

Fitoestrogênios: Posicionamento do Departamento de Endocrinologia Feminina da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM)

perspectivas

RESUMO

Para avaliar a utilidade dos fitoestrogênios (FE) na terapia de reposição hormonal da menopausa (TRHM), o Departamento de Endocrinologia Feminina da SBEM reuniu um grupo de especialistas para fazer uma revisão bibliográfica e selecionar trabalhos nos quais a metodologia adotada demonstrasse rigor científico. Os FE têm ações estrogênicas e antiestrogênicas, predominantemente sobre os receptores de estrogênios (E) β , com potência estrogênica muito inferior à do estradiol. O conteúdo de FE nas suas fontes vegetais é variável, dependendo da forma de cultivo, safra, armazenamento e industrialização. Também a conversão dos precursores em fitormônios ativos no organismo humano tem grande variabilidade individual. A maior parte das pesquisas com FE é realizada *in vitro* ou com animais de laboratório, nem sempre podendo ser extrapoladas para humanos. Com relação à síndrome do climatério, alguns estudos sugerem discreta melhora dos fogachos, sem modificação do ressecamento vaginal ou das alterações do humor. No metabolismo lipídico, alimentação rica em soja, mas não isoflavonas isoladamente, promove redução do colesterol total, do LDL-col e dos triglicérides, mas não elevam o HDL-col, como os E, e podem causar aumento da lipoproteína (a), que os E contribuem para diminuir. Embora alguns estudos de curta duração sugiram aumento da densidade mineral óssea com uso de isoflavonas, não há demonstração de redução de fraturas. Conclui-se que não há evidências convincentes que justifiquem o uso de FE ou alimentação rica em soja como alternativa para a TRHM. (Arq Bras Endocrinol Metab 2002;46/6:679-695)

Descritores: Fitormônios; Fitoestrogênios; Menopausa; Terapia de reposição hormonal da menopausa

ABSTRACT

Phytoestrogens: Position of the Department of Female Endocrinology of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism.

To evaluate the benefit of phytoestrogens (PhE) in hormone replacement therapy of menopause (HRTM), the Department of Female Endocrinology of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism convened a group of specialists to perform a bibliographic review. Only articles that met strict scientific methodological criteria were included. PhE exhibit both estrogenic and antiestrogenic actions, mainly on estrogen (E) receptors β , with much less estrogenic potency than estradiol. PhE content of vegetal sources varies, depending on cultivation, harvesting, storage and industrialization. Conversion of precursors to active phytohormones in the human body exhibits great individual variability. Most studies with PhE was done *in vitro* or in laboratory animals and could not always be extrapolated to humans. Some studies on the climacteric syndrome suggest little improvement of hot flushes but not of vaginal dryness or mood instability. Regarding lipid metabolism, soy-rich food but not isolated isoflavones promotes reduction of total cholesterol, LDL-chol and triglyceride levels, but does not raise HDL-chol as E do, and promotes elevation of lipoprotein (a), which are reduced by E. Although some short-

Ruth Clapauch
Ricardo M.R. Meirelles
Maria Amélia S.G. Julião
Cláudia Kohler C. Loureiro
Paola B. Giarodoli
Solange Alves Pinheiro
Albermar Roberts Harrigan
Poli Mara Spritzer
Dolores Perovano Pardini
Rita Vasconcellos Weiss
Amanda Athayde
Luis Augusto Russo
Luiz Cesar Póvoa

Instituto Estadual de Diabetes e Endocrinologia Luiz Capriglione - IEDE, RJ (RMRM, RVW, AA, LAR, LCP); Setor de Endocrinologia Feminina, Hospital da Lagoa, RJ (RC); Disciplina de Endocrinologia, Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, SP (DPP); Unidade de Endocrinologia Ginecológica, Serviço de Endocrinologia, HCPA/UFRGS, RS (PMS); Faculdade de Saúde Pública da USP, SP (ARH); Núcleo de Endocrinologia Feminina da SBEM-Regional ES (MASGJ, CKCL, PBG, SAP).

Recebido em 12/11/02
Aceito em 14/11/02

term studies suggest improvement of bone mineral density with isoflavones, no reduction in fracture rate is demonstrated. We conclude that there are no convincing evidences to support the use of PhE or soy-rich food as alternatives to HRTM. (Arq Bras Endocrinol Metab 2002;46/6:679-695)

Keywords: Phytohormones; Phytoestrogens; Menopause; Hormone replacement therapy of menopause

NOS ÚLTIMOS ANOS TÊM-SE apregoado que constituintes de plantas com uma estrutura fenólica similar aos estrogênios, conhecidos como fitoestrogênios (FE), seriam alternativas naturais à terapia de reposição hormonal da menopausa (TRHM).

Os FE encontrados em várias plantas comestíveis podem ter efeitos estrogênicos e antiestrogênicos. Estudos epidemiológicos, comparando população asiática versus ocidental, têm sido interpretados no sentido de que uma dieta rica em FE melhoraria os sintomas da menopausa e protegeria contra câncer de mama, perda óssea e doenças cardiovasculares. Conseqüentemente existe um movimento global incentivando o consumo de alimentos ricos em FE e de comprimidos de extratos concentrados de isoflavonas. A busca de um consenso sobre o uso de FE como alternativa ou complemento da TRHM deve passar pela avaliação da eficácia de seus efeitos sobre as conseqüências do hipostrogenismo e a segurança de seu uso. Outra questão seria o consumo de alimentos ricos em FE por mulheres na pós-menopausa, em uso de terapia de reposição hormonal ou não.

Em virtude do grande interesse no meio médico e leigo, especialmente na mídia, sobre o uso de fitormônios na TRHM, o Departamento de Endocrinologia Feminina da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) reuniu um grupo de especialistas com o objetivo de realizar uma revisão abrangente da literatura sobre os diversos aspectos da atuação *in vitro* e *in vivo* dessas substâncias. Os dados aqui apresentados pretendem servir como orientação para o endocrinologista e outros profissionais que lidam com TRHM, bem como para esclarecimento do meio médico, imprensa e população.

CONCEITO

Segundo a Farmacopéia Brasileira, a fitoterapia é o uso de plantas medicinais como matéria prima farmacêutica. Uma definição um pouco mais sofisticada seria a de

Eldin e Dunford (1): “Fitoterapia pode ser definida como o estudo e a aplicação dos efeitos terapêuticos de drogas vegetais e derivadas dentro de um complexo holístico”.

As bases da fitoterapia repousam no conhecimento popular de plantas (*phytón* em grego) utilizadas na vida diária. Em geral a recomendação é que se usem plantas medicinais simples, que não provoquem efeitos violentos. Além disso, existe o conceito de que devem ser usadas as plantas integrais, com o argumento de que a extração do princípio ativo elimina outros componentes que interagiriam com a substância principal para exercer os seus efeitos benéficos. Considera-se também que grande número de plantas medicinais não contém um princípio ativo específico e suas propriedades terapêuticas derivariam da totalidade de seus ingredientes.

Segundo Knight e Eden (2), FE são substâncias vegetais estrutural e funcionalmente semelhantes ao estradiol. Os principais FE são os encontrados na soja: a genisteína e a daidzeína. Questiona-se se o uso de comprimidos de FE poderia ser considerado fitoterapia, uma vez que, em se tratando de substâncias isoladas, não corresponderiam ao princípio básico de utilização da planta integral.

Inúmeros medicamentos têm princípios ativos extraídos de plantas, sendo modificados quimicamente em laboratório para potencializar a atividade, aumentar a biodisponibilidade ou diminuir os efeitos adversos. No caso dos hormônios, temos a progesterona, extraída da *Dioscorea villosa* e modificada em laboratório para atingir uma fórmula estrutural semelhante à produzida pelo ovário (3).

HISTÓRICO E CLASSIFICAÇÃO

O primeiro grupo de hormônios vegetais descobertos foi o das auxinas, que são o resultado de experiências feitas por diversos fisiologistas, a se iniciar por Darwin, sendo de grande importância na Botânica, por seus efeitos no controle de muitos processos metabólicos.

A atividade estrogênica das plantas foi primeiramente demonstrada em 1926, e em meados da década de 70 já se tinha demonstrado que centenas de plantas exibiam atividade estrogênica. Os FE assumiram importância biológica e econômica nos anos 40, com a diminuição da fertilidade induzida em ovelhas pela ingestão de trevos de pastagens, na Austrália, na chamada “Doença do Trevo” (4).

Em 1943, o Yam Mexicano (*Dioscorea villosa*) atraiu a atenção da comunidade médica quando cien-

tistas extraíram progesterona de sua raiz. A *Dioscorea villosa* é rica em diosgenina, esteróide vegetal utilizado como precursor na produção química, em laboratório, de esteróides sexuais. Entretanto, o organismo humano não é capaz de transformar a diosgenina em progesterona (5).

Atividade estrogênica tem sido descrita em compostos produzidos por animais, plantas e microorganismos e também em químicos manufaturados e seus produtos derivados industrialmente, como pesticidas e inseticidas, incluindo o DDT (4). Estas substâncias denominam-se xenoestrogênios e fazem parte do grupo de disruptores endócrinos. São potencialmente capazes de se ligar a receptores hormonais e interferir no equilíbrio da cadeia endócrina, rompendo a seqüência natural de mecanismos de auto-regulação. Os xenoestrogênios podem ser classificados em FE e contaminantes ambientais (tabela 1). Os seres humanos absorvem esses xenoestrogênios pela dieta ou pele.

FONTES

Fitoestrogênios (FE)

Os FE mais encontrados nas dietas são as isoflavonas. Estas estão presentes principalmente em produtos à base de soja, mas também em outros grãos como na ervilha verde, lentilha, feijão e seus derivados e em legumes (6).

Além das isoflavonas, os lignanos e coumestanos são também considerados FE. Os lignanos estão presentes em muitas plantas, como constituintes da parede celular. Precursores dos lignanos estão presentes nas películas que recobrem os cereais; no processo de refinamento tais películas são removidas. São encontrados nos grãos integrais, legumes, vegetais e sementes, principalmente no linho. Grãos oleosos

como a linhaça contém as maiores concentrações de lignanos (7). Os principais lignanos biologicamente ativos são o enterodiol e enterolactona. Os coumestanos estão presentes em brotos de feijão, soja e alfafa (4). O principal deles é o coumestrol.

