



Maria Inês Ferreira Lourenço França Pereira

Plantas e o Cancro: Riscos de Interações que Podem Comprometer a Terapêutica

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Maria da Graça Campos e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Maria Inês Ferreira Lourenço França Pereira

Plantas e o Cancro: Riscos de Interações que Podem Comprometer a Terapêutica

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Maria da Graça Campos e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Maria Inês Ferreira Lourenço França Pereira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2010125151, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 11 de Setembro de 2015.

(Maria Inês Ferreira Lourenço França Pereira)

A Tutora

(Professora Doutora Maria da Graça Campos)

A Aluna

(Maria Inês Ferreira Lourenço França Pereira)

Agradecimentos

Quero agradecer de forma muito especial, à Professora Doutora Maria da Graça Campos, pela disponibilidade e apoio demonstrado durante a realização deste trabalho.

Agradeço-lhe por ter confiado em mim e nas minhas capacidades, deixando-me preparar a monografia ao meu ritmo e segundo a minha organização de tempo.

Índice

Abreviaturas.....	2
Resumo	3
Abstract	4
1. Introdução.....	5
2. Angiogénese.....	6
2.1 O papel da angiogénese no crescimento de tumores	6
2.2 Plantas com atividade pró-angiogénica.....	8
3. Tumores hormono-dependentes.....	13
3.1 Vias de sinalização dos recetores estrogénicos	14
3.2 Plantas com atividade estrogénica.....	15
4 Conclusão.....	25
5 Referências bibliográficas	26

Índice de Tabelas

Tabela 1. Compostos derivados de plantas com atividade angiogénica e seus mecanismos... 12
Tabela 2. Compostos derivados de plantas com atividade estrogénica e seus mecanismos...20

Índice de Figuras

Figura 1. Angiogénese tumoral e metastização.	7
Figura 2. Via de sinalização dos recetores estrogénicos.....	15

Abreviaturas

ADN – Ácido desoxirribonucleico

bFGF (ou FGF-2) – Fator de crescimento fibroblástico básico

CAM – Membrana corioalantóica

E₂ – 17β-estradiol

eNOS – Sintetase do óxido nítrico endotelial

ERE – Elemento de resposta ao estrogénio

ERK1/2 – Cinases 1 e 2 reguladas por sinais extracelulares

HIF-1α – Fator indutor de hipóxia 1-α

HUVEC – Células endoteliais da veia umbilical humana

IGF-I – Fator de crescimento insulínico do tipo I

IGFR-I – Recetor do fator de crescimento insulínico do tipo I

JNK1/2 – Cinases 1 e 2 do terminal amínico (N) da proteína c-Jun

MAPK – Cinases de proteínas ativadas por mitogénios

MMP – Metaloproteinases da matriz

mRNA – RNA mensageiro

PCR – Reação em cadeia da polimerase

PI3k – Fosfatidilinositol-3-cinase

RE – Recetor estrogénico

RE_α – Recetor estrogénico do tipo α

RE_β – Recetor estrogénico do tipo β

RE+ – Recetor estrogénico positivo

RNA – Ácido ribonucleico

VEGF – Fator de crescimento do endotélio vascular

Resumo

Nos doentes oncológicos, o uso de suplementos ou outros produtos à base de plantas pode dar origem a interações de grande complexidade que comprometem a eficácia dos tratamentos preconizados pela medicina convencional.

A presente monografia tem como objetivo sinalizar as plantas que possam interagir diretamente com os processos tumorais e tumores hormono-dependentes, pelas suas propriedades angiogénicas e estrogénicas, respetivamente.

A angiogénese constitui uma etapa crítica no crescimento tumoral, contribuindo não só para a sua proliferação, mas também para a sua capacidade invasiva, possibilitando a migração para outros tecidos e órgãos.

Entre as 14 plantas referidas com atividade pró-angiogénica, encontram-se o *Aloe barbadensis*, *Panax ginseng*, *Hippophae rhamnoides*, *Angelica sinensis*, *Astragalus membranaceus* e *Cinnamomum cassia*.

Os fitoestrogénios, que incluem isoflavonas, cumestanos, linhanos e fitoesteróis, são capazes de se ligar a recetores estrogénicos (RE) e consequentemente induzir e modular as vias de sinalização dos mesmos, demonstrando-se que estes compostos podem ativar os REs, estimulando o crescimento de células do cancro da mama positivo para recetor estrogénico (RE+).

Encontram-se neste trabalho 30 espécies de plantas com propriedades estrogénicas, entre elas *Glycine max*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Humulus lupulus*, *Panax ginseng* e *Vitex agnus-castus*.

Como resultado da pesquisa e análise dos dados, é possível constatar a complexidade de compostos presentes nos extratos das plantas abordadas, muitos deles, exercendo efeitos distintos de acordo com a sua concentração.

Assim, estes resultados estabelecem fortes indícios de que as plantas com propriedades pró-angiogénicas interagem com os processos tumorais e, desta forma, o seu consumo por doentes oncológicos deve ser avidamente desaconselhado. O mesmo princípio pode ser aplicado às plantas com propriedades estrogénicas, que não devem ser consumidas por mulheres com tumores hormono-dependentes, como cancro da mama positivo para o recetor estrogénico (RE+), cancro dos ovários e cancro do endométrio.

Abstract

The use of dietary supplements or other plant-based products by oncologic patients can lead to major interactions that can compromise the conventional therapy.

The purpose of this monography is to point out plants that may interact directly with tumours and hormone-dependent cancers, due to its angiogenic or estrogenic properties, respectively.

Angiogenesis has a pivotal role in tumour growth, progression, invasiveness and metastasis.

Among the 14 plants showed as pro-angiogenic agents, are found *Aloe barbadensis*, *Panax ginseng*, *Hippophae rhamnoides*, *Angelica sinensis*, *Astragalus membranaceus* and *Cinnamomum cassia*.

Phytoestrogens, including the non-steroidal isoflavones, coumestans, lignans and the steroidal phytosterols, are able to bind to oestrogen receptors (ER) and thereby induce or modulate the oestrogen signalling pathway. The ER activation by these compounds has also been demonstrated to stimulate the growth of ER-positive breast cancer cells.

In this paper there were reviewed 30 species of plants with estrogenic properties, between them *Glycine max*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Humulus lupulus*, *Panax ginseng* and *Vitex agnus-castus*.

As result of the research and data analysis, it is possible to verify the complexity of compounds present in the plant extracts, in which, many of them, exert opposite effects in a dose-dependent manner.

Therefore, the results establish that plants with pro-angiogenic properties promote tumour growth and, for this reason, its use is not recommended to oncologic patients. The intake of phytoestrogens should also be discouraged to women with ER-positive breast cancer, ovarian cancer and endometrial cancer.

I. Introdução

Assiste-se na atualidade à emergência no mercado de cada vez mais suplementos alimentares à base de plantas que cativam os consumidores com a premissa de melhorar ou resolver todo o tipo de enfermidades.

Nos doentes oncológicos, o uso de suplementos ou outros produtos à base de plantas pode dar origem a interações de grande complexidade que comprometem a eficácia dos tratamentos preconizados pela medicina convencional e, em algumas situações, ameaçam a vida do doente.

Esta problemática surge com a agravante de que, a estes doentes, a informação pode chegar manipulada por parte de quem promove as vendas destes produtos e por isso, na maioria das vezes, isenta de rigor. Como consequência, um consumo baseado em informação não fidedigna pode culminar numa decisão insensata e precipitada, que acarreta riscos para a saúde dos consumidores.

Mesmo com a existência de estudos científicos que atribuam propriedades anticancerígenas a determinados compostos derivados de plantas, o consumo destes produtos constitui sempre um risco para a saúde dos doentes pela inexistência de ensaios clínicos que garantam a sua segurança e, conseqüentemente, pela imprevisibilidade dos seus efeitos.

A presente monografia tem como objetivo sinalizar as plantas que possam interagir diretamente com os processos tumorais e tumores hormono-dependentes, pelas suas propriedades angiogénicas e estrogénicas, respetivamente, condicionando a eficácia da terapêutica quimioterápica.

Com este trabalho pretende-se, também, alertar para as consequências do consumo destas plantas por doentes oncológicos, salientando a inexistência, até ao momento, de evidências científicas a seu favor.

2. Angiogénese

A angiogénese é o processo de formação de novos vasos sanguíneos a partir da vasculatura pré-existente. Este processo envolve a migração, crescimento e diferenciação de células endoteliais, que forram a parede interna dos vasos sanguíneos.

Podemos considerar 10 etapas sequenciais que descrevem como se processa a angiogénese (Fan *et al.*, 2006):

- i. Em resposta a condições de hipóxia, os tecidos danificados ou afetados sintetizam e libertam fatores angiogénicos;
- ii. Estes fatores ligam-se aos seus respetivos recetores nas células endoteliais;
- iii. Desta ligação decorre a ativação das células endoteliais;
- iv. São libertadas proteases para dissolver a membrana basal;
- v. Ocorre a migração e proliferação das células endoteliais;
- vi. As moléculas de adesão (integrina, avb3 e avb5) auxiliam a formação dos vasos sanguíneos em desenvolvimento;
- vii. São produzidas metaloproteinases da matriz (MMPs) para dissolver a membrana extracelular e iniciar a sua remodelação;
- viii. A interação entre a angiopoietina e o seu recetor Tie-2 medeia a formação de túbulos;
- ix. A interação entre a efrina B e o seu recetor EphB regula a formação do *loop* dos capilares;
- x. São incorporados pericitos de forma a estabilizar os vasos sanguíneos recém-formados.

A angiogénese está envolvida em numerosos processos fisiológicos e patológicos no nosso organismo como o desenvolvimento embrionário, cicatrização de feridas, crescimento de capilares sanguíneos em tecidos isquémicos, bem como no desenvolvimento de tumores e de patologias angioproliferativas (Folkman, 2002).

