

Katarzyna Wołosik<sup>1,✉</sup>

Agnieszka Markowska<sup>2</sup>

Iwona Kuźmicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Samodzielna Pracownia Kosmetologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Białystok

<sup>2</sup>Zakład Chemii Organicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Białystok

✉Samodzielna Pracownia Kosmetologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, ul. Akademicka 3, 15-267 Białystok; tel.: (85) 748 58 21, e-mail: katarzyna.wołosik@umb.edu.pl

Artykuł otrzymano 5 grudnia 2013 r.

Artykuł zaakceptowano 22 stycznia 2014 r.

**Słowa kluczowe:** lunazyna, rak jelita grubego, rak piersi, rak skóry, rak prostaty.

**Wykaz skrótów:** COX-2 – cyklooksygenaza; DMBA – dimetylobenzantracen; ER – receptory estrogenowe; PR – receptory progesteronowe; RFT – reaktywne formy tlenu; motywy RGD – arginina, glicyna i kwas asparaginowy; RWPE – komórki nabłonkowe gruczołu krokowego; TPA – octan tetradekanoiloforbolu

## STRESZCZENIE

Wyniki wielu badań prowadzonych w warunkach *in vitro* i *in vivo* potwierdzają aktywność lunazyny w przebiegu leczenia nowotworów jelita grubego, piersi, skóry i prostaty. Lunazyna, może zapobiegać przerzutom raka jelita grubego, w sytuacjach, w których wytworzyła się chemooporność. Wiążąc się z receptorami komórek raka jelita grubego, uniemożliwia im przyczepianie do tkanki wątroby. Gdy receptor zostaje zablokowany, nie mogą powstawać i różnicować się nowe naczynia krwionośne, co zapobiega rozprzestrzenianiu raka. W modelu raka piersi niezależnego od receptorów estrogenowych po podaniu lunazyny i aspiryny, zaobserwowano zahamowanie proliferacji komórek nowotworowych, zatrzymanie cyklu w fasie S, a także spadek ekspresji genów nowotworowych. Lunazyna wykazuje silne właściwości przeciwutleniające, zmniejszając wywołaną lipopolisacharydem produkcję RFT. W przebiegu raka skóry miejscowa aplikacja lunazyny zmniejsza tempo proliferacji komórek naskórka. Wyciszenie genów na poziomie transkrypcji poprzez hipermetylację DNA może być alternatywnym mechanizmem dla nowotworzenia. Stosując metodę modyfikacji DNA wykazano, że wyspy CpG zostały hipometylowane w linii komórkowej RWPE-1, a hipermetylowane w linii komórkowej RWPE-2. Pomimo licznych i obiecujących dowodów na przeciwnowotworową aktywność lunazyny, nadal jednak pozostają nie wyjaśnione wszystkie mechanizmy jej działania w przebiegu procesów nowotworzenia.

## WPROWADZENIE

W Polsce i na świecie, nowotwory stanowią poważny problem zdrowotny. Pomimo ciągłego rozwoju nauki, wprowadzania doskonalszych metod diagnostyki i nowych terapii, nowotwory zajmują pierwsze miejsce u kobiet i drugie u mężczyzn (po chorobach układu krążenia) pod względem przyczyny zgonów [1,2]. Jest to druga przyczyna zgonów ogółem i pierwsza zgonów przed 65 rokiem życia w Polsce. W 2010 r. najwyższa zachorowalność na nowotwory złośliwe dotyczyła raka płuca, raka jelita grubego, raka piersi, raka prostaty i raka pęcherza moczowego. Najwięcej zgonów spowodowały nowotwory: płuca, jelita grubego, żołądka, piersi i trzustki. Trzema najczęściej rejestrowanymi nowotworami u mężczyzn były rak płuca, rak gruczołu krokowego i rak jelita grubego. U kobiet były to rak piersi, rak jelita grubego i rak płuca [2].

Naturalne peptydy, w przeciwieństwie do większości chemioterapeutyków, mają wysokie powinowactwo, swoistość, niską toksyczność oraz ze względu na małą wielkość cząsteczki z łatwością przenikają do tkanek, dzięki czemu mogą wspomagać klasyczną chemioterapię, zwiększając jej efektywność [3,4]. Białka i peptydy stają się grupą nutraceutyków o specyficznej funkcji biologicznej, które są istotne w zapobieganiu na różnych etapach rozwoju raka: inicjacji, promocji i progresji [5]. Wzrasta więc, zainteresowanie nad potencjalnymi korzyściami zdrowotnymi różnych białek wyizolowanych z żywności i peptydów, tj. roślinne inhibitory proteaz, laktoferyna i laktotransferyna, lektyna czy lunazyna [3].