Fontes alimentares

A quantidade de isoflavonas presente nos alimentos é muito variável. A tabela 2 mostra o conteúdo de isoflavonas e a tabela 3, o conteúdo de lignanos em alguns alimentos selecionados (8). Por outro lado, o cultivo, armazenamento e industrialização podem também alterar a quantidade de isoflavonas disponíveis. Como exemplo, a soja americana pode ter seu conteúdo de isoflavonas variando de 116 a 420mg/100g, dependendo da variedade e da safra (9). A proteína de soja concentrada, um pó obtido da farinha de soja com um teor de proteína de 90%, é um dos raros produtos com teor controlado de isoflavonas, por isso foi utilizada em vários estudos. Em outras preparações comerciais o conteúdo de FE varia amplamente e em alguns casos pode ser totalmente ausente (10).

Consumo diário de isoflavonas

As populações orientais (japoneses, coreanos e chineses) consomem entre 20 a 150mg/dia de isoflavonas, enquanto a dieta ocidental contém de 1 a 3mg/dia (11). É importante, entretanto, salientar que não existe controle sobre o cultivo e armazenamento destes produtos, nem padronização das fórmulas de suplementos dietéticos. Existe controvérsia sobre se os efeitos dos FE podem ser obtidos isoladamente ou se é necessária a presença de outros produtos encontrados nos grãos integrais. Assim, para a obtenção de benefícios gerais do consumo de isoflavonas, é preferível obtê-las de grãos integrais. Recomenda-se também ingerir mais frutas e legumes e menos gordura de origem animal (12,13).

Tabela 1: Classificação dos Xenoestrogênios.

Fitoestrogênios	<p>Isoflavonas (Genisteína, Daidzeína, Biochanina A, Formononetina, Equol, Demetilangolensina) Lignanos (Enterodiol, Enterolactona, Secoisolariciresinol, Metairesinol) Coumestanos (Coumestrol) Lactonas do ácido isoresorcilico Fitoalexinas Flavonas (Crisina, Baicaleína, Galangina) Flavononas (Naringenina) Naftoflavona Polietoxilatos alquifenólicos</p>
Contaminantes ambientais de origem industrial	<p>Ftalatos Pesticidas clorados (o, p-DDT, Metoxicloro, Quepona) Bifenólicos policlorados (PCBs)</p>

Tabela 2: Conteúdo de isoflavonas de alimentos selecionados.

Alimento	Isoflavonas (mg/100g)
Semente de soja tostada	128,4
Semente de soja fervida sem sal	54,7
Tempeh cozido (bolo de soja fermentado)	53,0
Queijo de soja	31,3
Tofu	16,3 a 29,2
Salsicha de soja congelada, crua	15,0
Nugget de galinha, sem carne	14,6
Semente de soja verde cozida sem sal	13,8
Bacon, sem carne	12,1
Leite de soja	9,7
Talharim de soja	8,5
Cereal de soja	3,8
Fórmulas infantis	7,0 a 24,0

Fonte: USDA - Iowa State University Database on the Isoflavone Content of Foods, 1999.

Tabela 3: Conteúdo de lignanos de alimentos selecionados.

Alimento	Lignanos (mg/100g)
Farinha de linhaça	52,7
Trigo	0,5
Aveia	0,3
Arroz integral	0,3
Milho	0,2
Centeio	0,2

Fonte: USDA - Iowa State University Database on the Isoflavone Content of Foods, 1999.

Química

A propriedade estrogênica e antiestrogênica dos FE depende da concentração dos mesmos, da concentração dos esteróides sexuais endógenos e do órgão alvo específico envolvido na interação com os receptores de estrogênios (RE). Esse efeito pode ser explicado pela existência de dois tipos de RE: α e β . Os α -receptores (RE- α) são os principais receptores encontrados na mama e no útero, e os β -receptores (RE- β) no osso e no sistema cardiovascular. O estradiol tem afinidade por ambos receptores, enquanto as isoflavonas são mais seletivas para os RE- β , na proporção de 1/20 para o α e 1/3 para o β (13).

As isoflavonas incluem a genisteína, daidzeína, gliciteína, biochanina A e formononetina. Na maioria das plantas são encontradas na forma de glicosídeos (genistina e daidzina), isto é, ligadas a uma molécula de açúcar. No intestino, onde a genistina é metabolizada por ação de enzimas bacterianas, perde o resíduo de açúcar e transforma-se na forma mais ativa que é agliconada (genisteína). Os isoflavonóides provenientes de matéria prima já processada, que passam por um processo de fermentação, proporcionam maior teor de agliconas, como por exemplo, o missô e o molho de soja. Já a extração alcoólica da farinha de soja remove todas as pequenas moléculas orgânicas inclusive os FE (14).

As agliconas são absorvidas mais rapidamente e em quantidades maiores do que os glicosídeos, em humanos. A concentração plasmática após ingestão de agliconas é 2 a 3 vezes maior que após a de glicosídeos e, após 2 a 4 semanas, ainda permanece 100% mais alta do que a concentração de glicosídeos. Após a conversão em aglicona, cerca de 1/3 é absorvido como isoflavona livre e os restantes 2/3 são fermentados por bactérias e transformados em metabolitos tais como equol e daí absorvidos (15).

A variabilidade no metabolismo dos precursores da dieta é grande, chegando a uma variação individual de 1.000 vezes na excreção subsequente de isoflavonas (4). Vários fatores podem modificar a biodisponibilidade dos FE ingeridos e seus efeitos biológicos: dieta rica em carboidratos induzindo aumento da fermentação, doenças intestinais, parasitoses e uso de antibióticos. Assim como no metabolismo dos hormônios esteróides, o fígado tem um papel importante na conjugação das agliconas com ácido glicurônico. A eficiência de conjugação das isoflavonas é elevada e conseqüentemente a proporção de isoflavonas circulantes na forma livre é pequena.

Um dos metoxi-derivados da isoflavona, a biochanina A, não se liga ao RE mas tem efeito estrogênico *in vivo*. Daidzeína e formononetina têm maior

afinidade com os RE- α do que os metoxi derivados, mas ambos possuem efeito estrogênico fraco *in vivo*. A metilação poderia ser o mecanismo pelo qual o efeito estrogênico da isoflavona é reduzido. A diferença existente entre genisteína e daidzeína se deve à presença do grupo 5-hidroxil de genisteína.

O coumestrol, o mais potente dos coumestanos, tem maior afinidade por RE do que a genisteína (16). A afinidade pelos RE está intimamente relacionada com o grupo fenol na posição 4 na isoflavona e na posição 12 no coumestano. As isoflavonas têm em comum uma estrutura fenólica que parece ser o pré-requisito para a ligação no receptor estrogênico.

MECANISMO DE AÇÃO

Os estrogênios promovem as características femininas, controle reprodutivo e gravidez, influenciam a pele, os ossos, sistema cardiovascular e imunidade. Os estrogênios endógenos, como o estradiol, têm em geral meia-vida curta, não se acumulam nos tecidos, são facilmente metabolizados no fígado e são mais potentes que qualquer estrogênio sintético (exceção feita ao dietilestilbestrol). Em contraste, drogas como etinilestradiol, dietilestilbestrol (DES), estrogênios ambientais sintéticos como β -hexaclorociclohexano (β -HCH), bifenóis policlorinados (PCBs), p'DDT e FE como isoflavonas e lignanos são mais estáveis e têm uma meia-vida maior. Devido à característica lipofílica, tendem a se acumular na gordura e tecidos (17).

Receptores de estrogênios (RE) e ação estrogênica

A similaridade química das isoflavonas com os estrogênios é responsável pela sua habilidade em se ligar aos RE. As potências relativas, quando se comparam isoflavonas ao estradiol (valor 100), foram estabelecidas em curvas de resposta concentração-dependente e são as seguintes: coumestrol 0,202; genisteína 0,084; equol 0,061; daidzeína 0,013; biochanina A <0,0006 (4).

Os mesmos níveis de bioatividade foram produzidos pelas isoflavonas e estradiol, indicando que o complexo estrogênio-receptor formado é funcionalmente equivalente. No entanto a constante de dissociação comparativa da genisteína para o receptor de estrogênio, determinada em experimentos de ligação competitiva, é 100-10.000 vezes maior que a do estradiol e dietilestilbestrol (11).

Love e cols. em 1992 (18) demonstraram que o tamoxifeno, utilizado como antagonista estrogênico, mimetizava a ação estrogênica em coluna lombar,

levando a aumento da densidade mineral óssea. Esse foi o primeiro estudo a indicar que o tamoxifeno poderia funcionar como um estrogênio tecido seletivo agonista/antagonista (SERM). Este achado mostrou a necessidade de uma reavaliação do modelo clássico da ação estrogênica e a reavaliação da farmacologia do RE.

O modelo clássico de ação estrogênica sugeria que na ausência de um ligante, o receptor de estrogênio localizava-se no núcleo das células alvo na forma inativa. Caso um agonista se ligasse, o complexo estrogênio-receptor sofreria uma transformação ativadora que facilitaria a interação do receptor com elementos de resposta DNA específicos entre os genes promotores alvo.

Vários estudos foram realizados e a idéia do RE ser uma molécula rígida, existindo no estado ativo ou inativo, não era mais cabível. A conformação do receptor é determinada pela natureza do ligante. Embora a teoria do estado conformacional do RE não tenha sido comprovada *in vivo* ela fornece uma base molecular para a atividade biológica diferente em função de diferentes ligantes (19).

Em 1986, Greene e cols. (20) isolaram e clonaram o RE. A descoberta em 1996, por Kuiper e cols. (21), de um segundo RE, clonado em humanos e denominado receptor β , aumentou a complexidade biológica do estrogênio. Alguns domínios do cDNA RE- β são altamente homogêneos em relação ao RE- α ; a homogeneidade total entre eles é de 50%. O surgimento de um segundo receptor imediatamente sugeriu que a afinidade diferente dos ligantes para cada um desses receptores associada às diferenças teciduais específicas na sua síntese pudesse explicar vários aspectos da seletividade dos SERMs (tamoxifeno, raloxifeno, idoxifeno, isoflavonas).

Isoflavonas – moduladores seletivos do receptor de estrogênio

Morito e cols. (22) avaliaram os derivados da isoflavona de duas formas: a) ligação com RE humano α e β ; b) efeito na expressão transcricional dependente de estrogênio. A genisteína ligou-se e induziu transcrição em ambos os receptores, em maior proporção que as demais isoflavonas. De acordo com esse autor, as isoflavonas antagonizam o 17 β -estradiol e afetam várias reações bioquímicas.

