

## FARMACOCINETICA ȘI FARMACODINAMIA IZOFLAVONELOR ESTROGEN-MIMETICE

### OESTROGENE MIMETIC ISOFLAVONES' PHARMACOKINETICS AND PHARMACODYNAMICS

Anca Dragomirescu, Dan Dragoș, Mihaela Andoni

Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș”, Timișoara, Facultatea de Farmacie

**Cuvinte cheie:** genisteină, receptor estrogenic beta, izoflavone, *Fabaceae* sp.

**Key words:** genistein, beta-oestrogenic receptor, isoflavones, *Fabaceae* sp.

#### Rezumat

Genisteina este cea mai abundentă izoflavonă estrogen-mimetică, și cea mai intens supusă studiilor clinice și de laborator, cu structura chimică 4', 5, 7 – trihidroxizoflavonă, având și proprietăți estrogen-modulante, prin capacitatea sa de legare a receptorului estrogenic de tip beta. Genisteina prezintă următoarele acțiuni farmacodinamice:

- efect antiaterogen
- prevenția cancerelor estrogen-dependente, în special a cancerului mamar
- prevenția îmbătrânirii organului cutanat
- efectul osteo-progen, de prevenție a osteoporozei de menopauză

Cu toate aceste beneficii reale, apar și numeroase efecte adverse înregistrate, atât la om cât și la animal. Astfel, oile furajate cu specii de *Fabaceae* conținând izoflavone estrogen-mimetice și-au sistat reproducția (izoflavonele au acționat ca un contraceptiv oral). Influența fitoestrogenilor în dieta umană este încă în curs de evaluare, fiind incriminate efecte precum: involuție cerebrală prin apoptoză abuzivă sau perturbarea statusului hormonal la copiii se sex masculin. La toate acestea se adaugă și alergiile cauzate de proteinele din soia.

#### Abstract

Genisteine is the most abundant and the most studied estrogen-mimetic izoflavone. It's chemical formula is 4', 5, 7 – trihydroxyisoflavone. It has also estrogen-modulated properties by its binding ability to the beta type estrogen receptor. Genisteine presents the following farmacodinamic effects:

- Antiaterogen effect
- Prevention of estrogen-dependent cancers, especially breast cancer
- Prevention of skin aging body
- Osteoprogen effect, prevention of osteoporosis at the menopauses women

Despite all these real benefits, there are also many adverse effects, registered both in humans and animals. Thus, the sheep feeding with some *Fabaceae* species, containing estrogen-mimetic isoflavones were stopped their reproductive function (isoflavones acted as an oral contraceptive). In humans, phytoestrogens influence is still under evaluation, being suspected effects such as cerebral involution - via abusive apoptosis - or disturbance in hormonal status, in male children. All these are added to already known allergies, caused by soy proteins.

#### Introducere

Istoricul cercetării izoflavonelor estrogen-mimetice începe cu înregistrarea unor efecte observate la unele specii de *Fabaceae*: soia, trifoiul și lucerna. Observațiile inițiale au fost pur întâmplătoare. Astfel, în anii 1930, mare parte din ovinele australiene și-au sistat reproducția, pentru că au fost hrănite cu *Trifolium subterraneum*. Curând s-a observat că această specie de trifoi furajer este bogată în izoflavone cu activitate estrogenică, care acționează ca și contraceptiv pentru ovinele femele (12).

Observațiile ulterioare, mai puțin empirice, încep tot mai mult să aibe un

fundament. Astfel, o observație de referință a fost cea legată de incidența scăzută a osteoporozei și a unor cancere estrogen – dependente pe continentul Asiatic, în comparație cu incidența aceluiași boli în lumea Occidentală, iar în fața acestei deosebiri surprinzătoare, toate vocile din domeniul epidemiologiei au incriminat alimentația cu soia a asiaticilor. Într-adevăr, curând, din ce în ce mai multe substanțe de tip estrogen-like au fost găsite în extractele semințelor de soia (2).