## LUNAZYNA

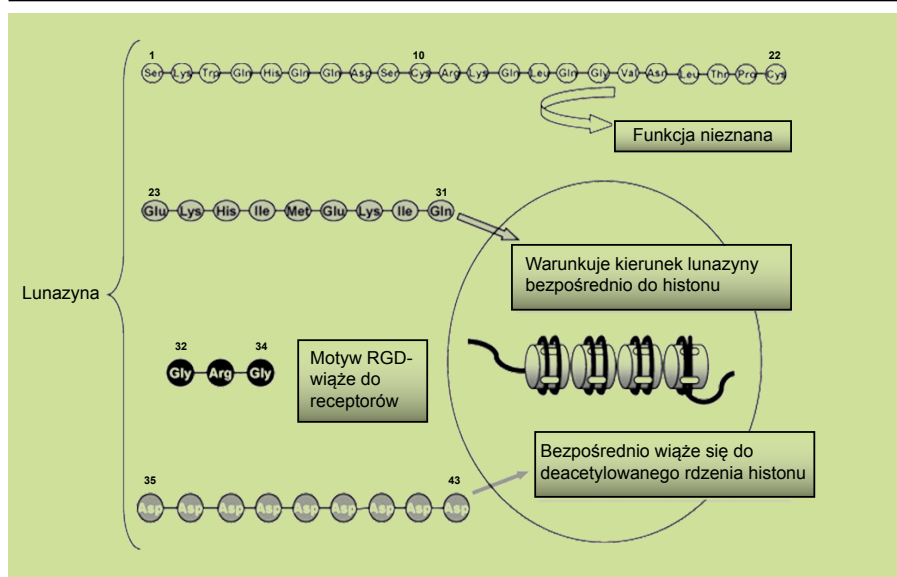
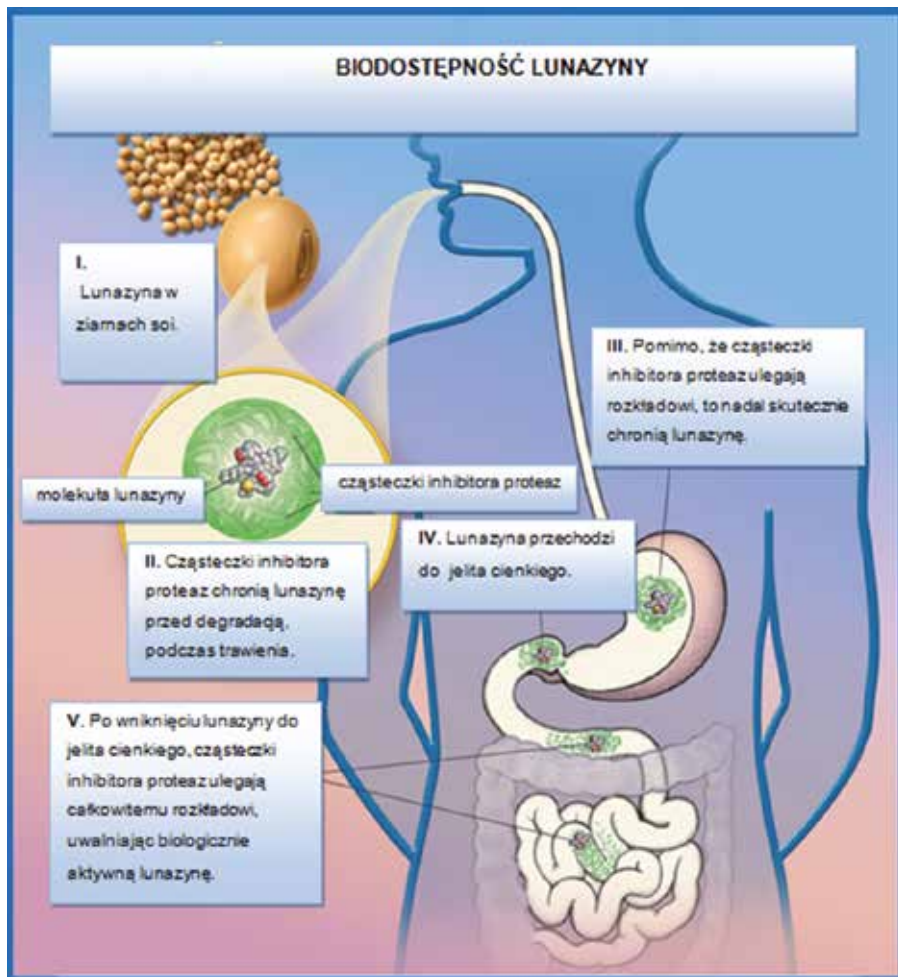
W ostatnich latach zidentyfikowano i scharakteryzowano wiele peptydów pochodzenia zwierzęcego i roślinnego o właściwościach przeciwnowotworowych. Jednym z tych peptydów była lunazyna, zidentyfikowana w nasionach soi i innych roślinach tj. jęczmień, słonecznik, gorczyca czy orzech brazylijski [6,7]. mRNA kodujący lunazynę pojawia się w ziarnach soi w trzecim tygodniu po kwitnieniu, natomiast sam peptyd pojawia się w nich dopiero po pięciu tygodniach od kwitnienia. Na zawartość lunazyny w nasionach wpływają czynniki zewnętrzne tj. temperatura czy wilgotność gleby, ale przede wszystkim warunkowana jest odmianą soi i może wynosić 5,9-7,2 mg/g białka. Tendencja do selekcjonowania i uprawy odmian wysoko wydajnych, doprowadza jednak do otrzymywania odmian pozbawionych tego peptydu [7-9].

