



Soja en grano. Foto: Bernat Vanaclocha.

Fitoestrógenos: Posibilidades terapéuticas

M^a Concepción Navarro Moll
Estanislao Beltrán Montalbán

Abstract

Phytoestrogens are a group of non-steroidic compounds found in several vegetable foods (soya and other legumes, cereals, etc). Among this group, isoflavones (genistein, daidzein) are of outstanding relevance. The interest gained in the last years by these compounds is derived from its estrogenic and enzyme-inhibitory actions, as well as from its moderate anti-oxidative capacity. These properties lend to isoflavones a possible role for the treatment of the consequences of menopause, and some theoretical perspectives -based on epidemiological and experimental evidences- with regard to the therapeutics or profilaxis of neoplastic diseases.

Key words

Phytoestrogens, isoflavones, genistein, daidzein, soya, *Glycine max*, menopause, neoplastic diseases.

Resumen

Los fitoestrógenos son unos principios de origen vegetal de estructura no esteroídica, que se encuentran presentes en distintas especies de uso en alimentación (soja, lentejas, diversos cereales, etc.), entre los que destacan las isoflavonas, particularmente genisteína y daidzeína. El interés que estos compuestos han adquirido en los últimos años deriva de sus efectos estrogénicos y de inhibición enzimática, unidos a una moderada capacidad antioxidante, lo que les confiere un posible papel en el tratamiento de las consecuencias de la menopausia, al tiempo que ofrecen ciertas perspectivas teóricas, apoyadas en evidencias epidemiológicas y experimentales, en relación con la terapéutica o la profilaxis de los procesos cancerosos.

Palabras clave

Fitoestrógenos, isoflavonas, genisteína, daidzeína, soja, *Glycine max*, menopausia, procesos cancerosos.

Introducción

La observación de que ciertos hábitos culturales y dietéticos están relacionados con diferencias en la incidencia de distintos tipos de patologías, ha despertado un creciente interés sobre el papel preventivo o curativo de ciertos compuestos presentes en los vegetales ⁽¹⁾. La amplia cohorte de estudios realizados ha puesto en evidencia la protección que ejercen muchos de los compuestos presentes en frutas y otros vegetales sobre distintos procesos patológicos. Sirvan como ejemplo, entre otros, los ácidos grasos insaturados que caracterizan a aceites de indudable interés terapéutico (onagra, borraja, oliva, etc.), los flavonoides de distintos cítricos, etc. ⁽²⁾, grupos a los que recientemente se ha sumado una nueva categoría de agentes de origen vegetal: los fitoestrógenos. Estos se definen como compuestos de estructura no esteroídica, procedentes de distintas especies vegetales ⁽³⁾ y/o de las conversiones metabólicas intestinales de sus precursores y que, en un número significativo de casos, se encuentran formando parte de la composición de productos vegetales destinados al consumo humano ⁽⁴⁾.

El beneficio que para la salud pueden representar los fitoestrógenos se encuentra refrendado por numerosas investigaciones epidemiológicas, experimentales y clínicas realizadas sobre los mismos. La actividad estrogénica, derivada de su capacidad de interactuar con los receptores del 17β-estradiol, ha sido evidenciada en sustancias pertenecientes a distintas clases químicas ⁽⁵⁾.

Clases químicas

Todos los fitoestrógenos conocidos son compuestos difenólicos de origen vegetal con similitudes estructurales con los estrógenos, tanto naturales (17β-estradiol, FIGURA 1) como sintéticos ⁽⁶⁾. Las principales clases químicas de fitoestrógenos conocidas hasta el momento son lignanos, cumestanos, isoflavonas y derivados del resorcinol.

- Lignanos. El (-)-secoisolariciresinol es el principal representante de este grupo. Está presente en diversas especies vegetales destinadas a alimentación (lentejas, cereales) y en el organismo se convierte en las formas activas enterodiol y enterolactona ⁽⁷⁾ (FIGURA 2).

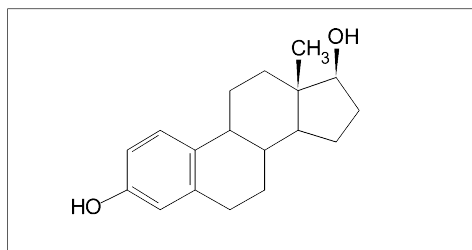


FIGURA 1. Estructura del 17β-estradiol.

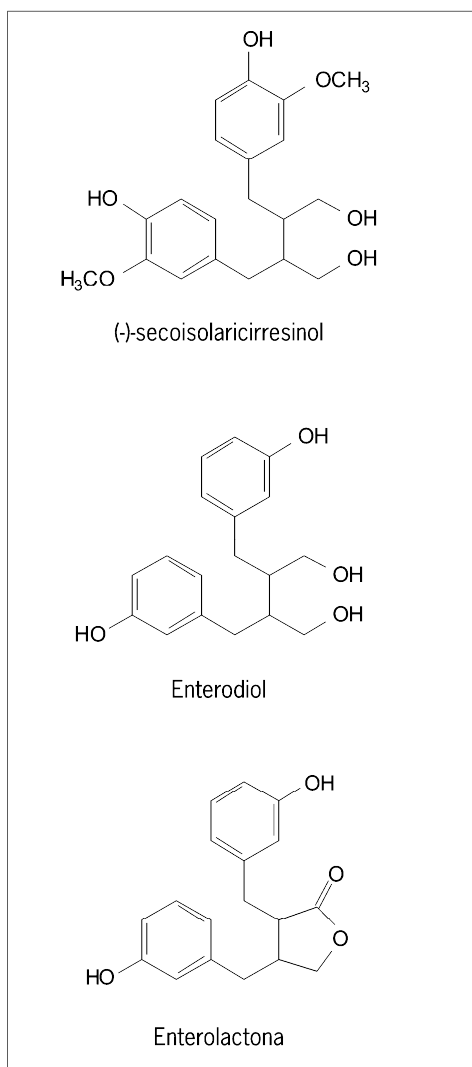


FIGURA 2. Principales fitoestrógenos derivados del lignano.

- Cumestanos. El más conocido es el cumestrol (FIGURA 3), aislado de distintas especies vegetales entre las que destacan el trébol, la alfalfa y la col⁽⁸⁾.

- Derivados del resorcinol. Entre ellos sobresale el resveratrol⁽⁹⁾ (FIGURA 4), presente en los vinos tintos. Igualmente se ha descrito la presencia en hongos de lactonas del ácido resorcílico (zearalenona)⁽¹⁰⁾, con actividad estrogénica.

- Isoflavonas. Los compuestos más interesantes de este grupo son la genisteína, daidzeína y gliciteína, detectadas en un gran número de vegetales, si bien son la soja (*Glycine max*, Fabáceas) y el trébol rojo (*Trifolium pratense*, Fabáceas), las que destacan por su contenido en estos principios. En términos generales, estos derivados isoflavónicos se encuentran en el vegetal como derivados (glicosilados, metoxilados, etc.) que actuarán como precursores de los compuestos anteriormente citados. Entre estos derivados se encuentran la biochanina A y la genistina como precursores de la genisteína; formononetina y daidzina de la daidzeína (FIGURA 5), y glicitina de la gliciteína.

De estos cuatro grupos de compuestos con actividad estrogénica, el de las isoflavonas es el que en el momento actual ofrece un mayor interés, consecuencia del gran número de trabajos realizados sobre su posible utilización terapéutica, y/o la de sus principales fuentes vegetales, en el tratamiento de la menopausia y de distintos procesos cancerosos⁽¹¹⁻¹³⁾.

Isoflavonas. Farmacocinética

Tras la administración oral, los derivados isoflavónicos se ven sometidos a la actuación de los enzimas elaborados por la flora intestinal. Como consecuencia, los derivados glicosilados o metoxilados sufren la hidrólisis de sus funciones éter, incrementándose significativamente la cantidad de isoflavonas activas (genisteína, daidzeína, gliciteína), de escasa presencia en el material vegetal. Este proceso, conjuntamente con los de hidrogenación, pérdida de grupos hidroxilo, etc., da lugar a la formación de otros metabolitos (dihidrogenisteína, 6'-hidroxi-O-demetilangolensina, equol, O-demetilangolensina, etc.), que son absorbidas a través del epitelio intestinal, conjuntamente con las demás isoflavonas formadas (FIGURA 6).

Las experiencias realizadas muestran que el tiempo medio ($t_{1/2}$) de absorción depende no sólo de

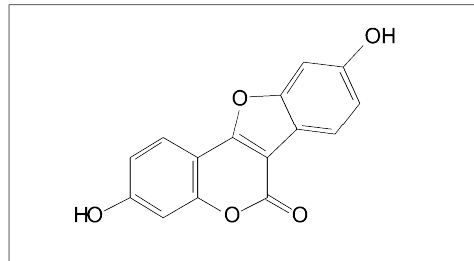


FIGURA 3. Estructura del cumestrol.