É importante salientar que a maior parte dos estudos com FE é realizada *in vitro* ou em animais e os efeitos observados nem sempre podem ser extrapolados para humanos. O tamoxifeno, por exemplo, atua em ratos como agonista estrogênico, em sapos e galinhas como antagonista estrogênico e em humanos como agonista/antagonista estrogênico (23).

Ação de isoflavonas nas células mamárias

De Lemos (24) publicou recentemente uma metanálise visando determinar se a genisteína e a daidzeína poderiam estimular o crescimento de células mamárias cancerígenas e através de qual mecanismo. Para tal selecionou os estudos publicados em inglês através do MEDLINE (1966-Jan/2001); EMBASE (1982-Jan/2001) e Current Contents (1998-Jan/2001). O autor ressalta alguns aspectos extremamente importantes quanto à ação celular:

- Concentrações de genisteína $<10\mu\text{mol/L}$ induzem crescimento tumoral, antagonizando o efeito anti-tumoral do tamoxifeno;
- Concentrações $>10\mu\text{mol/L}$ inibem a síntese de DNA e proliferação das células tumorais e aumentam o efeito anti-tumoral do tamoxifeno;
- A dose ingerida de genisteína no rato capaz de induzir resposta biológica alcançou concentrações plasmáticas de 1 a $7\mu\text{mol/L}$, ou seja, $<10\mu\text{mol/L}$;
- A suplementação de soja vai induzir estimulação ou inibição celular? O autor ressalta a inexistência de estudos a longo prazo em humanos.

Em acordo sobre a ação celular do suplemento de soja, Peterson e cols. (25) assinalam que para a genisteína ter efeito inibitório celular mamário, a administração por via oral é inadequada, já que a dose necessita ser muito elevada para se sobrepor aos efeitos da primeira passagem hepática.

Ainda com relação à ação celular, Wu e cols. (26) ressaltam o desconhecimento da dose e frequência de ingestão para que o efeito da soja seja inibitório a nível mamário. Portanto, parece crucial estabelecer qual seria a dose da genisteína empregada para determinar o objetivo (agonismo ou antagonismo estrogênico).

Ação de isoflavonas em células endometriais

Hopert e cols. (27) demonstraram que três derivados da soja (coumestrol, genisteína e daidzeína) aumentavam a produção do complemento C3 em células de adenocarcinoma endometrial no rato. Markiewicz e cols. (28) observaram aumento da atividade da fosfatase alcalina em cultura de células semelhantes. Tanto a produção de C3 como a atividade da fosfatase alcalina são efeitos conhecidos de estimulação estrogênica. Esses estudos sugerem que os FE possam atuar como agonistas, embora estudos em humanos sejam necessários para elucidar sua ação no endométrio (29).

Outros efeitos

Foram também atribuídas às isoflavonas ações não mediadas pelo RE: efeitos antioxidantes, inibição de enzimas envolvidas no metabolismo estrogênico,

inibição de proteíno-quinases envolvendo sinalização intracelular, efeito no transporte da glicose, proliferação celular e inibição da angiogênese (13,30).

A oxidação dos lipídios tem sido implicada na fisiopatologia da aterosclerose. Alguns estudos sugerem um papel da isoflavona na prevenção da peroxidação dos lipídios (31).

Tham e cols. (32), em estudo de cultura de células vasculares, demonstraram que em concentrações maiores que $25\mu\text{mol/L}$ a genisteína inibe a proliferação de células endoteliais. Importante notar que a ingestão diária, mesmo nos grandes consumidores de soja, não permite que haja concentrações plasmáticas maiores que $1-5\mu\text{mol/L}$ (33).

EFEITOS EM SÍNDROME CLIMATÉRICA

Existem inúmeros estudos epidemiológicos comparando população asiática *versus* ocidental, que têm sido interpretados como se uma dieta rica em FE pudesse melhorar os sintomas da menopausa e proteger contra câncer de mama (34,35), perda óssea e doenças cardiovasculares (36). Conseqüentemente, existe um movimento global incentivando o consumo de alimentos ricos em FE e de comprimidos de extratos concentrados de isoflavona.

Uma das principais razões da procura das mulheres por TRHM são os fogachos. Os estrogênios são a maior arma contra eles. Como podem se resolver com o tempo e, também, sofrerem grande influência psicológica, placebos podem melhorá-los.

As mulheres japonesas parecem ter menos fogachos que as ocidentais, o que em parte pode ser devido à elevada ingestão de soja. Alguns estudos indicam um efeito mínimo sobre fogachos, com redução de 45% *versus* 30%, em comparação com placebo (37), enquanto a TRHM convencional os reduz em 70% (38).

Murkies e cols. (4) tentaram provar alguma ação estrogênica dos FE sobre mucosa vaginal e não encontraram qualquer alteração na sua citologia vaginal após quatro semanas de uso dos mesmos. Outros autores observaram aumento não significativo do percentual de células superficiais na citologia vaginal, sem redução dos níveis de FSH e LH ou aumento da SHBG (*sex hormone binding globulin*) (39).

Sabe-se que os estrogênios estimulam a expressão de fatores neurotróficos e a produção de acetilcolina e serotonina no sistema nervoso central (40), já em relação aos fitormônios, nenhuma ação como agonista ou antagonista dos estrogênios foi comprovada na densidade de espinhas dendríticas de

cultura de neurônios do hipocampo, que aumenta com a exposição a estrogênios (41).

Uma outra queixa das mulheres pós-menopausa, os problemas da pele, que se torna fina, ressecada e sem elasticidade, são decorrentes, além do hipoestrogenismo, da própria idade, como também do nível de exposição ao sol. As ações das isoflavonas parecem ser benéficas através de sua ação antioxidante, diminuindo radicais livres e inibindo os danos provocados pelos raios ultravioletas, mas jamais como substitutas em relação às ações tróficas dos estrogênios (42,43).

Em conclusão, as mulheres podem se beneficiar com certo alívio dos sintomas do climatério através de modificações dietéticas e de estilo de vida, tais como parar de fumar e de beber, saber lidar melhor com situações de estresse e aumentar as atividades físicas, mas não existem evidências científicas idôneas que comprovem que alta ingestão de produtos de soja alivie fogachos, sudorese noturna e outros sintomas como ressecamento vaginal, alterações do humor e sintomas músculo-esqueléticos (36). Os benefícios clínicos da TRHM são inegáveis, enquanto que as evidências para recomendar fitormônios como substituto desta são insuficientes (11).

EFEITOS EM DOENÇA CARDIOVASCULAR E TROMBOFILIA

Os efeitos protetores dos estrogênios sobre a doença cardiovascular (DCV) são manifestos através das alterações lipídicas [diminuição de LDL e lipoproteína (a), aumento de HDL], efeitos vasculares, sobre resistência insulínica e progressão de placa de aterosclerose.

Desde 1940, a soja vem sendo investigada como agente redutor de colesterol, em vista da baixa incidência de DCV em países onde ela é consumida largamente na dieta. Contudo, nesses países também há baixa ingestão de gordura saturada (44), além de um estilo de vida bem diferente do ocidental.

Em outubro de 1999, o Food and Drug Administration (FDA) autorizou o anúncio, em embalagens de proteína de soja, que o produto diminuía risco cardiovascular, baseado em estudos que a adição de quantidades a partir de 25g/dia desse composto, como suplemento alimentar (contendo cerca de 50mg de isoflavonas), associado a dieta pobre em gordura levaram a redução de colesterol total e LDL.

Vincent e Fitzpatrick (45), em uma análise de vários estudos, constataram que, na maioria deles, dietas ricas em soja diminuem colesterol total, LDL e triglicerídeos. Ao contrário dos estrogênios, que diminuem o LDL e aumentam o HDL, raros autores

conseguiram demonstrar aumento de colesterol HDL com FE (11). A metanálise de 38 estudos realizada por Anderson e cols. (46) comprovou que 47g de proteína de soja/dia (contendo 100mg de isoflavonas) promoveu a redução de 9,3% no colesterol total, 19,9% no LDL e 10,5% em triglicerídeos e que mudanças no HDL e VLDL não foram significativas. Observou-se também que, quanto maior o colesterol total, maior o percentual de redução. Utilizando proteína de soja com doses diferentes de isoflavonóides, constataram-se efeitos sobre o lipidograma em doses a partir de 45mg (em torno de 25g de proteína de soja) por dia (47).

Após a extração com álcool, que retira as isoflavonas, a proteína de soja perde seu efeito hipolipemiante. Este procedimento retira também as saponinas e outros esteróis de plantas (48).

Pílulas ou extratos contendo 40 a 150mg ao dia de isoflavonas isoladas, comparadas a placebo também não apresentaram os efeitos redutores de colesterol da alimentação rica em soja e da suplementação alimentar com proteína de soja (49-52). Presume-se que para a eficácia hipolipemiante há necessidade do uso da soja integral.

Como efeito prejudicial sobre os lipídios, a proteína de soja aumenta a lipoproteína (a) [Lp(a)], fator de risco independente para DCV. Em 179 homens e mulheres saudáveis foi administrada proteína de soja e placebo durante 3 meses e apesar da diminuição de colesterol total e LDL em relação ao placebo, a Lp(a) aumentou 15% no grupo da soja (53), enquanto o uso de estrogênio reduz esta gordura em até 30%.

Há evidências que os mecanismos pelos quais a soja e sua proteína diminuem colesterol total e LDL vão além da ação no receptor estrogênico. Aventa-se aumento da degradação e depuração de colesterol através do aumento de secreção biliar, inibição da síntese de colesterol endógeno, *up-regulation* do receptor de colesterol, com aumento da expressão do RNAm para o receptor de LDL em células mononucleares, e aumento da função tireoidiana (11,54). Em ratos com *knock-out* para o receptor de LDL o efeito hipolipemiante da soja foi totalmente abolido (55).

O LDL-colesterol retirado de indivíduos que usam proteína de soja, parece ser também mais resistente à oxidação *in vitro* (56,57). Foi observada ação antioxidante da quercetina *in vitro*, o que poderia proteger contra o dano oxidativo ao LDL implicado na aterogênese. No entanto, a absorção deste flavonóide é pequena. Genisteína e daidzeína têm efeitos antioxidantes menos eficazes que a quercetina *in vitro* mas, como são melhores absorvidas, poderiam ser suficientemente biodisponíveis para agir *in vivo* (58).