Szczególną uwagę zwracają albuminy 2S, które chronią ziarna roślin przed różnymi patogenami, m.in. hamują wzrost grzybów i bakterii oraz wykazują aktywność inhibitorów proteaz serynowych [7]. Obecna w nasionach soi frakcja albumin 2S składa się z dwóch różnych białek określanych jako AL1 i AL3. Albumina AL3 składa się z dwóch podjednostek: małej, złożonej z 43 reszt aminokwasowych (Ryc. 1) [10] i dużej złożonej z 77 reszt aminokwasowych. Podjednostki są połączone 17-aminokwasowym łącznikiem. Duża podjednostka ma masę 8 kDa i zawiera 7,8% reszt metioniny, 13% reszt lizyny i 7,8% reszt cysteiny [7]. Mała podjednostka stanowi biologicznie aktywny peptyd, lunazynę, która ma właściwości przeciwnowotworowe. Została ona po raz pierwszy wyizolowana i jej struktura pierwszorzędowa poznana w 1987 r. [7,10]. Analizując sekwencję aminokwasową lunazyny, należy zwrócić uwagę na obecność motywu RGD (reszty arginy, glicyny i kwasu asparaginowego), który umożliwia wiązanie się peptydu do receptorów występujących na powierzchni komórek zwierzęcych albo ludzkich (Ryc. 1) [7,10,11].

Jednym ze środków zapobiegających i wspomagających leczenie nowotworów jest spożywanie produktów żywnościowych z zawartością peptydu. Lunazyna nie ulega degradacji w przewodzie pokarmowym w obecności proteinaz i peptydaz; dociera do tkanek i narządów zachowując swoją aktywność. W przeciwieństwie do syntetycznie otrzymanej lunazyny, ta zawarta w ziarnach soi nie

ulega hydrolizie pod wpływem pepsyny czy pankreatyny (Ryc. 2) [6, 10,12].

Rycina 2. Biodostępność lunazyny. Na podstawie [6,10,12].



Rycina 1. Sekwencja aminokwasowa lunazyny 1-43. Fragment 23-31 kieruje lunazynę do histonu; fragment 32-34, motyw RGD (reszty arginy, glicyny i kwasu asparaginowego), umożliwia wiązanie się peptydu do receptorów występujących na powierzchni komórek; fragment 35-43 wiąże się bezpośrednio do deacetylowanego rdzenia histonu. Na podstawie [10].

### EPIGENETYCZNY MECHANIZM DZIAŁANIA LUNAZYNY

Obok zmian genetycznych w patogenezie nowotworów istotną rolę odgrywają mechanizmy związane z epigenetyczną kontrolą ekspresji genów. Epigenetyczna kontrola transkrypcji związana jest z metylacją DNA i kowalencyjnymi modyfikacjami histonów, obejmującymi przede wszystkim ich acetylację i metylację [13]. Lunazyna po wejściu do komórki wiąże się z acetylowanym rdzeniem histonów. Związanie lunazyny do deacetylowanego rdzenia histonów zakłóca dynamikę acetylacji-deacetylacji histonów, co jest postrzegane przez komórkę jako zaburzenie i w konsekwencji prowadzi do apoptozy. W transformowanych komórkach poddanych działaniu lunazyny w początkowej fazie następuje nieprawidłowe wydłużenie włókien wrzeciona kariokinetycznego. W późniejszym okresie następuje niesymetryczny rozdział chromosomów przy jednej z centrioli, co ostatecznie prowadzi do śmierci komórki [7,11]. To sugeruje, że lunazyna może wpływać

na mechanizm epigenetycznej kontroli ekspresji genów na szlaku modyfikacji chromatyny (Ryc. 3) [14].

#### LUNAZYNA - RAK JELITA GRUBEGO *IN VITRO*

Zaobserwowano, że zgony na raka jelita grubego mogą następować w wyniku przerzutów do wątroby. Lunazyna może zapobiegać tworzeniu przerzutów raka jelita grubego, zwłaszcza w sytuacjach, w których wytworzyła się chemooporność. Wiążąc się z receptorami komórek raka jelita grubego, uniemożliwia im przyczepianie do tkanki wątroby. Gdy receptor zostaje zablokowany, nie mogą powstawać i różnicować się nowe naczynia krwionośne, co zapobiega rozprzestrzenianiu raka.

