

LUIS PAULO GALVÃO WOLFF

**AVALIAÇÃO DO ENDOMÉTRIO EM
MULHERES MENOPAUSADAS APÓS
A UTILIZAÇÃO DE ISOFLAVONAS**

Dissertação de Mestrado

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. ILZA MARIA URBANO MONTEIRO

**UNICAMP
2005**

LUIS PAULO GALVÃO WOLFF

**AVALIAÇÃO DO ENDOMÉTRIO EM
MULHERES MENOPAUSADAS APÓS
A UTILIZAÇÃO DE ISOFLAVONAS**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Pós-Graduação da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do Título de
Mestre em Tocoginecologia, área de
Tocoginecologia

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. ILZA MARIA URBANO MONTEIRO

**UNICAMP
2005**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

W832a Wolff, Luis Paulo Galvão
 Avaliação do endométrio em mulheres
 menopausadas após a utilização de isoflavonas/
 Luis Paulo Galvão Wolff. Campinas, SP: [s.n.],
 2005.

 Orientador : Ilza Maria Urbano Monteiro
 Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual
 de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

 1. Endométrio. 2. Menopausa. 3. Fitoterapia.
 I. Ilza Maria Urbano Monteiro. II. Universidade
 Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências
 Médicas. III. Título.

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno: LUIS PAULO GALVÃO WOLFF

Orientadora: Prof^a. Dr^a. ILZA MARIA URBANO MONTEIRO

Membros:

1.

2.

3.

**Curso de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade
de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas**

Data: 23/02/2005

Dedico este trabalho ...

...a minha família:

*Almério e Maria Antônia, meus pais.
“Nortearam meus caminhos com seus próprios exemplos,
permitindo-me dar mais um passo;
Apoiaram-me e incentivaram-me a sempre poder melhorar”.*

*Luciana, Eliana, Juliana e Paulo Augusto, meus irmãos.
“Sempre presentes, mesmo em situações difíceis;
Incentivaram-me e serviram-me de exemplo”.*

*Ana Carolina, minha filha.
“Minha princesa, minha vida;
Ilumina-me em momentos oportunos,
dando forças para prosseguir”.*

*Valéria, minha esposa.
“Começamos juntos este caminho;
Sempre foi e sempre será minha companheira,
em todos os momentos.
Um pedaço da minha vida”.*

...aos meus professores:

Prof. Dr. Antonio Rozas
“Despertou-me o interesse pela Ginecologia e Obstetrícia;
Ensinou-me os primeiros passos”.

In memoriam

Prof. Dr. Paulo Schmidt Goffi
“Exemplo de médico e profissional;
Influenciou-me durante a formação médica;
Deixou belas lembranças no meio acadêmico”.

Agradecimentos

Prof.^a. Dra. Ilza Maria Urbano Monteiro

*“Minha orientadora, à qual devo uma parcela deste trabalho
Sempre prestativa, nunca me negou auxílio
Grande amiga”.*

Prof. Dr. Marcos Roberto Martins

*“Colaborou de forma desprendida na análise histológica das amostras da pesquisa,
possibilitando a conclusão com êxito deste trabalho”.*

Prof.^a. Dr.^a Ellen Elizabeth Hardy

*“Austeridade e perseverança nos ensinamentos.
Iniciou meu aprendizado na pós-graduação
Consolidou meu interesse pela pesquisa”.*

Prof.^a. Dr.^a. Sophie Françoise Mauricette Derchain

*“Ensinou que cativar a atenção das pessoas depende de nós mesmos
Mais que uma professora: um exemplo”.*

Prof. Dr. Aarão Mendes Pinto-Neto

*“Sempre disposto, ajudou clareando minhas idéias. Suas correções no projeto de
pesquisa foram essenciais para o desempenho deste trabalho. Acolheu-me como
amigo e incentivou-me nesta dissertação”.*

Prof.^a. Dr.^a. Arlete Fernandes

*“Agradecimentos pela ajuda nas correções durante a qualificação”
Suas opiniões ajudaram a lapidar este trabalho”.*

Prof.^a. Dr.^a. Maria Salete Costa Gurgel

*“Suas correções auxiliaram no aperfeiçoamento deste trabalho
Agradecimentos pela ajuda”.*

Prof. Dr. Ailton Augustinho Marchi

*“Amigo, professor e companheiro de jornada;
Participou conjuntamente das incertezas e dúvidas;
Sempre presente, exemplo de profissional”.*

Prof. Dr. José Guilherme Cecatti
“Dedicou-se em explicar assuntos complexos;
Sempre presente e oportuno”.

Prof. Dr. Luiz Carlos Zeferino
“Como professor, um exemplo;
Agradecimentos pelos ensinamentos”.

Profa. Dr^a. Maria José Duarte Osis
“Ajudou-me a entender a metodologia científica;
Eternamente grato pelo incentivo”.

Prof. Dr. Carlos Alberto Petta
“Tranqüilamente, lapidou as arestas;
Auxiliou-me na compreensão e no desenvolvimento deste projeto”.

Profa. Dr^a. Maria Júlia Ferreira Xavier Ribeiro, Pró-reitora de Pesquisa e Pós-graduação da Universidade de Taubaté
“Colaborou com incentivo financeiro, facilitando, portanto, o desenvolvimento da pesquisa”.

Sr. Moisés Lopes, representante do Laboratório Marjan
“Sem sua colaboração não seria possível o término deste estudo em tempo hábil;
De forma dedicada, colaborou com o fornecimento dos medicamentos. Sempre prestativo”.

Sr. Samyr Elias Abrahão, setor de finanças – CAISM/UNICAMP
“Colaborou para que as contas e relatórios financeiros fossem impecáveis.
Auxiliou-me nos orçamentos e orientou-me na elaboração dos relatórios”.

Prof. Dr. Xenofonte Paulo Rizzardi Mazzini; Professor Titular da Disciplina de Tocoginecologia
“Apoiou-me no desenvolvimento deste projeto de pesquisa, colaborando sempre para o meu crescimento profissional”.

A todos os colegas da pós-graduação
“Juntos passamos por momentos felizes e difíceis;
Desejo sucesso a todos, e tenho certeza de que atingirão seus objetivos”.

A todos colaboradores da Astec
“Pelo auxílio, paciência e tolerância frente a minha ansiedade;
Por estarem sempre prestativos e dispostos a ajudar”.

Aos amigos Edson Zangiacomi Martinez, Gislaine Aparecida Fonsechi-Carvasan e Sirlei Siani Moraes
“Porque tiveram interesse em explicar e paciência para repetir;
A análise estatística torna-se difícil se não tivermos apoio de pessoas assim”.

*Aos amigos do Serviço de Anatomopatologia da Universidade de Taubaté
“Demonstraram interesse, sempre prestativos;
Entenderam minhas interrogações e solicitações”.*

*À Prefeitura Municipal de Pindamonhangaba
“Possibilitou a realização da pesquisa em suas dependências entendendo eventuais
atrasos e faltas”.*

*Faculdade de Medicina da Universidade de Taubaté
“Pelo acolhimento e apoio financeiro que possibilitou a realização desta pesquisa;
Permitiu-me que realizasse o sonho de ser professor”.*

*Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas
Departamento de Tocoginecologia
“Onde adquiri conhecimento e novos amigos;
Será sempre uma referência em minha vida”.*

*Às mulheres que aceitaram participar desta pesquisa
“Meus mais sinceros agradecimentos e certeza que
o mundo somente se torna melhor devido a pessoas assim”.*

*À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de
São Paulo, financiadora deste projeto
“Pelo apoio fornecido por esta instituição de fomento que visa o
aperfeiçoamento tecnológico e científico do país, sempre
auxiliando no desenvolvimento de novas pesquisas de qualidade”.*

...“Senti e experimentei não ser para admirar que o pão, tão saboroso ao paladar saudável, seja enjoativo ao paladar enfermo, e que a luz, amável aos olhos límpidos, seja odiosa aos olhos doentes”

Santo Agostinho (Liv. IV, cap.16)

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas	xii
Resumo	xiv
Summary	xvi
1. Introdução.....	18
2. Objetivos.....	34
2.1. Objetivo geral	34
2.2. Objetivos específicos	34
3. Sujeitos e Métodos	35
3.1. Desenho do estudo	35
3.2. Tamanho amostral	35
3.3. Variáveis.....	36
3.3.1. Variáveis dependentes.....	37
3.3.2. Variáveis independentes.....	37
3.4. Seleção dos Sujeitos.....	38
3.5. Critérios de inclusão.....	39
3.6. Critérios de exclusão.....	40
3.7. Técnicas, testes e exames.....	40
3.8. Instrumentos para coleta de dados.....	44
3.9. Coleta de dados	44
3.10. Acompanhamento dos sujeitos.....	45
3.11. Critérios de descontinuação	46
3.12. Processamento e análise dos dados.....	46
3.13. Aspectos éticos.....	46
4. Resultados.....	49
5. Discussão	57
6. Conclusões.....	66
7. Referências Bibliográficas	67
8. Bibliografia de Normatizações	79
9. Anexos	80
9.1. Anexo 1	80
9.2. Anexo 2	81
9.3. Anexo 3	82
9.4. Anexo 4	83
9.5. Anexo 5	84
9.6. Anexo 6	88
9.7. Anexo 7	89
9.8. Anexo 8	91

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

%	Porcentagem
α	Erro tipo I – Critério estatístico
β	Erro tipo II – Critério estatístico
μm	Micrômetro
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AF2	Segmento do RE compreendendo a região E/F
AFI	Segmento do RE compreendendo a região A/B
C^3	Radical 3 do Átomo de Carbono
CO_2	Dióxido de Carbono
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
EGF	Fator de Crescimento Celular Epidérmico
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FSH	Hormônio Folículo-Estimulante
HUT	Hospital Universitário de Taubaté
IC	Intervalo de Confiança
IMC	Índice de Massa Corpórea
Kg/m^2	Quilograma por Metro ao Quadrado

LE	Linha Endometrial
MHz	Megahertz
mm	Milímetro(s)
Mol/l	Mol por Litro
MWS	<i>Million Women's Study</i>
NANS	<i>North American Menopause Society</i>
°C	Graus Celsius
O-DMA	O-des-metil Angilensina
PDGF	Fator de Crescimento Celular Plaquetário
pg/ml	Picograma por Mililitro
PMP	Prefeitura Municipal de Pindamonhangaba
PTK	Proteína Tirosina Quinase
p-valor	Probabilidade de Significância Estatística
REα	Receptor Estrogênico Alfa
REβ	Receptor Estrogênico Beta
RNAm	Ácido Ribonucléico mensageiro
SERM	<i>Selective Estrogen Receptor Modulator</i>
TGF	Fator de Crescimento Celular Tumoral
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral α
U/l	Unidades Internacionais por Litro
Unicamp	Universidade Estadual de Campinas
WHI	<i>Women's Health Initiative</i>

Resumo

Introdução: O hipoestrogenismo após a menopausa associa-se a diversos distúrbios como sintomas vasomotores, doenças cardiovasculares, osteoporose e alterações urogenitais. Nesta fase, a reposição hormonal pode amenizar algumas conseqüências do hipoestrogenismo. Porém, o estrogênio pode ocasionar efeitos adversos tais como mastalgia, sangramentos uterinos irregulares e também aumentar o risco relativo para neoplasias de mama e endométrio, sobretudo quando utilizado por longo período. As isoflavonas, produtos derivados da soja, estão sendo utilizadas por mulheres que não podem ou não querem realizar o tratamento convencional com hormônios no climatério. Sugere-se que possam promover efeitos seletivos determinando ação estrogênica em determinados tecidos (por exemplo, tecidos ósseo e cardiovascular) e antiestrogênica em outros (endométrio e mama). Entretanto, existem muitas dúvidas e poucas informações a respeito da resposta do endométrio ao uso das isoflavonas, o que torna necessária sua avaliação. **Objetivo:** Avaliar o endométrio de mulheres menopausadas antes e após seis meses de uso de isoflavonas totais. **Sujeitos e métodos:** Foi realizado um ensaio clínico não controlado, do tipo antes e depois em 32 mulheres

na pós-menopausa, com idade entre 40 e 60 anos. Estas mulheres receberam 80mg por dia de isoflavonas totais provenientes do *Trifolium pratense* (Climadil®) durante seis meses, e foram avaliadas no início e no final do tratamento através de ultra-sonografia pélvica transvaginal, histeroscopia e biópsia endometrial.

Análise dos dados: Os dados coletados foram registrados em um programa através do *software* Epi Info, versão 6,04b. A análise dos dados foi realizada pelo programa estatístico SAS versão 8,2, considerando um nível de significância (α) de 0,05 e um poder ($1-\beta$) de 0,80. Para estudar a variação média da espessura endometrial, a variação dos achados histeroscópicos e histológicos, entre os instantes iniciais e após a intervenção, foi utilizado o teste *t de Student* para dados pareados.

Resultados: Dentre as 32 mulheres que participaram do estudo, seis apresentaram sangramento vaginal e três apresentaram alterações endometriais quando comparados aos exames iniciais. Duas mulheres desenvolveram proliferação endometrial e uma, hiperplasia endometrial. Não houve alterações significativas em relação ao espessamento endometrial ao ultra-som.

Conclusão: Neste estudo, três mulheres que utilizaram isoflavonas durante seis meses apresentaram estímulo endometrial.

Summary

Introduction: After menopause, hypoestrogenism is associated to several disturbances such as hotflushes symptoms, cardiovascular diseases, osteoporosis and urogenital atrophy. The hormone replacement can attenuate some hypoestrogenism consequences. However, estrogen presents adverse effects such as irregular uterine bleeding and it can increase the relative risk for breast or endometrium cancer mainly when used for long time. Isoflavones, a soybean by product, are being used by women who can not or do not wish to use hormone conventional treatments after menopause. Besides that, it is suggested that hormones can promote selective effects by determining estrogenic action for certain tissues (e. g. bone and cardiovascular tissues) and anti-estrogenic action for other tissues (endometrium and breast). However there are many doubts and little information about endometrium response to isoflavones thus the need of pertaining evaluation.

Objetive: To evaluate menopause women endometrium before and after six months of total isoflavone use. **Subjects and methods:** A non-controlled clinical, type “before and after” trial was carried out for 32 post-menopause women, aged between 40 and 60 years old. These women received 80mg/day of total

isoflavones obtained from *Trifolium pratense* (Climadil®) during six months and they were evaluated at the beginning and end of treatment by transvaginal pelvic ecography, hysteroscopy and endometrial byopsis. **Data analysis:** The collected data were registered by means of the Epi info, version 6.04b software data analysis by means of the SAS version 8.2 statistics program, considering a significance level (α) of 0.05 and 0.80 power ($1-\beta$). In order to study the average endometrium thickness variation, the hysteroscopic and hystologic findings variation, was used the t test of Student for paired data. **Results:** Among the 32 group participant women, six have presented vaginal bleeding and three women have presented endometrial alteration when compared to initial exams. Two of the women have developed endometrial cell proliferation and one of them endometrial hiperplasia. There were no significant alterations in relation to endometrial thickness. **Conclusion:** In this study, three women who have used isoflavones during the six month period presented endometrial activity.