Acestor observații, le-au urmat unele cercetări dirijate. Între acestea, direcțiile importante de cercetare au fost următoarele:

• Adlercreutz și colab. evaluează începând din anii '70 activitatea biologică a genisteinei – ca principală substanță de tip fitoestrogenic, cercetare ce include aspecte ca: epidemiologia genisteinei în relație cu protecția anticanceroasă, identificarea altor compuși înrudiți cu activitate estrogenică din soia și rolul genisteinei ca agent anticanceros pe țesutul mamar – incluzând posibilele ei mecanisme de acțiune (1,2,3).

• Lamartinière și colab. identifică mecanismele de acțiune ale genisteinei asupra blocării mitogenezei de tip canceros, sugerând pentru prima dată că genisteina inhibă tirozin - kinazele unor receptori de membrană (11).

• Yamaguchi identifică relația dintre genisteină și anabolismul osos, ca mecanism estrogenic indus de această izoflavonă, propunând un model experimental de studiu al acestui fenomen (19),

• Albertazzi (prin studii clinice) evaluează relația dintre suplimentarea de soia în alimentație și reglarea fenomenelor vasoactive din menopauză (4).

• Începând cu anii 2000, Institutul Parker Huges din SUA propune, pe baza unor modele *in vitro* (pe culturi celulare), genisteina, ca agent anticanceros pentru țesutul mamar, sub formă de complex genisteină-EGF (6).

În cele ce urmează va fi prezentată genisteina, ce principala substanță estrogen-mimetică. Ea este cea mai abundentă izoflavonă estrogen-mimetică, și cea mai intens supusă studiilor clinice și de laborator.

## Farmacocinetica genisteinei

### Absorbția genisteinei

Genisteina este o izoflavonă cu structura chimică 4', 5, 7 – trihidroxizoflavonă, având proprietăți estrogen-mimetice dar și estrogen-modulante, prin capacitatea sa de legare a receptorului estrogenic de tip beta.

Substanța este în curs de evaluare farmacodinamică, pentru că are capacitatea de a inhiba tirozin-kinaza, enzimă atașată diversilor receptori de membrană, inclusiv receptorilor „factorilor de creștere”.

Prin aceasta, genisteina este un potențial agent anticanceros, pentru că

factorii de creștere (de tip EGF, TGF) intervin în procesul mitogenezei și chiar în mitogeneza aberantă, declanșatoare a procesului canceros (12).

Structura chimică a genisteinei este prezentată în figura 1.

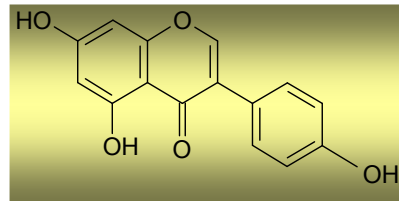


Fig. 1. Structura genisteinei

Genisteina provenită din alimentație, alături de daidzeină și de gliciteină, reprezentând formele active non-glicozidate ale precursorilor lor glicozidați: genistein, daidzein și glicetein sunt absorbite intestinal ca atare.

La cantitatea rezultată din alimentație, se adaugă pentru genisteină și daidzeină o cantitate suplimentară, rezultată din sinteza intestinală datorată florei microbiene, plecând de la precursori de origine vegetală precum:

- biochanina A și
- formononetina (13, 14).

În timpul absorbției, genisteina suferă unele transformări enzimatiche: este convertită în dihidrogenisteină și în 6'-hidroxi-o-desmetil - angiolenină.

### Daidzeina

Este o izoflavona înrudită chimic și funcțional genisteinei este transformată în equol (produs stabil și activ) și o-desmetilangiolenina, forme sub care acestea sunt absorbite intestinal (figura 2).

Biodisponibilitatea izoflavonelor este dependentă de capacitatea de absorbție și de prezența florei intestinale (capabilă să convertească izoflavonele în formele lor active).

În plus, s-a observat că dietele bogate în fibre vegetale scad absorbția izoflavonelor, probabil prin aceea că grăbesc pasajul lor intestinal.