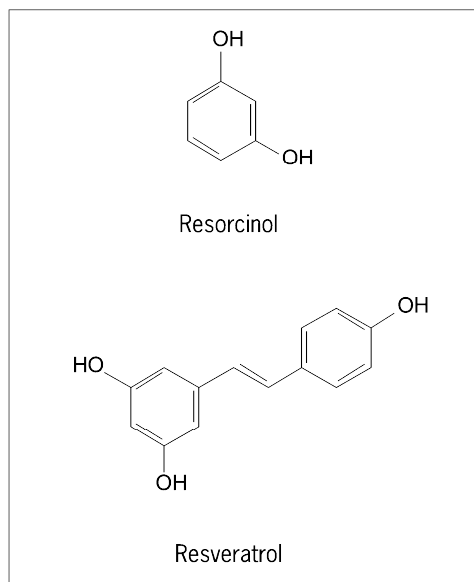


FIGURA 4. Estructuras del resorcinol y resveratrol.

la isoflavona considerada, sino también de la duración del tratamiento⁽¹⁴⁾. Si bien en los primeros momentos del proceso de absorción, la concentración en plasma de daidzeína es el doble que la de genisteína, ambas concentraciones se igualan en el plazo de 15 horas⁽¹⁵⁾. Los picos plasmáticos máximos se observan a las $7,42 \pm 0,79$ h de la administración en el caso de la daidzeína y a las $8,42 \pm 0,69$ h para la genisteína⁽¹⁶⁾, observándose los de O-demetilangolensina (O-DMA) y equol inmediatamente después que el de la daidzeína. En el caso de O-DMA y equol, procedentes ambos del metabolismo de la daidzeína, se aprecia una gran variabilidad en cuanto a su concentración plasmática, lo cual podría ser indicativo de la existencia

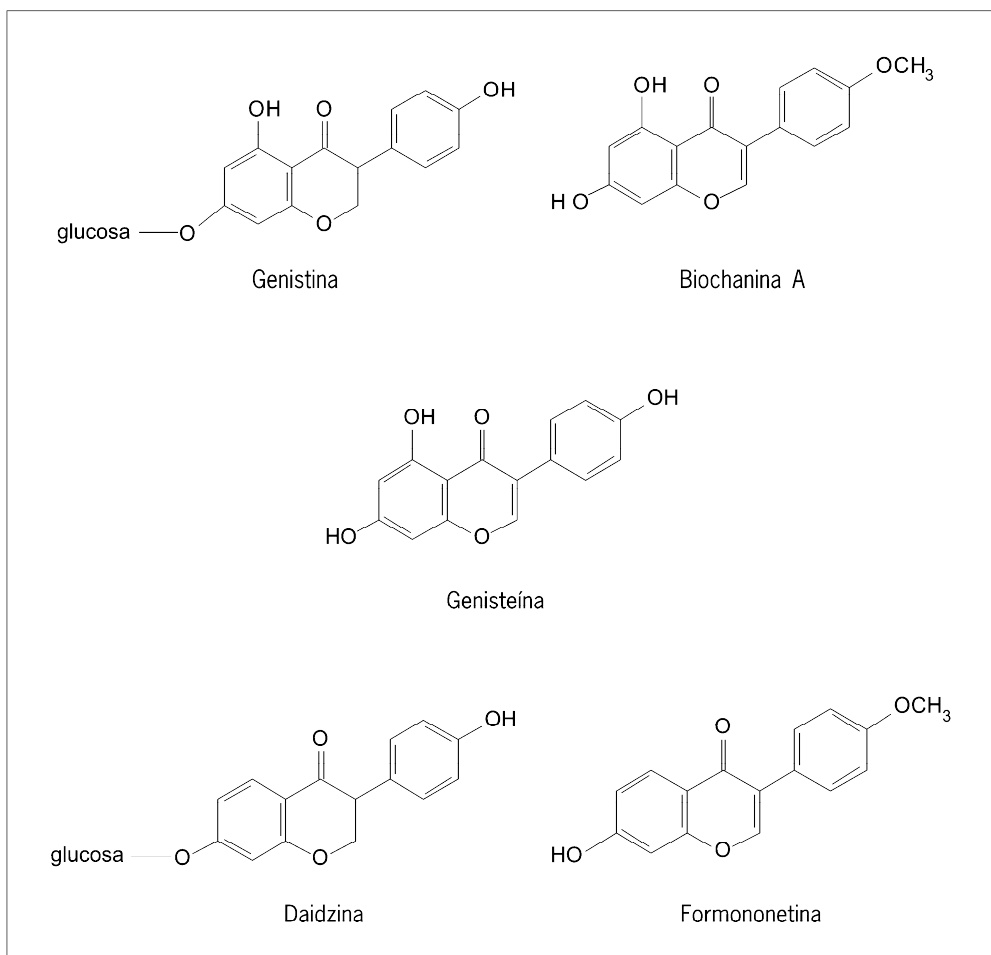


FIGURA 5. Estructura de las principales isoflavonas y derivados.

de metabolizadores lentos y rápidos de dicha isoflavona ⁽¹⁷⁾. Este dato se apoya en los resultados obtenidos por Lu *et al.* ⁽¹⁸⁾, quienes encontraron una variación de la concentración del equol en orina comprendida entre 1 y 28%.

Las vidas medias, de acuerdo con los estudios en humanos realizados por Watanabe *et al.* ⁽¹⁷⁾, presentan diferencias marcadas: 8,36 h y 5,79 h para genisteína y daidzeína respectivamente. Este dato apunta hacia la conveniencia de administrar dos dosis diarias de los preparados que contengan este tipo de compuestos.

Los parámetros de excreción urinaria también

presentan claras diferencias para las dos isoflavonas consideradas, puesto que la daidzeína ($t_{1/2}$ de excreción = 4,4 h) se excreta mucho más rápidamente que la genisteína ($t_{1/2}$ de excreción = 6,7 h) ^(18, 19). Si bien las isoflavonas y sus metabolitos se encuentran también en heces, la eliminación fecal es cuantitativamente muy inferior a la urinaria.

Las isoflavonas se encuentran sometidas al ciclo enterohepático, de modo que tras su absorción en el intestino, pasan al hígado y son excretadas en la bilis en forma de glucurono- y sulfo-conjugados, lo cual favorece el mantenimiento de concentraciones plasmáticas adecuadas ⁽²⁰⁾.

Fuente: <http://www.fitoterapia.net>

A pesar de las diferencias observadas en los $t_{1/2}$ de absorción de ambas isoflavonas (genisteína y daidzeína), a las seis horas de la administración la biodisponibilidad de ambas es la misma ⁽²¹⁾, puesto que las áreas bajo las concentraciones plasmáticas son proporcionales a las concentraciones de las isoflavonas y sus precursores en el preparado administrado ⁽¹⁶⁾.

La conveniencia de administrar preparados cuyos componentes activos sean las isoflavonas activas (genisteína, daidzeína, etc.) en contraposición con preparados valorados de soja, en los cuales predominan los precursores de las mismas, se apoya en el hecho de que las isoflavonas activas no han de ser hidrolizadas en el intestino y, por tanto, gozarían de mayor biodisponibilidad. Sin embargo, los resultados obtenidos por King et al. ⁽²²⁾, indican que a las 8 horas de la administración no se aprecian diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas de genisteína, con independencia de que fuera administrada como tal o como precursor. En lo que se refiere a la daidzeína, según Keung et al. ⁽²³⁾, su biodisponibilidad es

diez veces superior cuando forma parte de un extracto que cuando se administra sola. Esto apuntaría, en opinión de los autores, hacia la posible presencia en el extracto de algún compuesto favorecedor de la absorción de la daidzeína.

La biodisponibilidad de las isoflavonas, al igual que otros principios medicamentosos, puede verse afectada por diversos factores (FIGURA 7):

Metabolismo individual: como ya se apuntó anteriormente, la existencia dentro de la población de metabolizadores lentos y rápidos de las isoflavonas queda patentizada ⁽¹⁷⁾ por la gran variabilidad que muestran las concentraciones plasmáticas de distintos metabolitos, particularmente el equol. El incremento de las tasas de equol a expensas de la daidzeína no supone una disminución de la eficacia del preparado, puesto que este metabolito presenta una actividad estrogénica y antioxidante mucho más marcada que la de la daidzeína ⁽²⁴⁾.