1. Introdução

A menopausa, definida clinicamente como último fluxo menstrual, é um evento natural que ocorre em mulheres com idade em torno dos cinquenta anos, decorrente da falência gonadal e caracterizada por deficiência de hormônios esteróides. Esta falência ovariana determina um estado hipoestrogênico, podendo ocasionar diversos distúrbios como sintomas vasomotores, doenças cardiovasculares, osteoporose, alterações urogenitais e distúrbios cognitivos (FERREIRA, 1999; NAVARRO et al., 2001). A utilização de estrogênio e progesterona, com o objetivo de proporcionar alívio destes sintomas, tornou-se bastante difundida nas últimas décadas (FERREIRA, 1999). Os estrogênios, entretanto, podem ocasionar efeitos adversos e prejudiciais como mastalgias, sangramentos uterinos irregulares, além de poderem aumentar o risco relativo para neoplasias de mama (COLDITZ, 1998) e endométrio (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2004).

Vários estudos recentes demonstraram a relação existente entre a utilização de hormônios e a neoplasia de mama, como o *Women's Health Initiative* (WHI),

que foi um ensaio clínico randomizado sobre prevenção primária de doença cardiovascular em usuárias de hormônios.

Demonstrou-se um risco relativo de câncer de mama de 1,26, ou seja, o correspondente a um aumento de 26% do risco absoluto (WRITING GROUP FOR THE WHI INVESTIGATORS, 2002; HAYS et al., 2003).

Outro estudo sobre a associação entre terapia hormonal e câncer de mama foi o *Million Women's Study* (MWS) realizado no Serviço Nacional de Saúde do Reino Unido, que também observou risco aumentado de câncer de mama, não somente nas usuárias de esquemas hormonais estroprogestativos combinados contínuos, mas também nas usuárias de estrogênios isolados e de tibolona (GARNET et al., 2003).

A partir destas observações, a fobia em relação às neoplasias, além das já conhecidas contra-indicações e intolerâncias medicamentosas, tem aumentado a não aceitação do tratamento hormonal. Nestes casos, têm-se procurado utilizar medicamentos alternativos no sentido de promover alívio dos sintomas climatéricos. Dentre estes novos medicamentos, utilizados com o objetivo de amenizar alguns dos efeitos adversos dos estrogênios, encontram-se drogas com ações seletivas para determinados órgãos e tecidos denominadas *Selective Estrogen Receptor Modulators* (SERMS). Em alguns órgãos estas drogas podem exercer ações estrogênicas, por exemplo, tecidos ósseo e cardiovascular e antiestrogênicas em outros, como endométrio e mama (GOLDFRANK et al., 1999; BARRET-CONNOR et al., 2002).

Outro grupo de drogas que têm sido utilizadas na pós-menopausa, provenientes da extração de plantas e que podem apresentar efeito estrogênico, é denominado fitoestrogênios (ALLRED et al., 2001). Os fitoestrogênios são substâncias não esteróides obtidas exclusivamente a partir de matérias-primas vegetais, apresentam ação estrogênica fraca e demonstram benefícios comprovados para os usuários nas finalidades profilática, diagnóstica e curativa (BRASIL, 2000).

As primeiras descrições de atividade estrogênica promovida por vegetais datam da década de 20. Desde a década de 40, com o relato de alterações na fertilidade de rebanhos de ovelhas australianas que ingeriram o trevo vermelho na pastagem (*Red Clover*), planta que contém grande quantidade de isoflavonas, os estudos se intensificaram (BENNETS et al., 1946). Baseados em dados epidemiológicos surgiram evidências sobre a menor ocorrência de sintomas climatéricos e também menor incidência de neoplasias de mama, próstata e endométrio em países asiáticos. Isto sugeriu que a dieta rica em fitoestrogênios, principalmente derivados da soja, seria responsável por estes efeitos (ALVES e SILVA, 2002). Desta forma, ocorreu um aumento no interesse da ação que estas substâncias poderiam exercer nos diversos órgãos e tecidos, desencadeando vários estudos no sentido de esclarecer a real atuação dos fitoestrogênios no organismo humano.

Os fitoestrogênios são classificados em quatro grandes grupos: esteróis, terpenóides, saponinas e fenólicos. Dentro do grupo fenólico, encontram-se as isoflavonas, lignanos, coumestanos, flavanóis, favonas, chalconas e os esteróis (ALVES e SILVA, 2002).

Os fitoestrogênios são substâncias que apresentam em comum aos esteróides um anel fenólico que parece ser pré-requisito para que ocorra a ligação com receptores estrogênicos (ALVES e SILVA, 2002). Este anel fenólico também está presente nos estrogênios (VILLELA et al., 1961; KUIPER et al., 1998) e é caracterizado pela presença do grupo hidroxila em C₃ (VILLELA et al., 1961). A estrutura molecular do estrogênio, contendo seus anéis aromáticos e o grupo hidroxila, contribui significativamente para seletividade na ligação com o receptor (KUIPER et al., 1998) (Anexo 1).

As isoflavonas, coumestanos, flavonas e lignanos são os fitoestrogênios mais conhecidos. Normalmente um único vegetal pode conter várias classes de fitoestrogênios. As isoflavonas apresentam-se entre as classes que possuem maior atividade estrogênica e são encontradas em vários vegetais e produtos manufaturados. Alguns produtos que são fontes de isoflavonas e suas concentrações em miligramas (mg), por 100g do produto, são descritos a seguir: gérmen de grãos da soja (151,17), flor da soja (148,61), proteína da soja isolada (97,43), sopa de missô (60,39), tempeh (43,52), tofu (27,91), leite de soja (9,65), lentilha (0,01) e outros, como brotos de alfafa e sementes de linhaça (USDA, 1999).

Dentre as isoflavonas, os principais compostos são formados por genisteína (4',5,7-trihidroxisoflavona), dadzeína (4',7-dihidroxisoflavona), biochanina A (4'-methoxi-5,7-dihidroxisoflavona) e formononetina (4'-metoxi-7-hidroxisoflavona) (NACHTIGALL, 2001; WENDER e CAMPOS, 2001; LETHABY et al., 2002) (Anexo 1).

As isoflavonas encontradas principalmente nos vegetais e leguminosas apresentam-se biologicamente inativas, ligadas a uma molécula de açúcar, sob as formas de malonil e β -glicosídeo. Após o processamento industrial ou o metabolismo orgânico, com a remoção do resíduo de açúcar (flavona), são formados os derivados ativos denominados acetil e agliconas. No organismo a remoção desta molécula de açúcar ocorre através de uma biotransformação em nível intestinal denominada desconjugação, promovida pela ação da glucoroniltransferase e sulfotransferase. Este metabolismo promove a formação de fenóis heterocíclicos, que conferem a biodisponibilidade intestinal (DORNSTAUDER et al., 2001; ALVES e SILVA, 2002).

Parte destas formas ativas serão absorvidas como isoflavonas livres e exercerão suas atividades no organismo, e a outra será fermentada e transformada em metabólitos, sendo a daidzeína convertida em equol e O-des-metil-angilensina (O-DMA) e a genisteína convertida em p -ethyl phenol. Estas substâncias poderão ser excretadas ou absorvidas no intestino, exercendo também atividade metabólica (DORNSTAUDER et al., 2001; ALVES e SILVA, 2002).

As formas ativas, genisteína e daidzeína, também podem ser derivadas de precursores como a biochanina A e formononetina respectivamente, através de demetilação hepática. A excreção ocorre principalmente por via renal, sendo que uma pequena parte é eliminada através da vesícula biliar e intestino (ALVES e SILVA, 2002).

As ações das isoflavonas nos tecidos alvos parecem ocorrer através de dois mecanismos classificados como genômico e não genômico. Os efeitos expressos pelo mecanismo genômico são determinados pela ligação com receptores nucleares e podem ser tanto estrogênico como antiestrogênico (DORNSTAUDER et al., 2001). O mecanismo não genômico, por outro lado, é observado através da proliferação celular e da inibição enzimática. Estas ações parecem estar relacionadas à ação inibitória da fosforilação da proteína tirosina quinase (PTK), importante na alteração da expressão de oncogenes. A diminuição dos receptores para fatores de crescimento celular epidérmico (EGF), plaquetário (PDGF) e de crescimento tumoral (TGF) também são efeitos encontrados. Outras importantes ações não genômicas são a ativação do fator de necrose tumoral (TNF- α), inibição da angiogênese e efeito antioxidante, através da redução da formação de óxido nítrico por citocinas e radicais livres (BOERSMA et al., 2001; LIAN et al., 2001).

Também são descritas ações de inibição da expressão e transcrição de alguns genes como o c-fos, c-jun (LIAN et al., 2001), clusterin RNAm (DIEL et al., 2001), antígeno de proliferação celular Ki-67 e o complemento C3 (HALE et al., 2001), que através de ações sobre o DNA topoisomerase (I e II) e quinase ribossomal S6, promovem a regulação da proliferação, diferenciação e apoptose celular (LIAN et al., 2001).

Além do mecanismo não genômico, as isoflavonas podem atuar através do mecanismo genômico e os efeitos resultantes são mediados por receptores nucleares específicos, que fazem parte da superfamília dos receptores esteroídicos (SPEROFF, 1999; UTSUNOMIYA et al., 2000). Os receptores estrogênicos

possuem meia-vida de aproximadamente 4 a 7 horas, portanto são de rápido *turn-over*. São divididos em seis regiões denominadas de A a F. As regiões A/B são as mais variáveis e determinam a região de regulação do domínio. A região C é a responsável pela alta afinidade entre a ligação com DNA específico e localização do receptor nuclear. A região D contém as seqüências necessárias para esta localização. A região E é a de ligação do domínio do hormônio. A última região, denominada F, modula a transcrição do gene afetando a magnitude da atividade dos receptores estrogênicos (SPEROFF, 1999) (Anexo 2).

Os receptores estrogênicos são de dois tipos: receptores α (RE α) e β (RE β) (COUSE et al., 1997). Os RE β são proteínas com estrutura semelhante aos RE α , principalmente na afinidade pela ligação ao DNA. Alguns domínios do DNA do RE β são altamente homogêneos em relação aos do RE α , a homogeneidade total entre eles é de 50% (CLAPAUCH et al., 2002). Entretanto diferem nas regiões E e F do gene, conhecidas como AF-2. Além disto, a distribuição e os níveis relativos da expressão dos RE α e RE β , nos diversos tecidos parecem ser diferentes (MORITO et al., 2001).

Apesar da semelhança estrutural dos receptores, eles são ativados através de distintas moléculas lipofílicas como glicocorticóides, retinóides estrogênicos e derivados dos ácidos graxos. A ativação dos RE é controlada pela transcrição do domínio responsável pela modulação do ligando dependente, localizado na região AF-2, e do ligando independente localizado na região A/B, conhecida como AF-1 (Anexo 2). Este domínio varia consideravelmente no tamanho e

seqüência do primeiro aminoácido em relação aos diversos esteróides e receptores nucleares. Provavelmente sua ativação está relacionada à transcrição, independente da presença do ligando. Porém a atividade agonista ou antagonista do receptor parece ser dependente do ligando e é determinada pela região E, localizada no segmento AF-2 (PUNYADEERA et al., 2003). Comparando-se a habilidade dos RE α e RE β em estimular a transcrição de genes em diferentes linhagens celulares, foi demonstrado que a atividade do segmento AF-2 nos RE α e RE β é similar, o que não ocorre para o AF-1 (PUNYADEERA et al., 2003).

A concentração dos receptores nos tecidos também determina sua responsividade ao hormônio, e a maior parte dos tecidos que são considerados como não responsivos ao hormônio tem baixa concentrações de receptores hormonais específicos. Após a ligação do esteróide com o receptor, ocorre alteração de sua conformação, o que é dependente da temperatura e do complexo hormônio-receptor. Esta alteração ocasiona uma estimulação específica do RNA-polimerase, com produção de nova informação (RNAm). A partir deste momento ocorre síntese ribossômica necessária para promover a função celular (LIPSETT, 1999).

Estudos sugerem que as distribuições destes receptores nos tecidos variam, sendo que os ER α apresentam uma larga expressão tecidual principalmente nos tecidos endometriais (UTSUNOMIYA et al., 2000), mamários e hepáticos (ALVES e SILVA, 2002). Os RE β , por sua vez, possuem uma expressão mais

focal, com altos níveis principalmente em ovário, próstata, epidídimo, pulmão, hipotálamo e vasos sanguíneos (ALVES e SILVA, 2002; MORITO et al., 2001).

A seletividade das isoflavonas para os diferentes receptores parece ser importante na modulação da resposta tecidual. As isoflavonas apresentam maior afinidade para receptores β (MORITO et al., 2001; URBANETZ e RIBEIRO, 2001), que são pouco expressivos nos tecidos endometriais e mamários, o que determinaria pequena ou nenhuma ação nestes locais. Desta forma, o seu uso prolongado não ocasionaria hiperplasia endometrial ou estímulo mamário (ALVES e SILVA, 2002). Vários estudos, entretanto, mostraram que as isoflavonas apresentam um efeito estrogênico nos tecidos endometrial e mamário, sugerindo ativação de receptores alfa e beta (UTSUNOMIYA et al. 2000; DORNSTAUDER et al. 2001; MORITO et al. 2001; MUELLER et al. 2004; PIOVESAN et al. 2004).

Além da seletividade, pode-se observar respostas diferentes de acordo com o do tipo de isoflavona a ser utilizada. Em um estudo comparativo onde se analisou potência e eficiência na capacidade de ligação das isoflavonas e estradiol a $RE\alpha$ e $RE\beta$, observou-se que a genisteína apresentou potência 218 vezes superior para os $RE\beta$ ($4,2 \times 10^{-09}$ mol/l) quando comparada com os $RE\alpha$ ($9,0 \times 10^{-07}$ mol/l). No entanto, a eficiência da genisteína em relação aos receptores alfa (107%) e beta (95%) foram similares ao 17β estradiol. Também foi observado que a daidzeína exerceu alta eficiência na ligação aos receptores beta (129%), maior do que o encontrado para o 17β estradiol (100%) (DORNSTAUDER et al., 2001). A daidzeína, comparada às outras isoflavonas,

é um dos compostos mais potentes na capacidade de ligação aos receptores estrogênicos (DORNSTAUDER et al., 2001; ALVES e SILVA, 2002).

Em outra análise também foi observado que algumas isoflavonas como a genisteína, o coumestrol e o equol apresentam eficácia semelhante ao dietilestilbestrol e ao estradiol na ligação com os receptores estrogênicos (MUELLER et al., 2004). Em relação à bioequivalência demonstrou-se que dois gramas de extrato seco de *red clover* equivaleriam a três microgramas de estradiol (ZAVA et al., 1998).

A atuação de algumas isoflavonas promovendo efeitos estrogênicos e antiestrogênicos foi evidenciada por MUELLER et al. (2004), que mostraram que alguns fitoestrogênios que exerciam efeito agonista parcial à ativação dos RE α e ER β induzidos pelo estrogênio, também atuavam exercendo antagonismo parcial, dependendo da concentração da droga.