Em condições normais, os indutores e inibidores da angiogénese encontram-se em equilíbrio para que os vasos sanguíneos se formem apenas onde e quando são necessários (Fan *et al.*, 2006).

2.1 O papel da angiogénese no crescimento de tumores

A angiogénese constitui uma etapa crítica no crescimento tumoral, contribuindo não só para a sua proliferação, mas também para a sua capacidade invasiva, possibilitando a migração

para outros tecidos e órgãos. É através do fluxo sanguíneo que o tumor recebe oxigénio e nutrientes para que as suas células proliferem, permitindo a invasão de tecidos adjacentes e a progressão para outros locais do corpo onde formam novas colónias de células cancerígenas, as metástases (Dimova *et al.*, 2014).

É um processo complexo que envolve a ativação de vias de sinalização, nas quais o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) assume um papel de destaque (Fan *et al.*, 2006).

O VEGF atua nas células endoteliais através de dois recetores: Flt-1 (ou VEGFR1) e KDR/Flk-1 (ou também denominado VEGFR2) (Majewska e Gendaszewska-Darmach, 2011).

Nas cascatas de sinalização do VEGF participam grupos de moléculas como Src, Akt e a família das cinases de proteínas ativadas por mitogénios (MAPK). São conhecidas 3 subfamílias das MAPK: cinases 1 e 2 reguladas por sinais extracelulares (ERK1/2); cinases 1 e 2 do terminal N (amínico) da proteína c-Jun (JNK1/2) e a proteína p38.

Em doenças como o cancro, uma excessiva estimulação da angiogénese (Figura 1) ocorre quando as células cancerígenas produzem quantidades anormais de fatores pró-angiogénicos, tais como o VEGF, o fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF ou FGF-2) e o fator de crescimento de hepatócitos (HGF), sobrepondo-se aos efeitos dos inibidores endógenos da angiogénese (angiostatina, endostatina e trombospondina) (Fan *et al.*, 2006).

O principal motor da angiogénese é a hipóxia, levando à secreção de VEGF e outras moléculas pró-angiogénicas por células hipóxicas (Majewska e Gendaszewska-Darmach, 2011).

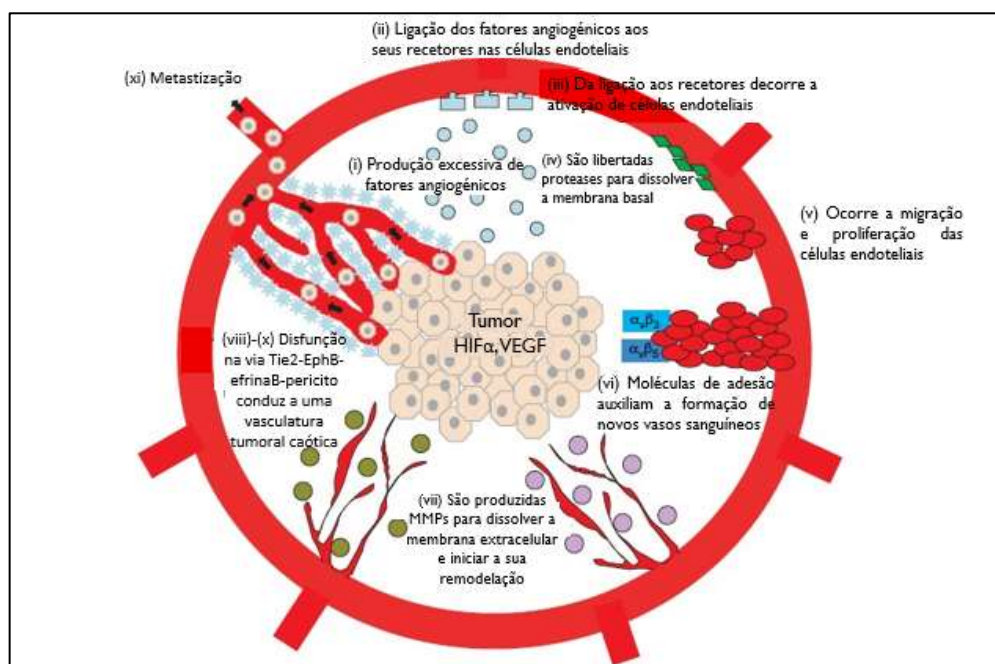


Figura 1. Angiogénese tumoral e metástase. HIF α - fator indutor de hipóxia 1 α ; MMP - metaloproteinases da matriz; VEGF - fator de crescimento do endotélio vascular. Adaptado de Fan *et al.*, 2006.

Em resposta a uma elevada exigência metabólica e baixa pressão de oxigénio, as células tumorais expressam o fator indutor de hipóxia 1α (HIF- 1α), levando a uma superprodução de fatores angiogénicos (por exemplo: VEGF-A, FGF-2 e angiopoietinas) e dos seus recetores nas células endoteliais. A concomitante subprodução de inibidores angiogénicos endógenos (angiostatina, trombospondina) e dos seus recetores leva a um desequilíbrio a favor da angiogénese. Após a rutura da membrana basal pela ação das proteases, as células endoteliais migram e proliferam, dando origem a uma neovascularização descontrolada. Eventualmente as células tumorais escapam através dos novos vasos e metastizam outros órgãos (Fan *et al.*, 2006).

2.2 Plantas com atividade pró-angiogénica

Verifica-se uma tendência cada vez mais evidente de que muitos doentes com patologia oncológica recorrem frequentemente ao uso de suplementos alimentares à base de plantas (Cheng *et al.*, 2010).

É conhecida a complexidade destas preparações, uma vez que as plantas contêm inúmeros compostos ativos, transformando os suplementos à base de plantas em autênticos *cocktails* químicos (Fan *et al.*, 2006).

Na Tabela I encontram-se sinalizadas várias plantas com atividade angiogénica que, pela probabilidade de promoverem o crescimento de tumores, não devem ser consumidas por doentes oncológicos.

Aloe barbadensis

O Aloé Vera contém mais de 100 compostos entre os quais glicoproteínas, sacarídeos, antraquinonas e outras substâncias com baixo peso molecular. Entre estas últimas o β -sitosterol foi identificado como tendo propriedades angiogénicas. Moon *et al.* (1999) demonstraram que o extrato bruto desta planta, contendo β -sitosterol, promovia a migração das células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs) e exercia atividade angiogénica potente na membrana corioalantóica (CAM) de embriões de galinha, estimulando a neovascularização. Este componente revelou também aumentar a expressão de proteínas relacionadas com a angiogénese, tais como o fator von Willebrand (vWF), VEGF, Flk-1 e laminina, constituinte da matriz dos vasos sanguíneos (Choi *et al.*, 2002).

Panax ginseng

O ginseng é um componente chave na medicina tradicional chinesa, sendo uma das plantas mais utilizadas em todo o mundo, com inúmeras propriedades distintas. No entanto, no que diz respeito à angiogénese a sua atividade é ambígua, na medida em que apresenta simultaneamente propriedades pró-angiogénicas e antiangiogénicas, dois efeitos completamente opostos (Majewska e Gendaszewska-Darmach, 2011).

Os dois compostos predominantes na composição do ginseng são os ginsenósidos Rg1 e Rb1. Através de extratos com diferentes rácios dos dois ginsenósidos demonstrou-se que naqueles cuja porção de Rg1 era prevalente, verificava-se atividade pró-angiogénica, enquanto que, com a prevalência de Rb1, o extrato revelava propriedades antiangiogénicas. O Rg1 promoveu também a neovascularização num excerto polimérico *in vivo* e a proliferação de HUVECs *in vitro*. Observou-se que esta atividade era mediada pela expressão da sintetase endotelial do óxido nítrico (eNOS) e pela via fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K)/Akt (Sengupta *et al.*, 2004).

O Re e o Rg2, outros ginsenósidos isolados de diferentes espécies do género *Panax*, podem também ser considerados agentes pró-angiogénicos, devido aos seus efeitos na promoção da proliferação, migração e formação de túbulos nas HUVECs (Huang *et al.*, 2005).

Pelo contrário, o Rb1 e os seus metabolitos, Rb2 e Rg3, inibem as etapas primordiais da angiogénese e da proliferação de células endoteliais, podendo impedir assim a angiogénese tumoral e o seu processo de metastização, possivelmente pela inibição da libertação de VEGF pelas células tumorais. Sengupta *et al.* (2004) explicaram, desta forma, a ambiguidade no que respeita aos efeitos contraditórios do ginseng na fisiopatologia vascular, realçando a necessidade de uma regulamentação que uniformize os extratos usados em fitoterapia.

Hippophae rhamnoides

As folhas, os frutos maduros e as sementes do espinheiro-marítimo mostraram ser uma fonte rica em flavonóides (isoramnetina, quercetina, miricetina, camferol e os seus derivados glucósidos), carotenóides (alfa-, beta- e delta-caroteno e licopeno), vitaminas (A, C, E e K), taninos, triterpenos, glicerídeos dos ácidos palmítico, esteárico e oleico e alguns aminoácidos essenciais (Majewska e Gendaszewska-Darmach, 2011). Os estudos Gupta *et al.* (2008) e Upadhyay *et al.* (2010) revelaram que o espinheiro-marítimo estimulou a angiogénese em ambos os modelos *in vitro* e *in vivo* e promoveu a formação de novos vasos sanguíneos na CAM de embriões de galinha. O mecanismo desta planta envolve o aumento da expressão

do VEGF, bem como das MMP-2 e MMP-9. Um dos compostos responsáveis pela ação angiogénica poderá ser o sitosterol que constitui 57-76% e 61-83% dos esteróis da semente e da polpa, respetivamente (Majewska e Gendaszewska-Darmach, 2011).