La producción de equol parece estar relacionada también con la dieta habitual y, en consecuencia, con la mayor o menor producción de flora intestinal. En términos generales, la adecuada presencia

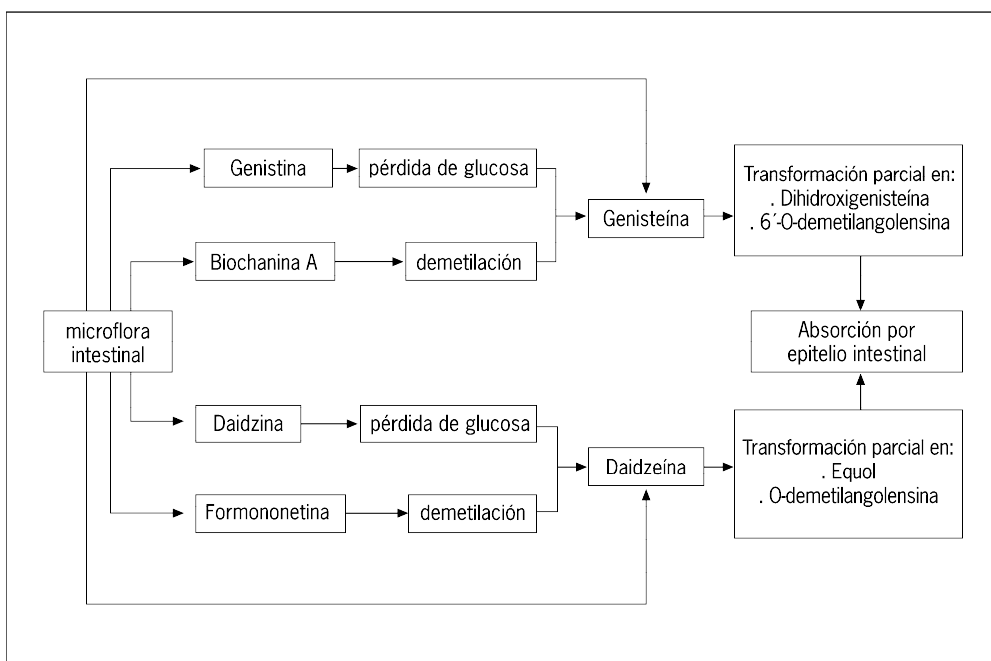


FIGURA 6. Metabolismo intestinal de las isoflavonas.

Fuente: <http://www.fitoterapia.net>

de fibra en la dieta promueve la formación de microflora intestinal, lo cual favorece tanto la absorción como la biodisponibilidad de las isoflavonas, debido a que se facilitan las reacciones enzimáticas que han de darse sobre las mismas. Sin embargo, los estudios realizados por Tew et al. (25), ponen de manifiesto que un exceso de fibra es contraproducente para la biodisponibilidad de las isoflavonas: la suplementación de la dieta con 40 g de fibra motiva, a las 24 horas de administración del preparado de soja, un descenso del 55% en los niveles plasmáticos de la genisteína, no viéndose afectada la de daidzeína. Este hecho puede ser explicado por la formación de uniones hidrofóbicas entre la genisteína y el exceso de fibra administrada.

La biodisponibilidad de las isoflavonas se encuentra igualmente ligada al sexo y al tiempo de tratamiento: tal y como muestran distintas experiencias (18,26), al inicio de la administración de preparados de soja, las mujeres excretan las isoflavonas más rápidamente que los varones. Sin embargo, transcurrido un mes de tratamiento, se observa en las mujeres un enlentecimiento de este parámetro, igualándose sus valores a los encontrados en los varones. Esto se ve acompañado, normalmente, de un incremento en la formación de equol.

Farmacología

Los mecanismos por los cuales las isoflavonas ejercen sus acciones son múltiples (FIGURA 8):

1. Interacción con los receptores estrogénicos (5,27).

La capacidad de fijación de las isoflavonas a los receptores estrogénicos parece ser debida a que la distancia entre sus dos grupos hidroxilos es igual a la existente entre los dos grupos hidroxilos de la molécula 17β-estradiol. Como consecuencia de esta unión con dichos receptores, tiene lugar la formación de un complejo ligando-receptor funcionalmente equivalente al formado por el 17β-estradiol, que da lugar a un incremento de su actividad transcripcional (5). Ahora bien, la respuesta que se obtiene tras la unión de las isoflavonas a los receptores estrogénicos no posee la misma intensidad que la que acontece cuando la unión se realiza con el 17β-estradiol. Esto es debido a la menor afinidad que presentan las isoflavonas hacia los receptores estrogénicos (28) (FIGURA 9). Esta afinidad varía en función del receptor estro-

FACTORES QUE INFLUENCIAN LA BIODISPONIBILIDAD DE ISOFLAVONAS

- Metabolismo individual.
- Tiempo de administración y sexo.
- Dieta y microflora intestinal.

FIGURA 7. Factores que influyen en la biodisponibilidad de las isoflavonas.

ISOFLAVONAS: MECANISMOS DE ACCIÓN

- Interacción con receptores estrogénicos.
- Actividad antioxidante.
- Inhibición enzimática.
- Otros.

FIGURA 8. Mecanismos de acción de las isoflavonas.

	RECEPTOR α	RECEPTOR β
Genisteína	1/10 ² - 1/10 ⁴	1/3
17β-estradiol	1	1

FIGURA 9. Afinidad de la genisteína hacia los receptores estrogénicos α y β.

LOCALIZACIÓN DE RECEPTORES ESTROGÉNICOS

RECEPTOR α	RECEPTOR β
SNC	SNC
Mama	Hueso
Endometrio	Pared vascular
Hígado	Tracto urogenital

FIGURA 10. Localización preferente de los receptores estrogénicos.

génico considerado, de los cuales existen dos tipos principales, α y β, que presentan una localización tejido específica (29) (FIGURA 10). La afinidad de las isoflavonas es apreciable en el caso de los receptores tipo β y muy baja hacia los receptores tipo α, por lo cual cabe esperar que sus acciones sean más marcadas en aquellos órganos y tejidos diana en los que predominan los receptores β, como son SNC, hueso, pared vascular y tracto

urogenital. Sin embargo, la afinidad no es el único parámetro a considerar con respecto a la potencia estrogénica de las isoflavonas, ya que en ella también juegan un importante papel la presencia de factores coactivadores o represores en las células diana y el tipo concreto de isoflavona, así como la mayor facilidad de acceso a los receptores estrogénicos con respecto al 17β-estradiol que poseen las isoflavonas ⁽³⁰⁾, debido a que la fracción libre circulante de las mismas es de un 50%, mientras que la del 17β-estradiol es sólo del 3%.

2. Inhibición enzimática.

Numerosos estudios realizados sobre las isoflavonas dotadas de actividad estrogénica, especialmente sobre la genisteína, muestran su potencialidad como inhibidores de un amplio grupo de enzimas. Inicialmente se demostró la acción inhibitoria de la genisteína sobre la tirosin-quinasa ^(31,32). Este hecho abrió amplias expectativas en cuanto a su posible empleo como anticanceroso, debido a la importante serie de eventos (FIGURA 11) en que se encuentra implicada la tirosin-quinasa, entre los que cabe citar:

- a) Inhibición de la expresión de oncogenes.
- b) Disminución del número de receptores para distintos factores de crecimiento ⁽³³⁾ implicados en los procesos de proliferación/diferenciación celular, tales como el factor de crecimiento epidérmico ^(34,35) (EGF), factor de crecimiento similar a la insulina (ILGF), factor de crecimiento plaquetario (PDGF), factor de crecimiento tumoral (TGF), etc. Como consecuencia de la disminución del número de receptores para estos factores de crecimiento, la actividad de los mismos experimenta una disminución, con el consiguiente beneficio en cuanto a la disminución de la proliferación tumoral ^(36,37). Estos factores de crecimiento se encuentran igualmente implicados en los procesos de angiogénesis ^(38,39), determinantes en el crecimiento tumoral y la aparición de metástasis.
- c) La disminución de la fosforilación de la tirosina ⁽⁴⁰⁾, consecuencia de la inhibición de la tirosin-quinasa, da lugar a una inhibición de la agregación plaquetaria. Este efecto, no relacionado con los posibles mecanismos anticancerosos de la genisteína, puede tener relevancia en cuanto a la protección cardiovascular.

