *Oncol. Rep.* 2014; 31, 673–678.
74. Zhou H. B., Chen J. J., Wang W. X., Cai J. T., Du Q. Apoptosis of human primary gastric carcinoma cells induced by genistein. *World J. Gastroenterol.* 2004; 10, 1822–1825.
75. Li Y. S., Wu L. P., Li K. H., Liu Y. P., Xiang R., Zhang S. B., Zhu L. Y., Zhang L. Y. Involvement of nuclear factor kappa B (NF- κ B) in the down-regulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) by genistein in gastric cancer cells. *J. Int. Med. Res.* 2011; 39, 2141–2150.
76. Tatsuta M., Iishi H., Baba M., Yano H., Uehara H., Nakaizumi A. Attenuation by genistein of sodium-chloride-enhanced gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in Wistar rats. *Int. J. Cancer* 1999; 80, 396–399.
77. American Cancer Society © 2016 citované 2017-11-25). Dostupné na: <https://www.cancer.org/cancer/pancreatic-cancer/detection-diagnosis-staging/survival-rates.html>
78. Büchler P., Reber H. A., Büchler M. W., Friess H., Lavey R. S., Hines O. J. Antiangiogenic activity of genistein in pancreatic carcinoma cells is mediated by the inhibition of hypoxia-inducible factor-1 and the down-regulation of VEGF gene expression. *Cancer* 2004; 100, 201–210.
79. Suzuki R., Kang Y., Li X., Roife D., Zhang R., Fleming J. B. Genistein potentiates the antitumor effect of 5-fluorouracil by inducing apoptosis and autophagy in human pancreatic cancer cells. *Anticancer Res.* 2014; 34, 4685–4692.
80. El-Rayes B. F., Ali S., Ali I.F., Philip P. A., Abbruzzese J., Sarkar F. H. Potentiation of the effect of erlotinib by genistein in pancreatic cancer: the role of akt and nuclear factor-KB. *Cancer Res.* 2006; 66, 10553–10559.
81. Li Y., Ellis K. L., Ali S., El-Rayes B. F., Nedeljkovic-Kurepa A., Kucuk O., Philip P. A., Sarkar F. H. Apoptosis-inducing effect of chemotherapeutic agents is potentiated by soy isoflavone genistein, a natural inhibitor of NF- κ B in BxPC-3 pancreatic cancer cell line. *Pancreas* 2004; 28, 90–95.
82. Ma J., Zeng F., Ma C., Pang H., Fang B., Lian C., Yin B., Zhang X., Wang Z., Xia J. Synergistic reversal effect of epithelial-to-mesenchymal transition by miR-223 inhibitor and genistein in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells. *Am. J. Cancer Res.* 2016; 6, 1384–1395.
83. Tian T., Li J., Li B., Wang Y., Li M., Ma D., Wang X. Genistein exhibits anti-cancer effects via down-regulating FoxM1 in H446 small-cell lung cancer cells. *Tumour Biol.* 2014; 35, 4137–4145.
84. Yang Y., Zang A., Jia Y., Shang Y., Zhang Z., Ge K., Zhang J., Fan W., Wang B. Genistein inhibits A549 human lung cancer cell proliferation via miR-27a and MET signaling. *Oncol. Lett.* 2016; 12: 2189–2193.
85. Shiau, R. J., Chen K. Y., Wen Y. D., Chuang C. H., Yeh S. L. Genistein and β -carotene enhance the growth-inhibitory effect of trichostatin A in A549 cells. *Eur. J. Nutr.* 2010; 49, 19–25.
86. Cheng J., Qi J., Li X. T., Zhou K., Xu J. H., Zhou Y., Zhang G. Q., Xu J. P., Zhou R. J. ATRA and Genistein synergistically inhibit the metastatic potential of human lung adenocarcinoma cells. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2015; 8, 4220–4227.
87. Zhu H., Cheng H., Ren Y., Liu Z. G., Zhang Y. F., De Luo B. Synergistic inhibitory effects by the combination of gefitinib and genistein on NSCLC with acquired drug-resistance in vitro and in vivo. *Mol. Biol. Rep.* 2012; 39, 4971–4979.
88. Stupp R., Mason W. P., van den Bent M. J., Weller M., Fisher B., Taphoorn M. J., Belanger K., Brandes A. A., Marosi C., Bogdahn U., Curschmann J., Janzer R. C., Ludwin S. K., Gorlia T., Allgeier A., Lacombe D., Cairncross J. G., Eisenhauer E., Mirimanoff R. O., European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor and Radiotherapy Groups; National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352, 987–996.
89. Khaw A. K., Yong J. W., Kalthur G., Hande M. P. Genistein Induces Growth Arrest and Suppresses Telomerase Activity in Brain Tumor Cells. *Genes Chromosomes Cancer* 2012; 51, 961–974.