Angelica sinensis

A angélica, tal como o ginseng, é uma das plantas mais populares na medicina tradicional chinesa. Até à data, os estudos sobre esta planta revelaram algumas discrepâncias. Meng *et al.* (2008) reportaram que os extratos de angélica promoviam a proliferação de células endoteliais e aumentavam o número de vasos sanguíneos na CAM de embriões de galinha, sugerindo que esta planta possui atividade angiogénica.

Também Lam *et al.* (2008) indicaram que os extratos aquosos da raiz de angélica aumentavam a proliferação, a migração e invasão de HUVECs, bem como promoviam a angiogénese *in vivo* em peixes-zebra. A atividade angiogénica é atribuída ao referido extrato devido a se ter verificado um aumento da expressão de VEGF e estimulação da via de sinalização da p38 e da JNK1/2.

Pelo contrário, Yeh *et al.* (2011) demonstraram que o óleo volátil da raiz de angélica tinha propriedades antiangiogénicas pela inibição da progressão do ciclo celular e indução da apoptose. No entanto, é importante referir que o extrato aquoso da raiz de angélica, que foi o centro dos dois primeiros estudos, tinha maioritariamente polissacarídeos (60%), sendo também detetados o ácido ferrúlico, ligustilido e n-butilideneftalido. Por outro lado, o óleo volátil analisado no terceiro estudo era composto por monoterpenos e sesquiterpenos, não sendo detetada a presença de ácido ferrúlico nem polissacarídeos. As diferenças na composição dos dois extratos evidenciam que a presença de distintos constituintes é a principal razão para que se verifique este contraste de efeitos na angiogénese.

Astragalus membranaceus

O astrágalo é uma das 50 ervas fundamentais da medicina tradicional chinesa, sendo usado para reforçar o sistema imunitário e para o tratamento de hemorragias uterinas anormais, diabetes mellitus e doenças cardiovasculares, no entanto, os efeitos do extrato da raiz desta planta na angiogénese e o mecanismo pelo qual atua, ainda não estão completamente elucidados (Majewska e Gendaszewska-Darmach, 2011). Os principais constituintes do extrato desta planta incluem isoflavonóides (formononetina, calicosina, ononina e seus glucósidos), saponinas triterpénicas (astragalósidos I-IV) e polissacarídeos (Ma *et al.*, 2002).

Segundo Zhang *et al.* (2009) o extrato da raiz de astrágalo estimulou a proliferação de HUVECs devido ao aumento da expressão de mRNA de VEGF e à ativação da via PI3K-Akt-eNOS. Este estudo evidenciou que os inibidores do recetor KDR/Flk-1 diminuíram o efeito do extrato da raiz de astrágalo, sugerindo que esta via está envolvida na sua atividade angiogénica. Apesar dos vários constituintes presentes no extrato, a calicosina demonstrou ter o efeito pró-angiogénico mais potente entre todos. Tang *et al.* (2010) provaram que a calicosina induzia a angiogénese em HUVECs *in vitro* e em embriões de peixe-zebra *in vivo*, via estimulação da expressão de mRNA de VEGF, Flt-1 e KDR/Flk-1. Adicionalmente, no mesmo estudo, a calicosina promoveu a angiogénese via ativação da via de sinalização da MAPK com envolvimento das ERK1/2.

Cinnamomum cassia

Segundo Choi *et al.* (2009) o extrato de canela da China, cujo constituinte ativo é o ácido cinâmico, tem propriedades pró-angiogénicas. Os principais resultados deste estudo foram os seguintes:

- i. No *Matrigel plug model*, a capacidade do extrato de canela da China e do ácido cinâmico para promoverem a formação de vasos sanguíneos foi comparável à do fator angiogénico VEGF165;
- ii. Com o ensaio *in vitro* da angiogénese foi revelado que o extrato da planta e o ácido cinâmico levaram a um aumento na proliferação celular em HUVECs e em células endoteliais aórticas bovinas (BAECs);
- iii. O extrato da planta e o seu constituinte ativo induziram a mobilidade quimiotática, bem como a formação da rede de túbulos nas células endoteliais;
- iv. Os anticorpos anti-VEGF inibiram a indução da proliferação e migração das células endoteliais pelo extrato de canela da China;
- v. O mecanismo pelo qual o extrato desta planta e o ácido cinâmico induzem a angiogénese é similar ao do VEGF, o que requer uma sobreprodução de VEGF e do seu recetor KDR/Flk-1.

Em conjunto, estes resultados revelaram a capacidade do extrato de canela da china e do ácido cinâmico de induzirem significativamente a angiogénese, promovendo a expressão de VEGF e do recetor KDR/Flk-1 nas HUVECs.

Tabela 1. Compostos derivados de plantas com atividade angiogénica e seus mecanismos

Planta	Composto	Mecanismo	Referências
Aloé vera <i>Aloe barbadensis</i>	β -sitosterol	Promove a migração de HUVECs e revela atividade angiogénica potente na CAM de embriões de galinha, estimulando a neovascularização. Aumenta a expressão do fator de von Willebrand, do VEGF, do seu recetor Flk-1 e de laminina.	Moon <i>et al.</i> , 1999 Choi S <i>et al.</i> , 2002
Angélica <i>Angelica sinensis</i>	Desconhecido	Promove a proliferação de células endoteliais na CAM de embriões de galinha e aumenta a proliferação, a migração e invasão de HUVECs, bem como promove a angiogénese <i>in vivo</i> em peixes-zebra. Aumenta a expressão de VEGF, da p38 e da via de fosforilação JNK1/2.	Meng <i>et al.</i> , 2008 Lam <i>et al.</i> , 2008
Género Artemisia	Jaceosidina	Ativa o VEGFR2 (ou FLk-1/KDR) e a via PI3K/Akt, promovendo a proliferação, migração e diferenciação de células endoteliais.	Lee <i>et al.</i> , 2014
Astrágalo <i>Astragalus membranaceus</i>	Calicosina	Induz a angiogénese em HUVECs <i>in vitro</i> e em embriões de peixe-zebra <i>in vivo</i> . Aumenta a expressão do VEGF e ativa as vias PI3k-Akt-eNOS, VEGF/KDR-Flk e a via de sinalização das MAPK.	Zhang <i>et al.</i> , 2009 Tang <i>et al.</i> , 2010
Canela da China <i>Cinnamomum cassia</i>	Ácido cinâmico	Aumenta a expressão do VEGF e Flk-1/KDR em HUVECs, induzindo significativamente a angiogénese.	Choi <i>et al.</i> , 2009
Espinheiro-marítimo <i>Hippophae rhamnoides</i>	Sitosterol	Aumenta a expressão do VEGF, bem como do MMP-2 e MMP-9.	Upadhyay <i>et al.</i> , 2010 Gupta <i>et al.</i> , 2008
Ginseng Asiático <i>Panax ginseng</i>	Ginsenósido Rg1	Aumenta a expressão da sintetase do NO endotelial (eNOs), ativando a via PI3K-Akt.	Sengupta <i>et al.</i> , 2004
Ginseng Asiático <i>Panax ginseng</i>	Ginsenósidos Rg2 e Re	Estimula a proliferação, migração e formação tubular de HUVECs. Ativação da via de sinalização PI3k-Akt-eNOS.	Huang <i>et al.</i> , 2005

Planta	Composto	Mecanismo	Referências
<i>Patrinia villosa</i>	Desconhecido	Ativação da cinase de adesão focal (FAK) e via de sinalização da Akt.	Jeon <i>et al.</i> , 2010
<i>Pueraria montana</i>	Desconhecido	Ativação da via PI3K/Akt/eNOS, sem alterar a expressão de VEGF.	Chung <i>et al.</i> , 2010
<i>Rehmannia glutinosa</i>	Catalpol	Aumenta a expressão do VEGF em células endoteliais capilares cerebrais (BCECs), promovendo a angiogénese.	Zhu <i>et al.</i> , 2010
Sálvia Vermelha <i>Salvia miltiorrhiza</i>	Ácido salvianólico B	Aumenta a expressão de genes que codificam as seguintes moléculas: MMP-2, VEGF, VEGFR2 e TIE-1.	Lay <i>et al.</i> , 2003a, 2003b
<i>Stewartia koreana</i>	Desconhecido	O extrato das folhas da planta aumenta a proliferação e migração de células endoteliais humanas via estimulação da fosforilação da ERK e das cinases Akt.	Lee <i>et al.</i> , 2010
<i>Uncaria rhynchophylla</i>	Desconhecido	Aumenta a expressão de VEGF e bFGF. Estimula a proliferação e migração de HUVECs. Indução significativa da angiogénese <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> .	Choi <i>et al.</i> , 2005
Uva <i>Vitis spp</i>	Resveratrol	Aumenta a expressão do VEGF e Flk-1.	Fukuda <i>et al.</i> , 2006

3. Tumores hormono-dependentes

Os tumores sensíveis a hormonas são definidos como aqueles em que a expressão dos recetores de estrogénio ou progesterona se encontra acima de um limite detetável pré-estabelecido (Goldhirsch *et al.*, 2005). Doentes com expressão inferior a este valor estabelecido são considerados recetor hormonal negativo ou independente (Huang *et al.*, 2000).

Os estrogénios são necessários para o normal crescimento e desenvolvimento de vários tecidos, no entanto, também são responsáveis pela promoção de certos tumores especialmente, na mama, mas também no endométrio e na próstata (Pearse e Jordan, 2004).

3.1 Vias de sinalização dos recetores estrogénicos

A atividade hormonal depende dos recetores estrogénicos (RE), pelo que, conhecer o seu mecanismo de ação é fundamental para avaliar a sua influência em tumores estrogénio-dependentes, em especial no cancro da mama estrogénio-dependente.