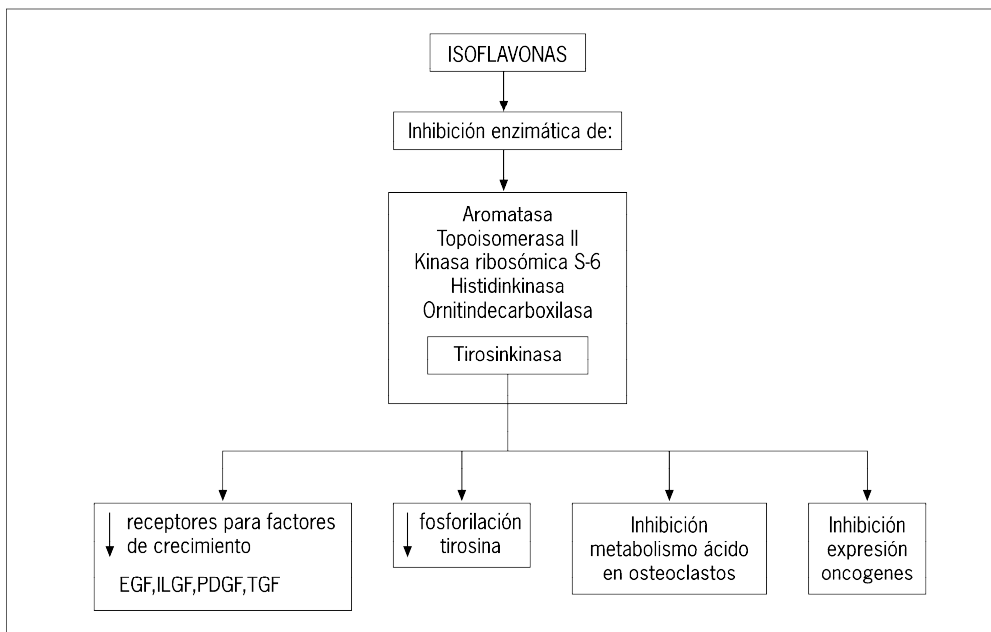


FIGURA 11. Inhibición enzimática de isoflavonas (genisteína).

d) Inhibición del metabolismo ácido en los osteoclastos, con lo cual se produce una disminución de la actividad de estas células óseas responsables del proceso de resorción ósea ⁽⁴¹⁾.

Además de inhibir a la tirosin-kinasa, las isoflavonas de la soja, especialmente la genisteína, son capaces de actuar sobre otras muchas enzimas, tales como la topoisomerasa II ⁽⁴²⁻⁴⁵⁾, mediante estabilización del complejo topoisomerasa II-ADN, induciendo el proceso apoptótico o muerte celular programada, tal y como se ha observado en líneas celulares de cáncer de mama.

La aromatasas, enzima implicada en la formación del 17 β -estradiol a partir de sus precursores, es igualmente inhibida por la genisteína ⁽⁴⁶⁻⁴⁸⁾, por lo que las tasas de la hormona se ven disminuidas por la actuación de la isoflavona. Este hecho puede tener una especial relevancia en el caso de los cánceres hormono-dependientes.

3. Actividad antioxidante

Los derivados polifenólicos, grupo químico al que pertenecen las isoflavonas, poseen propiedades antioxidantes más o menos marcadas. En el caso de las isoflavonas con actividad estrogénica presentes en la soja y otros vegetales, la máxima potencia antioxidante corresponde a la genisteína, seguida por el equol, metabolito procedente de la actuación de la microflora intestinal sobre la daidzeína ⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾. La marcada actividad antioxidante de ambas moléculas da lugar a una disminución de los radicales libres de oxígeno, lo cual se traduce en:

- a) Protección de la pared vascular por disminución de la oxidación del LDL-Colesterol.
- b) Beneficio en diversas patologías originadas y/o agravadas por existencia de un estrés oxidativo.

4. Otros

La genisteína favorece una disminución en la concentración del Ca²⁺ mediante un mecanismo que combina una menor entrada del Ca²⁺ en la célula con un incremento de la captación de este catión por el retículo endoplasmático. Este descenso en el Ca²⁺ libre intracelular favorece la relajación del músculo liso vascular; efecto que se ve favorecido por el aumento de NO-sintasa que inducen las isoflavonas.

Las isoflavonas inhiben la unión del tromboxano A₂ a su receptor plaquetario ^(32,52), por lo que originan

una disminución del proceso de agregación plaquetaria.

Tras la administración de preparados que contienen estas isoflavonas, se observa un incremento de la globulina conjugadora de hormonas sexuales (SHBG) ⁽⁵³⁾ a la que se une el 17 β -estradiol, debido a lo cual se produce un descenso de la fracción libre circulante de la hormona. Los resultados obtenidos por Lokovaara *et al.* ⁽⁵⁴⁾, son indicativos de que mientras la genisteína, al igual que el 17 β -estradiol, produce un incremento de SHBG en el interior de la célula, tanto la daidzeína como el equol elevan los niveles intra y extracelulares de esta globulina.

Las isoflavonas, en particular la genisteína, favorecen los procesos de diferenciación celular ⁽⁵⁵⁾, al tiempo que son capaces de inducir la apoptosis de células cancerosas a través de mecanismos que no implican la inhibición enzimática.

Como consecuencia de los mecanismos considerados, las isoflavonas producen una serie de efectos que pueden justificar el interés despertado por las mismas tanto en lo que se refiere a su empleo terapéutico en el síndrome climatérico, como en su posible papel en el tratamiento de afecciones cancerosas.

Fitoestrógenos y síntomas climatéricos

Se ha citado en repetidas ocasiones que, probablemente, los fitoestrógenos contenidos en la dieta tradicional de los países orientales, sean los responsables de la diferente incidencia de síntomas climatéricos con respecto a los observados en las mujeres occidentales (18 % y 14 % de bochornos en China y Singapur respectivamente ⁽⁵⁶⁻⁵⁷⁾ frente a cifras del 70-80% en las mujeres europeas ⁽⁵⁸⁾). A esto se añaden diversos estudios clínicos publicados en los últimos años, que, sin resultar del todo concluyentes, muestran en su mayoría un efecto positivo sobre la frecuencia y/o la intensidad de los sofocos.

Así, *Murkies et al.* ⁽⁷⁾, encuentran en un ensayo clínico aleatorizado una reducción significativa del número de bochornos (40%) en pacientes tratadas con harina de soja (rica en isoflavonas), en comparación con una reducción del 25 % en el grupo de mujeres tratadas con harina de trigo, que contiene enterolactonas, fitoestrógenos menos potentes. En el mismo sentido, otros muchos autores,

en estudios con diferentes diseños, confirman mejorías sintomáticas significativas en los grupos de menopáusicas tratadas con respecto a los controles ⁽⁵⁹⁻⁶²⁾. Sin embargo, un grupo de la Universidad de Ferrara ⁽⁶³⁾, no consiguió demostrar una correlación de los niveles fitoestrogénicos en sangre o en orina con los síntomas presentados por las pacientes. Por su parte, y en sentido contrario, Quella *et al.* ⁽⁶⁴⁾ en un grupo de pacientes operadas de cáncer de mama, con síntomas menopáusicos, algunas de ellas en tratamiento complementario con Tamoxifeno o Raloxifeno, no consiguieron encontrar un efecto positivo de las tabletas de soja a altas dosis (150 mg/día de iso-flavonas) con respecto al placebo.

En conjunto, y aún teniendo en cuenta la dificultad para una evaluación de los síntomas vasomotores, siempre subjetiva, los resultados comunicados por la mayor parte de los investigadores parecen confirmar un efecto positivo de los fitoestrógenos sobre la sintomatología climatérica, sobre todo en lo referente a los sofocos, muy probablemente relacionado con un efecto agonista estrogénico sobre el centro termorregulador hipotalámico.

En lo que respecta a los síntomas climatéricos derivados de la atrofia genital, por el momento las publicaciones disponibles no ofrecen evidencia de efectos tróficos clínicamente significativos por parte de los fitoestrógenos. Si bien algunos autores describen cambios de tipo estrogénico en la citología vaginal (índice de maduración) ^(65,66), otros no encuentran modificaciones significativas en los índices de maduración citológica vaginal ^(7,62) ni en el grosor de la mucosa endometrial ⁽⁶²⁾.

En cuanto al posible uso de los fitoestrógenos para el tratamiento de otras manifestaciones clínicas de la menopausia (insomnio, cefalea, dolores articulares) no hay datos disponibles hasta la fecha en este sentido, si bien parece poco esperable un efecto clínico relevante, ya que parece ser que las mujeres japonesas tienen una incidencia de las mismas similar a la de las mujeres occidentales ⁽⁶⁷⁾.

Fitoestrógenos y osteoporosis postmenopáusicas

De un modo similar a lo anteriormente expuesto, la incidencia de osteoporosis también es menor en la población asiática que en la occidental, y las



Glycine Max. Foto: Steven Foster.

mujeres japonesas tienen un menor riesgo de fractura de cadera que las occidentales ^(68,69). Entre los múltiples factores que influyen sobre esta patología están los dietéticos: uno de los que se han barajado para explicar las diferencias epidemiológicas citadas, es precisamente el distinto consumo en ambas poblaciones de productos vegetales que contienen fitoestrógenos.