W badaniach z wykorzystaniem myszy zwierzęta podzielono na grupy, w których podawano zastrzyk z lunazyny, oksaliplatinę oraz jedno i drugie. Dziennie podawano ilość lunazyny odpowiadającą 25 g białek sojowych. Po 28 dniach badano wątrobę, by stwierdzić, do jakiego stopnia narząd został zajęty przez chorobę. Grupa, której podawano

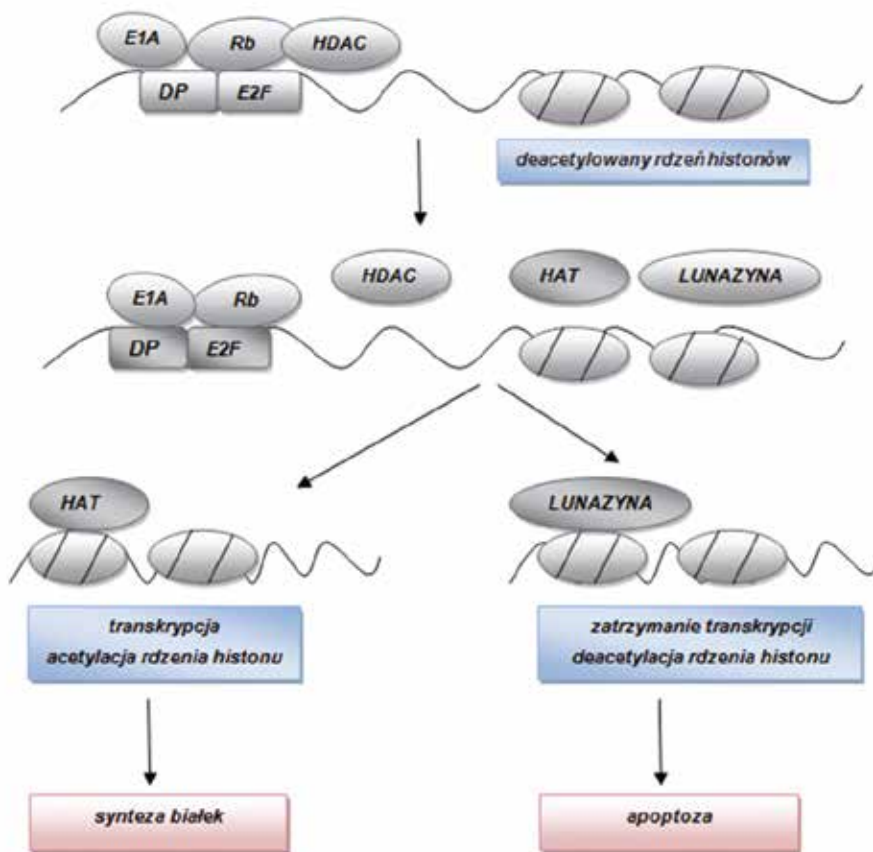
samą lunazynę, miała o 50% mniej miejsc nowych ognisk przerzutów. W grupie otrzymującej zarówno lunazynę, jak i oksaliplatinę doliczono się tylko 5 miejsc powstawania nowych guzów, w porównaniu do 28 w grupie kontrolnej. Gdy zastosowano lunazynę w połączeniu z chemioterapeutykiem, oksaliplatiną, stwierdzono 6-krotny spadek liczby miejsc powstawania nowych guzów. Wykazano również, że lunazyna nasila apoptozę przerzutujących komórek raka jelita grubego [15]. W badaniach, w których podawano lunazynę dootrzewnowo (4 mg/kg masy ciała/dobę) i do ustnie (8 mg/kg masy ciała/dobę) zaobserwowano spadek nowych ognisk nowotworowych o 50% w pierwszym przypadku i 56% w drugim. Przy zwiększeniu dawki dootrzewnowej do 20 mg/kg masy ciała/dobę zauważono, nawet o 94% mniej ognisk przerzutów w stosunku do grupy kontrolnej [16].

W dawce 4 mg/kg masy ciała/dobę lunazyna hamuje przerzutowanie komórek raka okrężnicy do wątroby, poprzez wiązanie z integryną 51, a następnie stłumienie sygnalizacji na szlaku FAK (kinaza ogniskowo-adhezyjna)/ERK (kinaza regulowana przez sygnały zewnątrzkomórkowe)/NF- $\kappa$ B (jądrowy czynnik transkrypcyjny NF kappa B). Lunazyna wzmacnia również efekt oksaliplatinowy w modyfikowaniu syntezy białek Bax, Bcl-2, IKK i P65, związanych z apoptozą i przerzutowaniem. Wyniki te sugerują, że lunazynę można stosować jako antagonistę integryny, zapobiegając w ten sposób przerzutowaniu komórek raka okrężnicy do wątroby [14].

#### LUNAZYNA - RAK JELITA GRUBEGO *IN VITRO*

W badaniach linii komórkowych raka okrężnicy: KM12L4, RKO, HCT-116, HT-29 poziomu aktywności cytotoksycznej ( $IC_{50}$ ), lunazyna powodowała istotne zmniejszenie przerzutowania komórek linii KM12L4 w porównaniu do pozostałych wykorzystanych w badaniu [14]. Badania dotyczące mechanizmu działania peptydu wykazały, że lunazyna powoduje zatrzymanie cyklu komórkowego G2 w fazie M i indukuje apoptozę w komórkach HT-29 [17]

Stwierdzono, że pod wpływem lunazyny w komórkach nowotworowych następuje zatrzymanie procesu mitozy, fragmentacja chromosomów oraz liza komórek. Motyw RGD (arginina, glicyna i kwas asparaginowy), umożliwia wiązanie się peptydu do receptorów występujących na powierzchni komórek zwierzęcych albo ludzkich. Lunazyna zawierająca motyw RGD chroni zdrowe narządy przed zasiedleniem komórkami nowotworowymi. Pozbawiona tego mo-