O 17β -estradiol (E_2) regula o crescimento e diferenciação celular e outros processos fisiológicos na mama, no tecido ósseo, fígado, cérebro e sistema cardiovascular (Pearse e Jordan, 2004). Muitos genes regulados pelo estrogénio estão envolvidos na proliferação celular, inibição da apoptose, promoção de angiogénese, estimulação de invasão das células tumorais e respetiva metastização (Osborne e Schiff, 2005). A figura 2 sumariza as múltiplas vias de sinalização do recetor estrogénico, realçando os efeitos associados ao aumento da proliferação celular e inibição da apoptose.

O RE atua através de três mecanismos distintos: genómico, não genómico e mitocondrial (Figura 2).

Na via genómica, o mecanismo clássico da ação direta do estrogénio no ADN do núcleo envolve a ligação da hormona aos RE nucleares. Seguidamente, o dímero RE liga-se ao promotor, o elemento de resposta ao estrogénio (ERE), nas regiões de ADN que regulam os respetivos genes, induzindo o recrutamento de co-ativadores e a respetiva transcrição de genes envolvidos na proliferação celular e de co-repressores, diminuindo a ativação de genes pró-apoptóticos ou anti-proliferativos (Yager e Davidson, 2006).

A via não genómica é um mecanismo muito mais rápido que o genómico e envolve a ativação de várias proteínas cinases, como as MAPK, aumentando também os níveis de outros intermediários como o AMP cíclico (AMPC) (Yager e Davidson, 2006). Esta via, independente da transcrição génica, decorre da ligação dos REs ($RE\alpha$, $RE\beta$ ou ambos) à membrana plasmática, através de moléculas lipídicas como a caveolina-1 e flotilina-2, facilitando uma interligação com outras vias de sinalização associadas a recetores de membrana, como o recetor do fator de crescimento insulínico tipo 1 (IGFR-1), recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) e recetor do fator de crescimento epidérmico humano do tipo 2 (HER2) ou a moléculas adaptadoras de sinalização como Shc (Arpino et al., 2008).

Com a ligação do estrogénio ao RE, este liga-se na forma de dímero a proteínas adaptadoras, o que induz ativação de recetores de fatores de crescimento, cinases citoplasmáticas e moléculas de sinalização (Marino e Ascenzi, 2008).

As cinases fosforilam o RE e seus co-reguladores o que resulta na ativação da transcrição nuclear conduzida pelo RE. Assim, pode concluir-se que as vias de sinalização genómica e não genómica do RE são complementares e podem até atuar de forma sinérgica.

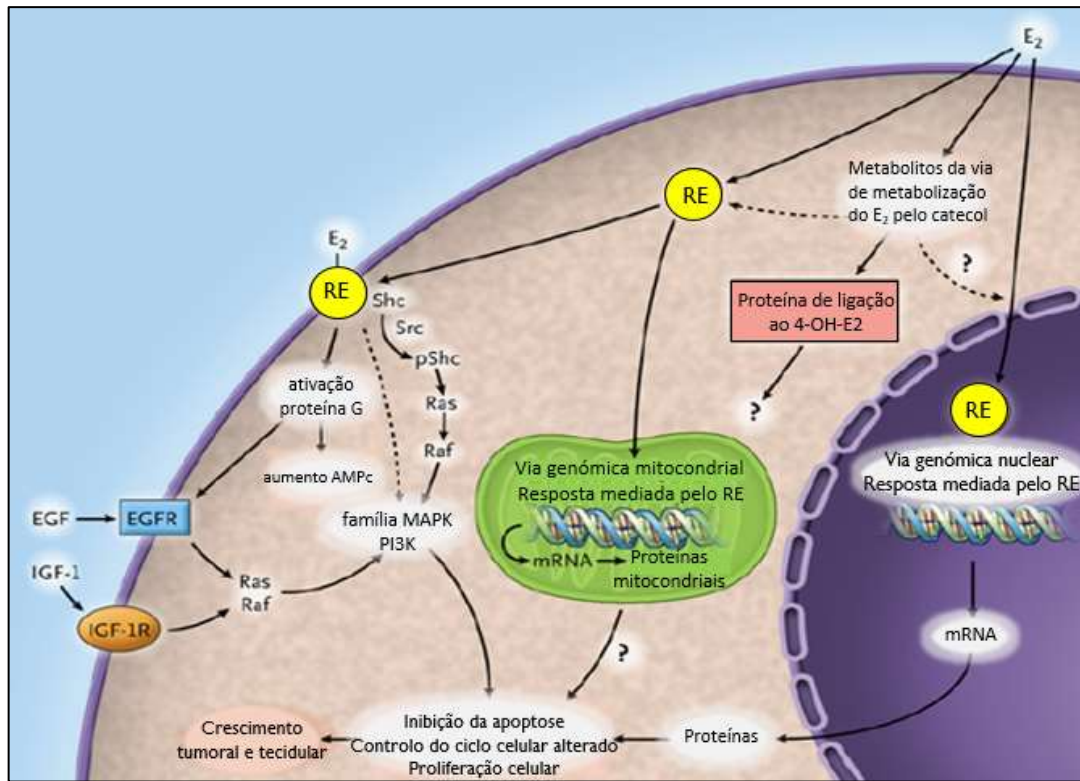


Figura 2. Via de sinalização dos receptores estrogénicos. AMPc – AMP cíclico; E₂ – 17β-estradiol; 4-OH-E₂ – 4-hidroxiestradiol; EGF – fator de crescimento epidérmico; EGFR – recetor do fator de crescimento epidérmico; IGF-1 – fator de crescimento insulínico do tipo I; IGF-1R – recetor do fator de crescimento insulínico do tipo I. MAPK –cinases de proteínas ativadas por mitogénios; mRNA – RNA mensageiro; pShc – proteína Shc fosforilada. Adaptado de Yager e Davidson, 2006.

Esta interligação entre as duas vias está envolvida no controlo da proliferação celular e inibição da apoptose mediada pelo estrogénio, evidenciando o seu papel no crescimento de tumores estrogénio-dependentes (Yager e Davidson, 2006).

3.2 Plantas com atividade estrogénica

Existem na natureza vários tipos de moléculas com atividade estrogénica e que são compostos químicos derivados de plantas com conhecidos efeitos estrogénicos em animais, entre as quais os fitoestrogénios, que incluem isoflavonas, cumestanos, linhanos e fitoesteróis. Estes compostos foram encontrados em pelo menos 300 plantas, onde as isoflavonas e os cumestanos foram identificados como os mais comuns (Helferich *et al.*, 2008).

De uma forma geral, os fitoestrogénios são capazes de se ligar a recetores estrogénicos (RE) e consequentemente induzir e modular as vias de sinalização dos mesmos, incluindo a

ativação de cinases e a regulação da transcrição de genes. Através destes mecanismos, a via de sinalização dos REs estimula o crescimento de células do cancro da mama positivo para recetor estrogénico (RE+). Assim sendo, a segurança do consumo de fitoestrogénios, presentes em preparações à base de plantas, é uma preocupação para a saúde humana (Helferich 2008). Na Tabela 2 estão identificadas algumas plantas e respetivos compostos que demonstraram ter atividade estrogénica e, como tal, o seu consumo por parte de doentes com tumores hormono-dependentes é avidamente desaconselhado.

Glycine max

As isoflavonas de soja (*Glycine max*) são comercializadas na forma de suplementos alimentares ou em produtos à base de soja para o alívio dos sintomas da menopausa (Allred *et al.*, 2001).

As principais isoflavonas presentes na soja são a genisteína e a daidzeína, sendo a primeira a mais abundante (Dweck, 2006).

Alguns estudos sugerem que a genisteína (ou o consumo de isoflavonas de soja) reduzem o risco de cancro da mama e diminuem a mortalidade ou a recidiva da doença em doentes tratadas e outros indicam que o mesmo composto a concentrações entre 0,1-10 μ M estimula a proliferação de células de uma linha celular do cancro da mama estrogénio-dependente, designada MCF-7, sendo este um efeito mediado pelo RE α (Gaete *et al.*, 2011).

Apesar destes resultados, Allred *et al.* (2001) verificaram que a uma concentração superior a 10 μ M, a genisteína inibia a proliferação celular em vários tipos de células, incluindo de cancro da mama estrogénio-dependente (MCF-7) e estrogénio-independente (MDA-468). Ainda no mesmo estudo, demonstraram que a concentrações entre 20-90 μ M, a genisteína inibiu a síntese de ADN em células MCF-7, mas entre 0,1-10 μ M estimulou. Estes resultados controversos evidenciam que este composto não deve ser usado em suplementos alimentares e preparações à base de plantas com o objetivo de aliviar os sintomas da menopausa, pela dualidade de efeitos.

Relativamente à segunda isoflavona mais abundante na soja, a daidzeína (Dweck, 2006), esta revelou aumentar de forma dramática o crescimento de células MCF-7, sendo este aumento maior do que o provocado sob estimulação das mesmas células com E₂, sugerindo que este composto pode estar envolvido no aumento do risco de cancro da mama (Gaete *et al.*, 2011).

Outro dado preocupante relacionado com a daidzeína é a evidência de que este composto potencia em larga escala a atividade do E₂ no epitélio luminal e glandular do útero

de rato. Gaete *et al.* (2011) revelaram que a daidzeína, apesar de não induzir, por si só, hipertrofia celular no epitélio luminal do útero de rato como o E₂, ela potenciou o efeito deste, apontando para um possível risco de crescimento de células malignas após administração conjunta destes dois agentes.

Com base nestes resultados, futuras investigações devem ser direcionadas no sentido de averiguar as condições necessárias para a segura utilização da genisteína, daidzeína e outras isoflavonas de soja na composição de suplementos e preparações à base de plantas (Gaete *et al.*, 2011).