O efeito inibidor de formação de peroxidase poderia ter implicações na DCV, na tumorigênese e também em relação ao funcionamento da tireóide (43).

Em macacas ooforectomizadas que utilizaram proteína de soja, comparadas a um grupo que usou caseína e albumina, houve menor resistência insulínica (59). Somente com a adição de estradiol, porém, a diminuição de resistência insulínica foi significativa, associada à diminuição da insulina de jejum, relação insulina/glicose, peso, gordura abdominal, menores partículas de LDL e menor conteúdo de ésteres de colesterol. O grupo de macacas com menor conteúdo de colesterol arterial foi o que usou dieta com soja associada à reposição de estradiol. Pesquisa em 939 mulheres pós-menopausa da população de Framingham (60) mostrou que, quanto maior o consumo alimentar de FE, menor o índice de síndrome metabólica.

Em macacos jovens sacrificados após 3 tipos de dieta por 14 meses (proteína animal, soja com ou sem FE) observou-se 90% menos aterosclerose no grupo de soja com FE em relação ao de proteína animal (61). Em estudo posterior, macacas pré-menopausadas foram alimentadas por 26 meses com dieta aterogênica. Após serem ooforectomizadas, continuaram com esta dieta associada à soja, com ou sem FE, ou estrogênios equinos conjugados (EEC) durante 36 meses. Após sacrifício observou-se menor aterosclerose ilíaca no grupo utilizando EEC, enquanto o grupo com FE foi intermediário em relação ao controle, mostrando claramente um melhor efeito anti-aterogênico do estrogênio em relação à soja (62). O autor refere que após a aterosclerose avançada o efeito de estrogênios ou soja na redução de placa é nulo.

Estudos sobre os efeitos vasoativos, responsáveis pela maior parcela dos benefícios CV dos estrogênios, através da liberação de óxido nítrico pelo endotélio, apresentam resultados contraditórios em função do tipo de isoflavona utilizada (49,63-65). Utilizando-se genisteína, 45 mg/dia durante 10 semanas, houve aumento de 26% na complacência arterial, sem mudança significativa no LDL (49), sugerindo que cada isoflavona isolada possa vir a ter um comportamento particular, desde que em doses extremamente altas. O relaxamento arterial parece ser devido ao bloqueio direto de canais de cálcio (66), embora não possa ser afastada ação no RE- β . Recentemente foram analisados os efeitos interativos da proteína de soja e estradiol na reatividade coronariana em 45 macacas ooforectomizadas submetidas a 4 tipos de intervenção: 1) dieta aterogênica à base de caseína e lactalbumina (grupo controle); 2) dieta aterogênica + estradiol micronizado (equivalente a 1mg/dia); 3) dieta com

proteína de soja (contendo o equivalente a 129mg/dia de fitoestrogênios); 4) dieta com proteína de soja + estradiol. Foram realizados angiografia quantitativa e Doppler intravascular após 6 meses, sendo analisados o diâmetro e fluxo coronariano em resposta à acetilcolina e nitroglicerina. As artérias dos grupos 2 e 4 dilataram $5\pm 3\%$ e $12\pm 5\%$, respectivamente ($p < 0,05$ vs. caseína), ocorrendo efeito interativo entre soja e estradiol, na resposta vasodilatadora à acetilcolina ($p < 0,05$). A proteína de soja isoladamente (grupo 3) não teve efeito significativo na reatividade coronariana ($p > 0,05$) (67).

O *red clover* tem maiores concentrações de formononetina e biochanina A e menores de genisteína e daidzeína. Parece não afetar lipoproteínas, mas melhora a complacência arterial medida por ultra-som em mulheres na pós-menopausa (68,69).

Não há estudos sobre o uso de isoflavonas em mulheres com passado de trombose venosa profunda ou fatores para trombofilia. Pesquisas *in vitro* demonstraram efeito inibidor de tirosina quinase, levando a menor fosforilação de tirosina presente nas plaquetas com conseqüente menor deposição e agregação plaquetária (70). Utilizando doses de genisteína a partir de 100 μ g/mL (20 vezes superiores às máximas possíveis de serem obtidas pela alimentação), demonstrou-se diminuição da formação de trombina em plaquetas incubadas (71) e inibição da agregação induzida por tromboxano A2 e análogos de colágeno (72). No entanto, o uso de 60g de proteína de soja por dia (120mg de isoflavonas) não apresentou qualquer efeito sobre agregação plaquetária *in vivo* (73).

Em suma, alimentação rica em soja ou a ingestão de proteína de soja a partir de 25g por dia parece ter um efeito benéfico na redução de colesterol LDL e triglicerídeos, independente de ação em receptor estrogênico. Também ocorrem efeitos aditivos aos benefícios vasodilatadores, moduladores da resistência insulínica e de diminuição de progressão de placa promovidos pelos estrogênios. A alimentação com soja poderia complementar a reposição estrogênica (74).

O mesmo não se aplica às isoflavonas purificadas, que *in vitro* demonstram ações que todavia não se traduziram em efeitos *in vivo*, não havendo, portanto, base para uso dessas substâncias no manejo de dislipemias ou proteção CV.

EFEITOS NA OSTEOPOROSE

A diminuição progressiva da massa óssea com o avançar da idade é um processo natural. As mulheres

têm, entretanto, maior incidência de fraturas osteoporóticas que os homens por terem menor pico de massa óssea e por sofrerem uma diminuição abrupta dos níveis de estrogênios na menopausa com conseqüente acentuação da perda de massa óssea (32).

A freqüência da osteoporose varia nas populações em diferentes regiões geográficas, com menor incidência em mulheres asiáticas que as dos países ocidentais (75). Mulheres japonesas têm menor risco de sofrerem fraturas de quadril que mulheres brancas (76). Postula-se que tal fato se deva a fatores como estatura, exercícios físicos, equilíbrio e o tipo de dieta adotada (incluindo consumo de FE e cálcio). Um estudo que comparou a taxa de fraturas em Hong-Kong e nos EUA, demonstrou que, em Hong-Kong, aos 85 anos, observa-se uma taxa de 1/3 das fraturas observadas nos EUA (77).

A substância ativa destes componentes chamados genericamente de FE parece ser a genisteína. Estudo em ratas ooforectomizadas observou incremento dos níveis séricos de osteocalcina (marcador de formação óssea oriunda dos osteoblastos) com o uso de genisteína, o mesmo não ocorrendo com as dosagens de D-piridinolina (marcador de atividade osteoclástica), que permaneceram inalteradas (78). Tal fato sugere uma ação precípua da genisteína na formação óssea e não anti-reabsortiva, como a ação dos estrogênios. Estes estudos preliminares deixam a desejar sobre o real mecanismo de ação destas substâncias e, mais ainda, se têm capacidade de elevar a densidade mineral óssea (DMO) e reduzir as taxas de fraturas, ações consideradas fundamentais para que qualquer medicamento voltado para a massa óssea consiga aprovação de órgãos reguladores, como o FDA.

Um estudo (54) que examinou o efeito da proteína de soja e FE na DMO de mulheres na pós-menopausa com hipercolesterolemia, randomizadas em três braços, utilizando 40g de proteínas, apresentava o seguinte desenho: 1) grupo com proteína de soja com alta concentração de isoflavonas; 2) grupo com proteína de soja com moderada concentração de isoflavonas; 3) grupo com caseína derivada do leite desnatado em pó. Apenas o grupo com altas concentrações de isoflavonas obteve algum benefício em termos de aumento da DMO na coluna lombar, o mesmo não se observando em outros sítios do esqueleto; os demais grupos não obtiveram alterações significativas da massa óssea.

Gallagher (79), estudando 65 mulheres na pós-menopausa em uso de 40g de proteínas de soja ao dia (contendo 90mg de isoflavonas), acompanhadas por 9 meses através de dosagens de marcadores ósseos a cada

3 meses e com a realização de densitometria óssea (DEXA) basal e após 9 meses, concluiu que não houve efeito sobre a massa óssea, tanto em termos de variação dos marcadores, como também quanto à DMO de coluna lombar e fêmur.

Outro trabalho, publicado por um grupo oriental (80), investigou 132 mulheres chinesas na faixa de 30 a 40 anos por 38 meses, analisando dados nutricionais através de questionários que continham uma avaliação precisa da quantidade de proteínas oriundas da soja (leite de soja e tofu, por exemplo), e realizando densitometria óssea aos 0, 12, 24 e 36 meses. O estudo concluiu que em mulheres na pré-menopausa uma maior ingestão destes alimentos relacionou-se diretamente com um significativo incremento e manutenção do pico de massa óssea na coluna lombar.

Evidências indiretas dos potenciais efeitos benéficos dos FE em relação ao metabolismo ósseo derivam de alguns estudos com a ipriflavona (7-isopropoxiisoflavona), um derivado sintético não hormonal produzido comercialmente da daidzeína, que demonstrou efeitos em reduzir a perda da massa óssea. A ipriflavona parece não agir diretamente através dos receptores de estrogênios (81). Aproximadamente 10% da ingestão desta substância é convertida em daidzeína (produto ativo) no organismo. A falta de ação estrogênica foi observada através de um estudo com 15 mulheres na pós-menopausa utilizando ipriflavona de 600 a 1.000mg ao dia por 21 dias, avaliando-se os níveis de LH, FSH e prolactina, além da citologia vaginal. Todos os achados apontaram para a ausência de qualquer ação estrogênica (82). Ainda não foram realizados estudos com doses mais elevadas.

A maioria dos estudos com ipriflavona foi realizado na Itália, Japão e Hungria. Este medicamento revelou inibir a atividade osteoclástica e a secreção de PTH. Foi também demonstrado aumento dos níveis de fosfatase alcalina e formação do colágeno com 5 metabolitos da ipriflavona *in vitro* (83).

Gambacciani e cols. (84) estudaram a ipriflavona acompanhada de TRHM em 4 grupos de mulheres por um período de 2 anos: 1) grupo apenas com 500mg de cálcio; 2) ipriflavona (600mg) e a mesma suplementação de cálcio; 3) estrogênios conjugados em doses baixas (0,3mg) mais cálcio; 4) ipriflavona (400mg) associada a estrogênios (0,3mg) e cálcio. O maior benefício encontrado em reduzir a perda da massa óssea foi no último grupo ($p < 0,05$).