A ativação de ambos os receptores estrogênicos, a eficiência e potência em comparação aos estrogênios, a demonstração tanto de efeitos estrogênicos como antiestrogênicos das isoflavonas, são questionados em diversos estudos. Questionam-se suas limitações considerando que as concentrações de isoflavonas utilizadas nestes estudos *in vitro*, são maiores que as da dieta usual, e os níveis encontrados na circulação sanguínea também seriam maiores (DIEL et al., 2001).

Além dos fatores relacionados aos diferentes tipos de isoflavonas citados acima, outra questão é a necessidade de interação com metabólitos ativos para que sejam eficazes (BOERSMA et al., 2001). A padronização das isoflavonas

deve começar desde o plantio, passando pela colheita, armazenamento, secagem, até o momento da preparação (ALVES e SILVA, 2002). Alterações em qualquer destas fases podem mudar o produto final. A absorção também pode ser alterada por modificações da microflora bacteriana intestinal que ocorre freqüentemente em decorrência do tempo de menopausa (XU et al., 2000). Estes fatores aqui discutidos podem comprometer significativamente a biodisponibilidade final das isoflavonas, podendo até mesmo ser causas de diferenças encontradas em estudos clínicos.

Na prática clínica as isoflavonas têm sido utilizadas com o intuito de se reduzir os sintomas climatéricos vasomotores. Na avaliação destes efeitos, um estudo randomizado, duplo cego, que utilizou 40mg de isoflavonas (Promensil®) não observou melhora dos sintomas vasomotores, nem efeitos adversos endometriais após três meses de seguimento (BABER et al., 1999). Em outra análise, as mulheres tomaram 100mg de isoflavonas e o seguimento ocorreu durante quatro meses. Observou-se uma melhora significativa nas queixas de fogachos (HAN et al., 2002).

Vários outros estudos entretanto, foram realizados e os resultados são divergentes quanto aos efeitos benéficos das isoflavonas na redução destes sintomas climatéricos (KNIGHT et al., 1999; FUGH-BERMAN e KRONENBERG, 2001; GERMAIN et al., 2001; BALK et al., 2002; PENOTTI et al., 2003; KREBS et al., 2004). Apesar das controvérsias, a *North American Menopause Society* (NAMS) sugere que o uso de isoflavonas para alívio dos sintomas vasomotores poderia ser utilizado como alternativa terapêutica em casos leves (GREENWOOD et

al., 2000; NANETTE et al., 2004). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) autorizou a comercialização de isoflavonas como medicamento fitoterápico exclusivamente para alívio destes sintomas (ANVISA, 2000).

Uma das principais dúvidas sobre o uso das isoflavonas em mulheres menopausadas diz respeito aos possíveis efeitos no trato genital inferior, principalmente no endométrio. Em um estudo prospectivo realizado em experimento animal *in vivo*, onde foram avaliados os efeitos em um tipo histológico específico de adenocarcinoma endometrial, concluiu-se que o crescimento do tumor não foi afetado pela utilização da genisteína. Porém ocorreu estimulação à cornificação do epitélio vaginal e incremento no peso uterino. Portanto, a genisteína agiria como um agonista fraco do estrogênio atuando em útero e vagina (DIEL et al., 2001). Outro estudo duplo cego em que se avaliou através da imuno-histoquímica, o antígeno de proliferação celular Ki-67 no endométrio de mulheres climatéricas usuárias de extrato de isoflavonas, não se mostrou qualquer alteração nos índices de proliferação destes antígenos. Desta forma não foi observado que as isoflavonas tivessem promovido efeito antiproliferativo (HALE et al., 2001). A espessura endometrial medida através da ultra-sonografia transvaginal foi avaliada por alguns autores que não mostraram alterações significativas em usuárias de isoflavonas (HAN et al., 2002; PENOTTI et al., 2003). Analisando histologicamente amostras endometriais em usuárias de isoflavonas durante seis meses BALK et al. (2002) também não observaram alterações significativas.

Portanto, uma das preocupações existentes é em relação ao estímulo dos receptores estrogênicos endometriais e a possível proliferação endometrial.

Este estímulo, quando persistente, pode determinar o aparecimento da hiperplasia endometrial, que é o precursor mais comum do carcinoma de endométrio (MONTGOMERY et al., 2004). A Sociedade Norte-Americana de Câncer prevê 1.368.030 casos novos de câncer diagnosticados em 2004, estimando-se que 40.320 devam ser de corpo uterino e que 95% deles sejam de origem endometrial. Estima-se também que quase 7.090 óbitos devam ocorrer em decorrência destas neoplasias (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2004).

No Brasil, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) não apresenta estatística específica para neoplasia endometrial, porém analisando-se as taxas de mortalidade das macrorregiões, observa-se que o câncer é incluído como uma das principais causas de morte, sendo que em 1994 foi responsável por 10,86%, correspondendo a 46,05% de óbitos em mulheres (BRASIL, 1997).

A exposição freqüente a altos níveis de estrogênios é o maior fator de risco para o câncer endometrial, o tipo mais comum de câncer do corpo uterino. A exposição estrogênica prolongada durante a reposição hormonal no climatério, a menarca precoce, menopausa tardia, nuliparidade, anovulação crônica, a obesidade e o uso do tamoxifeno são fatores de risco importantes. Fatores hereditários também podem estar envolvidos (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2004).

Várias armas propedêuticas têm sido utilizadas para o rastreamento e diagnóstico precoce do carcinoma endometrial. Uma das mais antigas é o teste de progesterona, que determina um sangramento por deprivação, decorrente da presença de estímulo estrogênico prévio. Este teste, apesar de sugerir um estímulo

estrogênico no endométrio, apresenta baixa sensibilidade e especificidade para alterações endometriais na pós-menopausa (SURITA et al., 1998; PEREIRA FILHO, 1999).

Outra forma ainda muito utilizada para se diagnosticar o câncer endometrial é a curetagem uterina, que durante muito tempo foi consagrada como padrão-ouro para avaliação histológica endometrial, e mais recentemente vem sendo substituída pela histeroscopia diagnóstica com biópsia orientada (LOFFLER, 1989). Portanto, a histeroscopia associada à biópsia orientada são consideradas os métodos de eleição para a avaliação endometrial. Sobrepõem-se à curetagem uterina (GOLDRATH e SHERMAN, 1985), pois é um procedimento ambulatorial de alta sensibilidade e especificidade, tolerável, baixo custo, baixos índices de complicações e contra-indicações (SANTOS et al., 2001). Alguns autores consideram a histeroscopia um exame propício a ser indicado em todas as circunstâncias clínicas em que a observação da cavidade uterina possa trazer subsídios para o diagnóstico preciso e correta orientação terapêutica, principalmente na avaliação após a menopausa (MACHADO et al., 2001).

A ultra-sonografia transvaginal é um bom método para o rastreamento e diagnóstico das alterações endometriais, mas também não supera isoladamente os resultados da histeroscopia e biópsia. Entretanto, a ultra-sonografia transvaginal em certas situações, quando associada à histeroscopia com biópsia, permite a mais completa avaliação endometrial (SYMONDS, 2001).

A histeroscopia diagnóstica realizada durante o climatério freqüentemente apresenta achado compatível com endométrio atrófico. Neste caso, caracterizado como uma situação em que se terá endométrio inativo, a amostra histológica obtida pela biópsia acrescentaria muito pouco ao diagnóstico. Apesar disto, alguns autores orientam a realização desta biópsia, mesmo que os achados histeroscópicos sejam negativos (LOFFLER, 1989).

Histologicamente, o endométrio normal pode se apresentar segundo um padrão proliferativo, característico da primeira fase do ciclo menstrual, padrão secretor característico da segunda fase do ciclo, ou padrão atrófico característico do período da menopausa. As alterações histológicas limítrofes são caracterizadas por variações estruturais que se encontram entre a benignidade e malignidade. São classificadas em hiperplasias com ou sem atipias, e podem ser simples ou complexa. Estas variações histológicas estão relacionadas às diversas respostas aos hormônios esteróides, que promoverão alterações estruturais e funcionais através de um efeito geral sobre a síntese de RNA e proteína (BENIRSCHKE, 1990). Estas alterações, portanto, são mais freqüentes em mulheres na perimenopausa (BENIRSCHKE, 1990; CHARPIN, 1994). Como consequência ainda existem dúvidas sobre o efeito endometrial, ocasionado pelo uso prolongado das isoflavonas em mulheres após a menopausa.

As isoflavonas podem apresentar efeito estrogênico ou antiestrogênico, dependendo do tipo de receptor estimulado, da concentração destes receptores no tecido, de qual isoflavona e também da sua concentração no organismo. Alguns autores mostraram efeitos estrogênicos, promovendo no útero o aumento

do seu volume e no endométrio a sua estimulação (DIEL et al., 2001; UNFER et al., 2004). Outros, ao contrário, demonstraram ação indiferente ou antiestrogênica no trato genital inferior (HALE et al., 2001; NAGATA et al., 2001; HAN et al., 2002). Uma melhor avaliação da resposta endometrial ao uso das isoflavonas orientará quanto aos riscos e benefícios do uso deste medicamento, bem como da necessidade ou não da realização de proteção endometrial.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar a resposta endometrial de mulheres menopausadas que fizeram uso de isoflavonas totais por um período de seis meses.

2.2. Objetivos específicos

Comparar no início e após seis meses da utilização de isoflavonas totais:

1. A espessura endometrial obtida pela ultra-sonografia transvaginal;
2. As imagens endometriais obtidas pela histeroscopia diagnóstica e
3. Os achados histológicos obtidos através da biópsia endometrial aspirativa.

3. Sujeitos e Métodos

3.1. Desenho do estudo

O estudo realizado foi um ensaio clínico não controlado do tipo antes e depois, em que todos os sujeitos receberam o medicamento e foram comparados quanto aos achados endometriais iniciais e finais (FLETCHER et al. 1996; ESCOSTEGUY, 2002; SCHULTZ e GRIMES, 2002).

3.2. Tamanho amostral

Para o cálculo estimado do tamanho amostral foi considerado como principal evento a medida da espessura endometrial. Aceitou-se que o mesmo observador não apresentaria uma diferença maior que 0,75mm entre duas medidas subseqüentes (EPSTEIN e VALENTIN, 2002).

Portanto, do ponto de vista clínico, uma diferença maior que 1,0mm, entre os instantes inicial e final seria o suficiente para caracterizar uma alteração endometrial (WARMING et al., 2002).

A determinação do tamanho amostral de um número suficiente de pacientes para obter uma estimativa de razoável precisão da resposta endometrial foi realizada com base no cálculo para amostras pareadas na estimativa do tamanho amostral. Para este cálculo foi fixado um nível de significância α em 5% (erro tipo I) e um poder do estudo de $1-\beta$ em 80%. Neste cálculo foi considerado o desvio padrão de 2,0mm (LUIZ e MAGNANINI, 2002).

Considerando-se a fórmula:

$$n = \frac{[Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta}]^2}{(\Delta/\sigma)^2}$$

(STRIKE, 1991)

Para esta expressão considerou-se o $Z_{1-\alpha/2}$ valendo 1,960 baseado na fórmula T pareado e que consiste no valor da distribuição normal calculado, considerando-se um $\alpha = 5\%$. O $Z_{1-\beta}$ foi calculado para o β de 20% encontrando-se portanto o valor de 0,841 (Anexo 3). Desta forma estimou-se que o tamanho amostral de 32 mulheres seria suficiente para detectar uma diferença significativa na espessura endometrial.

3.3. Variáveis

A seguir serão apresentadas as variáveis a serem estudadas com suas respectivas definições e categorias.

3.3.1. Variáveis dependentes

- Linha endometrial – medida entre as duas lâminas basais endometriais expressa em milímetros, através do ultra-som transvaginal (MOURA et al., 1997): 1mm a 5mm, maior que 5mm.
- Volume uterino – medida volumétrica obtida pelo ultra-som transvaginal, calculado através do produto dos diâmetros antero-posterior, latero-lateral e longitudinal por uma constante 0,5223, expressa em centímetros cúbicos (cm³).
- Achados histeroscópicos – imagens endometriais observadas na cavidade uterina quando se realiza a histeroscopia diagnóstica: cavidade uterina normal, espessamento endometrial, sugestivo de hiperplasia, sugestivo de neoplasia (DEUS et al., 2001), outros (pólipos, miomas, adenomiose), não realizado.
- Achado histológico – arquitetura tecidual do endométrio, observado à microscopia óptica: atrófico, proliferativo, hiperplasia simples (com ou sem atipias), hiperplasia complexa (com ou sem atipias), neoplasia (BENIRSCHKE, 1990; CHARPIN, 1994), material insuficiente, outros.

3.3.2. Variáveis independentes

- Sangramento genital - qualquer perda sangüínea proveniente da vagina, segundo referido pela mulher, excluídas outras causas orgânicas pelo exame ginecológico: presente, ausente.
- Idade da mulher – número de anos completos, entre a data de nascimento apresentado no registro geral (RG) da mulher e a data da entrevista: 40 a 60.

- Tempo de menopausa – tempo em meses transcorrido entre a data da última menstruação e a data da entrevista (BOSSEMEYER, 1999): 12 a 60.
- Índice de massa corpórea – relação entre o peso em quilogramas e o quadrado da altura em metros, medida através de uma balança e de régua antropométrica (OLEFSKY, 1992).
- Tempo sem tratamento hormonal – tempo em meses transcorrido entre o último tratamento de reposição hormonal e a data da entrevista: 6 a 60.

3.4. Seleção dos Sujeitos

Foram selecionadas 55 mulheres menopausadas que procuraram o Serviço de Climatério do Hospital Universitário de Taubaté (HUT) ou o Serviço de Climatério da Prefeitura Municipal de Pindamonhangaba (PMP) com queixa de fogachos. Estas mulheres não tinham realizado qualquer tipo de tratamento hormonal nos últimos seis meses. Tanto no HUT como na PMP as mulheres foram selecionadas por uma auxiliar de pesquisa previamente treinada. A todas foi oferecido o tratamento com hormônios (estrógenos associados ou não a progestógenos) previamente à opção das isoflavonas. As que desejaram fazer uso das isoflavonas submeteram-se a um *check-list* (Anexo 4), para verificar se as possíveis participantes cumpriam os critérios de inclusão. As que cumpriram foram convidadas a participar do estudo.

Das 55 mulheres selecionadas, 22 foram excluídas. Destas, cinco apresentaram espessura endometrial maior que 5mm à ultra-sonografia. Os diagnósticos destas cinco mulheres, realizados posteriormente através da

histeroscopia, foram de dois pólipos endometriais e três endométrios com características proliferativas, sendo que um apresentava também corpo estranho (fio de algodão) em nível de ístmo. Outras seis mulheres, durante a realização da histeroscopia, apresentaram dificuldade de progressão da óptica por estenose de canal cervical. Dentre as 49 que se submeteram ao exame histeroscópico, 19 apresentaram alterações, sendo sete miomas submucosos, seis endométrios proliferativos, cinco pólipos e uma adenomiose.