90. Belcher S. M., Burton C. C., Cookman C. J., Kirby M., Miranda G. L., Saeed F. O., Wray K. E. Estrogen and soy isoflavonoids decrease sensitivity of medulloblastoma and central nervous system primitive neuroectodermal tumor cells to chemotherapeutic cytotoxicity. *BMC Pharmacol. Toxicol.* 2017; 18, 63.
91. Klauser E., Gulden M., Maser E., Seibert S., Seibert H. Additivity, antagonism, and synergy in arsenic trioxide- induced growth inhibition of C6 glioma cells: Effects of genistein, quercetin and buthionine-sulfoximine. *Food Chem. Toxicol.* 2014; 67, 212–221.
92. Jeng Y. J., Watson C. S. Proliferative and anti-proliferative effects of dietary levels of phytoestrogens in rat pituitary GH3/B6/F10 cells – the involvement of rapidly activated kinases and caspases. *BMC Cancer* 2009; 9, 334.
93. Dvorak H. F. Tumors: Wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N. Engl. J. Med.* 1986; 315, 1650–1659.
94. Dvořánková B., Szabo P., Lacina L., Gál P., Uhrová J., Zima T., Kaltner H., André S., Gabius H. J., Syková E., Smetana Jr. K. Human galectins induce conversion of dermal fibroblasts into myofibroblasts and production of extracellular matrix: Potential application in tissue engineering and wound repair. *Cells Tissues Organs* 2011; 194, 469–480.

95. Kolář M., Szabo P., Dvořánková B., Lacina L., Gabius H. J., Strnad H., Sáčková J., Vlček C., Plzák J., Chovanec M., Cada Z., Betka J., Fík Z., Pačes J., Kovářová H., Motlík J., Jarkovská K., Smetana Jr. K. Up-regulation of il-6, il-8 and cxcl-1 production in dermal fibroblasts by normal/malignant epithelial cells in vitro: Immunohistochemical and transcriptomic analyses. *Biol. Cell* 2012; 104, 738–751.
96. Lacina L., Plzák J., Kodet O., Szabo P., Chovanec M., Dvořánková B., Smetana Jr. K. Cancer microenvironment: What can we learn from the stem cell niche. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16, 24094–24110.
97. Emmerson E., Campbell L., Ashcroft G. S., Hardman M. J. The phytoestrogen genistein promotes wound healing by multiple independent mechanisms. *Mol. Cell Endocrinol.* 2010; 321, 184–193.
98. Ashcroft G. S., Dodsworth J., van Boxtel E., Tarnuzzer R. W., Horan M. A., Schultz G. S., Ferguson M. W. Estrogen accelerates cutaneous wound healing associated with an increase in TGF-beta1 levels. *Nat. Med.* 1997; 3, 1209–1215.
99. Marini H., Polito F., Altavilla D., Irrera N., Minutoli L., Calò M., Adamo E. B., Vaccaro M., Squadrito F., Bitto A. Genistein aglycone improves skin repair in an incisional model of wound healing: a comparison with raloxifene and oestradiol in ovariectomized rats. *Br. J. Pharmacol.* 2010; 160, 1185–1194.
100. Renda G., Yalçın F. N., Nemutlu E., Akkol E. K., Süntar I., Keleş H., İna H., Çalış I., Ersöz T. Comparative assessment of dermal wound healing potentials of various *Trifolium L.* extracts and determination of their isoflavone contents as potential active ingredients. *J. Ethnopharmacol.* 2013; 148, 423–432.
101. Jurzak M., Adameczyk K., Antończak P., Garnarczyk A., Kuśmierz D., Latocha M. Evaluation of genistein ability to modulate CTGF mRNA/protein expression, genes expression of TGFβ isoforms and expression of selected genes regulating cell cycle in keloid fibroblasts in vitro. *Acta Pol. Pharm.* 2014; 71, 972–986.
102. Cao C., Li S., Dai X., Chen Y., Feng Z., Zhao Y., Wu J. Genistein inhibits proliferation and functions of hypertrophic scar fibroblasts. *Burns* 2009; 35, 89–97.
103. Park E., Lee S. M., Jung I. K., Lim Y., Kim J. H. Effects of genistein on early-stage cutaneous wound healing. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011; 410, 514–519.
104. Eo H., Lee H. J., Lim Y. Ameliorative effect of dietary genistein on diabetes induced hyper- inflammation and oxidative stress during early stage of wound healing in alloxan induced diabetic mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2016; 478, 1021–1027.
105. van der Veldt A. A., Lammersma A. A., Smit E. F. Scheduling of anticancer drugs: Timing may be everything. *Cell Cycle* 2012; 11, 4339–4343.
106. Park J. W., Hwang S. R., Yoon I. S. Advanced growth factor delivery systems in wound management and skin regeneration. *Molecules* 2017; 22, 1259.