**Rycina 3.** Model epigenetycznego mechanizmu, wyjaśniający zdolność lunazyny do zahamowania transformacji genu E1A (ang. *adenovirus early region 1A*). Białko RB zapobiega przejściu komórki z uszkodzonym DNA przez fazę G1 i jej wejściu w fazę S, dzięki czemu uszkodzone geny nie są replikowane. Rb wiąże i hamuje czynniki transkrypcyjne należące do rodziny E2F. Czynniki transkrypcyjne rodziny E2F są dimerami białek E2F i białek DP. Kompleksy E2F-DP (ang. *E2 promoter binding protein-dimerization partners*) mogą promować wejście komórki w fazę S. Tak długo, jak kompleks E2F-DP jest inaktywowany, komórka jest zatrzymana w fazie G1. Gdy Rb wiąże E2F, powstały kompleks działa jak supresor wzrostu. Kompleks Rb-E2F-DP przyciąga również białko deacetylazy histonów (HDAC) do chromatyny, zapobiegając syntezie DNA. Lunazyna konkuruje z HAT (acylotransferazy histonów) i wiąże się z deacetylowanym rdzeniem histonów. Związanie lunazyny do deacetylowanego rdzenia histonów zakłóca dynamikę acetylacji-deacetylacji histonów, co jest postrzegane przez komórki jako zaburzenie i w konsekwencji prowadzi do apoptozy. Na podstawie [7,11,14].

tywu, nie wykazuje właściwości przeciwnowotworowych i nie hamuje procesu mitozy [6,7,11,14].

#### LUNAZYNA - RAK PIERSI *IN VIVO* I *IN VITRO*

Rak piersi jest najczęstszą chorobą nowotworową i główną przyczyną śmierci wśród kobiet na całym świecie (ponad 410.000 przypadków rocznie). Rak piersi może zostać sklasyfikowany w oparciu o występowanie lub brak receptorów estrogenowych (ER) i progesteronowych (PR) w jego komórkach. Na tej podstawie można wyróżnić 4 fenotypy raka piersi: raki ER+/PR+/+, raki ER+/PR-/-, raki ER-/PR+/+ oraz raki ER-/PR-/-. Podczas gdy fenotypy ER+/+ raka piersi wykazują lepsze rokowania na terapię antyestrogenów, fenotypy ER/- mogą być bardziej agresywne i odporne na leczenie. W około 1/3 przypadków, raki ER/- są odporne na hormonoterapię podczas rozwoju nowotworu [15]. To zmusza do poszukiwania nowych i skutecznych strategii do zapobiegania i leczenia raka piersi, w szczególności w zakresie fenotypu ER/- [18].

Chemoprewencyjne działanie lunazyny wykazano zarówno w badaniach *in vitro* jak i *in vivo*. W modelu raka piersi niezależnego od receptorów estrogenowych tj. na linii MDA-MB-231 po podaniu lunazyny i aspiryny zaobserwowano zahamowanie proliferacji komórek nowotworowych, zatrzymanie cyklu w fasie S, a także spadek ekspresji genów i enzymów nowotworowych: CDC25A (ang. *cell division cycle 25 homolog A*), kaspazy 8, ETS2 (ang. *C-ets-2 protein*), Myc (cMyc), ERBB2 (ang. *tyrosine-protein kinase erbB-2 receptor*), PIK3R1 (ang. *phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit alpha*), JUN (koduje białko c-JUN), CDK4 (ang. *cyclin-dependent kinase 4*) i CDK6 (ang. *cyclin-dependent kinase 6*). Wzmacnianie ekspresji genów i enzymów nowotworowych powoduje zwiększenie wzrostu komórek nowotworu piersi i ich odporność na apoptozę [3,14,19]. Lunazyna hamuje proliferację i indukuje apoptozę oraz zmniejsza częstość występowania komórek nowotworu w chemicznie wywołanej onkogenezie gruczołu piersi (Tab. 1) [3,20].

Lunazyna i aspiryna hamują powstawanie kolonii w komórkach NIH/3T3, nawet 4-krotnie bardziej skutecznie niż sojowy inhibitor proteazy Bowmana-Birka (BBI ang. *Bowman-Birk protease inhibitor*) [14].

#### LUNAZYNA - STAN ZAPALNY I STRES OKSYDACYJNY A RAK PIERSI

Stan zapalny i stres oksydacyjny, to dwa najważniejsze czynniki uczestniczące w nowotworzeniu. Przewlekły stan zapalny może być związany z rozwojem około 15-20% nowotworów złośliwych na całym świecie [3,21] i są wyraźnie związane ze zwiększonym ryzykiem inicjacji i progresji raka. [3,22]. Badania wskazują istotny wpływ cyklooksygenazy COX-2 na powstawanie i progresję raka piersi oraz słabe rokowanie wyleczenia. Lunazyna hamując powstawanie mediatorów stanu zapalnego tj. IL-6 (interleukina 6), TNF $\alpha$  (czynnik nekrozy nowotworów) [3,23] i PGE2 (prostaglandyna 2) w makrofagach, poprzez zmiany poziomu COX2 i produkcji PGE2 [3,24] oraz inaktywuje NF- $\kappa$ B (jądrowy czynnik transkrypcyjny NF kappa B), odgrywa znaczącą rolę w prewencji i leczeniu raka piersi [3,25].