Outro estudo controlado com placebo, em 98 mulheres com diagnóstico de osteoporose, utilizou 200mg de ipriflavona 3 vezes ao dia. Após 2 anos de tratamento o grupo placebo perdeu em média 3,5% da

massa óssea, enquanto no grupo da ipriflavona não apenas houve estabilização da perda como também um discreto incremento da massa óssea (85). Um grupo de 28 de mulheres italianas com idade superior a 65 anos, com osteoporose e evidência radiológica de pelo menos uma fratura vertebral, foi tratado com 600mg de ipriflavona e 1.000mg de cálcio de forma randomizada e duplo-cego (86). Após 12 meses houve um aumento de 6% na DMO do rádio distal ($p < 0,05$) no grupo com ipriflavona e nenhuma alteração no grupo placebo.

Em geral a ipriflavona é um derivado seguro. Por não ter ação estrogênica, parece não trazer benefícios quanto ao aparelho cardiovascular ou causar maiores preocupações em termos de potencial cancerígeno. Os estudos em termos da massa óssea são, na maioria, de dois anos e carecem de resultados definitivos em termos da redução de fraturas (objetivo principal de medicamentos neste campo). Estudos *in vitro* estão em andamento com os derivados de FE, como a genisteína e a daidzeína, na tentativa de comprovar acréscimo ósseo.

Concluimos esta breve revisão alertando para o fato de que até o presente não existem dados concretos na literatura que comprovem a utilidade do uso na prática clínica dos FE, tanto no que tange à prevenção, quanto ao tratamento de pacientes com diagnóstico estabelecido de osteoporose. Estudos prospectivos de longo prazo trarão respostas definitivas no futuro quando a sua real efetividade.

EFEITOS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL (SNC)

Em relação ao SNC, sabemos que os estrogênios estimulam a expressão de fatores neurotróficos e a produção de acetilcolina e serotonina. Quanto aos FE, os estudos de Patisaul e cols. (87,88) sugerem que as isoflavonas sejam antiestrogênicas, tanto para os RE- α como para os RE- β , bem como em relação ao comportamento estrogênio-dependente em ratas.

Em ratos machos, dietas contendo alta concentração de FE mudaram significativamente a estrutura da região cerebral sexualmente dimórfica (núcleo anteroventral periventricular) durante a vida adulta (89).

EFEITOS EM CÂNCER ESTROGÊNIO DEPENDENTE

Câncer do endométrio

O papel de fatores dietéticos no desenvolvimento de carcinoma (CA) do endométrio é de grande interesse, principalmente devido à grande diferença na incidên-

cia entre mulheres residentes no Ocidente e na Ásia. Vários estudos concluem que o consumo de cereais, frutas e vegetais frescos associa-se à diminuição de risco de desenvolver CA do endométrio. Interroga-se se este consumo modificaria favoravelmente o perfil hormonal das mulheres. A resposta tem sido controversa, assim como a relação da ingestão de fibras e diminuição dos níveis séricos de estradiol. Existem, no entanto, evidências de que o metabolismo do estradiol pode ser influenciado pelo consumo de dietas rica em gorduras; sua conversão a catecol-metabólitos menos ativos pode aumentar, quando se diminui o consumo de calorias em 25% (90).

Mulheres asiáticas que vivem na Ásia, têm 1/10 de risco de CA de endométrio quando comparadas com as caucasianas que vivem no Ocidente (91). Daí o interesse na dieta asiática como possível fator protetor. A dieta asiática é bem mais rica em fibras e em vegetais e pobre em gordura em relação a ocidental e isto inclui o consumo de vários produtos de soja (29).

Nestes estudos epidemiológicos, no entanto, têm-se que levar em conta outros fatores de risco para CA do endométrio, como: nuliparidade, uso de anticoncepcionais ou de drogas para fertilidade, uso de estrogênios isolados, história de diabetes ou hipertensão e obesidade (92).

Alguns trabalhos mostram que produtos à base de isoflavonas da soja podem baixar os níveis de estrogênios em mulheres caucasianas na menopausa, com diminuição de estrona, mas não do estradiol, além de um aumento de SHBG. Em contraste, na pré-menopausa podem aumentar os níveis de estradiol na fase folicular (93).

Isoflavonas interagem com os receptores de estrogênios e parecem ter efeitos agonistas e antagonistas aos estrogênios, dependendo do tecido envolvido e da quantidade circulante. Desde 1946, sabe-se de seus efeitos sobre a fisiologia no aparelho reprodutor dos mamíferos: infertilidade em ovelhas que pastavam em campos ricos destas substâncias na Austrália (94). Em 1966, Folman e Pope (95) mostraram que altas doses de genisteína têm efeito proliferativo sobre o útero de ratas, efeitos estes menores do que os dos estrogênios, podendo até diminuir sua ação se administrados simultaneamente. Elas se ligam ao receptor α , embora com menor afinidade que o estradiol. Em alta concentração podem vencer a competição pelo receptor. Sua interação com o receptor, no entanto, é complexa e sofre várias influências. Além dos efeitos mediados pelo receptor, também podem agir como antiestrogênios, inibindo a aromatase, inibindo a TPK, a α -redutase e aumentando a SHBG (95).

Em humanos, uma dieta rica em isoflavonas ou outros suplementos em mulheres menopausadas, não aumenta a espessura do endométrio ao ultra-som, mas os estudos em animais, mostram resultados contraditórios, havendo em alguns, com o uso de altas doses, efeitos proliferativos semelhantes aos dos estrogênios (29). Na literatura, há a descrição recente do caso de uma mulher na qual foi diagnosticado adenocarcinoma de endométrio grau 1, cuja história era notável pelo uso excessivo, nos 4 anos anteriores, de vários tipos de FE como suplementos (96).

Câncer de mama

No Japão, o usual é uma dieta rica em proteína de soja e mulheres japonesas têm a menor incidência de CA de mama do mundo. As japonesas que migram para os EUA, por exemplo, passam a apresentar uma incidência comparável às mulheres americanas (97). Têm-se relacionado o consumo de dieta rica em soja e baixa incidência de CA de mama na população asiática ao poder protetor desta alimentação (98). Outros pesquisadores afirmam que a incidência maior nas ocidentais deve-se ao alto consumo de gordura (45).

Os fitormônios presentes na soja agem como agonistas e antagonistas parciais dos estrogênios e podem inibir a proliferação de células cancerosas de mama, *in vitro*. *In vivo*, Hargreaves e cols. (99) concluem, em estudos com mulheres na pré-menopausa, que os FE têm um fraco efeito estrogênico em mama. Nenhum efeito antiestrogênico foi detectado. Estudos epidemiológicos não provam definitivamente a capacidade da soja de proteger contra o CA de mama (100).

Recentemente, Amato e cols. (101) demonstraram que ervas como Dong Quai e Ginseng têm ação estimuladora de células MCF-7 de CA de mama humano, independente da ligação aos receptores de estrogênios. A genisteína também estimula o crescimento das células MCF-7 (102).

Efeitos adversos

A presença dos xenormônios no ambiente tem causado preocupações sobre o impacto destas substâncias na saúde humana (103). A exposição se dá principalmente pela alimentação e as suas conseqüências estão longe de serem conhecidas, quer durante a vida intra-uterina, quer no desenvolvimento e suas repercussões na reprodução. O maior foco de atenção está sobre os xenoestrogênios; exposições a estes compostos podem ocorrer através de produtos industriais, pecuários e agrícolas.

Os efeitos do consumo de soja têm sido bastante discutidos. Sua ação em mulheres jovens e na pós-menopausa (47,104,105) incluem efeitos estrogênicos

e antiestrogênicos, aumento do intervalo do ciclo menstrual (106), indução da diferenciação celular no câncer, inibição das atividades da DNA-topoisomerase, atividades da topoisomerasetirose-quinase, inibição da tirosina quinase, supressão da angiogênese e efeitos antioxidantes (13). As pesquisas revelam, porém, que existem dúvidas quanto aos benefícios da utilização dos FE em relação aos seus riscos potenciais.

Foi descrita maior incidência de hipospádia (risco relativo= 4,99; intervalo de confiança= 2,10-11,88) em 7.928 meninos cujas mães seguiram uma dieta vegetariana rica em FE durante a gravidez (107). A exposição neonatal a dois FE, genisteína e zearelenona, altera a resposta pós-puberal do hipotálamo ao hormônio liberador das gonadotrofinas em ratos (108). A segurança das fórmulas baseadas em soja está sendo investigada devido a potencial ação hormonal dos FE em períodos críticos do desenvolvimento. São necessários mais dados sobre seus efeitos biológicos, excetuando-se o estudo sobre homeostase do colesterol, avaliado em estudo da concentração urinária de isoflavonas em crianças alimentadas com diferentes fórmulas (109).

Dois estudos de indução química de CA de mama, utilizando o clássico modelo animal, examinaram os efeitos tardios da exposição aos FE (110,111). Ratos pré-púberes e neonatos expostos a genisteína apresentaram mais tarde aumento da resistência à formação de tumor, sugerindo que a exposição confere proteção futura a indivíduos suscetíveis ao CA de mama. No entanto, Newbold e cols. (112) mostraram a carcinogênese da genisteína quando a exposição ocorre durante períodos de diferenciação (como, por exemplo, em fetos), recomendando que o uso de fórmulas infantis baseadas em soja e a fabricação de produtos de soja destinados a crianças deveriam ser mais profundamente estudados.

Existem evidências epidemiológicas e clínicas de que, ao atuar como estrogênios os fitormônios poderiam adiantar a puberdade e o desenvolvimento de mamas nas meninas antes dos 7 ou 8 anos e promover ginecomastia, que é o desenvolvimento de tecido mamário palpável nos meninos (113,114).

Estudos apontam para o risco de doença da tireóide em grandes consumidores de soja e usuários de suplementos de isoflavona, risco especialmente maior em crianças alimentadas exclusivamente com fórmulas de soja. Pesquisas observam que as isoflavonas são agentes anti-tireoidianos potentes, o que poderia afetar o crescimento normal e desenvolvimento. Adicionalmente, há estudos que indicam que a exposição à isoflavona pode causar doença crônica da

tireóide em crianças alimentadas com soja ou complementos de soja. Diversas pesquisas também correlacionam casos de ingestão de isoflavonas com o desenvolvimento de bócio (115).