Houve cinco mulheres que apesar dos exames normais não retornaram para iniciar o tratamento. Foram excluídas todas as mulheres que apresentaram endométrio maior que 5mm ao ultra-som transvaginal, todas que apresentaram alterações endometriais à histeroscopia e histologia, e as que não realizaram a histeroscopia. Desta forma foram eleitas 33 mulheres. Houve, porém, perda de seguimento de uma mulher, sendo que 32 terminaram o estudo.

3.5. Critérios de inclusão

- Idade entre 40 e 60 anos
- Tempo de menopausa inferior a cinco anos
- Dosagem sérica de FSH superior a 30,0UI/L.
- Ausência de tratamento anterior com hormônios, há pelo menos seis meses
- Presença de útero
- Presença de fogachos

3.6. Critérios de exclusão

- História pessoal de qualquer patologia neoplásica maligna ginecológica
- Antecedentes pessoais de tireoidopatias ou osteoporose
- Espessamento endometrial inicial ao ultra-som transvaginal acima de 5mm
- Alterações na histeroscopia e/ou biópsia endometrial inicial
- Impossibilidade da avaliação endometrial inicial através da ultra-sonografia, histeroscopia ou biópsia

3.7. Técnicas, testes e exames

As isoflavonas totais (Climadil®) foram adquiridas do laboratório Marjan Indústria e Comércio Ltda (Santo Amaro, SP, Brasil) que contém comprimidos com 230mg de extrato seco de *Trifolium pratense* L., que corresponde a 40mg de isoflavonas totais. Esta preparação contém as quatro principais isoflavonas: genisteína (4,0mg), e daidzeína (3,5mg) e seus precursores biochanina A (24,5mg) e formononetina (8,0mg). A dose utilizada foi a recomendada pela literatura (NESTEL et al., 1999; XU et al., 2000), correspondendo a 80mg por dia, divididas em duas tomadas com intervalo de 12 horas. As participantes foram instruídas a não alterarem sua dieta usual durante o estudo.

Em ambos os serviços a menopausa foi diagnosticada pelo tempo de amenorréia e confirmada laboratorialmente através da dosagem sérica do hormônio folículo-estimulante (FSH) em sangue venoso periférico, através de equipamento

1235 Auto DELFIA™ (Wallac Oy, Turku, Finland), utilizando-se ensaio imunofluorométrico e dois anticorpos monoclonais específicos (derivados de ratos). Do sangue coletado foi extraído 0,5ml de soro para cada exame, que foi armazenado à temperatura de 2 a 8°C até a realização do exame. As dosagens de FSH superior a 30,0UI/L foram consideradas parâmetro laboratorial para menopausa (FERRIANI, 1999).

A avaliação ultra-sonográfica foi realizada em aparelho modelo Sonoace 8800 ou Aloka SSD 500, através da via transvaginal com transdutor de 7,5MHz. Para segurança e higiene da mulher, como acontece rotineiramente em serviços de ultra-sonografia, em todos os exames foi utilizado no transdutor um preservativo estéril e descartável. A avaliação da espessura ultra-sonográfica endometrial foi realizada com o útero em um corte longitudinal, incluindo a medida de ambas as camadas basais endometriais. Os resultados foram expressos em milímetros. Foi considerado alterado quando a medida endometrial apresentou-se superior a 5mm (BOURNE et al., 1997; MOURA et al., 1997) ou quando após seis meses de administração das isoflavonas houve aumento superior a 1mm na espessura endometrial (EPSTEIN e VALENTIN, 2002).

O exame histeroscópico foi realizado ambulatorialmente através de um equipamento da marca Endoview com óptica de 4mm. Após a antissepsia vaginal com solução de polivinilpirrolidona iodo, a mulher foi submetida à anestesia local, através de bloqueios cervical e paracervical, com 5ml de cloridrato de lidocaína a 1% sem adrenalina. Para a distensão da cavidade uterina foi utilizado o gás dióxido de carbono (CO₂). A avaliação histeroscópica foi realizada seguindo

determinada ordem: estudo da mucosa endocervical, da morfologia uterina, das regiões cornuais, do aspecto macroscópico da mucosa endometrial, do istmo e estudo morfológico do canal (TASSELLI et al., 2001).

Os achados histeroscópicos endometriais foram classificados em cavidade uterina normal, espessamento endometrial, sugestivo de hiperplasia endometrial e de neoplasia endometrial e outros (pólipos, miomas, sinéquias etc.). Foram consideradas normais para a cavidade uterina as imagens compatíveis com endométrio atrófico, apresentando mucosa fina, endométrio pálido, glândulas escassas e vascularização capilar visível, que são característicos da pós-menopausa. O espessamento endometrial, que pode ocorrer tanto na fase proliferativa como na fase secretora de um ciclo menstrual, foi considerado achado anormal na pós-menopausa. As hiperplasias endometriais apresentaram-se de diversas formas: aumento harmonioso ou irregular de endométrio; às vezes polipóide; placas esbranquiçadas ou com formação de pequenos cistos e aumento irregular da vascularização (DEUS et al., 2001). Os achados sugestivos de neoplasia apresentaram vascularização irregular, aspectos exofítico, escleroso e cerebriforme da mucosa endometrial (CORNIER et al., 1994).

A avaliação histológica endometrial foi realizada através da biópsia aspirativa com instrumento de Pipelle®. O material foi imediatamente identificado e introduzido em recipiente contendo formol a 10%. Posteriormente foi encaminhado ao Serviço de Patologia do Hospital Universitário de Taubaté, onde foi preparado para inclusão em parafina. Inicialmente foi realizada a desidratação da peça com álcool etílico em gradientes crescentes de 50%, 80% e 100%. Posteriormente, a

diafanização feita em três banhos de xilol, e depois, a impregnação em parafina utilizando-se um autotécnico. Após os blocos de parafina ficarem prontos, foram submetidos a cortes através de um micrótomo na espessura de 5µm. Estes cortes foram fixados em lâminas previamente lavadas e desengorduradas em álcool etílico a 90%. A seguir, as lâminas foram coradas pela hematoxilina e eosina. A leitura de todas as lâminas foi realizada pelo mesmo patologista experiente.

Histologicamente o endométrio atrófico, encontrado em 78,3% das mulheres menopausadas (GONÇALVES et al., 1995), é composto por células epiteliais que apresentam microvilos em sua superfície. Os vasos sanguíneos são finos e com paredes extremamente delicadas. Glândulas são raramente encontradas e podem ser dilatadas ou atróficas com pouca ou nenhuma secreção. As células estromais, quando presentes, são pequenas e pouco desenvolvidas (MOURA et al., 1997). O endométrio proliferativo pode ser encontrado em 5,1% das mulheres menopausadas (GONÇALVES et al., 1995) e caracteriza-se por intensa atividade mitótica com presença de glândulas tubulares e ligeiramente tortuosas, dispostas de modo muito irregular, equidistantes umas das outras. O estroma endometrial da fase proliferativa parece inicialmente fibroso, mas logo se acumula líquido intersticial tornando-se mais frouxo (BENIRSCHKE, 1990).

A hiperplasia sem atipia caracteriza-se pela arquitetura glandular com presença de cistos com discreto desarranjo dos brotos, a relação glândula/estroma é comparável com endométrio proliferativo da primeira fase do ciclo menstrual. A citologia denota ausência de atipia, pseudoestratificação nuclear e morfologia celular comparável à do endométrio proliferativo normal. A hiperplasia endometrial

com atipia apresenta estrutura glandular com brotos que se ramificam e invaginam para a região intracística e aumento da relação glândula/estroma. A citologia apresenta pseudoestratificações nucleares, anomalias celulares com aumento do tamanho celular e do núcleo, clareamento da cromatina e do nucléolo. O carcinoma apresenta áreas de infiltração do estroma com relação desmoplástica e confluência de glândulas com o desaparecimento do estroma e formação de estruturas arboriformes, desarranjo papilar e substituição do estroma por células epiteliais (KURMAN e NORRIS, 1987; CHARPIN, 1994).

3.8. Instrumentos para coleta de dados

Foi utilizado um formulário desenhado especialmente para este estudo (Anexo 5). Este formulário foi pré-testado no Ambulatório de Climatério do Hospital Universitário de Taubaté, através de entrevista realizada pelo pesquisador responsável.

3.9. Coleta de dados

Através destes formulários foram colhidos os dados iniciais e os referentes ao seguimento das pacientes, bem como os dados dos exames ultra-sonográficos, da histeroscopia e da biópsia endometrial, durante o período do estudo.

Tanto os dados gerais como os específicos foram obtidos através de entrevista individual, realizada pelo pesquisador responsável, no Serviço de Climatério do HUT ou da PMP e registrado no formulário (Anexo 5). Após a

entrevista inicial, estas mulheres foram submetidas aos exames físico geral e ginecológico, pelo pesquisador responsável, seguindo os protocolos de atendimento igualmente nos dois serviços. A medida endometrial adquirida pelo exame ultrasonográfico, os achados histeroscópicos e os resultados da biópsia foram obtidos dos laudos e informados no formulário (Anexo 5). A avaliação ultra-sonográfica, a histeroscopia diagnóstica e a biópsia endometrial, realizadas no início e após seis meses do uso da isoflavona, foram agendadas no momento da primeira entrevista.

3.10. Acompanhamento dos sujeitos

Todas as mulheres admitidas no estudo foram acompanhadas em consultas a cada dois meses, utilizando-se o mesmo instrumento (Anexo 5) para avaliação clínica, intercorrências, assiduidade à pesquisa e fornecimento do medicamento. Foi solicitado que as mulheres trouxessem no retorno a caixa do medicamento vazio para confirmar o seu uso. As consultas foram agendadas ao término da consulta anterior. No caso da ausência da mulher em alguma destas consultas, foi tentado o contato através de ligação telefônica. No entanto, na impossibilidade da comunicação através de telefone, foi enviada uma carta solicitando o seu comparecimento (Anexo 6). Nos casos em que não se obteve resposta considerou-se a descontinuação do caso.

3.11. Critérios de descontinuação

Foram considerados critérios de descontinuação do estudo as mulheres que apresentaram sangramento genital incontrolável ou hipersensibilidade a algum componente do medicamento.

3.12. Processamento e análise dos dados

Os dados coletados nas fichas foram cuidadosamente revisados, em seguida através de dupla digitação, registrados em um programa de banco de dados utilizando-se o *software* Epi Info, versão 6,04b (DEAN et al., 1994). A análise dos dados foi realizada pelo programa estatístico SAS versão 8,2, considerando um nível de significância (α) de 0,05 e um poder ($1-\beta$) de 0,80.

Para estudar as alterações na espessura endometrial, na histeroscopia e na histologia entre os instantes iniciais e após a intervenção, foi utilizada inicialmente uma análise descritiva e posteriormente o teste *t de Student* para dados pareados e teste de *Wilcoxon* para amostras dependentes.

3.13. Aspectos éticos

O Climadil® apresenta registro no Ministério da Saúde encontrando-se em fase IV de estudo conforme Resolução nº 251 de 1997 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1997). É um medicamento seguro e os efeitos colaterais estão relacionados com hipersensibilidade ao composto ativo conforme informação do

fabricante. A dose utilizada e a via de administração foram as preconizadas na literatura (NESTEL et al., 1999; XU et al., 2000).

A todas as mulheres que demonstraram interesse em participar do estudo foi oferecido o tratamento hormonal convencional, bem como explicadas vantagens e desvantagens da terapia de reposição hormonal e do uso das isoflavonas. O diagnóstico de menopausa foi confirmado através da dosagem sérica do FSH em sangue venoso periférico, na ocasião da coleta dos exames sanguíneos de rotina do climatério, conforme os protocolos de atendimento do HUT e PMT, não necessitando de procedimentos de coleta adicionais.

A avaliação endometrial foi feita através da ultra-sonografia transvaginal, da histeroscopia diagnóstica e da biópsia endometrial. A ultra-sonografia transvaginal é um procedimento realizado rotineiramente para a medida da espessura endometrial, conforme os protocolos de atendimento do HUT e PMP.

A histeroscopia diagnóstica tem sido indicada em todas as situações clínicas nas quais a avaliação da cavidade uterina possa trazer informações para o correto diagnóstico e tratamento (MACHADO et al., 2001). Diversos estudos demonstram que a sensibilidade e especificidade da histeroscopia são maiores que as do ultra-som isoladamente (SYMONDS, 2001). Como este estudo se propõe a avaliar a ocorrência de alterações endometriais ao uso das isoflavonas totais foram associados os dois métodos (ultra-sonografia e histeroscopia com biópsia orientada).

A histeroscopia, apesar de ser um procedimento pouco invasivo, é cada vez mais indicada, principalmente devido à sua alta sensibilidade e especificidade, seu baixo custo, baixo índice de complicações, fácil realização e fácil reprodutibilidade (SANTOS et al., 2001).

A biópsia endometrial aspirativa e orientada, realizada com instrumento de Pipelle®, é um procedimento que tem por objetivo a comprovação histológica dos achados histeroscópicos e ultra-sonográficos. É um procedimento pouco desconfortável, mas praticamente não traz riscos ou prejuízos à paciente. Pode complementar ou confirmar os achados dos outros exames. As mulheres participantes receberam auxílio financeiro de trinta reais, para ressarcimento de despesas com transporte e alimentação.

O consentimento livre e esclarecido (Anexo 7) foi obtido pelo pesquisador principal no momento da primeira entrevista, antes da aplicação do questionário, e foi obedecida a Resolução 196/96 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1996).

Este estudo obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), sob parecer nº 560/2002. Foram cumpridos os princípios enunciados na Declaração de Helsinki, emendada em Edinburgo, Escócia, em outubro de 2000 (ASSOCIAÇÃO MÉDICA MUNDIAL, 2000).

4. Resultados

Trinta e duas mulheres terminaram o estudo, sendo que a idade média e as características desta amostra estão dispostas na Tabela 1. Todas apresentaram um período sem tratamento hormonal variando de 6 a 60 meses, sendo o tempo médio de 18,6 meses. A análise hormonal destas mulheres confirmou o estado menopausal em que os valores médios de FSH foram de 92,6UI/L variando de 43,4 a 286UI/L. Três mulheres não realizaram a dosagem sérica de FSH.

Em relação ao índice de massa corpórea (IMC) observou-se que inicialmente apresentavam um IMC médio de 21,8 e uma mediana de 20,8 (IC 95% 20,4-23,2), portanto dentro da faixa de peso adequado (Tabela 1).

TABELA 1
Distribuição das mulheres segundo idade, tempo de menopausa e IMC

	Média	Desvio	Mínimo	Máximo	Mediana	Inferior**	Superior**
Idade	50,8	4,5	41,0	59,0	51,5	49,2	52,4
Tempo menopausa	29,4	16,6	12,0	60,0	24,0	23,4	35,4
IMC*	21,8	3,9	15,7	30,1	20,8	20,4	23,2

Teste de Wilcoxon para amostras dependentes

* IMC = índice de massa corpórea inicial

**IC 95% (media)

Durante o estudo, seis mulheres apresentaram sangramento genital espontâneo que cessou após alguns dias com o uso de antiinflamatórios não hormonais. Destas, duas apresentaram alterações endometriais ao final do estudo, sendo um endométrio proliferativo e outro endométrio hiperplásico. As outras quatro mulheres não tiveram qualquer alteração endometrial diagnosticada (Tabela 2).