Glycyrrhiza glabra, *Glycyrrhiza uralensis* e *Glycyrrhiza inflata*

No estudo realizado por Hajirahimkhan *et al.* (2013) foram examinados os extratos brutos de 3 espécies de alcaçuz: *Glycyrrhiza glabra* (GG), *Glycyrrhiza uralensis* (GU) e *Glycyrrhiza inflata* (GI); bem como dos seus compostos ativos liquiritigenina (LigF) e isoliquiritigenina (LigC).

Para avaliar as afinidades *in vitro* dos compostos ativos destas plantas aos recetores estrogénicos RE α e RE β , foram realizados ensaios de ligação competitiva a estes recetores. Ambos os compostos, LigF e LigC demonstraram afinidade semelhante para o RE β . No entanto, relativamente ao RE α , o Lig F revelou fraca afinidade para este recetor, enquanto que o LigC apresentou uma afinidade maior para este recetor do que para o RE β .

Outro ensaio realizado neste estudo teve o objetivo de avaliar o efeito dos compostos acima citados sobre a transcrição de genes mediada pelos REs, através da interação destes com o elemento de resposta ao estrogénio (ERE). Assim, recorreram ao ensaio do gene reportador da luciferase e observaram que as espécies do género *Glycyrrhiza* induziram significativamente o complexo ERE-luciferase nas células MCF-7, em que o composto LigC revelou um nível de indução superior ao LigF e, conseqüentemente, no extrato com a espécie GU observou-se a maior indução, seguida da GI e, por fim, a GG.

No mesmo estudo foi ainda realizado um ensaio recorrendo ao PCR quantitativo em tempo real (qRT-PCR), de forma a avaliar a indução do gene responsivo ao estrogénio *Tff1* em células T47D. A indução do fator trefoil I (*Tff1*) em células do cancro da mama RE⁺ é uma ferramenta útil para avaliar a atividade estrogénica de xenobióticos. Os resultados revelaram que as três espécies de *Glycyrrhiza* (GG, GU e GI), a 10 μ g/ml, induziram a expressão do *Tff1* nas células T47D. No entanto, o LigF demonstrou fraca indução da expressão deste gene, enquanto que o LigC induziu significativamente a expressão do mesmo.

Foi também demonstrado por Hajirahimkhan *et al.* (2013), que a espécie GG apresentou atividade estrogénica inferior à das GU e GI, sendo que a GU foi a que revelou a maior atividade estrogénica das 3. O conteúdo em LigF e LigC nos extratos de GU é superior, em mais do dobro, ao das restantes espécies GI e GG.

Humulus lupulus

O Lúpulo (*Humulus lupulus*) é uma planta comumente incorporada em suplementos alimentares, particularmente na Europa (Hajirahimkhan *et al.*, 2013).

Milligan *et al.* (1999) conduziram um ensaio em células Ishikawa, linha celular do cancro do endométrio, no qual isolaram e caracterizaram o composto 8-prenilnaringenina (8-PN) como a substância, presente no extrato de lúpulo, com maior atividade estrogénica e como um dos mais potentes fitoestrogénios.

Estudos mais recentes têm demonstrado que o 8-PN mimetiza a ação do E_2 *in vitro* e estimula a produção da fosfatase alcalina (AP) em células Ishikawa, bem como estimula o crescimento de células MCF-7, sendo um ligando com potente afinidade para o RE α (Chadwick *et al.*, 2006).

O composto 8-PN assume protagonismo nos estudos que têm como objetivo avaliar a atividade estrogénica do extrato de lúpulo e dos seus constituintes isolados. Outro composto da mesma planta, o xantohumol (XH), apesar de não ter afinidade para os REs, nem exibir atividade estrogénica, é também importante, uma vez que é precursor do 8-PN. Assim, para além das quantidades de 8-PN presentes no extrato de lúpulo, quantidades adicionais deste composto podem ser biossintetizadas *in vivo* a partir do XH (Overk *et al.*, 2008).

Hajirahimkhan *et al.* (2013) suportaram os resultados obtidos em estudos anteriores, demonstrando que o lúpulo e o seu constituinte 8-PN exercem uma potente atividade estrogénica, aumentando a produção de fosfatase alcalina (AP) nas células Ishikawa, induzindo a ERE-luciferase no ensaio com o gene reportador da luciferase em células MCF-7 transfetadas com esta enzima e estimulando a transcrição do gene dependente do estrogénio, *Tff1*, em células T47D do cancro da mama RE+.

Panax ginseng

Segundo Lee *et al.* (2003), o ginsenósido Rg1 atua como um ligando estrogénico funcional nas células MCF-7 através de vários ensaios. Um deles, efetuado com recurso ao gene reportador luciferase, revelou que o Rg1 medeia a interação entre o RE e o ERE na

ativação de genes estrogénio-dependentes nas células MCF-7. Após 48 horas de tratamento das células com 50 μ M de RgI, a atividade da luciferase alcançou níveis de atividade semelhantes aos verificados com 1-10 μ M de E₂. A confirmação de que o RgI interage com o RE, foi obtida através da adição de um composto anti-estrogénico puro, tendo-se verificado o bloqueio da transcrição de genes estrogénio-dependentes.

No estudo realizado por Lau *et al.* (2008), recorreram ao ensaio com o gene reportador da luciferase para avaliar se o RgI apresenta capacidades de ativação distintas para o RE α e RE β . Os resultados revelaram que o ginsenosídeo RgI ativava preferencialmente o RE α , induzindo significativamente a atividade da luciferase nas células HEK293 transfetadas com este recetor. Pelo contrário, a indução da atividade da luciferase em células transfetadas com RE β foi muito fraca, observando-se apenas uma indução significativa com concentrações elevadas do ginsenosídeo (1 μ M), contrastando com as baixas concentrações a que se detetou uma forte atividade do RgI nas células transfetadas com RE α (1 μ M).

O mesmo estudo revelou ainda uma descoberta importante relacionada com o facto de o RgI ter demonstrado um perfil de ativação da fosforilação do resíduo de serina 118 do domínio AF-1 do RE α , diferente do demonstrado pelo estradiol.

A transcrição de genes mediada pelos REs apenas se realiza se os ativadores de função 1 (AF-1) ou 2 (AF-2) se encontrarem ativados. O AF-2 é ativado apenas na presença de ligando, contrariamente ao AF-1 que, na ausência de estrogénio, é ativado através da fosforilação de resíduos específicos de serina, seguida da ativação de vias de cinases, como, p42/p44 (MAPK), fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K), proteína cinase B (AKT) e p38 (MAPK) (Thomas *et al.*, 2008).

Este aspeto poderá evidenciar que o RgI ativa o RE α por uma via independente da presença do ligando, à semelhança do mecanismo de ativação da fosforilação deste recetor pelos fatores de crescimento, como o fator de crescimento insulínico (IGF-1) (Lau *et al.*, 2008).

Vitex agnus-castus

No estudo realizado por Liu *et al.* (2004), verificou-se que o extrato alcoólico desta planta ligou-se a ambos os REs, RE α e RE β , e o seu constituinte ácido linoleico foi identificado como o ligando responsável pelo estabelecimento da ligação.

De forma a avaliar se o extrato de *Vitex agnus-castus* e o ácido linoleico puro, para além da ligação aos recetores estrogénicos, também induziam a expressão de genes mediados por estes recetores, realizaram-se ensaios com recurso à técnica de transcrição reversa-PCR

(RT-PCR), usando células T47-A18 do cancro da mama. Verificou-se que ocorreu estimulação da expressão de mRNA dos RE α e RE β nestas células, tanto na amostra com o extrato da planta como com o composto isolado (Liu *et al.*, 2004).

Num estudo previamente realizado, Liu *et al.* (2001) já tinham demonstrado que o extrato de *Vitex agnus-castus* estimulou a expressão do gene presenelina-2 (pS2), cuja expressão é mediada pelos REs, em células S30 de cancro da mama.

Outro ensaio realizado no estudo de Liu *et al.* (2004) envolveu a utilização das células Ishikawa, que correspondem a uma linha celular do adenocarcinoma do endométrio hormono-dependente, para avaliar a expressão de mRNA do recetor de progesterona (RP). A expressão deste recetor nas referidas células é induzida na presença de compostos que se ligam aos REs e ativam o elemento de resposta ao estrogénio (ERE). Os resultados deste ensaio demonstraram que o extrato de *Vitex agnus-castus* a 10 μ g/ml e o ácido linoleico isolado, a uma concentração de 3,6 μ M, estimularam a expressão de mRNA do RP nas células Ishikawa.

Tabela 2. Compostos derivados de plantas com atividade estrogénica e seus mecanismos.