Ikeda e cols. (116) apontam uma estreita relação entre o excesso de ingestão de soja e a deficiência de iodo no desenvolvimento de hiperplasia da tireóide em ratos. Realizaram um estudo em fêmeas de ratos, divididos em grupos (G): com 20% de glúten (G1), glúten iodo-deficiente (G2), com 20% de soja desengordurada (G3) e soja desengordurada iodo-deficiente (G4). Dosagens bioquímicas séricas revelaram aumento significativo da tiroxina nos G2 e G4, comparados ao G1 ($p < 0,05$). Por outro lado, o TSH estava aumentado nos G3 e G4 em relação ao G1 ($p < 0,01$). Isto foi particularmente notável para o TSH (ng/mL) no G4 em comparação aos outros. Histo logicamente, foi evidenciada marcante hiperplasia folicular difusa da tireóide no G4. A proliferação de antígenos nucleares das células foi mais alta nos G2 e G4 ($p < 0,05$) do que no G1. Ultraestruturalmente, importante desorganização e desarranjo mitocondrial esteve aparente nas células foliculares da tireóide do G4, com alterações também na hipófise. Estes resultados sugerem fortemente que uma dieta com soja desengordurada estimula sinergicamente o crescimento da tireóide em ratos com deficiência de iodo.

Persky e cols. (117) não encontraram evidências que indicassem alterações em valores de hormônios esteróides em mulheres pós-menopausadas após uso de isoflavonas. Apontam, entretanto, efeitos na tireóide, sugerindo maiores pesquisas investigativas dos possíveis efeitos de ação da soja.

Doerge e Sheehan (118) relataram que genisteína e daidzeína promovem inibição da tireoperoxidase, efeito independente do receptor estrogênico. Além deste dado ser consistente com efeitos anti-tireoidianos em animais e potencialmente em humanos, inclusive bócio, principalmente em situação de deficiência de iodo, pode representar um possível fator etiológico de CA de tireóide (119). Outros estudos, no entanto, apontam que o consumo de uma dieta baseada em soja poderia diminuir o risco de CA de tireóide (120).

Há evidência que as isoflavonas têm propriedades anti-cancerígenas. Outras investigações apontam que os FE, como a genisteína da soja, também possuem atuação estimulante do crescimento das células, especialmente as células da mama, o que aumentaria o risco de CA (102). A concentração de FE determina os efeitos da síntese de DNA no CA de mama em humanos (121,122).

Mulheres pré-menopausadas que consomem isoflavonas de soja por tempo prolongado mostraram um efeito estimulatório nas mamas, caracterizado por aumento de secreção de líquidos, aparecimento de células epiteliais hiperplásicas e níveis elevados de estradiol, sugerindo um estímulo estrogênico. O aumento significativo de risco de CA de mama também é atribuído aos xenoestrogênios e à genisteína, principalmente durante o crescimento e a adolescência (123,124).

Recentemente, foi mostrado o potencial da genisteína na estimulação de tumores estrogênio-dependentes em humanos com baixa circulação dos níveis de estrogênio, assim como nas mulheres pós-menopausadas (125).

Os óleos vegetais estão também ligados significativamente à ocorrência de CA de pulmão, estudo que reforça resultados similares em anterior estudo realizado na Coreia (126).

A genisteína inibe um grande número de diferentes enzimas, algumas das quais responsáveis pela síntese do estrogênio, incluindo as que convertem androgênios em estrona (aromatase) (127,128) e estrona em estradiol (17-HSD) (129). A genisteína é também uma potente inibidora da tirosina-quinase - enzima que transporta moléculas de fosfato de alta energia para o interior das células -, com o objetivo de acionar processos celulares como sua proliferação. As células cancerosas tendem a ativar a tirosina-quinase, portanto a genisteína tem demonstrado ser bastante útil no bloqueio da proliferação celular (130). Este efeito benéfico, entretanto, também pode ser adverso, pois as células normais também necessitam de atividade das tirosina-quinases. Isso inclui folículos capilares, neurônios da memória no cérebro, etc.

Em um estudo europeu publicado no ano passado (131), com 474 mulheres na pós-menopausa que usaram 200mg de ipriflavona 3 vezes ao dia associada a cálcio, comparado a mulheres que usaram apenas cálcio observou-se linfocitopenia menor que 500/ μ L em 13,2% das mulheres que usaram ipriflavona. Quando se suspendeu o uso da ipriflavona, algumas mulheres normalizaram sua taxa, outras demoraram alguns meses e outras não normalizaram. Estudo publicado este ano (132), sobre alterações imunológicas no timo induzidas por genisteína, mostrou que a injeção de genisteína em doses equivalentes às das formulas infantis de soja a ratas ooforectomizadas adultas provocou diminuição dose-dependente do peso do timo em até 80%, via mecanismos mediados pelo RE ou não. A genisteína duplicou a apoptose e causou diminuição na percentagem relativa dos tímócitos CD4(+)/CD8(-), acompanhada de diminuição das células esplênicas

CD4(+)CD8(-) e linfocitopenia sistêmica. Além disso, houve supressão da imunidade humoral.

Foram reportados efeitos colaterais em animais, como a infertilidade das ovelhas, que pastam em pastos ricos em soja na Austrália (133). Outras pesquisas demonstraram infertilidade em codornas e leopardos com dieta exageradamente rica em soja, que podem desenvolver uma síndrome semelhante à dos ovários policísticos.

ASPECTOS LEGAIS

A legislação referente à fitoterapia está sendo revisada e é objeto de seminários promovidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

CONCLUSÃO

Os fitormônios funcionam como agonistas ou antagonistas estrogênicos. São SERMS naturais que ocupam destaque no grupo de disruptores endócrinos. Até o momento, os estudos *in vitro* e *in vivo* não mostraram resultados consistentes e uniformes sobre se os FE poderiam mimetizar as ações estrogênicas em todos os órgãos-alvo. Estudos clínicos bem estruturados, a longo prazo, utilizando FE isoladamente contra placebo e também em associação com estradiol, são necessários a fim de se poder avaliar as ações sinérgicas ou antagonísticas.

Em doses altas, isoflavonas purificadas apresentaram efeitos via receptor de estrogênio e extra-receptor de potencial interesse. No entanto os discretos efeitos na síndrome climatérica e no metabolismo ósseo não preenchem os requisitos necessários para serem considerados alternativas à TRHM. A falta de informações sobre a segurança de seu uso e controle sobre seus efeitos, além da descrição de efeitos adversos, não recomendam a prescrição de isoflavonas isoladas.

A recomendação da TRHM baseada na soja integral também não apresenta bases científicas adequadas. Existem evidências insuficientes para a recomendação de qual tipo específico de FE, e em que dose, deva ser utilizado na prevenção ou tratamento de qualquer doença. O consumo moderado de alimentos ricos em FE, como a soja, entretanto, pode ser um hábito de vida saudável e benéfico, potencializando os efeitos da TRHM.

REFERÊNCIAS

1. Eldin S, Dunford A. **Herbal medicine in primary care.** Oxford:Butterworth-Heinemann, 1999.
2. Knight DC, Eden JA. A review of the clinical effects of phytoestrogens. **Obstet Gynecol** 1996;87:897-904.
3. de Lignieres B. Oral micronized progesterone. **Clin Ther** 1999;21:41-60: discussion 1-2.
4. Murkies AL, Wilcox G, Davis SR. Clinical review 92: Phytoestrogens. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:297-303.
5. Taylor M. Botanicals: medicines and menopause. **Clin Obstet Gynecol** 2001;44:853-63.
6. Liggins J, Bluck LJ, Runswick S, Atkinson C, Coward WA, Bingham SA. Daidzein and genistein content of fruits and nuts. **J Nutr Biochem** 2000;11:326-31.
7. Thompson LU, Robb P, Serraino M, Cheung F. Mammalian lignan production from various foods. **Nutr Cancer** 1991;16:43-52.
8. **Iowa State University Database on the Isoflavone Content of Foods:** USDA - United States Department of Agriculture, 1999.
9. Eldridge AC, Kwolek WF. Soybean isoflavones: effect of environment and variety on composition. **J Agric Food Chem** 1983;31:394-6.
10. Setchell KD, Brown NM, Desai P, Zimmer-Nechemias L, Wolfe BE, Brashear WT, et al. Bioavailability of pure isoflavones in healthy humans and analysis of commercial soy isoflavone supplements. **J Nutr** 2001;131:1362S-75S.
11. Glazier MG, Bowman MA. A review of the evidence for the use of phytoestrogens as a replacement for traditional estrogen replacement therapy. **Arch Intern Med** 2001;161:1161-72.
12. Fluker MR, Montemuro S. Canadian consensus on menopause and osteoporosis - Complementary approaches. **J Obstet Gynaecol Can** 2001;23:1204-13.
13. The role of isoflavones in menopausal health: consensus opinion of The North American Menopause Society. **Menopause** 2000;7:215-29.
14. Coward L, Barnes NC, Setchell KDR, Barnes S. The antitumoral isoflavones genistein and daidzein in soybean food of American and Asian diets. **J Agric Food Chem** 1993;41:1961-7.
15. Nachtigall L. Isoflavones in the management of menopause. **J Brit Menopause Soc** 2001;Suppl S1:8-11.
16. Izumi T, Piskula MK, Osawa S, Obata A, Tobe K, Saito M, et al. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. **J Nutr** 2000;130:1695-9.
17. Tapiero H, Ba GN, Tew KD. Estrogens and environmental estrogens. **Biomed Pharmacother** 2002;56:36-44.
18. Love RR, Wiebe DA, Newcomb PA, Cameron L, Leventhal H, Jordan VC, et al. Effects of tamoxifen on cardiovascular risk factors in postmenopausal women. **Ann Intern Med** 1991;115:860-4.
19. McDonnell DP. The molecular pharmacology of SERMs. **Trends Endocrinol Metab** 1999;10:301-11.
20. Greene GL, Gilna P, Waterfield M, Baker A, Hort Y, Shine J. Sequence and expression of human estrogen receptor complementary DNA. **Science** 1986;231:1150-4.