Indubitabil, absorbția genisteinei și a izoflavonelor înrudite prezintă o variație individuală, dată de integritatea mucoasei intestinale și de microflora intestinală (13, 14, 15, 16).

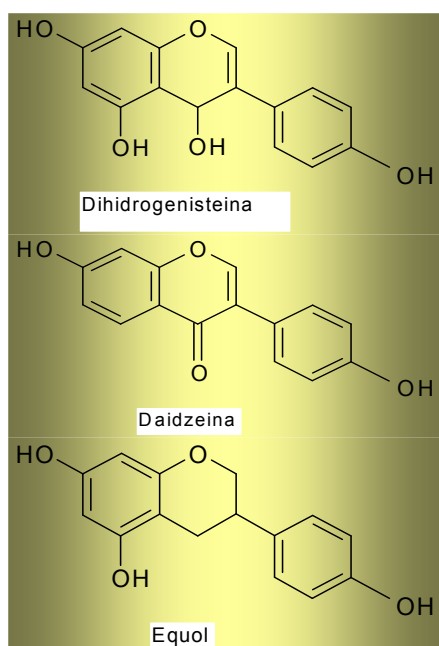


Fig. 2. Formele de absorbție și metabolizare a genisteinei

Majoritatea studiilor de absorbție ale genisteinei converg spre teza potrivit căreia microflora intestinală îmbunătățește absorbția și implicit biodisponibilitatea.

Alimentația fructo-oligozaharidică crește absorbția, iar adaosul de bifidobacterium la laptele de soia, transformă acest produs într-un produs alimentar probiotic (9, 15,16).

### Metabolizarea genisteinei

#### Parametri farmacocinetici

După absorbție genisteina (ca atare sau ca aglicon, alături de metabolizii acțiunii bacteriene) este transportată la ficat pe calea venei porte. O parte scapă în circulația periferică, iar restul ajunge la ficat pentru primul pasaj hepatic.

La nivel hepatic, genisteina este conjugată cu acidul glucuronic. În privința farmacocineticii a genisteinei, sunt de referință studiile lui K.D.R. Setchell, care, într-un studiu folosind genisteină și daidzeină marcată cu izotopul  $^{13}\text{C}$ , stabilește parametri farmacodinamici ai celor două izoflavone, exprimați ca medie (tabelul 1)(16,17).

Tabelul 1.

Parametri farmacocinetici pentru daidzeină și genisteină, exprimați ca medie, (după Setchell 2003)

Parametru	Daidzeină	Genisteină
Vol. de distrib./ biodisp.	336,25 L	258,78 L
Rata de clearance	30,09 L/h	21,85 L/h
$T_{1/2}$	7,75 h	7,77 h

Același studiu constată următoarele aspecte de biodisponibilitate:

- genisteina este mai biodisponibilă decât daidzeina,
- farmacocinetica genisteinei nu este afectată de alimentația cronică cu această izoflavonă,
- biodisponibilitatea genisteinei are o rată de creștere direct proporțională cu aportul.

Creșterea aportului are însă o limită superioară de biodisponibilitate.

### Eliminarea genisteinei

Studiile de eliminare urinară ale genisteinei fac parte dintre primele studii epidemiologice (Adlercruetz și colab.) care atestă alimentația cu soia (respectiv cu fitoestrogeni, între care în primul rând cu genisteină) a populației din diverse regiuni ale globului.

În aceste determinări, eliminarea de genisteină este o măsură (direct proporțională) a prezenței sale în dietă.

Este reprezentativ în acest sens studiul comparativ al populației feminine din Statele Unite, Japonia și Finlanda, studiu care atrăgea atenția asupra diferenței de morbiditate (prin boli cardiovasculare și cancere estrogen-dependente) a celor trei mari grupe alese (1,2).

Rezultatele acestui studiu sunt prezentate în tabelul 2

Tabelul 2.

Excreția urinară a unor fitoestrogeni, valori exprimate în nmol / 24 ore

Izoflavona urinară	Femei japoneze	Femei americane	Femei finlandeze
<b>Genisteina</b>	3440	cant. neidentificabile	32,1
<b>Daidzeina</b>	2600	216	40,5
<b>Equol</b>	2600	2,8	44,2

Eliminarea urinară de genisteină prezintă o variabilitate individuală, fiind cuprinsă între 20% și 50%.