Wzrost stężenia estrogenów i metabolitów estrogenowych może powodować powstawanie reaktywnych form tlenu (RFT), które wpływają na transformację komórek, migrację i inwazyjność w przebiegu nowotworu piersi. Stwierdzono, że lunazyna wykazuje silne właściwości przeciwutleniające, zmniejszając wywołaną lipopolisacharydem produkcję RFT [3,23].

#### LUNAZYNA - NOWOTWORY SKÓRY

W warunkach *in vitro* lunazyna zapobiega transformacji nowotworowej komórek, inicjowanej przez dimetylobenzantracen (DMBA), metylnitrozomocznik oraz metylnitrozoguanidynę, natomiast nie powoduje zmian w morfologii i proliferacji komórek pod nieobecność tych substancji [7,14,26]. W warunkach *in vivo* w mysim modelu raka skóry wywołanym podaniem DMBA i TPA (octan tetradekanoiloforbolu), miejscowa aplikacja lunazyny zmniejszyła tempo proliferacji komórek naskórka [15,27]. Zwierzęta podzielono na grupy, w których na skórę aplikowano lunazynę w dawkach: 0  $\mu$ g (kontrola), 250  $\mu$ g/tydzień (dawka wysoka), 25  $\mu$ g/tydzień (dawka średnia), 2,5  $\mu$ g/tydzień (dawka niska). Lunazyna w najwyższej dawce redukowała częstość występowania nowotworu (nawet o 70%), opóźniała pojawianie i rozrost guzów do 2 tygodni w porównaniu do grupy kontrolnej. W obrazie histopatologicznym tkanek zaobserwowano jedynie brodawczaki skóry, nie zaobserwowano nowotworów [28]. Podawanie DMBA i TPA przez

**Tabela 1.** Posumowanie aktywności przeciwnowotworowej lunazyny w przebiegu niezależnego od receptorów estrogenowych raka piersi. Na podstawie [3,14,19,20].

Linia komórkowa	Aktywność przeciwnowotworowa	Piśmiennictwo
transformacja nowotworowa komórek MDA-MB-231	- zahamowanie proliferacji komórek nowotworowych, - zatrzymanie cyklu w fasie S, - spadek ekspresji genów zaangażowanych w różne ścieżki przekaźnictwa: CDC25A, kaspazy 8, ETS2, ERBB2, PIK3R1, JUN, CDK4 i CDK6, - spadek zawartości cyklin D1 i D3, - spadek zawartości białek CDK4 i CDK6.	[3,14,19,20]
transformacja nowotworowa komórek NIH/3T3 inicjowana DMBA	- spadek proliferacji komórek nowotworowych, - hamowanie powstawania kolonii.	[14,19,20]
transformacja nowotworowa komórek, inicjowana DMBA	-spadek częstości występowania nowotworu.	[3,20]
przeszczepione po transformacji nowotworowej komórki MDA-MB-231	- spadek częstości występowania nowotworu, - spadek proliferacji komórek nowotworowych, - indukcja apoptozy.	[3,19,20]

3 tygodnie powoduje wzrost proliferacji komórek naskórka myszy o 55%. Miejscowa aplikacja lunazyny zmniejszyła tempo proliferacji komórek naskórka o 16% [27].

## LUNAZYNA - NOWOTWÓR PROSTATY

Komórki nabłonkowe gruczołu krokowego RWPE-1 i nabłonkowe komórki raka gruczołu krokowego RWPE-2, poddano działaniu lunazyny i obserwowano ekspresję genów i acylację histonów. Lunazyna podwyższyła ekspresję genów: IF1A (ang. *translation initiation factor*), PRKARIA (gen kodujący cAMP zależną kinazę proteinową), TOB1 (gen kodujący białko TOB1) i THBS1 (koduje TSP-trombospondynę 1, odpowiedzialną za proliferację, migrację i apoptozę komórek zarówno w warunkach fizjologicznych jak i w niektórych stanach patologicznych m.in. w procesie gojenia ran, zapaleniu, angiogenezie i nowotworzeniu) w linii RWPE-1, ale nie w linii komórek RWPE-2. Zaobserwowano zahamowanie acylacji reszty lizyny 8 histonu H4 oraz podwyższenie aktywacji reszty lizyny 16 histonu H4, katalizowane przez acetylotransferazy histonów (HAT): P300, PCAF i HAT1A. Wyniki te sugerują, nowatorski zależny od wzmocnienia ekspresji genu mechanizmu działania lunazyny. Immunoprecypitacja chromatyny wykazała hipocetylację reszty lizyny 16 histonu H4 komórek RWPE-2, w szczególności na 5' końcu THBS1 zawierającego wyspy CpG [29]. Badania genomu pokazują, że nawet 10% wysp CpG może być zmetylowanych nieprawidłowo w komórkach nowotworowych. Hipermetylacja sekwencji promotorowych genu zwykle jest związana z jego wyciszeniem transkrypcyjnym oraz z brakiem mutacji w sekwencji kodującej tego genu. Na tej podstawie wysunięto hipotezę o wyciszeniu genów na poziomie transkrypcji poprzez hipermetylację DNA, jako alternatywnym mechanizmie nowotworzenia [30]. Stosując metodę modyfikacji DNA wodorosiarczynem, połączoną z reakcją PCR (BSP) i sekwencjonowaniem DNA wykazano, że wyspy CpG zostały hipometylowane w linii komórkowej RWPE-1 a hipermetylowane w linii komórkowej RWPE-2. Hipocetylacja histonów i hipermetylacja DNA w kierunku 5., regionu THBS1 może wyjaśniać niezdolność lunazyny do wzmacniania ekspresji genów komórek RWPE-2 [29].