TABELA 2

Distribuição percentual segundo os achados histológicos em mulheres que apresentaram sangramento genital durante o estudo

Histologia	n	%
Atrófico	3	50,0
Proliferativo	1	16,7
Hiperplásico	1	16,7
Insuficiente	1	16,7
Total	6	100

A Tabela 3 exemplifica as características das mulheres que apresentaram sangramento genital.

TABELA 3

Correlação entre idade, tempo de menopausa, IMC* e achados endometriais das mulheres que apresentaram sangramento genital

Caso	Idade	Temp/menop.	IMC	Espessura endometrial		Achados endometriais	
				Inicial	Final	Histeroscopia	Histologia
1	52	60	19,9	4	3	Normal	Atrófico
2	41	24	18,7	3	3	Espessado	Hiperplasia
3	53	36	20,3	4	4	Normal	Atrófico
4	54	18	16,0	3	2	Normal	Atrófico
5	44	60	24,1	4	5	Normal	Atrófico
6	43	12	28,9	4	4	Espessado	Proliferativo

*IMC = Índice de massa corpórea inicial

O exame ultra-sonográfico realizado via transvaginal não demonstrou alterações significativas tanto para a espessura endometrial (Tabela 4) quanto para o volume uterino (Tabela 5). A espessura endometrial no início do estudo obteve valores de média e mediana respectivamente de 3,4 e 3,0 (IC 95% 3,0-3,8). Na análise final, os valores da média e mediana foram respectivamente 3,6 e 4,0 (IC 95% 3,2-4,0) (Tabela 5). Apesar da análise da espessura média mostrar-se inalterada, observou-se que uma mulher apresentou em sua avaliação endometrial final o valor de 6mm. Este valor, entretanto, não apresentou significância estatística.

TABELA 4

Distribuição percentual das mulheres antes e após seis meses de tratamento, segundo a espessura endometrial

Espessura endometrial (mm)	Início		Final	
	n	%	n	%
1	1	3,1	0	0
2	5	15,6	5	15,6
3	12	37,5	10	31,2
4	9	28,1	11	34,4
5	5	15,6	5	15,6
Maior que 5	0	0	1	3,1
Total	32	100	32	100

Da mesma forma, o volume uterino não apresentou alterações significativas na avaliação final. Os valores da média e mediana no início foram respectivamente 56,5 e 50,0 (IC 95% 45,8-67,1) e no final do estudo 51,7 e 48,0 (IC 95% 43,5-59,9).

A Tabela 5 mostra a análise dos achados ultra-sonográficos da espessura endometrial e do volume uterino.

TABELA 5
Análise das mulheres segundo a espessura endometrial e volume uterino antes e após seis meses de tratamento

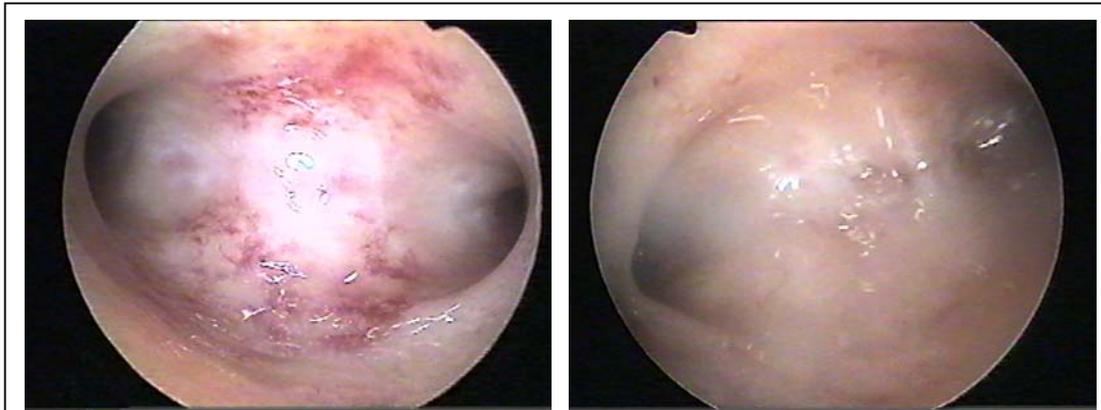
Ultra-som	n	Média	desvio	Min	Mediana	Max	IC 95% (media)		Valor-p
							Inferior	Superior	
LE* inicial	32	3.4	1.0	1.0	3.0	5.0	3.0	3.8	0.2604
LE final	32	3.6	1.1	2.0	4.0	6.0	3.2	4.0	
Vol** inicial	32	56.5	29.5	23.0	50.0	163.0	45.8	67.1	0.0598
Vol final	32	51.7	22.8	24.0	48.0	136.0	43.5	59.9	

Teste de Wilcoxon para amostras dependentes

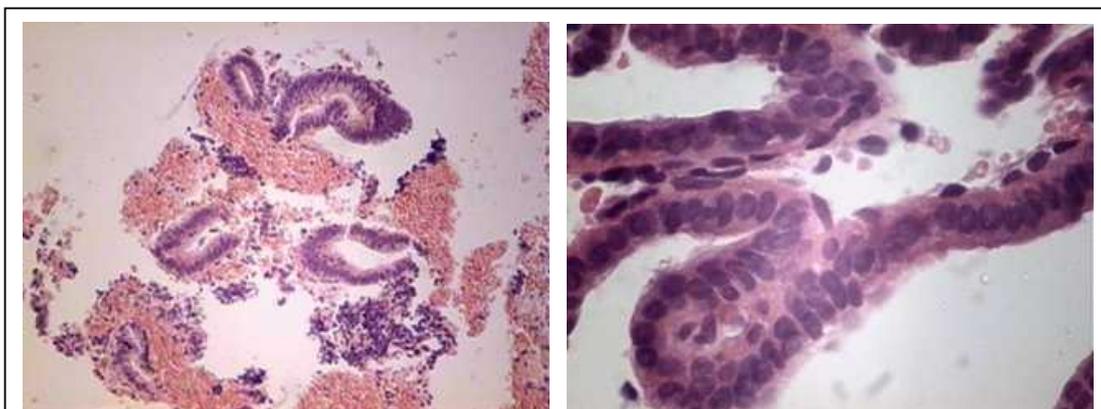
* LE = linha endometrial

** Vol = Volume uterino

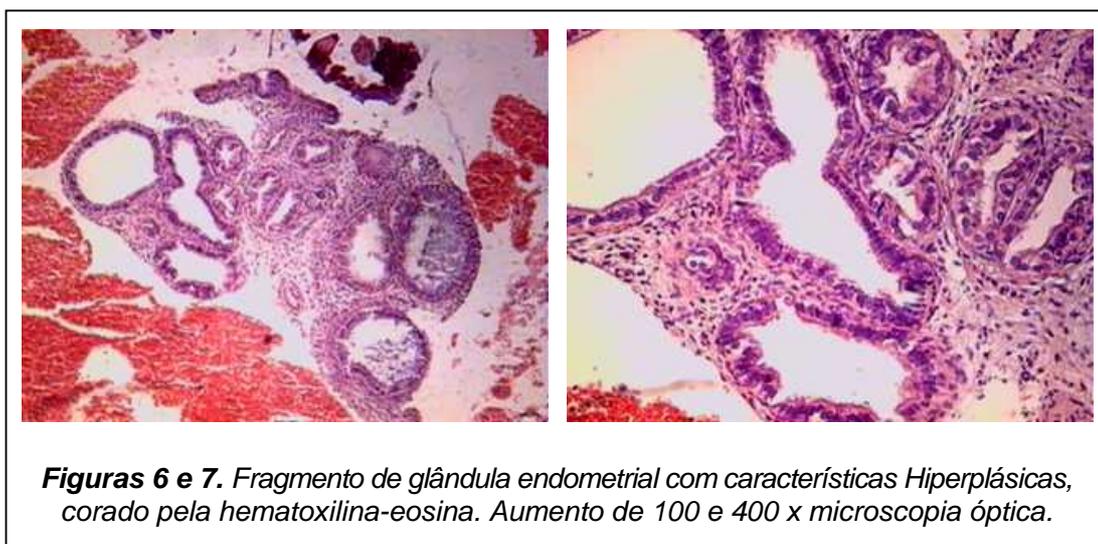
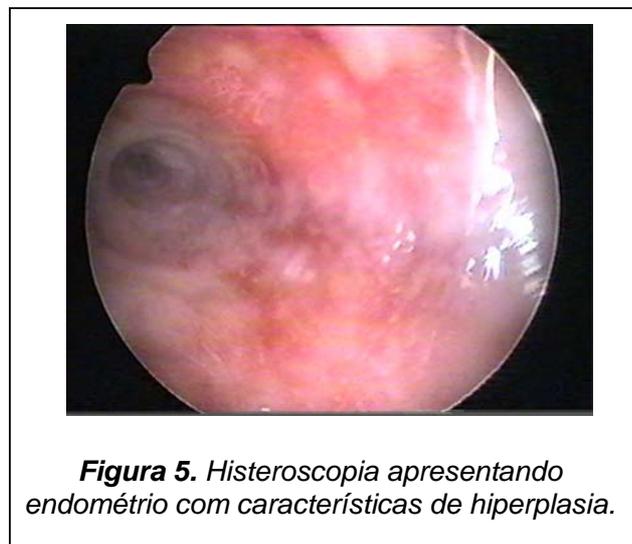
Em relação aos achados histeroscópicos e histológicos, três mulheres apresentaram alterações endometriais na avaliação final do estudo. As características delas estão apresentadas na Tabela 8. Duas destas mulheres apresentaram endométrio com características proliferativas na histeroscopia (Figuras 1 e 2) e na histologia (Figuras 3 e 4) e uma com alterações sugestivas de hiperplasia simples sem atipias na histeroscopia (Figura 5) e na histologia (Figuras 6 e 7).



Figuras 1 e 2. Histeroscopia apresentando endométrio com características proliferativas.



Figuras 3 e 4. Fragmento de glândula endometrial com características proliferativas, corado pela hematoxilina-eosina. Aumento de 100 x e 400 x microscopia óptica.



Os achados histeroscópicos nos períodos inicial e final do estudo são mostrados na Tabela 6.

TABELA 6
Distribuição percentual das mulheres antes e após seis meses de tratamento, segundo exame histeroscópico

Histeroscopia	Inicial		Final	
	n	%	n	%
Normal	27	84,3	24	75,0
Espessamento	0	0	2	6,2
Hiperplasia	0	0	1	3,1
Mioma submucoso	4	12,5	4	12,5
Adenomiose	1	3,1	1	3,1
Total	32	100	32	100

As alterações histeroscópicas foram confirmadas através da histologia e podem ser visualizadas na Tabela 7.

TABELA 7
Distribuição percentual das mulheres antes e após seis meses de tratamento, segundo a histologia

Histologia	Inicial		Final	
	n	%	n	%
Atrófico	27	84,3	24	75,0
Proliferativo	0	0	2	6,2
Hiperplasia	0	0	1	3,1
Insuficiente	5	15,6	5	15,6
Total	32	100	32	100

A Tabela 8 mostra as características das mulheres que apresentaram alterações endometriais.

TABELA 8
Características das mulheres que apresentaram alterações endometriais

	Idade	Tempo Menopausa	IMC*	FSH (UI/L)	LE inicial	LE final	Histologia	Sangramento
Caso 1	41	24	18,7	69,7	3	3	Hiperplasia	Presente
Caso 2	43	12	28,9	72,6	5	4	Proliferativo	Presente
Caso 3	51	12	17,8	65,9	2	5	Proliferativo	Ausente

*IMC inicial

O Anexo 8 resume todas as 32 mulheres do estudo, bem como suas características e os achados endometriais.

5. Discussão

Neste estudo observamos que três mulheres que utilizaram isoflavonas durante seis meses apresentaram algum tipo de alteração histológica endometrial. Duas destas mulheres apresentando propedêutica endometrial inicial compatível com endométrio inativo, na avaliação final, desenvolveram proliferação endometrial, e uma desenvolveu hiperplasia endometrial simples. Estes achados são corroborados por estudo publicado por UNFER et al., (2004) que acompanhando 179 mulheres em uso de 150mg de isoflavonas durante cinco anos, mostraram o aparecimento de seis casos (3,8%) de hiperplasia endometrial. Este estudo também identificou cinco casos (3,2%) de endométrio proliferativo, totalizando 11 casos (7%) de alterações endometriais. Sugere-se que estes resultados sejam decorrentes da ação estrogênica agonista que se torna mais evidente em decorrência do tratamento prolongado, sendo possível que este efeito estrogênico, quando não adequadamente contrabalanceado pela administração de progesterona, poderia aumentar o risco de aparecimento de hiperplasia endometrial (UNFER et al., 2004).

As alterações encontradas no presente estudo sugerem que o uso de 80mg de isoflavonas possam promover um estímulo proliferativo no endométrio em decorrência

de uma ação estrogênica agonista. Em um dos casos, a persistência deste estímulo pode ter determinado o desenvolvimento de hiperplasia endometrial.

Em relação às características das 32 mulheres que encerraram o estudo, a idade média foi de 50,8 anos, caracterizando um tempo de menopausa médio de 29,4 meses. Nesta amostra em que as mulheres eram relativamente jovens houve maior facilidade na realização das histeroscopias, com boa progressão da óptica. O pequeno tempo de menopausa também permitiu selecionar casos com sintomatologia vasomotora.

Todas as mulheres que participaram do estudo eram menopausadas sendo a grande maioria com confirmação laboratorial. Os resultados das dosagens hormonais do FSH foram condizentes com estado menopausal, sendo que o valor médio foi de 92,6UI/L. Entre as mulheres que apresentaram alterações endometriais encontramos o valor médio de FSH de 69,4UI/L. O declínio da atividade folicular ovariana com diminuição da produção de estradiol determina um aumento plasmático de FSH e LH na pós-menopausa (JAFFE, 1999). A medida do FSH é a que mais reflete a função ovariana, em virtude de um retrocontrole hipotalâmico mais sensível ao FSH que ao LH. Portanto, os valores do FSH quando superiores a 30UI/L são característicos da menopausa (FERRIANI, 1999). Apesar deste *status* menopausal, a produção androgênica pode se manter por alguns anos após a última menstruação. Segundo GRODIN et al. (1973) é possível que a conversão periférica de androgênios em estrogênios possam ser influenciados por fatores como idade e peso, de forma que as mulheres que apresentaram alterações endometriais no final do estudo poderiam ter sofrido interferência destes fatores. No entanto, não foi possível

determinar estatisticamente se a menor idade destas mulheres ou o menor tempo de menopausa tivessem atuado como fatores contribuintes para justificar estas alterações endometriais.