Los datos disponibles en experimentación animal han podido confirmar efectos positivos de la administración de fitoestrógenos sobre la masa ósea. Así, Draper ⁽⁷⁰⁾, administrando cumestrol y zeaxantina a ratas ooforectomizadas, pudo encontrar una reducción de la pérdida ósea post-castración. Del mismo modo, Fanti *et al.* ⁽⁷¹⁾, en experiencias realizadas igualmente sobre ratas castradas, encontraron que la administración de 5 microgramos por día de genisteína reducía la pérdida de masa ósea, sin que los parámetros de reabsorción se vieran afectados, al tiempo que también pudieron comprobar un aumento en la formación

de hueso, con un incremento en la concentración de osteoblastos óseos. Puesto que la producción de citocinas proinflamatorias está asociada a la patogénesis de la osteoporosis postmenopáusia y la genisteína inhibe dicha producción, postulan que quizá sea esta acción moduladora de las citocinas la que explique el efecto de la genisteína sobre el hueso.

Si bien los estudios clínicos en humanos con fitoestrógenos de origen natural no son muy abundantes, Potter *et al.* ⁽⁷²⁾ demostraron que la administración de extracto de soja a un grupo de menopáusicas durante 24 meses aumentó la densidad mineral ósea medida por densitometría en la columna lumbar, pero no en otras áreas del cuerpo. Dalais *et al.* ⁽⁶⁶⁾, trabajando sobre un grupo más reducido de pacientes, publicaron datos en el mismo sentido.

Son bastantes más los estudios sobre la ipriflavona, una isoflavona sintética, en el tratamiento de la osteoporosis postmenopáusia. Así, por ejemplo, Gambacciani *et al.* ⁽⁷³⁾, administrando en un estudio aleatorizado 600 mg/día de ipriflavona a 80 mujeres postmenopáusicas, encontraron un efecto positivo sobre la disminución de la densidad ósea y sobre la velocidad de recambio óseo asociada a la menopausia. Sheiber y Rebar ⁽⁷⁴⁾ por su parte, realizan una revisión bibliográfica sobre el particular y concluyen que "los datos disponibles sobre las isoflavonas naturales son todavía limitados pero sugieren un efecto reductor sobre la reabsorción ósea postmenopáusia; por su parte, los datos más extensos acerca de la ipriflavona, la hacen una alternativa segura y eficaz a la terapia estrogénica para el tratamiento de la osteoporosis en las mujeres postmenopáusicas, si bien son necesarios más estudios para establecer el grado real de eficacia clínica de las isoflavonas naturales". Hay que tener en cuenta que las dosis de ipriflavona empleadas son, en términos generales, superiores tanto a la de isoflavonas contenidas en la dieta oriental como a las utilizadas en los ensayos clínicos realizados hasta el momento con las isoflavonas naturales, por lo cual es difícil establecer, por el momento, diferencias objetivas de comportamiento en el proceso osteoporótico entre la ipriflavona y las isoflavonas naturales.

Fitoestrógenos y sistema cardiovascular

Hay ciertas evidencias que apoyan la idea de que los fitoestrógenos ingeridos en la dieta pueden contribuir a la menor incidencia de enfermedades cardiovasculares en la población asiática y en los individuos de hábitos vegetarianos ⁽⁷⁵⁾. De otro lado, la enfermedad coronaria es en cierto sentido una enfermedad hormonodependiente: el riesgo resulta menor en las mujeres hasta la llegada de la menopausia, a partir de cuyo momento aumenta hasta hacerse similar al masculino; es igualmente sabido cómo los estrógenos administrados en forma de terapia hormonal sustitutiva a las pacientes menopáusicas resultan en una cierta reducción de dicho riesgo ⁽⁷⁶⁾.

Durante la menopausia los fitoestrógenos actúan como agonistas estrogénicos, y pueden producir efectos favorables sobre el riesgo cardiovascular mediante varios mecanismos: acción sobre el perfil lipídico, sobre la pared vascular, inhibición de la agregación plaquetaria y efectos antioxidantes (FIGURA 12).

Así, en trabajos de experimentación animal, Anthony *et al.* ⁽⁷⁷⁾ encuentran que la dieta con fitoestrógenos en monos produce una reducción del LDL-c+VLDL-c de un 30-40%, una disminución del cociente Colesterol/HDL-c en otro 20 a 50%, y un aumento en la cifras de HDL-c del 25%, al ser comparados con un grupo de monos sometidos a una dieta libre de fitoestrógenos. Otro estudio del mismo grupo ⁽⁷⁸⁾ mostró que los monos alimentados con proteína de soja rica en fitoestrógenos, además de tener un perfil lipídico más favorable, presentaban un 90% y 50% respectivamente menos lesiones de arteriosclerosis coronaria en la necropsia que los alimentados con caseína o con soja desprovista de isoflavonas. Finalmente, Wagner *et al.* ⁽⁷⁹⁾, trabajando sobre monas ovariectomizadas, observan que la suplementación con proteína de soja mejora la sensibilidad a la insulina, los lípidos y lipoproteínas plasmáticas al tiempo; igualmente se aprecia una disminución de la peroxidación lipídica arterial, mientras que la administración de estradiol reduce los niveles de insulina en ayunas y la relación insulina/glucosa, así como el peso total y la grasa abdominal, disminuyendo el tamaño de las partículas de LDL-c.

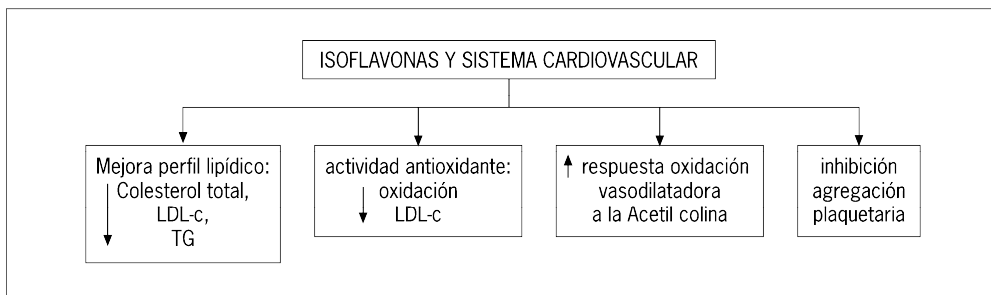


FIGURA 12. Actuación de las isoflavonas sobre el sistema cardiovascular.

Concluyen que ambos tratamientos mejoraron diferentes factores de riesgo cardiovascular, y que su administración conjunta origina una mayor reducción en el contenido arterial de colesterol.

Ya en la especie humana, si bien en algunos estudios realizados sobre sujetos normocolesterolémicos ^(80,81) no se observan efectos de la suplementación alimentaria con 60 g/día de proteína de soja x 4 semanas o tabletas de isoflavonoides (55 mg/día x 8 semanas) sobre los niveles lipídicos en relación con los controles, un metaanálisis de 38 publicaciones ⁽⁸²⁾ notifica una reducción media del Colesterol total (9,3%), del LDL-c (12,9%) y de los triglicéridos (10,5%). Más recientemente, Potter et al. ⁽⁷²⁾, en un ensayo realizado sobre un grupo de pacientes menopausicas hipercolesterolémicas, aún encontrando un menor descenso del colesterol total (6%), observaron un incremento significativo del HDL-c. Por su parte, Washburn et al. ⁽⁶¹⁾, en un ensayo sobre 51 mujeres postmenopáusicas normocolesterolémicas y normotensas, confirman un descenso del colesterol total (6%) y del LDL-c (7%), sin que hallaran efectos sobre los triglicéridos ni sobre el HDL-c, pero sí un descenso de la tensión arterial (TA) diastólica cuando la dosis de 20 g de suplemento de soja se administraba dividida en dos dosis en el día.

Con respecto a la acción de los fitoestrógenos sobre la pared vascular, estudios sobre primates han mostrado que, al igual que los estrógenos, las isoflavonas de la dieta aumentan la respuesta vasodilatadora a la acetil-colina de las arterias arterioscleróticas de los monos *Rhesus* hembras ⁽⁸³⁾.

Otro posible mecanismo beneficioso por el que los fitoestrógenos podrían actuar en la protección cardiovascular reside en su actividad antiagregante plaquetaria demostrada *in vitro* ^(32,84,85). Sin embargo, en un estudio en humanos ⁽⁸⁰⁾ la suplementación alimentaria con 60 g/día de proteína de soja durante 28 días, no fue suficiente para inhibir la agregación plaquetaria *in vivo* en un grupo de 20 varones normales. Y si bien existen algunas evidencias experimentales de la acción de las isoflavonas sobre los procesos de adhesión y proliferación celular implicados en la arteriosclerosis ⁽⁸⁴⁻⁸⁶⁾, hasta la fecha no existen pruebas de su posible relevancia clínica.