Planta	Composto	Mecanismo	Referências
<i>Aletris farinosa</i>	Desconhecido	Desconhecido.	Montbriand, 2004
Anagálide <i>Anagallis arvensis</i>	Desconhecido	Desconhecido.	Montbriand, 2004
Angélica <i>Angelica sinensis</i>	Desconhecido	Estimula a proliferação de células de cancro da mama hormono-dependente, MCF-7, bem como a proliferação de células de cancro da mama hormono-independente, BT-20.	Powers e Setzer, 2015 Lau <i>et al.</i> , 2005 Piersen, 2003
Chá preto <i>Camellia sinensis</i>	Desconhecido	Aumento significativo do risco de cancro da mama e de tumores RE+ e RP+, com base em dados do Swedish Mammography Cohort.	Montbriand, 2004 Larsson <i>et al.</i> , 2009
<i>Caulophyllum thalictroides</i>	Desconhecido	Desconhecido.	Montbriand, 2004

Planta	Composto	Mecanismo	Referências
Erva-de-São-Cristóvão <i>Cimicifuga racemosa</i>	Ácido cimicifúgico G Actaealactona	Induzem uma ligeira proliferação de células MCF-7, possivelmente devido às semelhanças estruturais do ácido cimicifúgico G com o ácido fukinolico e da actaealactona com a enterolactona.	Nuntanakorn et al., 2006 Fritz et al., 2014
Açafrão-da-Índia <i>Curcuma longa</i>	Curcumina	Mimetiza os efeitos estrogénicos do E ₂ na transcrição génica, possivelmente pela sua ligação ao RE α .	Bachmeier et al., 2010
Inhame <i>Dioscorea villosa</i>	Desconhecido	Desconhecido.	Montbriand, 2004
Funcho <i>Foeniculum vulgare</i>	Anetol	O metabolito do anetol, 4-hidroxi-1-propenilbenzeno (4OHPB), induz a proliferação de células MCF-7 a concentrações entre 10 ⁻⁸ M e 10 ⁻⁶ M. No entanto, o anetol isolado não exerce o mesmo efeito <i>in vitro</i> . Este facto pode ser explicado pela incapacidade desta linha celular transformar o anetol no seu metabolito 4OHPB.	Nakagawa et al., 2003
Soja <i>Glycine max</i>	Genisteína Daidzeína	A genisteína estimula a proliferação de células MCF-7, a baixas concentrações. A daidzeína estimula a proliferação de células MCF-7 e antagoniza a inibição da proliferação causada pelo E ₂ em células do cancro da mama estrogénio-independente (MDA-MD-231). No útero de rato, a daidzeína potencia o efeito do estrogénio na indução da proliferação de células do epitélio glandular e do miométrio.	Allred et al., 2001 Gaete et al., 2011
Alcaçuz <i>Glycyrrhiza glabra</i> <i>Glycyrrhiza uralensis</i> <i>Glycyrrhiza inflata</i>	Liquiritina Liquiritigenina (LigF) Isoliquiritigenina (LigC)	Indução do ERE nas células MCF-7 e do gene <i>Tff1</i> nas células T47D. O composto LigC interage com o RE α .	Hajirahimkhan et al., 2013 Hu et al., 2009

Planta	Composto	Mecanismo	Referências
Lúpulo <i>Humulus lupulus</i>	8-prenilnaringenina (8-PN)	Estimula o crescimento de células Ishikawa, linha celular do cancro do endométrio e de células MCF-7, linha celular do cancro da mama. Revela uma potente afinidade ao RE α , evidenciando as suas propriedades estrogénicas.	Chadwick et al., 2006 Hajirahimkhan et al., 2013 Overk et al., 2008
Anis-estrelado <i>Illicium verum</i>	Desconhecido	Desconhecido.	Montbriand, 2004
Linho <i>Linum usitatissimum</i>	Linhanos	O secoisolariciresinol induz a proliferação de células MCF-7 a 100 μ M, no entanto o anidrosecoisolariciresinol exerce o efeito contrário, inibindo a proliferação de células MCF-7.	Lehraiki et al., 2009
Alfafa <i>Medicago sativa</i>	Cumestrol Formononetina	Induz a proliferação de células MCF-7 numa concentração de 100 μ g/ml. Demonstra fraca afinidade para o RE β e apenas se liga ao RE α a uma concentração superior a 200 μ g/ml.	Montbriand, 2004 Boué et al., 2003
Ginseng Asiático <i>Panax ginseng</i>	Ginsenósido Rg1	Estimula a transcrição de genes mediada pela interação entre o RE e o ERE em células MCF-7. Induz a expressão de mRNA dos genes c-fos e pS2, ativando a transcrição de genes mediada pelos REs.	Lee et al., 2003 Lau et al., 2008
Anis <i>Pimpinella anisum</i>	Trans-anetol	(ver mecanismo do funcho)	Nakagawa et al., 2003
Feijão-de-lima <i>Phaseolus lunatus</i>	Genistina Daidzeína Genisteína	Estimulam o crescimento de células da linha celular MCF-7/BOS de cancro da mama RE+. Aumentam a expressão de mRNA do recetor de progesterona (RP). Este efeito é mediado pelo RE, uma vez que, adicionando ao extrato da planta um composto com atividade anti-estrogénica, verificou-se a inibição da expressão de mRNA do RP.	Zhao et al., 2007

Planta	Composto	Mecanismo	Referências
Podophylum peltatum	Desconhecido	Desconhecido.	Zava <i>et al.</i> , 1997
Pueraria mirifica	Genisteína Daidzeína Puerarina Miroestrol Desoxi-miroestrol	Estimulam a proliferação de células MCF-7 a diferentes concentrações. O desoxi-miroestrol e o miroestrol promovem este efeito a concentrações baixas, 10^{-9} M e 10^{-8} M, respetivamente, seguidos da daidzeína (10^{-8} – 10^{-5} M), da genisteína (10^{-8} – 10^{-6} M) e, por fim a puerarina (10^{-6} M).	Sookvanichsilp <i>et al.</i> , 2008 Cherdshewasart <i>et al.</i> , 2008
Folha de Framboesa Rubus idaeus	Desconhecido	Aumenta a atividade oxidativa sérica da ceruloplasmina, indicando uma possível atividade estrogénica no fígado (estudos em animais).	Montbriand, 2004
Feno-grego Trigonella foenum graecum	Desconhecido	O extrato da planta estimula a proliferação de células MCF-7 e estabelece ligação ao RE. Atua como agonista na transcrição de genes mediada pelo RE via ERE. Induz a transcrição do gene pS2 em células MCF-7.	Sreeja <i>et al.</i> , 2010
Cardo Mariano Silybum marianum	Silimarina	Estimula o crescimento de células MCF-7 do cancro da mama, aumenta a fase S do ciclo celular numa razão proporcional ao aumento da sua concentração e promove a transcrição do gene c-Myc, via ativação do RE. Em associação com o E_2 verifica-se um efeito aditivo na estimulação do crescimento das células MCF-7.	Malewicz <i>et al.</i> , 2006
Tomilho Thymus vulgaris	Desconhecido	Desconhecido.	Zava <i>et al.</i> , 1997
Trevo vermelho Trifolium pratense	Daidzeína Formononetina Biochanina A Genisteína	Induzem a proliferação celular de células MCF-7 com uma extensão semelhante ou até superior à do composto de referência, E_2 . A atividade dos extratos da planta é inibida com a adição de um antagonista do RE, sugerindo que estes compostos atuam nos REs.	Spagnuolo <i>et al.</i> , 2014 Overk <i>et al.</i> , 2008

Planta	Composto	Mecanismo	Referências
Verbena azul <i>Verbena hastata</i>	Desconhecido	Desconhecido.	Zava <i>et al.</i> , 1997
Anho-casto <i>Vitex agnus-castus</i>	Ácido linoleico	O ácido linoleico e o extrato alcoólico da planta ligam-se aos recetores RE α e RE β , aumentam a expressão de genes estrogénio-dependentes em células T47:A18 e estimulam a expressão de mRNA do recetor de progesterona nas células Ishikawa. O extrato da planta estimula também a expressão do gene pS2 em células S30 do cancro da mama.	Liu <i>et al.</i> , 2004 Liu <i>et al.</i> , 2001
Videira <i>Vitis vinifera</i>	Resveratrol	Estimula a proliferação de células MCF-7, mesmo em concentrações baixas e na presença de E ₂ . Aumenta a expressão da PI3K e da Akt nas células MCF-7. Verificou-se a ativação do RE α em células tratadas com E ₂ e resveratrol em combinação. No entanto, este efeito não se verificou em células tratadas com o resveratrol isolado.	Chen <i>et al.</i> , 2015

4 Conclusão

Como resultado da pesquisa e análise dos dados relativos às atividades angiogénica e estrogénica das plantas sinalizadas, é possível constatar a complexidade de compostos presentes nos extratos das mesmas, muitos deles, exercendo efeitos distintos de acordo com a sua concentração. Exemplos desta variabilidade foram demonstrados pela genisteína, cujas propriedades estrogénicas diferem consoante está presente em concentração alta ou baixa e também, pelos diferentes rácios dos ginsenosídeos RgI e RbI na atividade angiogénica dos extratos de ginseng.

Assim, estes resultados sugerem-nos que a inclusão destes compostos em suplementos ou outros produtos à base de plantas deveria ser acompanhada por um rigoroso controlo de qualidade no que respeita à sua quantificação nos extratos das plantas, uma vez que pequenos desvios em relação à concentração desejada, podem surtir efeitos contrários aos esperados.

Os mecanismos que justificam as propriedades pró-angiogénicas das plantas abordadas neste trabalho estabelecem fortes indícios de que estas interagem com os processos tumorais e, desta forma, o seu consumo por doentes oncológicos deve ser avidamente desaconselhado.

O mesmo raciocínio pode ser aplicado às plantas com propriedades estrogénicas, que não devem ser consumidas por mulheres com tumores hormono-dependentes, como cancro da mama RE+, cancro dos ovários e cancro do endométrio.

É imprescindível que os profissionais de saúde detetem estes focos de interação e assumam a responsabilidade de consciencializar os doentes e os respetivos familiares, para os riscos associados ao consumo destas plantas.

São inegáveis as potencialidades da fitoterapia e o estudo de plantas medicinais, sendo promissoras as suas capacidades no tratamento de diversos processos patológicos. No entanto, existe ainda um longo caminho a percorrer de forma a garantir a segurança destes produtos para os consumidores, não podendo ser ignorados os seus efeitos colaterais.

Subsistem ainda vários mecanismos por elucidar, compostos por identificar e caracterizar e, certamente, mais plantas a sinalizar, sendo neste sentido que a investigação científica em fitoterapia deve traçar o seu percurso.