21. Kuiper GG, Enmark E, Pelto-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:5925-30.
22. Morito K, Aomori T, Hirose T, Kinjo J, Hasegawa J, Ogawa S, et al. Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors alpha and beta (II). *Biol Pharm Bull* 2002;25:48-52.
23. Jordan VC, Koch R, Bain RR. Prolactin synthesis by cultured rat pituitary cells: An assay to study estrogens, antiestrogens and their metabolites in vitro. In: McLachlan JA, ed. **Estrogens in the environment II: influences on development**. Proceedings of the symposium, Estrogens in the environment-influences on development, Raleigh, North Carolina, United States, April 10-12, 1985. New York:Elsevier, 1985:221-37.
24. de Lemos ML. Effects of soy phytoestrogens genistein and daidzein on breast cancer growth. *Ann Pharmacother* 2001;35:1118-21.
25. Peterson TG, Ji GP, Kirk M, Coward L, Falany CN, Barnes S. Metabolism of the isoflavones genistein and biochanin A in human breast cancer cell lines. *Am J Clin Nutr* 1998;68:1505S-11S.
26. Wu AH, Ziegler RG, Nomura AM, West DW, Kolonel LN, Horn-Ross PL, et al. Soy intake and risk of breast cancer in Asians and Asian Americans. *Am J Clin Nutr* 1998;68:1437S-43S.
27. Hopert AC, Beyer A, Frank K, Strunck E, Wunsche W, Vollmer G. Characterization of estrogenicity of phytoestrogens in an endometrial-derived experimental model. *Environ Health Perspect* 1998;106:581-6.
28. Markiewicz L, Garey J, Adlercreutz H, Gurbide E. In vitro bioassays of non-steroidal phytoestrogens. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993;45:399-405.
29. Hale GE, Hughes CL, Cline JM. Endometrial cancer: hormonal factors, the perimenopausal "window of risk", and isoflavones. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:3-15.
30. Naftolin F, Guadalupe Stanbury M. Phytoestrogens: are they really estrogen mimics? *Fertil Steril* 2002;77:15-7.
31. Patel RP, Boersma BJ, Crawford JH, Hogg N, Kirk M, Kalyanaraman B, et al. Antioxidant mechanisms of isoflavones in lipid systems: paradoxical effects of peroxyl radical scavenging. *Free Radic Biol Med* 2001;31:1570-81.
32. Tham DM, Gardner CD, Haskell WL. Clinical review 97: Potential health benefits of dietary phytoestrogens: a review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2223-35.
33. 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.
34. Maggiolini M, Bonfiglio D, Marsico S, Panno ML, Cenni B, Picard D, et al. Estrogen receptor alpha mediates the proliferative but not the cytotoxic dose-dependent effects of two major phytoestrogens on human breast cancer cells. *Mol Pharmacol* 2001;60:595-602.
35. Maskarinec G, Singh S, Meng L, Franke AA. Dietary soy intake and urinary isoflavone excretion among women from a multiethnic population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7:613-9.
36. Davis SR. Phytoestrogen therapy for menopausal symptoms? *BMJ* 2001;323:354-5.
37. 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;91:6-11.
38. Chung TK, Yip SK, Lam P, Chang AM, Haines CJ. A randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study on the effect of oral oestradiol on acute menopausal symptoms. *Maturitas* 1996;25:115-23.
39. Baird DD, Umbach DM, Lansdell L, Hughes CL, Setchell KD, Weinberg CR, et al. Dietary intervention study to assess estrogenicity of dietary soy among postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1685-90.
40. Simpkins JW, Singh M, Bishop J. The potential role for estrogen replacement therapy in the treatment of the cognitive decline and neurodegeneration associated with Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1994;15 Suppl 2:S195-7.
41. Murphy DD, Segal M. Regulation of dendritic spine density in cultured rat hippocampal neurons by steroid hormones. *J Neurosci* 1996;16:4059-68.
42. Wei H. Photoprotective action of isoflavone genistein: models, mechanisms, and relevance to clinical dermatology. *J Am Acad Dermatol* 1998;39:271-2.
43. Cai Q, Wei H. Effect of dietary genistein on antioxidant enzyme activities in SENCAR mice. *Nutr Cancer* 1996;25:1-7.
44. Knight DC, Eden JA. Phytoestrogens-a short review. *Maturitas* 1995;22:167-75.
45. Vincent A, Fitzpatrick LA. Soy isoflavones: are they useful in menopause? *Mayo Clin Proc* 2000;75:1174-84.
46. Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Engl J Med* 1995;333:276-82.
47. Cassidy A, Bingham S, Setchell K. Biological effects of isoflavones in young women: importance of the chemical composition of soyabean products. *Br J Nutr* 1995;74:587-601.
48. Anthony MS, Clarkson TB, Hughes CL, Jr., Morgan TM, Burke GL. Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkeys. *J Nutr* 1996;126:43-50.
49. Nestel PJ, Yamashita T, Sasahara T, Pomeroy S, Dart A, Komesaroff P, et al. Soy isoflavones improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal and perimenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3392-8.
50. Sirtori CR, Lovati MR. As proteínas da soja e a doença cardiovascular. *Current Atherosclerosis Reports Brasil* 2001;1:95-102.
51. Clarkson TB. Soy, soy phytoestrogens and cardiovascular disease. *J Nutr* 2002;132:566S-9S.
52. Dewell A, Hollenbeck CB, Bruce B. The effects of soy-derived phytoestrogens on serum lipids and lipoproteins in moderately hypercholesterolemic postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:118-21.

53. Teede HJ, Dalais FS, Kotsopoulos D, Liang YL, Davis S, McGrath BP. Dietary soy has both beneficial and potentially adverse cardiovascular effects: a placebo-controlled study in men and postmenopausal women. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:3053-60.
54. Potter SM, Baum JA, Teng H, Stillman RJ, Shay NF, Erdman JW, Jr. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. **Am J Clin Nutr** 1998;68:1375S-9S.
55. Kirk EA, Sutherland P, Wang SA, Chait A, LeBoeuf RC. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL receptor-deficient mice. **J Nutr** 1998;128:954-9.
56. Kapiotis S, Hermann M, Held I, Seelos C, Ehringer H, Gmeiner BM. Genistein, the dietary-derived angiogenesis inhibitor, prevents LDL oxidation and protects endothelial cells from damage by atherogenic LDL. **Arterioscler Thromb Vasc Biol** 1997;17:2868-74.
57. 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.
58. Wiseman H. The bioavailability of non-nutrient plant factors: dietary flavonoids and phyto-oestrogens. **Proc Nutr Soc** 1999;58:139-46.
59. 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.
60. de Kleijn MJ, van der Schouw YT, Wilson PW, Grobbee DE, Jacques PF. Dietary intake of phytoestrogens is associated with a favorable metabolic cardiovascular risk profile in postmenopausal U.S. women: the Framingham study. **J Nutr** 2002;132:276-82.
61. 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;17:2524-31.
62. Clarkson TB, Anthony MS, Morgan TM. Inhibition of postmenopausal atherosclerosis progression: a comparison of the effects of conjugated equine estrogens and soy phytoestrogens. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:41-7.
63. 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;6:7-13.
64. Hodgson JM, Puddey IB, Beilin LJ, Mori TA, Burke V, Croft KD, et al. Effects of isoflavonoids on blood pressure in subjects with high-normal ambulatory blood pressure levels: a randomized controlled trial. **Am J Hypertens** 1999;12:47-53.
65. Honore EK, Williams JK, Anthony MS, Clarkson TB. Soy isoflavones enhance coronary vascular reactivity in atherosclerotic female macaques. **Fertil Steril** 1997;67:148-54.
66. Figtree GA, Griffiths H, Lu YQ, Webb CM, MacLeod K, Collins P. Plant-derived estrogens relax coronary arteries in vitro by a calcium antagonistic mechanism. **J Am Coll Cardiol** 2000;35:1977-85.
67. Williams JK, Anthony MS, Herrington DM. Interactive effects of soy protein and estradiol on coronary artery reactivity in atherosclerotic, ovariectomized monkeys. **Menopause** 2001;8:307-13.
68. Nestel PJ, Pomeroy S, Kay S, Komesaroff P, Behrsing J, Cameron JD, et al. Isoflavones from red clover improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal women. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:895-8.
69. Howes JB, Sullivan D, Lai N, Nestel P, Pomeroy S, West L, et al. The effects of dietary supplementation with isoflavones from red clover on the lipoprotein profiles of post menopausal women with mild to moderate hypercholesterolaemia. **Atherosclerosis** 2000;152:143-7.
70. Wilcox JN, Blumenthal BF. Thrombotic mechanisms in atherosclerosis: potential impact of soy proteins. **J Nutr** 1995;125:631S-8S.
71. Hargreaves PG, Licking EF, Sargeant P, Sage SO, Barnes MJ, Farndale RW. The tyrosine kinase inhibitors, genistein and methyl 2,5-dihydroxycinnamate, inhibit the release of (3H)arachidonate from human platelets stimulated by thrombin or collagen. **Thromb Haemost** 1994;72:634-42.
72. Nakashima S, Koike T, Nozawa Y. Genistein, a protein tyrosine kinase inhibitor, inhibits thromboxane A2-mediated human platelet responses. **Mol Pharmacol** 1991;39:475-80.
73. 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;126:2000-6.
74. Lissin LW, Cooke JP. Phytoestrogens and cardiovascular health. **J Am Coll Cardiol** 2000;35:1403-10.
75. Cooper C, Campion G, Melton LJ, 3rd. Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. **Osteoporos Int** 1992;2:285-9.
76. Boulet MJ, Oddens BJ, Leher P, Vemer HM, Visser A. Climacteric and menopause in seven South-east Asian countries. **Maturitas** 1994;19:157-76.
77. Ho SC, Bacon WE, Harris T, Looker A, Maggi S. Hip fracture rates in Hong Kong and the United States, 1988 through 1989. **Am J Public Health** 1993;83:694-7.
78. Fanti P, Monier-Faugere MC, Geng Z, Schmidt J, Morris PE, Cohen D, et al. The phytoestrogen genistein reduces bone loss in short-term ovariectomized rats. **Osteoporos Int** 1998;8:274-81.
79. Gallagher JC, Rafferty K, Haynatzka V, Wilson M. The effect of soy protein on bone metabolism. **J Nutr** 2000;130:667s.
80. Ho SC, Chan SG, Yi Q, Wong E, Leung PC. Soy intake and the maintenance of peak bone mass in Hong Kong Chinese women. **J Bone Miner Res** 2001;16:1363-9.
81. Petilli M, Fiorelli G, Benvenuti S, Frediani U, Gori F, Brandi ML. Interactions between ipriflavone and the estrogen receptor. **Calcif Tissue Int** 1995;56:160-5.
82. Melis GB, Paoletti AM, Cagnacci A, Bufalino L, Spinetti A, Gambacciani M, et al. Lack of any estrogenic effect of ipriflavone in postmenopausal women. **J Endocrinol Invest** 1992;15:755-61.