Finalmente, la actividad como antioxidantes de las isoflavonas se encuentra bien documentada: en condiciones experimentales *in vitro* se ha demostrado su acción como antioxidante del LDL-c ⁽⁵¹⁾; su administración a animales de experimentación (monas) redujo la peroxidación lipídica arterial ⁽⁷⁹⁾. En humanos, Tikkanen et al. ⁽⁸⁷⁾ han demostrado una menor susceptibilidad a la oxidación del LDL-c. Queda por establecer la importancia real de estas acciones *in vivo* y su posible aplicación en la práctica clínica.

Fitoestrógenos y cáncer

La incidencia de diversas enfermedades neoplásicas (cáncer de mama, colon, próstata, endometrio) también resulta más baja en las poblaciones asiáticas que en las occidentales ⁽⁸⁸⁾. Las mujeres que emigran desde Asia a Occidente y que mantienen su dieta tradicional no aumentan su riesgo de padecer estas neoplasias ⁽⁸⁹⁾, mientras que al cambiar a unos hábitos dietéticos de tipo occidental ven incrementado su riesgo ⁽⁹⁰⁾.

Con respecto al cáncer de mama, una revisión de la literatura realizada en 1997 ⁽⁹¹⁾ muestra que la diferencia más importante entre las mujeres con y sin cáncer de mama reside en la dieta de estas últimas, más rica en legumbres y vegetales conteniendo lignanos, isoflavonoides y fibra dietética. En este sentido, muchos estudios casuísticos han demostrado la correlación entre altos niveles de excreción urinaria de fitoestrógenos y la reducción del riesgo de cáncer de mama ⁽⁹²⁾. Al mismo tiempo, las japonesas que sufren de cáncer mamario parecen presentar un mejor pronóstico, con mayor frecuencia de tumores *in situ* y menor afectación ganglionar ⁽⁹³⁾.

Con respecto al carcinoma de endometrio existe también algún estudio ⁽⁹⁴⁾ (si bien realizado tan sólo en nuligestas y en mujeres que no habían tomado nunca estrógenos), que ha correlacionado un alto consumo de soja y otras legumbres con una disminución del riesgo relativo (RR:0,46). En cuanto al cáncer de próstata, se ha podido establecer una relación similar entre una menor incidencia del mismo y un mayor consumo de soja ⁽⁹⁵⁾.

Finalmente, por lo que respecta al cáncer colorrectal, también parece haber cierta asociación entre su incidencia y factores dietéticos como el consumo de fibra y alimentos ricos en fitoestrógenos ⁽⁹⁶⁾.

Existe además un considerable acúmulo de evidencias experimentales (*in vitro*, sobre cultivos de diversas líneas celulares, o *in vivo*, sobre animales de experimentación) que confirman los efectos inhibidores de los fitoestrógenos sobre el desarrollo y el crecimiento tumoral. Así, por ejemplo, la administración de genisteína a ratas en su fase neonatal y prepuberal las tornó menos susceptibles al desarrollo de cáncer mamario inducido por sustancias químicas en la edad adulta ⁽⁹⁷⁾; la administración de soja en la dieta inhibió el crecimiento de tumores prostáticos implantados en ratas ⁽⁹⁸⁾; en estudios sobre cultivos celulares de cáncer de mama, la genisteína y el cumestrol presentaron un efecto bifásico sobre la síntesis de ADN inducida por el estradiol: la estimularon a bajas dosis, pero a mayores concentraciones (más de 10 μ M) la inhibieron ⁽⁹⁹⁾; en otro estudio, los mismos autores encontraron efectos inhibitorios sobre la síntesis de ADN en cultivos de células de

cáncer mamario MDA-MB-231 (estrógeno-independientes), lo que sugiere un mecanismo de acción independiente del receptor estrogénico ⁽¹⁰⁰⁾.

En cuanto a los posibles mecanismos mediante los que los fitoestrógenos ejercen su potencial anticancerígeno, quizá los más relevantes sean los que se refieren a su capacidad de inhibición enzimática ya reseñada anteriormente, sobre todo la que afecta a la familia de las tirosininas, con sus consecuencias sobre la expresión de oncogenes, modulación de receptores para factores de crecimiento, procesos de apoptosis celular, mecanismos de neoangiogénesis tumoral, etc. También su acción inhibitoria sobre la actividad de la aromatasa, 5 α -reductasa y 17 β -deshidrogenasa y de incremento de los niveles de SHBG que, reduciendo los niveles de estrógenos/andrógenos circulantes ayuda a disminuir su efecto estimulante sobre el crecimiento tumoral. Finalmente, su actividad como antioxidante y captador de radicales libres puede ser parcialmente responsable también de sus efectos anticarcinogénicos.

En todo caso no podemos olvidar que, en resumen, y hasta el momento presente, la única evidencia disponible del posible papel protector de los fitoestrógenos en estos cánceres es de tipo epidemiológico y experimental, faltando estudios clínicos para evaluar si los fitoestrógenos pueden jugar un papel en la terapéutica ó en la prevención de los mismos.

Posología

En el momento actual, tan solo es posible hablar de posología en relación con el tratamiento de la menopausia. En este sentido, las dosis recomendadas se encuentran comprendidas entre 35-80 mg/ día de isoflavonas expresadas en genisteína. De acuerdo con los estudios de biodisponibilidad, entre los que destacan los realizados por Watanabe et al. ⁽¹⁵⁾, es recomendable dividir esta dosis en dos tomas (mañana y noche), con el fin de conseguir los niveles plasmáticos adecuados.

Toxicidad

Hasta la fecha, no se han notificado efectos adversos significativos a las dosis recomendadas para el tratamiento de los síntomas menopáusicos.



Direcciones de contacto

M^a Concepción Navarro Moll
Departamento de Farmacología
Facultad de Farmacia
Universidad de Granada
Campus de Cartuja
18071-Granada
cnavarro@platon.ugr.es

Estanislao Beltrán Montalbán
Departamento de Ginecología y Obstetricia
Facultad de Medicina
Universidad de Granada
Avda. de Madrid s/n
18071-Granada
ebeltran@goliat.ugr.es

Referencias bibliográficas

1. Shiizaki K, Goto K, Ishige A, Komatsu Y. Bioassay of phytoestrogen in herbal medicine used for postmenopausal disorder using transformed MCF-7 cells. *Phytother Res* 1999; 13:498-503.
2. Cline JM, Hughes CL. Phytochemicals for the prevention of breast and endometrial cancer. En: Foon KA, Muss HB (Eds.) *Biological and hormonal therapies of cancer*, pp 107-134. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1998.
3. Brzezinski A, Debi A. Phytoestrogens: The "natural" selective estrogen receptor modulators? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999; 85:47-51.
4. Mazur W. Phytoestrogen content in foods. *Baillières Clin Endocrinol Metab* 1998; 12:729-742.
5. Kuiper GJM, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, van der Saag PT, van der Burg B, Gustafsson JA. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor b. *Endocrinology* 1998; 139:4252-4263.
6. Chiechi LM. Dietary phytoestrogens in the prevention of long-term postmenopausal diseases. *Int J Gynec Obstet* 1999; 67:39-40.
7. Murkies AL, Lombard C, Strauss BJG, Wilcox G, Burger HG, Morton MS. Dietary flour supplementation decreases postmenopausal hot flushes: Effect of soy and wheat. *Maturitas* 1995; 21: 189-95.
8. Tsutsumi N. Effect of coumestrol on bone metabolism in organ culture. *Biol Pharm Bull* 1995; 18:1012-1015.
9. Gehm BD, McAndrews JM, Chien PY, Jameson JL. Resveratrol, a polyphenolic compound found in grapes and wine, is an agonist for the estrogen receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 14138-14143.
10. Sheehan DM, Branham WS, Medlock KL, Shanmugasundaram ERB. Estrogenic activity of zearalenone and zearalenol in the neonatal rat uterus. *Teratology* 1984; 29:383-392
11. Sheehan DM. Herbal Medicines, Phytoestrogens and Toxicity: Risk:Benefit Considerations. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998; 217:379-385.
12. Barnes S. Evolution of the health benefits of soy isoflavones. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998; 217:386-392.
13. Cassidy A, Bingham S. Biological effects of isoflavones in young women: importance of the chemical composition of soyabean products. *British J Nut* 1995; 74:587-601.
14. Lu LJ, Grady JJ, Marshall MV, Ramanujam VM, Anderson KE. Altered time course of urinary daidzein and genistein excretion during chronic soya diet in healthy male subjects. *Nutr Cancer* 1995; 24:311-323.
15. King RA. Daidzein conjugates are more bioavailable than genistein conjugates in rats. *Am J Clin Nutr* 1998;68 (supl):1496s-1499s.
16. King RA, Bursill DB. Plasma and urinary kinetics of the isoflavones daidzein and genistein after a single soy meal in humans. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 867-872.
17. Watanabe S, Yamaguchi M, Sobue T, Takahashi T, Mihura T, Arai Y, Mazur W, Wahala K, Adlercreutz H. Pharmacokinetics of soybean isoflavones in plasma, urine and feces of men after ingestion of 60 g baked soy bean powder (kinako). *J Nutr* 1998; 128: 1710-1715.
18. Lu LJ, Lin SN, Grady JJ, Nagamani N, Anderson KE. Altered kinetics and extent of urinary daidzein and genistein excretion in women during chronic soya exposure. *Nutr Cancer* 1996; 26: 289-302.
19. Xu X, Wang HJ, Murphy PA, Cook L, Hendrich S. Daidzein is a more bioavailable soymilk isoflavone than is genistein in adult women. *J Nutr* 1994; 124: 825-832.
20. Barnes S, Sfakianos J, Coward L, Kirk M. Soy isoflavonoids and cancer prevention. Underlying biochemical and pharmacological issues. *Adv Exp Med Biol* 1996; 401:87-100.
21. Zhang Y, Wang GJ, Song TT, Murphy PA, Hendrich S. Urinary disposition of the soybean isoflavones daidzein, genistein and glycitein differs among humans with moderate fecal isoflavone degradation activity. *J Nutr* 1999; 129:957-962.
22. King RA, Broadbent JL, Head RJ. Absorption and excretion of the soy isoflavone genistein in rats. *J Nutr* 1996; 126:176-182.