5 Referências bibliográficas

- ALLRED, C., ALLRED, K., JU, Y., VIRANT, S., HELFERICH, W. - ALLRED, Clinton D. *et al.* - **Soy Diets Containing Varying Amounts of Genistein Stimulate Growth of Estrogen- dependent (MCF-7) Tumors in a Dose-dependent Manner.** *Cancer Research*, 61 (2001) 5045-5050.
- ARPINO, G., WIECHMANN, L., OSBORNE, C., SCHIFF, R. – **Crosstalk between the estrogen receptor and the HER tyrosine kinase receptor family: molecular mechanism and clinical implications for endocrine therapy resistance.** *Endocr. Rev.*, 29 (2008) 217-33.
- BACHMEIER, B., MIRISOLA, V., ROMEO, F., GENEROSO, L., ESPOSITO, A., DELL’EVA, R., BLENGIO, F., KILLIANI, P., ALBINI, A., PFEFFER, U. – **Reference Profile Correlation Reveals Estrogen-like Transcriptional Activity of Curcumin.** *Cell Physiol Biochem*, 26 (2010) 471-482.
- BOUÉ, S., WIESE, T., NEHLS, S., BUROW, M., ELLIOTT, S., CARTER-WIENTJES, C., SHIH, B., MCLACHLAN, J., CLEVELAND, T. – **Evaluation of the Estrogenic Effects of Legume Extracts Containing Phytoestrogens.** *J. Agric. Food Chem.*, 51 (2003) 2193-2199.
- CHADWICK, L., PAULI, G., FARNSWORTH, N. – **The pharmacognosy of *Humulus lupulus* L. (hops) with an emphasis on estrogenic properties.** *Phytomedicine*, 13 (2006) 119-131.
- CHEN, F-P., CHIEN, M-H., CHERN, I. – **Impact of lower concentrations of phytoestrogens on the effects of estradiol in breast cancer cells.** *Climacteric*, 18 (2015) 574-581.
- CHENG, C-W., FAN, W., KO, S-G., SONG, L., BIAN, Z-X. – **Evidence-Based Management of Herb-Drug Interaction in Cancer Chemotherapy.** *Explore*, 6 (2010) 324-329.
- CHERDSHEWASART, W., TRAISUP, V., PICHA, P. – **Determination of Estrogenic Activity of Wild Phytoestrogen-rich *Pueraria mirifica* by MCF-7 Proliferation Assay.** *J. Reprod. Dev.*, 54 (2008) 63-67.

- CHOI, D-Y., BAEK, Y-H., HUH, J-E., KO, J-M., WOO, H., LEE, J-D., PARK, D-S. – **Stimulatory effect of *Cinnamomum cassia* and cinnamic acid on angiogenesis through up-regulation of VEGF and Flk-1/KDR expression.** International Immunopharmacology, 9 (2009) 959-967.
- CHOI, D-Y., HUH, J-E., LEE, J-D., CHO, E-M., BAEK, Y-H., YANG, H-R., CHO, Y-J., KIM, K-I., KIM, D-Y., PARK, D-S. – ***Uncaria rhynchophylla* Induces Angiogenesis in Vitro and in Vivo.** Biol. Pharm. Bull, 28 (2005) 2248-2252.
- CHOI, S., KIM, K-W., CHOI, J-S., HAN, S-T., PARK, Y-I., LEE, S-K., KIM, J-S., CHUNG, M-H. – **Angiogenic activity of beta-sitosterol in the ischaemia/reperfusion-damaged brain of Mongolian gerbil.** Planta Med., 68 (2002) 330-335.
- CHUNG, B-H., CHO, Y-L., KIM, J-D., JO, H-S., WON, M-H., LEE, H., HA, K-S., KWON, Y-G., KIM, Y-M. – **Promotion of direct angiogenesis in vitro and in vivo by Puerariae flos extract via activation of MEK/ERK-, PI3K/Akt/eNOS-, and Src/FAK-dependent pathways.** Phytother. Res., 24 (2010) 934-940.
- DIMOVA, I., POPIVANOV, G., DJONOV, V. – **Angiogenesis in cancer - general pathways and their therapeutic implications.** JBUON, 19 (2014) 15-21.
- DWECK, A. - **Isoflavones, Phytohormones and Phytosterols.** J. Appl. Cosmetol., 24 (2006) 17-33.
- FAN, T-P., YEH, J-C., LEUNG, K., YUE, P., WONG, R. – **Angiogenesis: from plants to blood vessels.** Trends in Pharmacological Sciences, 27 (2006) 297-309.
- FOLKMAN, J. – **Role of Angiogenesis in Tumor Growth and Metastasis.** Seminars in Oncology, 29 (2002) 15-18.
- FRITZ, H., SEELY, D., MCGOWAN, J., SKIDMORE, B., FERNANDES, R., KENNEDY, D., COOLEY, K., WONG, R., SAGAR, S., BALNEAVES, L., FERGUSON, D. – **Black Cohosh and Breast Cancer: A Systematic Review.** Integrative Cancer Therapies, 13 (2014) 12-29.
- FUKUDA, S., KAGA, S., ZHAN, L., BAGCHI, D., DAS, D-K., BERTELLI, A., MAULIK, N. – **Resveratrol ameliorates myocardial damage by inducing vascular endothelial growth factor-angiogenesis and tyrosine kinase receptor Flk-1.** Cell Biochem. Biophys., 44 (2006) 43-49.

- GAETE, L., TCHERNITCHIN, A., BUSTAMANTE, R., VILLENA, J., LEMUS, I., GIDEKEL, M., CABRERA, G., ASTORGA, P. – **Daidzein-Estrogen Interaction in the Rat Uterus and Its Effect on Human Breast Cancer Cell Growth.** J. Med. Food, 15 (2012) 1081-1090.
- GOLDHIRSCH, A., GLICK, J., GELBER, R., COATES, A., THURLIMANN, B., SENN, H-J. – **Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer.** Ann. Oncol., 16 (2005) 1569-83.
- GUPTA, A., UPADHYAY, N., SAWHNEY, R., KUMAR, R. – **A poly-herbal formulation accelerates normal and impaired diabetic wound healing.** Wound Rep. Regen., 16 (2008) 784-790.
- HAJIRAHIMKHAN, A., SIMMLER, C., YUAN, Y., ANDERSON, J., CHEN, S-N., NIKOLIC, D., DIETZ, B., PAULI G., BREEMEN, R., BOLTON, J. – **Evaluation of Estrogenic Activity of Licorice Species in Comparison with Hops Used in Botanicals for Menopausal Symptoms.** Plos One, 8 (2013).
- HELFERICH, W., ANDRADE, J., HOAGLAND, M. – **Phytoestrogens and breast cancer: a complex story.** Inflammopharmacology, 16 (2008) 219-226.
- HUANG, W-Y., NEWMAN, B., MILLIKAN, R., SCHELL, M., HULKA, B., MOORMAN, P. – **Hormone-related factors and risk of breast cancer in relation to estrogen receptor and progesterone receptor status.** American Journal of Epidemiology, 151 (2000) 703-14.
- HUANG, Y-C., CHEN, C-T., CHEN, S-C., LAI, P-H., LIANG, H-C., CHANG, Y., YU, L-C., SUNG, H-W. – **A natural compound (ginsenoside Re) isolated from *Panax ginseng* as a novel angiogenic agent for tissue regeneration.** Pharm. Res., 22 (2005) 636-646.
- HU, C., LIU, H., DU, J., MO, B., QI, H., WANG, X., YE, S., LI, Z. – **Estrogenic activities of extracts of Chinese licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) root in MCF-7 breast cancer cells.** Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 113 (2009) 209-216.

- JEON, J., LEE, J., KIM, C., AN, Y., CHOI, C. – **Aqueous extract of the medicinal plant *Patrinia villosa* Juss. Induces angiogenesis via activation of focal adhesion kinase.** *Microvasc. Res.*, 80 (2010) 303-309.
- LAM, H-W., LIN, H-C., LAO, S-C., GAO, J-L., HONG, S-J., LEONG, C-W., YUE, P-Y., KWAN, Y., LEUNG, A-Y., WANG, Y-T., LEE, S-M. – **The angiogenic effects of *Angelica sinensis* extract on HUVEC in vitro and Zebrafish in vivo.** *J. Cell Biochem.*, 103 (2008) 195-211.
- LARSSON, S., BERKVIST, L., WOLK, A. – **Coffee and black tea consumption and risk of breast cancer by estrogen and progesterone receptor status in a Swedish cohort.** *Cancer Cases Control*, 20 (2009) 2039-2044.
- LAU, S., HO, T., CHAN, T., KIM, S. – **Use of dong quai (*Angelica sinensis*) to treat peri- or postmenopausal symptoms in women with breast cancer: is it appropriate?.** *Menopause*, 12 (2005) 734-740.
- LAU, W-S., CHANA, R., GUOC, D-A., WONG, M-S. – **Ginsenoside Rg1 exerts estrogen-like activities via ligand-independent activation of ER α pathway.** *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 108 (2008) 64-71.
- LAY, I-S., CHIU, J-H., SHIAO, M-S., LUI, W-Y., WU, C-W. – **Crude extract of *Salvia miltiorrhiza* and salvianolic acid B enhance in vitro angiogenesis in murine SVR endothelial cell line.** *Planta Med.* 69 (2003) 26-32.
- LEE, T., JUNG, H., PARK, K., BANG, M., BAEK, N-I., KIM, J. – **Jaceosidin, a natural flavone, promotes angiogenesis via activation of VEGFR2/FAK/PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathways in endothelial cells.** *Exp. Biol. Med.*, 239 (2014) 1325-1334.
- LEE, T-H., LEE, G-W., KIM, C-W., BANG, M-H., BAEK, N-I., KIM, S-H., CHUNG, D-K., KIM, J. – ***Stewartia koreana* extract stimulates proliferation and migration of human endothelial cells and induces neovascularization in vivo.** *Phytother. Res.*, 24 (2010) 20-25.
- LEE, Y-J., JIN, Y-R., LIM, W-C., JI, S-M., CHOI, S., JANG, S., LEE, S-K. – **A ginsenoside-Rh1, a component of ginseng saponin, activates estrogen receptor in human breast carcinoma MCF-7 cells.** *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 84 (2003) 463-468.