Diferențele apar din diferența de absorbție intestinală, care implică diferența de nivel plasmatic și de utilizare tisulară.

Eliminarea este mai rapidă pentru cazurile în care genisteina provine din produse alimentare mai rapid absorbabile (în general alimente lichide, laptele soia), și mai tardivă pentru formele alimentare mai greu absorbabile.

## Farmacodinamia genisteinei

Efectele tisulare ale genisteinei rezultă din capacitatea sa de a lega receptorul estrogenic beta.

Acest fapt are loc, pentru că, deși genisteina nu are o structură sterolică, are o asemănare structurală (spațială) foarte mare în comparație cu estradiolul (figura 3).

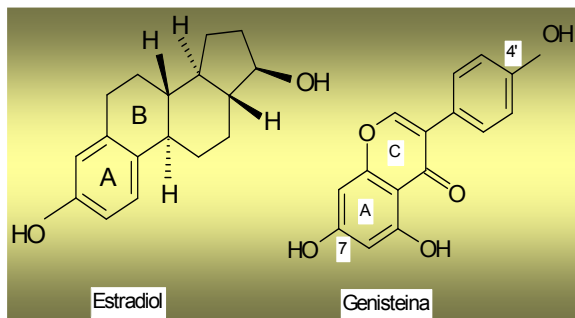


Fig. 3 Asemănarea spațială între estradiol și genisteină

Testele de legare a receptorilor estrogenici, având ca etalon etinilestradiolul, au arătat afinitatea mare (maximă în comparație cu a etalonului) pentru RE  $\beta$  a genisteinei.

Faptul că genisteina leagă predilect receptorul  $\beta$  în comparație cu cel  $\alpha$ , iar receptorul  $\beta$  are localizări tisulare diferite de cel  $\alpha$ , explică de ce genisteina are o oarecare selectivitate în ceea ce privește acțiunea estrogenică (7, 8).

Afinitatea genisteinei față de RE  $\alpha$  și  $\beta$  comparativă cu a altor liganzi specifici ai RE este prezentată în tabelul 3.

Tabelul 3

Afinitatea comparativă a genisteinei și a altor liganzi, față de RE

Ligand	RE tip $\alpha$	RE tip $\beta$
17 $\beta$ estradiol (E2)	100	100
Dietilstilbestrol	468	295
Tamoxifen	6	7
<b>Genisteina</b>	1,6	<b>100</b>
Cumestrol	12	34
Daidzeina	0,2	1,8

Faptul că genisteina nu răspunde sinergic cu estrogenii clasici în unele țesuturi, a dus la concluzia potrivit căreia această izoflavonă ar fi un moderator selectiv al receptorului estrogenic.

Ipoteza nu neagă teza selectivității datorate legării diferențiate a RE de tip  $\beta$ , ci o completează.

Conceptul de moderatori selectivi al RE (Selective Estrogen Receptor Modulators **SERM**) a fost introdus în farmacologie, prima dată pentru tamoxifen și raloxifen.

Efectele lor contradictorii sunt următoarele:

- **tamoxifenul** este antiestrogenic în caz de cancer mamar și este estrogenic pe os și uter;

- **raloxifenul** este de asemeni antiestrogenic pe țesutul mamar și estrogenic cu siguranță doar pe os.

## Acțiuni farmacodinamice

### Efectul antiaterogen

Genisteina deține următoarele acțiuni anti-aterogene (2,12):

- acțiune antiplachetară,
- up-reglează numărul receptorilor pt. LDL,
- crește activitatea receptorilor pt. LDL.
- scade tendința de oxidație a LDL,
- inhibă angiogeneza (în placa de aterom avansată, dezvoltarea intimei vasculare implică apariția vaselor capilare de neoformație, care „hrănesc” și întrețin placa de aterom).
- efect antiproliferativ, iar ateroscleroza poate fi privită ca o formă subtilă de proliferare celulară a celulelor din endoteliul vascular.