83. Notoya K, Yoshida K, Taketomi S, Yamazaki I, Kumegawa M. Inhibitory effect of ipriflavone on osteoclast-mediated bone resorption and new osteoclast formation in long-term cultures of mouse unfractionated bone cells. **Calcif Tissue Int** 1993;53:206-9.
84. 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.
85. Adami S, Bufalino L, Cervetti R, Di Marco C, Di Munno O, Fantasia L, et al. Ipriflavone prevents radial bone loss in postmenopausal women with low bone mass over 2 years. **Osteoporos Int** 1997;7:119-25.
86. Passeri M, Biondi M, Costi D, Bufalino L, Castiglione GN, Di Peppe C, et al. Effect of ipriflavone on bone mass in elderly osteoporotic women. **Bone Miner** 1992;19 Suppl 1:S57-62.
87. Patisaul HB, Dindo M, Whitten PL, Young LJ. Soy isoflavone supplements antagonize reproductive behavior and estrogen receptor alpha- and beta-dependent gene expression in the brain. **Endocrinology** 2001;142:2946-52.
88. Patisaul HB, Melby M, Whitten PL, Young LJ. Genistein affects ER beta- but not ER alpha-dependent gene expression in the hypothalamus. **Endocrinology** 2002;143:2189-97.
89. Lephart ED, Adlercreutz H, Lund TD. Dietary soy phytoestrogen effects on brain structure and aromatase in Long-Evans rats. **Neuroreport** 2001;12:3451-5.
90. Longcope C, Gorbach S, Goldin B, Woods M, Dwyer J, Morrill A, et al. The effect of a low fat diet on estrogen metabolism. **J Clin Endocrinol Metab** 1987;64:1246-50.
91. Burke TW, Tortolero-Luna G, Malpica A, Baker VV, Whitaker L, Johnson E, et al. Endometrial hyperplasia and endometrial cancer. **Obstet Gynecol Clin North Am** 1996;23:411-56.
92. 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.
93. Duncan AM, Underhill KE, Xu X, Lavalleur J, Phipps WR, Kurzer MS. Modest hormonal effects of soy isoflavones in postmenopausal women. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:3479-84.
94. Bennetts HW, Underwood EJ, Shier SL. A specific breeding problem of sheep on subtterranean clover pasture in Western Australia. **Aust Vet J** 1946;22:2-12.
95. Folman Y, Pope GS. The interaction in the immature mouse of potent oestrogens with coumestrol, genistein and other utero-vaginitrophic compounds of low potency. **J Endocrinol** 1966;34:215-25.
96. Johnson EB, Muto MG, Yanushpolsky EH, Mutter GL. Phytoestrogen supplementation and endometrial cancer. **Obstet Gynecol** 2001;98:947-50.
97. Nadine GH, Fuqua JS. Phytoestrogens: Effects on the reproductive system. **The Endocrinologist** 2001;11:498-505.
98. Horn-Ross PL, John EM, Lee M, Stewart SL, Koo J, Sakoda LC, et al. Phytoestrogen consumption and breast cancer risk in a multiethnic population: the Bay Area Breast Cancer Study. **Am J Epidemiol** 2001;154:434-41.
99. Hargreaves DF, Potten CS, Harding C, Shaw LE, Morton MS, Roberts SA, et al. Two-week dietary soy supplementation has an estrogenic effect on normal premenopausal breast. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:4017-24.
100. Davis SR, Dalais FS, Simpson ER, Murkies AL. Phytoestrogens in health and disease. **Recent Prog Horm Res** 1999;54:185-210; discussion -1.
101. Amato P, Christophe S, Mellon PL. Estrogenic activity of herbs commonly used as remedies for menopausal symptoms. **Menopause** 2002;9:145-50.
102. Twaddle GM, Turbov J, Liu N, Murthy S. Tyrosine kinase inhibitors as antiproliferative agents against an estrogen-dependent breast cancer cell line in vitro. **J Surg Oncol** 1999;70:83-90.
103. Rosselli M, Reinhart K, Imthurn B, Keller PJ, Dubey RK. Cellular and biochemical mechanisms by which environmental oestrogens influence reproductive function. **Hum Reprod Update** 2000;6:332-50.
104. Keung WM. Dietary estrogenic isoflavones are potent inhibitors of beta-hydroxysteroid dehydrogenase of P. testosteroneii. **Biochem Biophys Res Commun** 1995;215:1137-44.
105. Arjmandi BH, Alekel L, Hollis BW, Amin D, Stacewicz-Sapuntzakis M, Guo P, et al. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. **J Nutr** 1996;126:161-7.
106. Kurzer MS. Hormonal effects of soy in premenopausal women and men. **J Nutr** 2002;132:570S-3S.
107. North K, Golding J. A maternal vegetarian diet in pregnancy is associated with hypospadias. The ALSPAC Study Team. Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. **BJU Int** 2000;85:107-13.
108. Whitten PL, Lewis C, Russell E, Naftolin F. Phytoestrogen influences on the development of behavior and gonadotropin function. **Proc Soc Exp Biol Med** 1995;208:82-6.
109. Cruz ML, Wong WW, Mimouni F, Hachey DL, Setchell KD, Klein PD, et al. Effects of infant nutrition on cholesterol synthesis rates. **Pediatr Res** 1994;35:135-40.
110. Murrill WB, Brown NM, Zhang JX, Manzoillo PA, Barnes S, Lamartiniere CA. Prepubertal genistein exposure suppresses mammary cancer and enhances gland differentiation in rats. **Carcinogenesis** 1996;17:1451-7.
111. Lamartiniere CA, Moore J, Holland M, Barnes S. Neonatal genistein chemoprevents mammary cancer. **Proc Soc Exp Biol Med** 1995;208:120-3.
112. Newbold RR, Banks EP, Bullock B, Jefferson WN. Uterine adenocarcinoma in mice treated neonatally with genistein. **Cancer Res** 2001;61:4325-8.
113. Teilmann G, Juul A, Skakkebaek NE, Toppari J. Putative effects of endocrine disrupters on pubertal development in the human. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab** 2002;16:105-21.
114. Goh SY, Loh KC. Gynaecomastia and the herbal tonic "Dong Quai". **Singapore Med J** 2001;42:115-6.
115. Fitzpatrick M. Soya in baby milks. **Pract Midwife** 1999;2:38.

116. Ikeda T, Nishikawa A, Imazawa T, Kimura S, Hirose M. Dramatic synergism between excess soybean intake and iodine deficiency on the development of rat thyroid hyperplasia. **Carcinogenesis** 2000;21:707-13.
117. Persky VW, Turyk ME, Wang L, Freels S, Chatterton R, Jr., Barnes S, et al. Effect of soy protein on endogenous hormones in postmenopausal women. **Am J Clin Nutr** 2002;75:145-53.
118. Doerge DR, Sheehan DM. Goitrogenic and estrogenic activity of soy isoflavones. **Environ Health Perspect** 2002;110 Suppl 3:349-53.
119. Divi RL, Chang HC, Doerge DR. Anti-thyroid isoflavones from soybean: isolation, characterization, and mechanisms of action. **Biochem Pharmacol** 1997;54:1087-96.
120. Horn-Ross PL, Hoggatt KJ, Lee MM. Phytoestrogens and thyroid cancer risk: the San Francisco Bay Area thyroid cancer study. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 2002;11:43-9.
121. McMichael-Phillips DF, Harding C, Morton M, Roberts SA, Howell A, Potten CS, et al. Effects of soy-protein supplementation on epithelial proliferation in the histologically normal human breast. **Am J Clin Nutr** 1998;68:1431S-5S.
122. Wang C, Kurzer MS. Phytoestrogen concentration determines effects on DNA synthesis in human breast cancer cells. **Nutr Cancer** 1997;28:236-47.
123. Petrakis NL, Barnes S, King EB, Lowenstein J, Wiencke J, Lee MM, et al. Stimulatory influence of soy protein isolate on breast secretion in pre- and postmenopausal women. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 1996;5:785-94.
124. Dees C, Foster JS, Ahamed S, Wimalasena J. Dietary estrogens stimulate human breast cells to enter the cell cycle. **Environ Health Perspect** 1997;105 Suppl 3:633-6.
125. Hsieh CY, Santell RC, Haslam SZ, Helferich WG. Estrogenic effects of genistein on the growth of estrogen receptor-positive human breast cancer (MCF-7) cells in vitro and in vivo. **Cancer Res** 1998;58:3833-8.
126. Shields PG, Xu GX, Blot WJ, Fraumeni JF, Jr., Trivers GE, Pellizzari ED, et al. Mutagens from heated Chinese and U.S. cooking oils. **J Natl Cancer Inst** 1995;87:836-41.
127. Kao YC, Zhou C, Sherman M, Laughton CA, Chen S. Molecular basis of the inhibition of human aromatase (estrogen synthetase) by flavone and isoflavone phytoestrogens: A site-directed mutagenesis study. **Environ Health Perspect** 1998;106:85-92.
128. Pelissero C, Lenczowski MJ, Chinzi D, Davail-Cuisset B, Sumpster JP, Fostier A. Effects of flavonoids on aromatase activity, an in vitro study. **J Steroid Biochem Mol Biol** 1996;57:215-23.
129. Krazeisen A, Breitling R, Moller G, Adamski J. Phytoestrogens inhibit human 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 5. **Mol Cell Endocrinol** 2001;171:151-62.
130. Clark JW, Santos-Moore A, Stevenson LE, Frackelton AR, Jr. Effects of tyrosine kinase inhibitors on the proliferation of human breast cancer cell lines and proteins important in the ras signaling pathway. **Int J Cancer** 1996;65:186-91.
131. Alexandersen P, Toussaint A, Christiansen C, Devogelaer JP, Roux C, Fechtenbaum J, et al. Ipriflavone in the treatment of postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. **JAMA** 2001;285:1482-8.
132. Yellayi S, Naaz A, Szweczykowski MA, Sato T, Woods JA, Chang J, et al. The phytoestrogen genistein induces thymic and immune changes: a human health concern? **Proc Natl Acad Sci U S A** 2002;99:7616-21.
133. Adams NR. Permanent infertility in ewes exposed to plant oestrogens. **Aust Vet J** 1990;67:197-201.

Endereço para correspondência:

Ruth Clapauch
Av. das Amércias, 500 - bloco 16, loja 107
22640-100 Rio de Janeiro, RJ
Telefax: (021) 2493-0963
e.mail: rclapauch@openlink.com.br