- LEHRAIKI, A., ATTOUMBRE, J., BIENAIME, C., MATIFAT, F., BENSADDEK, L., SAUCEDO, E., FLINIAUX, M., AHIDOUCH, H., ROSSET, S. – **Extraction of Lignans from Flaxseed and Evaluation of Their Biological Effects on Breast Cancer MCF-7 and MDA-MB-231 Cell Lines.** J. Med. Food, 13 (2010) 834-841.
- LIU, J., BURDETTE, J., SUN, Y., DENG, S., SCHLECHT, S., ZHENG, W., NIKOLIC, D., MAHADY, G., BREEMEN, R., FONG, H., PEZZUTO, J., BOLTON, J., FARNSWORTH, N. – **Isolation of linoleic acid as an estrogenic compound from the fruits of *Vitex agnus-castus* L. (chaste-berry).** Phytomedicine, 11 (2004) 18-23.
- LIU, J., BURDETTE, J., XU, H., GU, C., BREEMEN, R., BLAT, K., BOOTH, N., CONSTANTINOU, A., PEZZUTO, J., FONG, H., FARNSWORTH, N., BOLTON, J. – **Evaluation of Estrogenic Activity of Plant Extracts for the Potential Treatment of Menopausal Symptoms.** J. Agric. Food Chem., 49 (2001) 2472-2479.
- MA, X-Q., SHI, Q., DUAN, J-A., DONG, T-T., TSIM, K-W. – **Chemical analysis of *Radix Astragali* (Huangqi) in China: a comparison with its adulterants and seasonal variations.** J. Agric. Food Chem., 50 (2002) 4861-4866.
- MAJEWSKA, I., GENDASZEWSKA-DARMACH, E. – **Proangiogenic activity of plant extracts in accelerating wound healing - a new face of old phytomedicines.** Acta Biochim. Pol., 58 (2011) 449-460.
- MALEWICZ, B., WANG, Z., JIANG, C., GUO, J., CLEARY, M., GRANDE, J., LU, J. – **Enhancement of mammary carcinogenesis in two rodent models by silymarin dietary supplements.** Carcinogenesis, 27 (2006) 1739-1747.
- MARINO, M., ASCENZI, P. – **Membrane association of estrogen receptor alpha and beta influences 17beta-estradiol-mediated cancer cell proliferation.** Steroids, 73 (2008) 853-858.
- MENG, H., GUO, J., SUN, J-Y., PEI, J-M., WANG, Y-M., ZHU, M-Z., HUANG, C. – **Angiogenic effects of the extracts from Chinese herbs: *Angelica* and *Chuanxiong*.** Am. J. Chin. Med., 36 (2008) 541-554.
- MILLIGAN, S., KALITA, J., HEYERICK, A., RONG, H., COOMAN, L., KEUKELEIRE, D. – **Identification of a Potent Phytoestrogen in Hops (*Humulus lupulus* L.) and Beer.** J. Clin. Endocrinol. Metab., 84 (1999) 2249-2252.

- MONTBRIAND, M. – **Herbs or Natural Products That Increase Cancer Growth or Recurrence: Part Two of a Four-Part Series.** *Oncology Nursing Forum*, 31 (2004) 99-115.
- MOON, E-J., LEE, Y., LEE, O-H., LEE, M-J., LEE, S-K., CHUNG, M-H., PARK, Y-I., SUNG, C-K., CHOI, J-S., KIM, K-W. – **A novel angiogenic factor derived from Aloe vera gel: b-sitosterol, a plant sterol.** *Angiogenesis*, 3 (1999) 117-123.
- NAKAGAWA, Y., SUZUKI, T. – **Cytotoxic and xenoestrogenic effects via biotransformation of trans-anethole on isolated rat hepatocytes and cultured MCF-7 human breast cancer cells.** *Biochem. J.*, 66 (2003) 63-73.
- NUNTANAKORN, P., JIANG, B., EINBOND, L., YANG, H., KRONENBERG, F., WEINSTEIN, B., KENNELLY, E. – **Polyphenolic Constituents of *Actaea racemosa*.** *J. Nat. Prod.*, 69 (2006) 314-318.
- OSBORNE, C., SCHIFF, R. – **Estrogen-receptor biology: continuing progress and therapeutic implications.** *J. Clin. Oncol.*, 23 (2005) 1616-1622.
- OVERK, C., GUO, J., CHADWICK, L., LANTVITA, D., MINASSI, A., *et al.* – **In vivo estrogenic comparisons of *Trifolium pratense* (red clover), *Humulus lupulus* (hops), and the pure compounds isoxanthohumol and 8-prenylnaringenin.** *Chem. Biol. Interact.*, 176 (2008) 30-39.
- PEARSE, S., JORDAN, C. – **The biological role of estrogen receptors α and β in cancer.** *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 50 (2004) 3-22.
- PIERSEN, C. – **Phytoestrogens in Botanical Dietary Supplements: Implications for Cancer.** *Integrative Cancer Therapies*, 2 (2003) 120-138.
- POWERS, C., SETZER, W. – **A molecular docking study of phytochemical estrogen mimics from dietary herbal supplements.** *In Silico Pharmacology*, 3 (2015).
- SENGUPTA, S., TOH, S-A., SELLERS, L., SKEPPER, J., KOOLWIJK, P., *et al.* – **Modulating Angiogenesis: The Yin and the Yang in Ginseng.** *Circulation*, 103 (2004) 1219-1225.
- SOOKVANICHSILP, N., SOONTHORNCHAREONNON, N., BOONLEANG, C. – **Estrogenic activity of the dichloromethane extract from *Pueraria mirifica*.** *Fitoterapia*, 79 (2008) 509-514.

- SPAGNUOLO, P., RASINI, E., LUINI, A., LEGNARO, M., LUZZANI, M., CASARETO, E., CARRERI, M., PARACCHINI, S., MARINO, F., COSENTINO M. – **Isoflavone content and estrogenic activity of different batches of red clover (*Trifolium pratense* L.) extracts: An in vitro study in MCF-7 cells.** *Fitoterapia*, 94 (2014) 62-69.
- SREEJA, S., ANJU, V., SREEJA, S. – **In vitro estrogenic activities of fenugreek *Trigonella foenum graecum* seeds.** *Indian J. Med. Res.*, 131 (2010) 814-819.
- TANG, J., LI, S., LI, Z., ZHANG, Z., HU, G., CHEANG, L., ALEX, D., HOI, M., KWAN, Y., CHAN, S., LEUNG, G., LEE, S. – **Calycosin promotes angiogenesis involving estrogen receptor and mitogenactivated protein kinase (MAPK) signaling pathway in zebrafish and HUVEC.** *Plos One*, 5 (2010).
- THOMAS, R., SARWAR, N., PHOENIX, F., COOMBES, R., ALI, S. – **Phosphorylation at serines 104 and 106 by Erk1/2 MAPK is important for estrogen receptor-alpha activity.** *J. Mol. Endocrinol.*, 40 (2008) 173-184.
- UPADHYAY, N., YOGENDRA, K., GUPTA, A. – **Antioxidant, cytoprotective and antibacterial effects of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves.** *Food and Chem. Toxicol.*, 48 (2010) 3443-3448.
- YAGER, J., DAVIDSON, N. – **Estrogen Carcinogenesis in Breast Cancer.** *N.Engl. J. Med.*, 354 (2006) 270-282.
- YEH, J-C., CINDROVA-DAVIES, T., BELLERI, M., MORBIDELLI, L., MILLER, N., CHO, C-W., CHAN, K., WANG, Y-T., LUO, G-A., ZICHE, M., PRESTA, M., CHARNOCK-JONES, D-S., FAN, T-P. – **The natural compound n-butylidenephthalide derived from the volatile oil of *Radix Angelica sinensis* inhibits angiogenesis in vitro and in vivo.** *Angiogenesis*, 14 (2011) 187-197.
- ZAVA, D., BLEN, M., DUWEL, G. – **Estrogenic Activity of Natural and Synthetic Estrogens in Human Breast Cancer Cells in Culture.** *Environmental Health Perspectives*, 105 (1997) 637-645.
- ZHAO, Q., HUANG, X., LOU, Y., WEBER, N., PROKSCH, P. – **Effects of Ethanol Extracts from Adzuki Bean (*Phaseolus angularis* Wight.) and Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) on Estrogen and Progesterone Receptor Phenotypes of MCF-7/BOS Cells.** *Phytother. Res.*, 21 (2007) 648-652.

ZHANG, Y., HU, G., LIN, H-C., HONG, S-J., DENG, Y-H., TANG, J-Y., SETO, S-W., KWAN, Y-W., WAYE, M-M., WANG, Y-T., LEE, S-M. – **Radix Astragali extract promotes angiogenesis involving vascular endothelial growth factor receptor-related phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent pathway in human endothelial cells.** *Phytother. Res.*, 23 (2009) 1205-1213.

ZHU, H-F., WAN, D., LUO, T., ZHOU, J-L., CHEN, L., XU, X-Y – **Catalpol Increases Brain Angiogenesis and Up-Regulates VEGF and EPO in the Rat after Permanent Middle Cerebral Artery Occlusion.** *Int. J. Biol. Sci.*, 6 (2010) 443-453.