## Activitatea preventivă

### În cancerul estrogen -dependent,

Sunt deja cunoscute câteva mecanisme posibile pentru acest efect în special în cazul cancerului mamar (5, 6):

- inhibiția proliferării (mitogenezei) excesive, prin inhibiția activității tirozin-kinazelor, în special cele legate de EGF ca factor de creștere celulară,
- supresia neovascularizației și a angiogenezei,
- legare pe receptorul estrogenic și chiar modularea globulinei care leagă hormonii sexuali (SHBG), procese decisive în cancerul întreținut de estrogeni,
- efecte antioxidante, care protejează genomul,
- inhibiția 5- $\alpha$  reductazei, mecanism esențial în privirea prostatei de excesele de dihidrotosteron, în cazul cancerelor de prostată.

- stimularea imunității T celulare și a celulelor NK.

#### În îmbătrânirea organului cutanat

In această privință bibliografia distinge două mecanisme posibile (10,18).

a. Genisteina este un agent antioxidant (fiind o flavonă).

Există două constatări remarcabile:

- Aplicarea topică de extracte izoflavonice bogate în genisteină determină creșterea activității antioxidante a pielii,

- Genisteina preservă integritatea rețelei de colagen față de acțiunea distructivă a radiațiilor UVB (teoria prevenției foto-îmbătrânirii cutanate).

b. Genisteina ca agent estrogenic.

Din acest motiv este un agent antiaging, de stimulare a reînnoirii celulare epidermale.

#### În osteoporoza de menopauză

Efectul genisteinei de protecție a demineralizării osoase din timpul menopauzei pare a fi, după toate evidențele, similar acțiunii estrogenice (12, 19).

Deși genisteina este un moderator selectiv al receptorului estrogenic, totuși osul este unul dintre țintele sale pentru care izoflavona are sinergism cu estrogenii.

Beneficiul terapeutic al genisteinei față de estrogenii clasici este acela că efectul sau benefic pe os este selectiv, în sensul că nu este afectat uterul (hipertrofie și / sau hiperplazie uterină), așa cum se întâmplă în farmacoterapia cu estrogeni de sinteză.

Cu toate aceste efecte benefice, se citează tot mai multe efecte adverse pentru extractele izoflavonice de soia (16,17):

- produsele din soia au potențial alergozant, mai cu seamă la copii,

- genisteina în special și fitoestrogenii în general pot accentua un sindrom premenstrual, la persoanele de sex feminin care au deja un status crescut estrogenic.

- în ciuda evidențelor privind proprietățile anticanceroase, antimitogene, ale genisteinei, se lansează ideea potrivit căreia alimentația bogată în soia poate induce leucemii, în perioada copilăriei.

- scăderea în volum a timusului – cu implicații imunologice - reprezintă o altă complicație posibilă a alimentației bogate în

genisteină, complicație demonstrată pe modele experimentale.

- alimentația cu formule de lapte din soia, în exces, este de evitat la copii, deoarece poate produce disfuncții endocrine.

Totuși, există intoleranțe digestive (ex. la lactoză) în care „laptele” de soia este aproape singura alternativă de alimentație pentru sugar.

- cea mai de temut complicație citată în literatură este involuția cerebrală.

Aceasta este explicată prin efectului de stimulare a apoptozei celulare indusă de genisteină.