## PODSUMOWANIE

Proces nowotworzenia jest skomplikowany i trudny do wyeliminowania. Obejmuje początkowo występowanie zmian genetycznych, które mogą prowadzić do dezaktywacji genów i dalsze narastanie zmian genetycznych podczas progresji nowotworu. Poszukiwanie produktów żywnościowych i składników o właściwościach biologicznych, które mogą utrudniać takie zmiany i zapobiegać inaktywacji genów supresorowych nowotworu jest obiecujące w obszarze profilaktyki raka. Białka i peptydy są grupą nutraceutyków, które wykazują potencjalne wyniki w zapobieganiu rozwoju różnych etapów raka, w tym inicjacji, promocji i progresji [5].

Wyniki wielu badań prowadzonych w warunkach *in vitro* i *in vivo* potwierdzają wysoką aktywność lunazyny w przebiegu leczenia nowotworów jelita grubego, piersi, skóry i prostaty. Trzeba jednak dodać, że pomimo licznych i obiecujących dowodów na przeciwnowotworową aktyw-

ność lunazyny, nadal pozostają nie wyjaśnione wszystkie mechanizmy jej działania w przebiegu procesów nowotworzenia.

## PIŚMIENNICTWO

1. Chomczyk MA, Czajka P (2013) Mutacje genu PIK3CA w najczęściej występujących nowotworach. *Postepy Biochem* 59: 280-284
2. Tuchowska P, Worach-Kardas H, Marcinkowski JT (2013) Najczęstsze nowotwory złośliwe w Polsce – główne czynniki ryzyka i możliwości optymalizacji działań profilaktycznych. *Probl Hig Epidemiol* 94: 166-171
3. Hsieh C-C, Hernández-Ledesma B, de Lumen BO (2011) Lunasin, a new breast cancer chemopreventive seed peptide, W: Gunduz E (red) *Breast Cancer - Current and Alternative Therapeutic Modalities*. In-Tech Rijeka (Croatia), Shanghai (China), str. 215-243
4. Bhutia SK, Maiti TK (2008) Targeting tumors with peptides from natural sources. *Trends Biotechnol* 26: 210-217
5. de Mejia EG, Dia VP (2010) The role of nutraceutical proteins and peptides in apoptosis, angiogenesis, and metastasis of cancer cells. *Cancer Metastasis Rev* 29: 511-528
6. Hernández-Ledesma B, de Lumen BO, Hsieh C-C (2013) 1997-2012: Fifteen years of research on peptide lunasin. DOI: 10.5772/52368
7. Czarnecka J, Koziolkiewicz M (2007) Albuminy 2S - roślinne białka zapasowe o właściwościach alergennych. *Biotechnologia* 2: 114-127
8. de Mejia EG, Vasconez M, de Lumen BO, Nelson R (2004) Lunasin concentration in different soybean genotypes, commercial soy protein, and isoflavone products. *J Agric Food Chem* 52: 5882-5887
9. Jeong HJ, Lam Y, de Lumen BO (2002) Barley Lunasin suppresses ras-induced colony formation and inhibits core histone acetylation in mammalian cells. *J Agric Food Chem* 50: 5903-5908
10. Hernandez-Ledesma B, Hsieh C-C, de Lumen BO (2009) Lunasin, a novel seed peptide for cancer prevention. *Peptides* 30: 426-430
11. Galvez AF, de Lumen BO (1999) A soybean cDNA encoding a chromatin-binding peptide inhibits mitosis of mammalian cells. *Nat Biotechnol* 17: 495-500
12. Lunasin's Superior Bioavailability, W: Lunasin - an accidental discovery. Dostęp online: <http://www.lunasin.com/About.aspx>
13. Paluszczak J, Baer-Dubowska W (2005) Zjawiska epigenetyczne w patogenezie nowotworów. Nowe możliwości profilaktyki i terapii? *Postepy Biochem* 51: 244-250
14. Hernández-Ledesma B, de Lumen BO (2008) Lunasin: a novel cancer preventive seed peptide. *Perspect Medicin Chem* 2: 75-80
15. Dia VP, de Mejia EG (2011) Lunasin potentiates the effect of oxaliplatin preventing outgrowth of colon cancer metastasis, binds to  $\alpha 5\beta 1$  integrin and suppresses FAK/ERK/NF- $\kappa$ B signaling. *Cancer Lett* 313: 167-180
16. Dia VP, de Mejia EG (2013) Potential of lunasin orally-administered in comparison to intraperitoneal injection to inhibit colon cancer metastasis *in vivo*. *J Cancer Therapy* 4: 34-43
17. Dia VP, de Mejia EG (2010) Lunasin promotes apoptosis in human colon cancer cells by mitochondrial pathway activation and induction of nuclear clusterin expression. *Cancer Lett* 295: 44-53
18. Piekarski J (2005) Receptory estrogenowe i progesteronowe w raku piersi - współczesny stan wiedzy. *Współ Onkol* 9: 371-379
19. Hsieh C-C, Hernández-Ledesma B, de Lumen BO (2010) Lunasin, a novel seed peptide, sensitizes human breast cancer MDA-MB-231 cells to aspirin-arrested cell breast cancer - current and alternative therapeutic modalities cycle and induced-apoptosis. *Chem Biol Interact* 186: 127-134
20. Hsieh CC, Hernández-Ledesma B, de Lumen BO (2010) Complementary roles in cancer prevention: protease inhibitor makes the cancer preventive peptide lunasin bioavailable. *PLoS ONE* 5: 2-9.
21. Kuper H, Adami HO, Trichopoulos D (2000) Infections as a major preventable cause of human cancer. *J Intern Med* 248: 171-183