Nesta amostra, somente seis mulheres apresentaram IMC superior a 25Kg/m^2 . Ao analisarmos o IMC das mulheres que apresentaram alterações endometriais, notamos que apenas uma apresentou valores superiores a 25Kg/m^2 . Estes valores, referentes aos IMC das mulheres do estudo, não permitem qualquer inferência estatística, porém demonstram que se tratava de uma amostra relativamente homogênea, com características diferentes da população em geral, sendo menos provável que fatores relacionados ao peso possam ter influenciado os resultados deste estudo.

Na maioria dos estudos, a avaliação endometrial é realizada exclusivamente através do exame ultra-sonográfico (BABER et al. 1999; HAN et al. 2002; PENOTTI et al. 2003). A sensibilidade e especificidade deste método são definidas através de sua capacidade em rastrear o câncer do endométrio (SYMONDS, 2001). Entretanto, outras patologias como pequenos pólipos são de difícil diagnóstico ultra-sonográfico (ELLIOTT et. al., 2003). Estas lesões estão sujeitas ao estímulo estrogênico que, quando presente e persistente, pode predispor ao aparecimento de lesões neoplásicas (ALBUQUERQUE NETO et.al., 2001). Neste estudo propusemos utilizar três métodos de diagnóstico. A realização da histeroscopia associada à histologia permitiu elevar a acurácia, identificando todas as alterações endometriais que eventualmente poderiam interferir nos resultados deste estudo. Entre as 55 mulheres inicialmente selecionadas, observaram-se no exame ultra-sonográfico cinco casos (9,1%) de

endométrio espessado. Todas estas alterações foram confirmadas pela histeroscopia e biópsia. Entretanto, não foram identificados pelo ultra-som três casos de endométrio proliferativo e três casos de pólipo endometrial. Também durante o seguimento, a espessura endometrial medida isoladamente não permitiu o diagnóstico das alterações proliferativas observadas à histeroscopia e confirmadas histologicamente. É possível que seja necessário mais tempo para que o exame ultra-sonográfico mostre-se alterado.

Seis mulheres apresentaram sangramento genital durante o estudo; no entanto, apenas duas tiveram alterações endometriais, sendo uma hiperplasia endometrial e a outra, endométrio proliferativo. Quatro mulheres que tiveram sangramento, na avaliação final apresentaram endométrio inativo, sugerindo que o sangramento genital tenha sido causado por atrofia endometrial. Entretanto, uma mulher que não teve sangramento genital, na avaliação endometrial ao final do estudo, apresentou endométrio proliferativo. Os resultados deste estudo, portanto, não mostraram associação entre sangramento vaginal e alterações endometriais proliferativas.

Em relação à avaliação ultra-sonográfica deste estudo, não foram encontradas alterações significativas na espessura endometrial e no aumento do volume uterino, entre os instantes inicial e final. No entanto, uma mulher apresentou aumento de 1mm em relação à espessura endometrial inicial, sendo que neste caso a espessura final foi de 6mm, superando o valor estipulado para a normalidade. Não se encontrou qualquer alteração ao final do estudo nesta mulher, sendo que o motivo deste espessamento pode ser decorrente de diferença intraobservador

da medida ultra-sonográfica, uma vez que o endométrio inicial desta mulher era de 5mm (EPSTEIN e VALENTIN, 2002).

Em um caso onde foi evidenciada alteração endometrial, encontramos um aumento na espessura de 2mm e aumento no volume uterino, com incremento de 57,7%. Isto sugere que houve um estímulo estrogênico significativo nesta mulher. Porém estes resultados não podem ser generalizados, pois estatisticamente não houve significância em relação à amostra. Em modelo animal, DIEL et al. (2001) observaram que a administração de isoflavonas promoveu uma diminuição do peso uterino quando comparado à utilização de estradiol; no entanto, ocorreu estimulação do epitélio uterino, demonstrando um efeito estrogênico agonista.

A diferença entre os achados ultra-sonográficos, onde não se encontraram alterações significativas (BABER et al., 1999; HAN et al., 2002; PENOTTI et al., 2003) e os achados histológicos, onde se observaram resultados alterados (UNFER et al., 2004), parece ser decorrente principalmente da sensibilidade e especificidade do método, e do tempo de exposição as isoflavonas. Neste estudo, que foi realizado por um período de seis meses, evidenciamos que a administração de isoflavonas promoveu em algumas mulheres alterações endometriais diagnosticadas exclusivamente através da histeroscopia e histologia.

Estas alterações endometriais poderiam ser causadas pelo mecanismo genômico relacionado aos receptores endometriais. O aparecimento de um caso de hiperplasia complexa no estudo de UNFER et al. (2004) reforça ainda mais que as ações relacionadas ao mecanismo não genômico, com efeitos principalmente sobre a proliferação celular e inibição enzimática, não sejam os mais eficazes.

Isto pode ser observado em estudos onde se observou que a administração de isoflavonas não promoveu inibição no crescimento celular de alguns tipos histológicos de neoplasias de mama (ALLRED et al., 2001; MORITO et al., 2001) e células tumorais endometriais (DIEL et al., 2001). Em outro estudo onde se analisou através da imuno-histoquímica o antígeno de proliferação celular Ki-67 em mulheres na perimenopausa, não foi evidenciado que as isoflavonas promoveriam qualquer efeito antiproliferativo endometrial (HALE et al., 2001).

Estes achados sugerem que os efeitos antiproliferativos das isoflavonas não seriam eficazes a curto tempo ou após o aparecimento de neoplasia, e que provavelmente as evidências epidemiológicas dos efeitos antineoplásicos das isoflavonas em povos asiáticos (ALVES e SILVA, 2002) devam estar relacionados também a outros fatores, como hábitos de vida, atividade física e qualidade da alimentação.

Ao que parece, a ação das isoflavonas deve estar mais relacionada ao mecanismo genômico, diretamente influenciado pelas respostas hormonais e decorrente de receptores estrogênicos (DORNSTAUDER et al., 2001). O efeito estrogênico promovido pelas isoflavonas já demonstrado em diversos estudos (BENNETS et al., 1946; ALLRED et al., 2001; DORNSTAUDER et al., 2001; ALVES e SILVA, 2002) é preocupante em relação à sua capacidade de promover estimulação dos diversos órgãos e tecidos. Vários autores demonstraram que o efeito estrogênico é decorrente da ligação a receptores específicos localizados no órgão-alvo (LIPSETT, 1999; SPEROFF, 1999; UTSUNOMIYA et al., 2000) e que fatores como número de receptores (LIPSETT, 1999), tipo de receptores

(COUSE et al., 1997), bem como o tempo de exposição e o momento do início da exposição seriam importantes para definição da resposta ao estímulo hormonal promovido pelas isoflavonas (ALLRED et al., 2001; PUNYADEERA et al., 2003; MUELLER et al., 2004).

A resposta tissular, tanto estrogênica como antiestrogênica, causada pelas isoflavonas, não está totalmente esclarecida. A necessidade de receptores endometriais específicos é pré-requisito para a sua atuação, e a regulação do número de receptores e o tipo de receptores parecem estar relacionados a fatores hormonais de auto-regulação (YEN, 1999; PUNYADEERA et al. 2003). Desta forma, mulheres menopausadas apresentariam receptores endometriais em menores quantidades que aquelas na menacme, apresentando uma resposta precária ao estímulo estrogênico (YEN, 1999). Porém, como o próprio estrogênio pode estimular a formação de novos receptores endometriais, a formação desses novos receptores pode ocorrer dependendo do tempo de exposição às drogas com efeito estrogênico (YEN, 1999). Por outro lado, em mulheres na menacme, a ligação de receptores estrogênicos com as isoflavonas - substância que possui em geral eficiência e potência menor que dos estrogênios naturais na ligação com receptores endometriais - atuaria promovendo uma ação antiestrogênica, pois competiria com os estrogênios na ligação aos receptores (ALLRED et al., 2001; MORITO et al., 2001).

O nível sanguíneo de estrogênio que está relacionado com a fase da vida da mulher exerce influência importante na resposta tissular das isoflavonas. As isoflavonas na menacme exercem interferência na formação do estrogênio endógeno

como o 17β estradiol (MUELLER et al., 2004), de forma que poderiam promover a diminuição dos níveis de estradiol sérico, sugerindo, desta forma, um efeito antiestrogênico. Já na menopausa, devido aos níveis de estradiol naturalmente baixos, as isoflavonas atuam ligando-se aos poucos receptores estrogênicos, promovendo efeito estrogênico fraco (ALLRED et al., 2001). Nesse momento os níveis de estrogênios baixos não seriam competitivos na ligação entre receptores e isoflavonas.

Outra situação a ser considerada é a produção extragonadal de estrogênios, que explicaria a origem dos estrogênios encontrados na circulação e na urina de mulheres menopausadas. Segundo este conceito, os andrógenos, principalmente a androstenediona produzida pela supra-renal, são convertidos em estrógenos em sítios extragonadais como tecido adiposo, fígado, rim e núcleos específicos do hipotálamo. Esta formação extraglandular que envolve principalmente a conversão da androstenediona em estrona é influenciada por fatores como idade, sexo e peso. É provável que níveis residuais de estrogênio possam ser encontrados dependendo destes fatores (GRODIN et al., 1973). Vale ressaltar que as mulheres deste estudo que apresentaram alterações endometriais tinham tempo de menopausa relativamente curto (12 e 24 meses)

A descoberta de dois tipos de receptores endometriais auxiliou no esclarecimento da ação seletiva de diversas drogas (COUSE et al. 1997). Os $RE\alpha$ são mais freqüentes no endométrio. As isoflavonas, por sua vez, ligam-se principalmente a $RE\beta$ (UTSUNOMIYA et al., 2000; MORITO et al., 2001; URBANETZ e RIBEIRO, 2001). A predominância de receptores menos compatíveis

com as isoflavonas no endométrio ($RE\alpha$), ao qual estas substâncias são menos afins, determinaria um menor efeito endometrial (DORNSTAUDER et al., 2001; MUELLER et al., 2004).

Desta forma, considerando-se na menopausa níveis residuais de estrogênio sérico (GRODIN et al., 1973), a possibilidade da presença no endométrio de $RE\alpha$, e ligação das isoflavonas a estes receptores e também a $RE\beta$ (UTSUNOMIYA et al., 2000; MORITO et al., 2001; URBANETZ e RIBEIRO, 2001), e considerando-se o tempo de exposição com formação de novos receptores endometriais estimulados pelo efeito estrogênico prolongado (LIPSETT, 1999; PUNYADEERA et al. 2003), é possível que a utilização de isoflavonas por um período longo promova alterações endometriais (UNFER et al., 2004). Assim, a preocupação com o estímulo endometrial quanto à utilização de isoflavonas por um período prolongado parece ser uma atitude prudente. A utilização de medicamentos que antagonizam o estímulo estrogênico endometrial deve ser utilizado de forma a diminuir o risco de proliferação e hiperplasia endometrial.

Em conclusão, os resultados deste estudo são provenientes de estudo-piloto sobre a avaliação endometrial em usuárias de isoflavonas. O interesse neste assunto decorre do grande número de mulheres que têm recebido prescrição de isoflavonas para o tratamento de sintomas climatéricos, sem que haja a devida preocupação com o endométrio destas mulheres. Novos estudos controlados e randomizados, abrangendo um número amostral e um tempo de seguimento maiores, são necessários para se identificar a real ação promovida pelas isoflavonas no endométrio.

6. Conclusões

1. Não houve alteração na espessura endometrial média, obtida pela ultrasonografia transvaginal em mulheres que utilizaram isoflavonas durante seis meses.
2. Três mulheres apresentaram alterações histeroscópicas, sendo duas delas espessamento endometrial e uma sugestiva de hiperplasia.
3. Após seis meses de uso da isoflavona, três mulheres apresentaram modificações histológicas proliferativas, sendo duas com endométrio proliferativo e uma com hiperplasia endometrial sem atipias.

7. Referências Bibliográficas

ANVISA. Informe do Workshop sobre Isoflavonas 2002. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/comissão/conafit/comp.htm>. Acesso em 15 out 2003.

ALBUQUERQUE NETO, L.C.; NAPOLITANO, A.C.; GARCIA, F.O.; DE LUCA, P.; ARRUDA, R.M. Polipectomia Videohistoscópica. In: DONADIO, N.; ALBUQUERQUE NETO, L.C.; BARBOSA, C.P.; DONADIO, N.F.; RIBEIRO, P.A.A.G. **Consenso Brasileiro em Videoendoscopia Ginecológica**. São Paulo: Ed. Artes Médicas, 2001. p. 385-9.

ALLRED, C.D.; ALLRED, K.F.; JU, Y.H.; VIRANT, S.M.; HELFERICH, W.G. Soy Diets Containing Varying Amounts of Genistein Stimulate Growth of Estrogen-dependent (MCF – 7) Tumors in a Dose-dependent Manner. **Cancer Res**; 61 (13): 5045-50, 2001.

ALVES, D.L.; SILVA, C.R. **Fito-hormônios: Abordagem Natural da Terapia Hormonal**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2002.p.1-54.

AMERICAN CANCER SOCIETY. American cancer statistics 2004 [on line]. Atlanta (USA); 2004. Disponível em: http://www.cancer.org/downloads/STT/CAF_finalPWSecured.pvx. Acesso em 10 de nov 2004.

ASSOCIAÇÃO MÉDICA MUNDIAL. Declaração de Helsinki: princípios éticos para as investigações médicas em seres humanos [on line]. Revisada na 52ª assembléia geral, Edinburgo; 2000. Disponível em <http://wma.net/e/policy/b3.htm>. Acesso em: 10 de nov. 2004.

BABER, R.J.; TEMPLEMAN, C.; MORTON, T.; KELLY, G.E.; WEST, L. Randomized placebo-controlled trial of an isoflavone supplement and menopausal symptoms in women. *Climacteric*, 2:85-92, 1999.

BALK, J.L.; WHITESIDE, D.A.; NAUS, G.; DEFERRARI, E.; ROBERTS, J.M. A. Pilot Study of the Effects of Phytoestrogen Supplementation on Postmenopausal Endometrium. *J Soc Gynecol Investig*, 9:238-42, 2002.

BARRET-CONNOR, E.; GRADY, D.; SASHEGYI, A.; ANDERSON, P.W.; COX, D.A.; HOSZOWSKI, K. et al. Raloxifene and Cardiovascular Events in Osteoporotic Postmenopausal Women. *JAMA*, 287:847-57, 2002.

BENNETS, H.W.; UNDERWOOD, E.J.; SHIER, F.L. A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in Western Australia. *Aust Vet J*, 22: 2-12, 1946.

BENIRSCHKE, K. Endométrio. In: YEN, S.S.; JAFFE, R.B. **Endocrinologia Reprodutiva – Fisiologia, Fisiopatologia e Tratamento Clínico**. 2ª ed. São Paulo: Ed. Roca, 1990. p. 369-88.