Fuente: <http://www.fitoterapia.net>



23. Keung WM, Lazo O, Kunze L, Vallee BL. Potentiation of the bioavailability of daidzin by an extract of *Radix puerariae*. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93:4284-4288.
24. Wiseman H. The bioavailability of non-nutrient plant factors: dietary flavonoids and phyto-oestrogens. *Proc Nutr Soc* 1999; 58:139-146.
25. Tew BY, Xu X, Wang HJ, Murphy PA, Hendrich S. A diet high in wheat fiber decreases the bioavailability of soybean isoflavones in a single meal fed to women. *J Nutr* 1996; 126:871-877.
26. Lu LJ, Anderson KE. Sex and long-term soy diets affect the metabolism and excretion of soy isoflavones in humans. *Am J Clin Nutr* 1998; 68 (6 suppl):1500S-1504S.
27. Barnes S. Phytoestrogens and breast cancer. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1998; 12:559-579.
28. Breithofer A, Graumann K, Scicchitano MS, Karathanasis SK, Butt TR, Jungbauer A. Regulation of human estrogen receptor by phytoestrogens in yeast and human cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1998; 67:421-429.
29. Cline JM, Paschold JC, Anthony MS, Obasanjo IO, Adams MR. Effects of hormonal therapies and dietary soy phytoestrogens on vaginal cytology in surgically postmenopausal macaques. *Fertil Steril* 1996; 65:1031-1035.
30. Nagel SC, vom Saal FS, Welshons WV. The effective free fraction of estradiol and xenoestrogens in human serum measured by whole cell uptake assays: physiology of delivery modifies estrogenic activity. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998; 217:300-309.
31. Akiyama T, Ishida J, Nakagawa S, Ogawara H, Watanabe S, Itoh NM, Shibuya M, Fukami Y. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J Biol Chem* 1987; 262:5592-5595.
32. Nakashima S, Koike T, Nozawa Y. Genistein, a protein tyrosine kinase inhibitor, inhibits thromboxane A₂-mediated human platelet responses. *Mol Pharmacol* 1990; 39: 475-480.
33. Peterson TG, Barnes S. Genistein inhibits both estrogen and growth factor stimulated proliferation of human breast cancer cells. *Cell Growth Differentiation* 1996; 7:1345-1351
34. Dalu A, Haskell JF, Coward L, Lamartinière CA. Genistein, a component of soy, inhibits the expression of the EGF and ErbB/neu receptors in the rat dorsolateral prostate. *Prostate* 1998; 37: 36-43.
35. Linassier CM, Pierre M, Pecq JBL, Pierre J. Mechanisms of action in NIH 3T3 cells of genistein, an inhibitor of EGF receptor tyrosine kinase activity. *Biochem Pharmacol* 1990; 39:187-193.
36. Peterson TG, Barnes S. Isoflavones inhibit the growth of human prostate cancer cell lines without inhibiting epidermal growth factor receptor autophosphorylation. *Prostate* 1993; 22:335-345.
37. Zava DT, Duwe G. Estrogenic and antiproliferative properties of genistein and other isoflavonoids in human breast cancer cells in vitro. *Nutr Cancer* 1997; 27:31-40
38. Fotsis T, Pepper M, Adlercreutz H, Fleischmann G, Hase T, Montesano R, Schweigerer L. Genistein, a dietary inhibitor of in vitro angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:2690-2694.
39. Fotsis T, Pepper M, Adlercreutz H, Hase T, Montesano R, Schweigerer L. Genistein, a dietary iggested isoflavonoid, inhibits cell proliferation and in vitro angiogenesis. *J Nutr* 1995; 125 (3 suppl): 790S-797S.
40. Yan CH, Han R. Genistein suppresses adhesion-induced protein tyrosine phosphorylation and invasion of B16-B16 melanoma cells. *Cancer Letters* 1998; 129:117-124.
41. Knight DC, Eden JA. A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obstet Gynecol* 1996; 87:897-904.
42. Okura A, Arakawa H, Oka H, Yoshinara T, Monden Y. Effect of genistein on topoisomerase activity and on the growth of [Val 12] Ha-ras-transformed NIH 3T3 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 157:183-189.
43. Markovitz J, Linassier C, Fosse P, Couprie J, Pierre J, Jacquemin-Sablon A, saucier JM, Le Pecq JB, Larson AK. Inhibitory effects of the tyrosin kinase inhibitor genistein on mammalian DNA topoisomerase II. *Cancer Res* 1989; 49: 5111-5117.
44. Gewirtz DA. Does bulk damage to DNA explain the cytostatic effects of topoisomerase II inhibitors. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 42:2253-2258.
45. Yamashita Y, Kawada S, Nakano H. Induction of mammalian topoisomerase II dependent DNA cleavage by non-intercalative flavonoids genistein and orobol. *FEBS Lett* 1991; 288:46-50.
46. Pelissero C, Lenczowski MJ, Chinzi D, Davail-Cuisset B, Sumpter JP, Fostier A. Effects of flavonoids on aromatase activity, an in vitro study. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996; 57:215-223.
47. Chen S, Kao YC, Laughton CA. Binding characteristics of aromatase inhibitors and phytoestrogens to human aromatase. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1997; 61: 107-115.
48. Chen S. Aromatase and breast cancer. *Front Biosci* 1998; 3:922-933.