#### BIBLIOGRAFIE

1. ADLERCREUTZ H, HONJO H, HIGASHI A, et al. (1991). Urinary excretion of lignans and isoflavonoid phytoestrogens in Japanese men and women consuming a traditional Japanese diet. *American Journal of Clinic and Nutrition*, nr. 54: 1093-1100.
2. ADLERCREUTZ H, MAZUR W (1997). Phytoestrogens and Western diseases. *Ann. Med.*, nr 29: 95 - 120.
3. ADLERCREUTZ H. (1990) Western diet and western diseases: some hormonal and biochemical mechanisms and associations. *Scandinavian Journal of Clin. Lab. Invest.*, nr. 50 (Suppl): 3-23.
4. ALBERTAZZI P. PANSINI F. BONACCORSI G. ZANOTTI L. FORINI E. DEALOYSIO D. (1998) The Effect of Dietary Soy Supplementation on Hot Flashes. *Obstetrics & Gynecology.*, 91: 6-11
5. BARNES S. (1997) The Chemopreventive Properties of Soy Isoflavonoids in Animal Models of Breast Cancer, *Breast Cancer Research & Treatment.*, 46: 169-179.
6. BARNES S. (1995) Effect of genistein on *in vitro* and *in vivo* models of cancer. *Journal of Nutrition*, 125: 777– 783.
7. BRANHAM WILLIAM S., DIAL STACEY L., MOLAND CARRIE L. et al. (2002) Phytoestrogens and Mycoestrogens Bind to the Rat Uterine Estrogen Receptor. *J. Nutr.*, 132: 658-664.
8. BURTON J L, WELLS M. (2002) The effect of phytoestrogens on the female genital tract *Journal of Clinical Pathology*, 55 : 401-407.
9. CRISTINA R.T., (2007) Factori care influențează metabolizarea medicamentelor veterinare. *Veterinary drug*. Nr 2, vol 1.: 9-17.
10. KANG S, CHUNG JH, LEE JH, FISHER GJ, WAN YS, DUELL EA, VOORHEES JJ. (2003) Topical N-acetyl cysteine and genistein prevent ultraviolet-light-induced signaling that leads to photoaging in human skin *in vivo*. *J Invest Dermatol.*, 120(5): 835-841.
11. LAMARTINIERE CA, MOORE J, HOLLAND M, BARNES S. (1995) Neonatal genistein chemoprevents mammary cancer. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, nr.208: 120-123.

12. **MURKIES AL, WILCOX G, DAVIS SR. (1998)** Clinical review: Phytoestrogens. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*; nr. 83: 297-303.
13. **SETCHELL KD, BROWN NM, DESAI PB, ZIMMER-NECHIMIAS L, WOLFE B, JAKATE AS, CREUTZINGER V. (2003)**. Bioavailability, disposition, and dose-response effects of soy isoflavones when consumed by healthy women at physiologically typical dietary intakes. *J Nutr.* ,133(4): 1027-1035.
14. **SETCHELL KD, BROWN NM, ZIMMER-NECHEMIAS L, BRASHEAR WT, WOLFE BE, KIRSCHNER AS, HEUBI JE (2002)**. Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability. *Am J Clin Nutr.*, 76(2) : 447-453.
15. **SETCHELL KENNETH D.R (2000)**. Absorption and Metabolism of Soy Isoflavones—from Food to Dietary Supplements and Adults to Infants. *Journal of Nutrition*, 130 : 654– 655.
16. **SETCHELL KENNETH D. R., BROWN NADINE MAYNARD, DESAI PANKAJ B. et al (2001)**. Bioavailability of Pure Isoflavones in Healthy Humans and Analysis of Commercial Soy Isoflavone Supplements. *Journal of Nutrition*, 131 : 1362–1375,
17. **SETCHELL KENNETH DR, FAUGHNAN MARIAN S, AVADES TONY et al. (2003)** Comparing the pharmacokinetics of daidzein and genistein with the use of <sup>13</sup>C-labeled tracers in premenopausal women. *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 77, No. 2, 411-419.
18. **WEI H, ZHANG X, WANG Y, LEBWOHL M. (2002)** Inhibition of ultraviolet light-induced oxidative events in the skin and internal organs of hairless mice by isoflavone genistein. *Cancer Lett.*, 185(1) : 21-29.
19. **YAMAGUCHI, M.; GAO, YH. (1997)** Anabolic Effect Of Genistein On Bone Metabolism In The Femoral-Metaphyseal Tissues Of Elderly Rats Is Inhibited By The Anti-Estrogen Tamoxifen, *Research in Experimental Medicine.*, vol. 197, nr 2 : 101-107.