BOERSMA, B.J.; BARNES, S.; KIRK, M.; WANG, C.C.; SMITH, M.; KIM, H. et al. Soy isoflavonoids and cancer – metabolism at the target site. *Mutat Res*, (480-481):121-7, 2001.

BOSSEMEYER, R. Aspectos Gerais do Climatério. In: FERNANDES, C.E.; MELO, N.R.; WHEBA, S. **Climatério feminino**. São Paulo: Ed. Lemos, 1999. p. 17-33.

BOURNE, T.; HAMBERGER, L.; HAHLIN, M.; GRANBERG, S. Ultrasound in gynecology: endometrium. *Int J Gynecol Obstet*, 56:115-27, 1997.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196/96 sobre pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília (DF), 1996. Disponível em: http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=663&mode=PRINT_VERSION>.

Acesso em: 10 nov. 2004.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 251/97 sobre pesquisa envolvendo seres humanos para a área temática de pesquisa com novos fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos. Disponível em: http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=1505&mode=PRINT_VERSION>

Acesso em 10 de nov. 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 023 de 15 de março de 2000. Disposições sobre o Manual de Procedimentos Básico para o registro e dispensa de obrigatoriedade de registro de produtos pertinentes à área de alimentos. Disponível em: http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=112&mode=PRINT_VERSION>.

Acesso em 10 de nov 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Programas de Controle de Câncer – Pro-onco. Rio de Janeiro, 1997. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/impresao.asp?op-cv&id-84>>. Acesso em: 10 de nov 2004.

CLAPAUCH, R.; MEIRELLES, R.M.R.; JULIÃO, M.A.S.G.; LOUREIRO, C.K.C.; GIARODOLI, P.B.; PINHEIRO, S.A. et al. Fitoestrogênios: Posicionamento do Departamento de Endocrinologia Feminina da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM). *Arq Bras Endocrinol Metab*; 46:679-95, 2002.

CHARPIN, C. Lesiones limítrofes do endometrio: aspectos histopatológicos. *Encycl Med Chir*. France: Ed. Techniques, 1994. (610-A-10).p.1-5.v.2.

COLDITZ, G. A. Relationship Between Estrogen Levels, Use of Hormone Replacement Therapy, and Breast Cancer. **J Nat Cancer Inst.** 90:814-23, 1998.

CORNIER, C.; MADELENA, T.P.; DEVAL, B.; DESPIERRE, O. Hystéroskopie diagnostique et opératoire. **Encycl Med Chir.** France: Ed. Techniques, 1994. (72-A-10).p.1-19. v. 1.

COUSE, J.F.; LINDZEU, J.; GRANDIEN, K.; GUSTAFSSON, J.A.; KORACH, K.S. Tissue distribution and quantitative analysis of estrogen receptor α (ER α) and estrogen receptor β (ER β) messenger ribonucleic acid in the wild-type and ER α -Knockout mouse. **Endocrinology**, 138:4613-21, 1997.

DEAN, A.G.; DEAN, J.A.; COULOMBIER, D.; BRENDDEL, K.A.; SMITH, D.C.; BURTON, A.H. et al. **Epi Info, version 6: a word processing database and statistics program for epidemiology on microcomputers.** Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 1994.

DEUS, J.M.; ALVARENGA, C.M.R.; HENKES, E.M.; MENEZES, G.P.S.; FINOTTI, M.F. MEDEIROS, R.A.B. Histeroscopia diagnóstica na hiperplasia endometrial. In: DONADIO, N.; ALBUQUERQUE NETO, L.C.; BARBOSA, C.P.; DONADIO, N.F.; RIBEIRO, P.A.A.G. **Consenso Brasileiro em Videoendoscopia Ginecológica.** São Paulo: Ed. Artes Médicas, 2001. p. 361-3.

DIEL, P.; SMOLNIKAR, K.; SCHULTZ, T; LAUDENBACH-LESCHOWSKI, U.; MICHNA, H.; VOLLMER, G. Phytoestrogens and carcinogenesis – differential effects of genistein in experimental models of normal and malignant rat endometrium. **Hum Reprod**, 16:997-1006, 2001.

DORNSTAUDER, E.; JISA, E.; UNTERRIEDER, I.; KRENN, L.; KUBELKA, W.; JUNGBAUER, A. Estrogenic activity of two standardized red clover extracts (Menoflavon®) intended for large scale use in hormone replacement therapy. **J Steroid Biochem Mol Biol**, 78:67-75, 2001.

ELLIOT, J.; CONNOR, M.; LASHEN, H. The value of outpatient hysteroscopy in diagnosing endometrial pathology in postmenopausal women with and without hormone replacement therapy. **Acta Obstet Gynecol Scand**, 82 (12): 1112-9, 2003.

EPSTEIN, E.; VALENTIN, L. Intraobserver and interobserver reproducibility of ultrasound measurements of endometrial thickness in postmenopausal women. **Ultrasound Obstet Gynecol**, 20:486-91, 2002.

ESCOSTEGUY, C.C. Estudos de Intervenção. In: MEDRONHO, R.; CARVALHO, D.M.; BLOCH, K.V.; LUIZ, R.R.; WERNECK, G.L. **Epidemiologia**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2002. p.151-60.

FERREIRA, J.A.S. A perimenopausa. In: FERNANDES, C.E.; MELO, N.R.; WHEBA, S. **Climatério feminino**. São Paulo: Ed. Lemos, 1999. p. 41-56.

FERRIANI, R. A. Endocrinologia da Menopausa. In: FERNANDES, C.E.; MELO, N.R.; WHEBA, S. **Climatério feminino**. São Paulo: Ed. Lemos, 1999. p. 35-40.

FLETCHER, R.H.; FLETCHER, S.W.; WAGNER, E.H. **Epidemiologia clínica: elementos essenciais**.3ª ed. Porto Alegre: Ed. Artmed, 1996. p.145-73.

FUGH-BERMAN, A.; KRONENBERG, F. Red clover (*Trifolium pratense*) for menopausal women: current state of knowledge. **Menopause**, 8:333-7, 2001.

GARNET, A.L.; HOWARD, J.L.; KAUNITZ, A.M.; ANDREW, M.; BARAD, D.H.; BERESFORD, S.A.A. et al. Effects of Estrogen Plus Progestin on Gynecologic Cancers and Associated Diagnostic Procedures: The Women's Health Initiative Randomized Trial. **JAMA**, 290:1739-48, 2003.

GERMAIN, A.S.; PETERSON, C.T.; ROBINSON, J.G.; ALEKEL, D.L. Isoflavone-rich or isoflavone-poor soy protein does not reduce menopausal symptoms during 24 weeks of treatment. **Menopause**, 8:17-26, 2001.

GOLDFRANK, D.; HAYTOGLU, T.; FRISHMAN, W.; MOHAMMAD, A. Raloxifene, a New Selective Estrogen Receptor Modulator. **J Clin Pharmacol**, 39:767-74, 1999.

GOLDRATH, M.H.; SHERMAN, A.I. Office hysteroscopy and suction curettage: can we eliminate the hospital diagnostic dilatation and curettage ? **Am J Obstet Gynecol**, 152:220-9, 1985.

GONÇALVES, W.J.; BORTOLETTO, C.C.R.; STAVALE, J.R.; HAIDAR, M.A.; SIMÕES, R.D.; BARACAT, E.C. et al. Correlação entre a ultra-sonografia transvaginal e o exame anatomopatológico do endométrio de mulheres assintomáticas na pós-menopausa: estudo prospectivo de 300 casos. **J Bras Ginecol**, 105:89-96, 1995.

GREENWOOD, S.; BARNES, S.; CLARKSON, T.B.; EDEN, J.; HELFERICH, W.G.; HUGHES, C. et al. The Role of Isoflavones in Menopausal Health: Consensus Opinion of The North American Menopause Society. **Menopause**, 7:215-29, 2000.

GRODIN, J.M.; STIITERI, P.K.; MAC-DONALD, P.C. Source of estrogen production in post-menopausal women. **J Clin Endocrinol Metab**, 36:207-18, 1973.

HALE, G.E.; HUGHES, C.L.; ROBBOY, S.J.; ARGAWAL, S.K.; BIEVRE, M. A double-blind randomized study on the effects of red clover isoflavone on the endometrium. **Menopause**, 8:338-46, 2001.

HAN, K.K.; SOARES JUNIOR, J.M.; HAIDAR, M.A.; LIMA, G.R.; BARACAT, E.C. Benefits of Soy Isoflavone Therapeutic Regimen on Menopausal Symptoms. **Am Col Obstet Gynecol**, 99:389-94, 2002.

HAYS, J.; OCKENE, J.K.; BRUNNER, R.L. et al. Effects of estrogen plus progestin on health-related quality of life. **N Engl J Med**, 348:1839-54, 2003.

JAFFE, R.B. Período da Menopausa e Perimenopausa. In: YEN, S.C.; JAFFE, R.B. **Endocrinologia reprodutiva – fisiologia, fisiopatologia e tratamento clínico**. 2ª ed. São Paulo: Ed. Roca; 1999. p.389-406.

KNIGHT, D.C.; HOWES, J.B.; EDEN, J.A. The effect of Promensil™, na isoflavone extract, on menopausal symptoms. **Climateric**, 2:79-84, 1999.

KREBS, E.E.; ENSRUD, K.E.; MACDONALD, R.M.S.; WILT, T.J. Phytoestrogens for Treatment of Menopausal Symptoms: A Systematic Review. **Am Col Obstet Gynecol**, 104:824-36, 2004.

KUIPER, G.G.J.M.; LEMMEN, J.G.; CARLSSON, B.; CORTON, J.C.; SAFE, S.H.; VAN DER SAAG, P.T. et al. Interaction of Estrogenic Chemicals and Phytoestrogens with Estrogen Receptor β . **Endocrinology**, 139:4252-63, 1998.

KURMAN, R.J.; NORRIS, H.J. Endometrial Hyperplasia and Metaplasia. In: KURMAN, R.J. **Blaustein's pathology of the female genital tract**. 3ª ed. New York: Ed. Springer-Verlag, 1987. p. 322-37.

LETHABY, A.E.; KONENBERG, F.; ROBERTS, H.; EDEN, J. Phytoestrogens for menopausal symptoms (Protocol for a Cochrane Review). **Cochrane Library**; 1 (1). [on line]. Disponível em: <http://www.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah-cochrany>. Acesso em 5 maio 2002.

LIAN, Z.; NIWA, K.; TAGAMI, K.; HASHIMOTO, M.; GAO, J.; YOKOYAMA, Y. et al. Preventive Effects of Isoflavones, Genistein and Daidzein, on Estradiol-17 β -related Endometrial Carcinogenesis in Mice. **Jpn J Cancer Res**, 92:726-34, 2001.

LIPSETT, M.B. Hormônios Esteróides. In: YEN, S.S.C.; JAFFE, R.B. **Endocrinologia reprodutiva – fisiologia, fisiopatologia e tratamento clínico**. 2ª ed. São Paulo: Ed. Roca; 1999. p.135-47.

LOFFLER, E.D. Hysteroscopy with selective endometrial sampling compared with D&C for abnormal uterine bleeding: the value of a negative hysteroscopic view. **Obstet Gynecol**, 73:16-20, 1989.

LUIZ, R.R.; MAGNANINI, M.M.F. O Tamanho da Amostra em Investigações Epidemiológicas. In: MEDRONHO, R.; CARVALHO, D.M.; BLOCH, K.V.; LUIZ, R.R.; WERNECK, G.L. **Epidemiologia**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2002. p.295-308.

MACHADO, S.B.; PINA, H.; ESTEVE, M.; NEVES, N.A.; SCHIDLER, S.S.; BORGES, A.S. Indicações, contra-indicações e complicações em histeroscopia diagnóstica. In: DONADIO, N.; ALBUQUERQUE NETO, L.C.; BARBOSA, C.P.; DONADIO, N.F.; RIBEIRO, P.A.A.G. **Consenso Brasileiro em Videoendoscopia Ginecológica**. São Paulo: Ed. Artes Médicas, 2001. p.325-8.

MONTGOMERY, B.E.; DAUM, G.S.; DUNTON, C.J. Endometrial Hyperplasia: A review. **Obstet Gynecol Surv**, 59:368-78, 2004.

MORITO, K.; HIROSE, T.; KINJO, J.; HIRAKAWA, T.; OKAWA, M.; NOHARA, T. Interaction of Phytoestrogens with Estrogen Receptors α and β . **Biol Pharm Bull**, 24:351-6, 2001.

MOURA, A.P.; PASTORE, A.R.; CERRI, G.G. Endométrio. In: PASTORE, A.R.; CERRI, G.G. **Ultra-sonografia – obstetrícia – ginecologia**. São Paulo: Ed. Sarvier, 1997. p. 555-71.

MUELLER, S.O.; SIMON, S.; CHAC, K.; METZIER, M.; KORACH, K.S. Phytoestrogens and Their Human Metabolites Show Distinct Agonistic and Antagonistic Properties on Estrogen Receptor α (ER α) and ER β in Human Cells. **Toxicol Scienc**, 80:14-25, 2004.

NACHTIGALL, L.E. Isoflavones in the management of menopause. **J Br Menop Soc**, (Supl 1):8-11, 2001.

NAGATA, C.; TAKATSUKA, N.; KAWAKAMI, N.; SHIMIZU, H. Original Communication - Soy product intake and premenopausal hysterectomy in a follow-up study of Japanese women. *Eur J Clin Nutr*, 55:773-7, 2001.

NANETTE, F.S.; CLARKSON T.B.; FREEDMAN, R.R.; FUGH-BERMAN, A.J.; LOPRINZI, C.L.; REAME, K.N. Treatment of menopause-associated vasomotor symptoms: position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*, 11:11-33, 2004.

NAVARRO, P.A.A.S.; GOMES, F.M.; AZEVEDO, G.D.; COSTA, F.S.; FERRIANI, R.A.; IANNETTA, O. Fatores locais envolvidos na etiopatogênese da osteoporose pós-menopausa. *Reprod Clim*, 16:167-72, 2001.

NESTEL, P.J.; POMEROY, S.; KAY, S.; KOMESAROFF, P.; BEHRSING, J.; CAMERON, J.D. et al. Isoflavones from Red Clover Improve Systemic Arterial Compliance But Not Plasma Lipids in Menopausal Women. *J Clin Endoc Metab*, 84:895-8, 1999.

OLEFSKY, J.M. Obesidade. In: WILSON, J.D.; BRAUNWALD, E.; ISSELBACHER, K.J.; PETERSDORF, R.G.; MARTIN, J.B. et al. **Harrison – Medicina Interna**. 12^a ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1992. p. 4-9.

PENOTTI, M.; FABIO, E.; MODENA, B.A.; RINALDI, M.; OMODEI, U.; VIGANO, P. Effect of soy-derived isoflavones on hot flushes, endometrial thickness, and the pulsatility index of the uterine and cerebral arteries. *Fertil Steril*, 79:1112-7, 2003.

PEREIRA FILHO, A.S. Propedêutica do Climatério. In: FERNANDES, C.E.; MELO, N.R.; WEHBA, S. **Climatério feminino – fisiopatologia, diagnóstico e tratamento**. São Paulo: Ed. Lemos, 1999. p.205-21.