22. Allavena P, Garlanda C, Borrello MG, Sica A, Mantovani A (2008) Pathways connecting inflammation and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 18: 3-10
23. Hsieh CC, Hernández-Ledesma B, de Lumen BO (2009) Antioxidant and anti-inflammatory properties of cancer preventive peptide lunasin in RAW 264.7 macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 390: 803-808
24. Dia VP, Wang W, Oh VL, de Lumen BO, de Mejia EG (2009) Isolation, purification and characterization of lunasin from defatted soybean flour and *in vitro* evaluation of its anti-inflammatory activity. *Food Chem* 114: 108-115
25. de Mejia EG, Dia VP (2009) Lunasin and lunasin-like peptides inhibit inflammation through suppression of NF- $\kappa$ B pathway in the macrophage. *Peptides* 30: 2388-2398
26. de Lumen BO (2005) Lunasin: a cancer-preventive soy peptide. *Nutr Rev* 63: 16-21
27. Hsieh EA, Chai CM, de Lumen BO, Neese RA, Hellerstein MK (2004) Dynamics of keratinocytes *in vivo* using 2H20 labeling: a sensitive marker of epidermal proliferation state. *J Invest Dermatol* 123: 530-536
28. Galvez AF, Chen N, Macasieb J et al. (2001) Chemopreventive property of a soybean peptide (lunasin) that binds to deacetylated histones and inhibits acetylation. *Cancer Res* 61: 7473-7478
29. Galvez AF, Huang L, Magbanua MMJ, Dawson K, Rodriguez RL (2011) Differential expression of thrombospondin (THBS1) in tumorigenic and nontumorigenic prostate epithelial cells in response to a chromatin-binding soy peptide. *Nutr Cancer* 63: 623-636
30. Tokarz P, Błasiak J (2013) Znaczenie metylacji DNA profilu epigenetycznego komórek jelita grubego w ich transformacji nowotworowej. *Postepy Biochem* 59: 267-279

## Lunasin - a novel chemopreventive peptide

Katarzyna Wołosik<sup>1,✉</sup>, Agnieszka Markowska<sup>2</sup>, Iwona Kuźmicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Cosmetology. Medical University of Białystok. Faculty of Pharmacy with the Division of Laboratory Medicine, 3 Akademicka St., 15-267 Białystok, Poland

<sup>2</sup>Department of Organic Chemistry. Medical University of Białystok. Faculty of Pharmacy with the Division of Laboratory Medicine, 2A A. Mickiewicza St., 15-222 Białystok, Poland

✉e-mail: katarzyna.wolosik@umb.edu.pl

**Key words:** lunasin, colon cancer, breast cancer, skin cancer, prostate cancer.

### ABSTRACT

Lunasin is a bioactive peptide originally isolated from soybean and has demonstrated chemopreventive and anticancer properties against: skin, colon, prostate and breast cancers. Lunasin by binding to the receptors of colon cancer cells prevents its adhesion to the liver tissue. When the receptor is blocked, new blood vessels cannot differentiate which prevent the spread of cancer. In the model estrogen-independent breast cancer, lunasin and aspirin administration inhibits cell proliferation, arrest cell cycle in S-phase as well as a decreases expression of cancer genes. Lunasin has also been found to exert potent antioxidant properties, reducing lipopolysaccharide induced production of ROS by macrophage cells, and acting as a potent free radical scavenger. Using the modifying the of DNA method it has been demonstrated that CpG islands were hypomethylated in RWPE-1 cell lines and hypermethylated RWPE-2 in cell line. Despite of numerous and promising evidence of antitumor activity of lunasin, there are still not explained all the mechanisms of its action in the processes of carcinogenesis.