49. Mitchell JH, Gardner PT, McPhail DB, Morrice PC, Collins AR, Duthie GG. Antioxidant efficacy of phytoestrogens in chemical and biological model systems. *Arch Biochem Biophys* 1998; 360:142-148.
50. Mitchell JH, Collins AR. Effects of a soy milk supplement on plasma cholesterol levels and oxidative DNA damage in men: a pilot study. *Eur J Nutr* 1999; 38:143-148.
51. Ruiz-Larrea MB, Mohan AR, Paganga G, Miller NJ, Bolwell GP, Rice-Evans CA. Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones. *Free Radic Res* 1997; 26: 63-70.
52. McNicol A. The effects of genistein on platelet function are due to thromboxane receptor antagonism rather than inhibition of tyrosine kinase. *Prostaglandins Leukotrienes Essent Fatty Acids* 1993; 48:379-384.
53. Adlercreutz H, Mousavi Y, Clark J, Hockerstedt K, Hamalainen E, Wahala K, Makela T, Hase T. Dietary phytoestrogens and cancer: in vitro and in vivo studies. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992; 41:331-337.
54. Lokovaara M, Carson M, Palotie A, Adlercreutz H. Regulation of sex hormone-binding globulin production by isoflavonoids and patterns of isoflavonoid conjugation in HepG2 cell cultures. *Steroids* 1995; 60:656-661.
55. Adlercreutz CH, Goldin BR, Gorbach SL, Hockerstedt KA, Watanabe S, Hamalainen EK, Markkanen MH, Makela TH, Wahala KT. Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. *J Nutr* 1995; 125 (3 Suppl):757S-770S.
56. Boulet MJ, Oddens BJ, Lehert P, Vemer HM, Visser A. Climacteric and menopause in seven south-east Asian countries. *Maturitas* 1994; 19: 157-176.
57. Tang, GWK. The climacteric of Chinese factory workers. *Maturitas* 1994; 19: 177-182.
58. Reckers H. Mastering the menopause. In: Burger H., Boulet M. eds. *A portrait of the menopause*. Park Ridge, New Jersey: The Parthenon Publishing Group, 1991: 23-43.
59. Brzezinski A, Adlercreutz H, Shaoul R. Short term effects of phytoestrogen-rich diet on postmenopausal women. *Menopause* 1997; 4: 89-94.
60. Albertazzi P, Pansini F, Bonaccorsi G, Zanotti L, Forini E, De Aloysio D. The effect of dietary soy supplementation on hot flushes. *Obstet Gynecol* 1998; 1: 6-11.
61. Washburn S, Burke GL, Morgan T, Anthony M. Effect of soy protein supplementation on serum lipoproteins, blood pressure, and menopausal symptoms in perimenopausal women. *Menopause* 1999; 6: 7-12.
62. Scambia G, Mango D, Signorile PG, Angeli RA, Palena C, Gallo D, Bombardelli E, Morazzoni P, Riva A, Mancuso S. Clinical effects of a standardized soy extract in postmenopausal women: a pilot study. *Menopause* 2000; 7: 105-111.
63. Albertazzi P, Pansini F, Bottazzi M, Bonaccorsi G, De Aloysio D, Morton S. Dietary soy supplementation and phytoestrogen levels. *Obstet Gynecol* 1999; 94: 229-31.
64. Quella SK, Loprinzi CL, Barton DL, Knost JA, Sloan JA, LaVasseur BI, Swan D, Krupp KR, Miller KD, Novotny PJ. Evaluation of soy phytoestrogens for the treatment of hot flashes in breast cancer survivors: a North Central Cancer Treatment Group trial. *J Clin Oncol* 2000; 18: 1068-1074.
65. Baird D, Umbach D, Lansdell L. Dietary intervention study to assess estrogenicity of dietary soy among postmenopausal women. *Clin Endocr* 1995; 80: 1685-1690.
66. Dalais FS, Rice GE, Walqvist ML, Grehm M, Murkies AL, Medley G, Ayton R, Strauss BG. Effects of dietary phytoestrogens in postmenopausal women. *Climacteric* 1998; 1: 124-129.
67. Lock M. Ambiguities of aging: Japanese experience and perceptions of menopause. *Culture Medicine and Psychiatry* 1986; 10: 23-46.
68. Report of a WHO Study Group. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Geneva, Switzerland: WHO Technical Report Series 843. 1994: 11-13.
69. Cooper C, Campion G, Melton LJ III. Hip fractures in the elderly: A world-wide projection. *Osteoporos Int* 1992; 2: 285-289.
70. Draper CR, Edel MJ, Dick IM, Randall AG, Martin GB, Prince RL. Phytoestrogens reduce bone loss and bone resorption in oophorectomized rats. *J Nutr* 1997; 127: 1795-1799.
71. Fanti P, Monier-Faugere MC, Geng Z, Schmidt J, Morris PE, Cohen D, Molluche HH. The phytoestrogen genistein reduces bone loss in short-term ovariectomized rats. *Osteoporos Int* 1998; 8: 274-281.
72. Potter SM, Baum JA, Teng H, Stillman RJ, Shay NF, Erdman JW. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1998; 68 (suppl): 1375s-1379s.
73. Gambacciani M, Ciaponi M, Cappagli B, Piaggese L, Genazzani AR. Effects of combined low dose of the isoflavone derivative ipriflavone and estrogen replacement on bone mineral density and metabolism in postmenopausal women. *Maturitas* 1997; 28: 75-81.
74. Sheiber MD, Rebar RW. Isoflavones and postmenopausal bone health: a viable alternative to estrogen therapy?. *Menopause* 1999; 6: 233-241.

75. Adlercreutz H. Western diet and western diseases: some hormonal and biochemical mechanisms and associations. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1990; 210: 3-23.
76. Stampfer MJ, Colditz GA. Estrogen replacement therapy and coronary heart disease. A quantitative assessment of the epidemiological evidence. *Prev Med* 1991; 20: 47-63.
77. Anthony MS, Clarkson TB, Hughes CL, Morgan TM, Burke GL. Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of periparturient rhesus monkeys. *J Nutr* 1996; 126: 43-50.
78. Anthony MS, Clarkson TB, Bullock BC, Wagner JD. Soy protein versus soy phytoestrogens in the prevention of diet-induced coronary artery atherosclerosis of male cynomolgus monkeys. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2524-2531.
79. Wagner JD, Cefalu WT, Anthony MS, Litwak KN, Zhang L, Clarkson TB. Dietary soy protein and estrogen replacement therapy improve cardiovascular risk factors and decrease aortic cholesteryl ester content in ovariectomized cynomolgus monkeys. *Metabolism* 1997; 46: 698-705.
80. Gooderham MH, Adlercreutz H, Ojala ST, Wahala K, Holub BJ. A soy protein isolate rich in genistein and daidzein and its effects on plasma isoflavone concentrations, platelet aggregation, blood lipids and fatty acid composition of plasma phospholipid in normal men. *J Nutr* 1996; 126: 2000-2006.
81. Hodgson JM, Puddey IB, Beilin LJ, Mori TA, Croft KD. Supplementation with isoflavonoid phytoestrogens does not alter serum lipid concentrations: a randomized controlled trial in humans. *J Nutr* 1998; 128: 728-732.
82. Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Engl J Med* 1995; 333: 276-282.
83. Honoré EK, Williams JK, Anthony MS, Clarkson TB. Soy isoflavones enhance coronary vascular reactivity in atherosclerotic female macaques. *Fertil Steril* 1997; 67: 148-154.
84. Wilcox JN, Blumenthal BF. Thrombotic mechanisms in atherosclerosis: potential impact of soy proteins. *J Nutr* 1995; 125 (suppl): 631s-638s.
85. Raines EN, Ross R. Biology of atherosclerotic plaque formation: possible role of growth factors in lesion development and the potential impact of soy. *J Nutr* 1995; 125 (suppl): 624s-630s.
86. Dubey RK, Gillespie DG, Jackson EK, Keller PJ. 17 Beta-estradiol, its metabolites, and progesterone inhibit cardiac fibroblastic growth. *Hypertension* 1998; 31: 522-528.
87. Tikkanen MJ, Wahala K, Ojala S, Vihma V, Adlercreutz H. Effect of soybean phytoestrogen intake on low density lipoprotein oxidation resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 17: 3106-3110.
88. Rose DP, Boyer AP, Winder EL. International comparison of mortality rates for cancer of the breast, ovary, prostate, and colon, per capita fast consumption. *Cancer* 1986; 58: 2363-2371.
89. Kolonel LN. Variability in diet and its relation to risk in ethnic and migrant groups. *Basic Life Sci* 1988; 43: 129-135.
90. Lee HP, Gourley L, Duffy SW. Dietary effects on breast cancer risk in Singapore. *Lancet* 1991; 337: 1197-2000.
91. Stephens FO. Breast cancer: aetiological factors and associations (a possible protective role of phytoestrogens). *Aust N Z Surg* 1997; 67: 755-760.
92. Ingram D, Sanders K, Kolybaba M, Lopez D. Case-control study of phyto-oestrogens and breast cancer. *Lancet* 1997; 350: 990-994.
93. Stemmermann GN, Catts A, Fukunaga FH, Horie A, Nomura AMY. Breast cancer in women of Japanese and Caucasian ancestry in Hawaii. *Cancer* 1985; 56:206-209.
94. Goodman MT, Wilkens LR, Hankin JH, Lyu LC, Wu AH, Kolonel LN. Association of soy and fiber consumption with the risk of endometrial cancer. *Am J Epidemiol* 1997; 146: 294-306.
95. Severson RK, Nomura AMY, Grove JS, Stemmermann GN. A prospective study of demographics, diet, and prostate cancer among men of Japanese ancestry in Hawaii. *Cancer Res* 1989; 49: 1857-1860.
96. Messina MJ, Persky V, Setchell KDR, Barnes S. Soy intake and cancer risk: a review of in vitro and in vivo data. *Nutr Cancer* 1994; 21: 113-131.
97. Lamartinière CA, Murrill WB, Manziolillo PA, Zhang JX, Barnes S, Zhang X, Wei H, Brown NM. Genistein alters the ontogeny of mammary gland development and protects against chemically-induced mammary cancer in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998; 217: 358-364.
98. Landstrom M, Zhang JX, Hallmans G, Aman P, Bergh A, Damber JE, Mazur W, Wahala K, Adlercreutz H. Inhibitory effects of soy and rye diets on the development of Dunning R3327 prostate adenocarcinoma in rats. *Prostate* 1998; 36: 151-161.
99. Wang C, Kurzer MS. Effects of phytoestrogens on DNA synthesis in MCF-7 cells in the presence of estradiol or growth factors. *Nutr Cancer* 1998; 31: 90-100.
100. Wang C, Kurzer MS. Phytoestrogen concentration determines effects on DNA synthesis in human breast cancer cells. *Nutr Cancer* 1997; 28: 236-247.