PIOVESAN, A.C.; SIMÕES, R.S.; MOSQUETE, R.; SIMÕES, M.J.; JUNIOR, J.M.S.; BARACAT, E.C. Efeitos das Isoflavonas no Tecido Mamário. **Femina**, 32:759-63, 2004.

PUNYADEERA, C.; VERBOST, P.; GROOTHUIS, P. Oestrogen and progestin responses in human endometrium. **J Steroid Biochem Mol Biol**, 84:393-410, 2003.

SANTOS, R.R.O.; COSTA, H.F.; COELHO, I.M.G.; CALDAS, M.M.P. Histeroscopia diagnóstica Técnica do exame. In: DONADIO, N.; ALBUQUERQUE NETO, L.C.; BARBOSA, C.P.; DONADIO, N.F.; RIBEIRO, P.A.A.G. **Consenso Brasileiro em Videoendoscopia Ginecológica**. São Paulo: Ed. Artes Médicas, 2001. p. 322-24.

SPEROFF, L. The estrogen receptor: changing concepts. Clinical lessons from molecular biology. In: COUTINHO, E.M.; SPINOLA, P. **Reproductive medicine - a millennium review**. New York: The Parthenon Publishing Group, 1999. p. 155-61.

STRIKE, P.W. **Statistical methods in laboratory medicine**. Oxford: Ed. Butterworth-Heinemann, 1991.p.129-83.

SCHULTZ, F.K.; GRIMES, D.A. An overview of clinical research: the lay of the land. **Lancet**, 359:57-61, 2002.

SURITA, R.; BARBOSA, C.P.; HERNENDES, P.S.; NAPOLITANO, A.C.; MARTINS, S.V. Achados histeroscópicos em pacientes com teste de progesterona positivo. **Reprod Clim**, 13:102-4, 1998.

SYMONDS, I. Ultrasound, hysteroscopy and endometrial biopsy in the investigation of endometrial cancer. **Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol**, 15:381-91, 2001.

TASSELLI, R.G.; FARIA, M.; MENICONI, M.C.G.; HERNANDES, O.S.
Histeroscopia diagnóstica nas diferentes fase da vida da mulher. In: DONADIO, N.; ALBUQUERQUE NETO, L.C.; BARBOSA, C.P.; DONADIO, N.F.; RIBEIRO, P.A.A.G. **Consenso Brasileiro em Videoendoscopia Ginecológica**. São Paulo: Ed. Artes Médicas, 2001. p. 329-31.

UNFER, V.; CASINI, M.L.; COSTABILE, L.; MIGNOSA, M.; GERLI, S.; DI RENZO, G.C. Endometrial effects of long-term treatment with phytoestrogens: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Fertil Steril**, 82:145-8, 2004.

URBANETZ, A.A.; RIBEIRO, M.C. Fitoestrogênios: verdade ou mito? **Reprod Clim**, 16:92-7, 2001.

USDA- Documentation for the Iowa State University Isoflavones Database. 1999

UTSUNOMIYA, H.; SUZUKI, T.; HARADA, N.; KIYOSHI, I.; MATSUZAKI, S.; KONNOR, R. et al. Analysis of Estrogen Receptor α and β in Endometrial Carcinomas: Correlation with ER β and Clinicopathologic Findings in 45 Cases. **Int J Gynecol Pathol**, 19:335-41, 2000.

VILLELA, G.G.; BACILA, M.; TASTALDI, H. **Esteróides. bioquímica**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1961. p.78-116.

YEN, S.S.C. Ciclo Menstrual Humano. In: YEN, S.S.C.; JAFFE, R.B. **Endocrinologia reprodutiva – fisiologia, fisiopatologia e tratamento clínico**. 2^a ed. São Paulo: Ed. Roca; 1999. p.193-227.

WARMING, L.; RAVN, P.; SKOUBY, S.; CHRISTIANSEN, C. Measurement precision and normal range of endometrial thickness in a postmenopausal population by transvaginal ultrasound. **Ultrasound Obstet Gynecol**, 20:492-5, 2002.

WENDER, M.C.; CAMPOS, L.S. Fitoestrogênios: Examinando as evidências do seu emprego no climatério. **Reprod Clim**, 16:155-62, 2001.

WRITING GROUP FOR THE WHI INVESTIGATORS. Risk and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. **JAMA**, 288:321-33, 2002.

XU, X.; DUNCAN, A.M.; WANGER, K.E.; KURZER, M.S. Soy Consumption alters Endogenous Estrogen Metabolism in Postmenopausal Women. **Cancer Epidemiol Biomarkesrs Prev**, 9:781-6, 2000.

ZAVA, D.T.; DOLLBAUM, C.M.; BLEN, M. Estrogen and Progestin Bioactivity of Foods, Herbs, and Spices. **Soc Exper Biol Med**, 369-78, 1998.

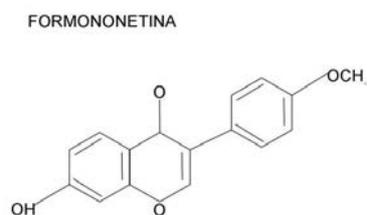
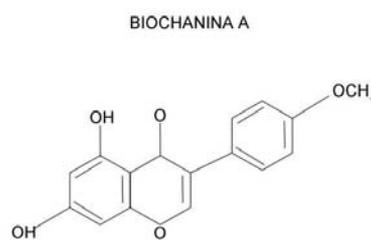
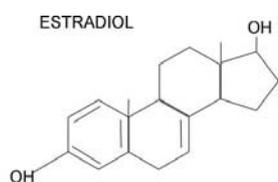
8. Bibliografia de Normatizações

FRANÇA, J.L.; BORGES, S.M.; VASCONCELLOS, A.C.; MAGALHÃES, M.H.A.
– **Manual para normatização de publicações técnico-científicas**. 4^a ed.,
Editora UFMG, Belo Horizonte, 1998. 213p.

Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses. Faculdade
de Ciências Médicas, UNICAMP. Ed. SAD – Deliberação CCPG-001/98
(alterada 2002).

9. Anexos

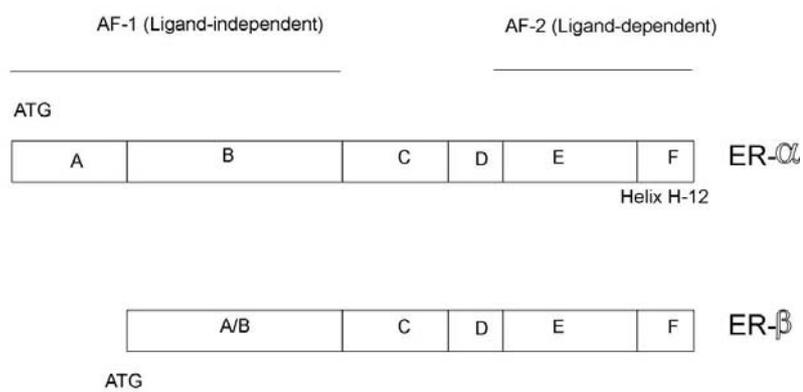
9.1. Anexo 1



(DORNSTAUER et al., 2001 e LIPSETT, 1990)

9.2. Anexo 2

Estrutura funcional dos domínios dos receptores estrogênicos alfa e beta



(PUNYADEERA et al. 2003)

9.3. Anexo 3

Cálculo dos valores de distribuição normal para determinação do tamanho amostral considerando teste de hipóteses

α	$Z_{1-\alpha/2}$	β	$Z_{1-\beta}$
0,01	2,576	0,01	2,326
0,05	1,960	0,05	1,645
0,10	1,645	0,10	1,282
0,15	1,036	0,20	0,841

(STRIKE, 1991)

9.4. Anexo 4

AVALIAÇÃO DO ENDOMÉTRIO EM MULHERES MENOPAUSADAS ANTES E APÓS A UTILIZAÇÃO DAS ISOFLAVONAS

Check-list

Estou realizando um estudo com um remédio à base de soja no tratamento da menopausa. Caso a senhora esteja interessada em participar deste estudo é necessário responder a algumas perguntas:

	Grupo Isoflavonas	Outro grupo
Qual a sua idade?	<input type="checkbox"/> 40 a 60 anos	<input type="checkbox"/> < 40 ou > 60
Há quanto tempo que não menstrua?	<input type="checkbox"/> > 1 < 5 anos	<input type="checkbox"/> < 1 > 5 anos
Quanto tempo sem tratamento?	<input type="checkbox"/> > 6 meses	<input type="checkbox"/> < 6 meses
Você tem útero?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Você sente calorão no corpo?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não

9.5. Anexo 5

AVALIAÇÃO DO ENDOMÉTRIO EM MULHERES MENOPAUSADAS, ANTES E APÓS A UTILIZAÇÃO DAS ISOFLAVONAS

FICHA DE DADOS

Registro □□□□□□

Instituição (1) Hospital Universitário de Taubaté

(2) Prefeitura Municipal Pindamonhangaba

I. DADOS GERAIS

1. Data	□□/ □□/ □□	□□/ □□/ □□
2. Idade (anos)	□□□	□□□
3. Altura (cm)	□□□	□□□
4. Peso (Kg)	□□□	□□□
5. IMC (m ² /kg)	(...)	(...)

II. DADOS ESPECÍFICOS (Obtidos através de entrevista)

Agora gostaria de fazer algumas perguntas para a senhora.

6. Com qual idade a senhora parou de menstruar? anos

7. Tempo de menopausa meses (calculado pelo entrevistador)

8. A Senhora já se tratou com hormônio? (1) Sim (2) Não

9. Há quanto tempo a senhora parou de tomar estes hormônios? meses

III. RESULTADO DOS EXAMES

10. Resultado do exame de Ultra-som (Obtido do laudo)

Data do exame	<input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>	<input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>
Espessura endometrial	(1)...(...) mm	(1)...(...) mm
	(2)...não realizado	(2)...não realizado
Volume uterino	<input type="text"/> cm ³	<input type="text"/> cm ³

11. Resultado da histeroscopia

Data do exame	□□/ □□/ □□	□□/ □□/ □□
Achados histeroscópicos	(1) Cavidade uterina normal (2) Espessamento endometrial (3) Sugestivo de hiperplasia endometrial (4) Sugestivo de neoplasia (5) Outros (.....) (6) Não realizado	(1) Cavidade uterina normal (2) Espessamento endometrial (3) Sugestivo de hiperplasia endometrial (4) Sugestivo de neoplasia (5) Outros (.....) (6) Não realizado

12. Resultado da biópsia endometrial

Data do exame	□□/ □□/ □□	□□/ □□/ □□
Achados histológicos	(1) Atrófico (2) Proliferativo (3) Hiperplasia simples sem atipia (4) Hiperplasia simples com atipia (5) Hiperplasia complexa sem atipia (6) Hiperplasia complexa com atipia (7) Neoplasia (8) Material insuficiente (9) Outros	(1) Atrófico (2) Proliferativo (3) Hiperplasia simples sem atipia (4) Hiperplasia simples com atipia (5) Hiperplasia complexa sem atipia (6) Hiperplasia complexa com atipia (7) Neoplasia (8) Material insuficiente (9) Outros

9.6. Anexo 6

SOLICITAÇÃO DE COMPARECIMENTO À CONSULTA MÉDICA

Convidamos a Sra. _____ a comparecer no serviço de climatério do _____, no dia _____ às _____ horas, para consulta médica de controle.

Atenciosamente,

Dr. Luis Paulo Galvão Wolff

9.7. Anexo 7

AVALIAÇÃO DO ENDOMÉTRIO EM MULHERES MENOPAUSADAS ANTES E APÓS A UTILIZAÇÃO DE ISOFLAVONAS

Pesquisador: Luis Paulo Galvão Wolff

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu _____, _____, anos, RG _____
telefone _____ aceito participar como voluntária no estudo que tem como
objetivo a avaliação das alterações da camada interna do meu útero após o uso de um
remédio à base de vegetais que é a isoflavona.

O medicamento é autorizado no Brasil para tratamento de calorão no corpo na
pós-menopausa, podendo melhorar o colesterol do meu sangue. O tratamento será
fornecido gratuitamente por seis meses. Os resultados deste estudo vão esclarecer
qual é a ação deste remédio dentro do útero, e com isto saber se ele realmente pode
ser um bom tratamento para mulheres durante a menopausa.

Fui informada que será realizada uma dosagem sangüínea de dois hormônios
chamados FSH e estradiol, juntamente com os outros exames de sangue de rotina.
Estes exames têm a finalidade de confirmar que eu estou na menopausa. Como este
exame será feito juntamente com os outros, eu não terei que coletar uma amostra
adicional de sangue. Também terei que fazer um exame que visualiza meu útero por
dentro, chamado histeroscopia e também uma biópsia. Estes exames serão feitos no início e
no final da pesquisa, que será após seis meses. Estes exames têm por finalidade
investigar de forma adequada a camada interna do meu útero. O histeroscópio é um
aparelho semelhante a uma micro-câmera que é colocado dentro do útero através da
vagina e o filma. Este exame e a biópsia, que é realizada com um aparelho fino como
uma carga de caneta e que aspira um pouco do material de dentro do útero como uma
seringa de injeção, podem causar discreto desconforto, na maioria das vezes não
causando nenhum problema para minha saúde e são seguros de serem realizados.

Também fui informada que estes exames são os mais adequados para avaliação da camada interna do meu útero. O acompanhamento será realizado por consultas bimestrais onde será fornecido o remédio e tirado dúvidas. Será fornecido uma ajuda financeira de \$30,00 (trinta reais) para alimentação e transporte.

As informações e os resultados dos exames serão utilizados exclusivamente para a pesquisa e não ocorrerá identificação da minha pessoa. Caso eu tenha qualquer dúvida a respeito deste estudo, terei toda orientação do médico responsável, bem como poderei desistir de participar em qualquer momento, sem que isto possa causar qualquer prejuízo em relação ao meu atendimento atual ou futuro neste serviço. No caso do não comparecimento à consulta de retorno será enviada uma carta para a minha residência ou haverá tentativa de contato por telefone para nova consulta. Se não houver contato ou eu não retornar novamente na consulta, eu serei descontinuada do estudo e haverá parada do fornecimento gratuito do medicamento.

Qualquer informação adicional entrar em contato com Comitê de Ética em pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp pelo telefone (019) 3788-8936.

Paciente _____

(ou seu representante legal)

R.G. _____

Pesquisador _____

Luis Paulo Galvão Wolff

R.G. 20.787.272

Tel. (012) 233-4422 R 302

9.8. Anexo 8

Características e resultados gerais da amostra estudada

N	Id	TM	IMC	FSH	LE*	LE**	Vol*	Vol**	Hister*	Hister**	Histo*	Histo**	Sang
1	59	12	21		3	5	78	66	mioma	mioma	atrofic	atrofic	ausente
2	53	22	20,5	43,4	3	4	33	39	normal	normal	insufic	insufic	ausente
3	57	48	24,2	81,9	3	4	50	49	normal	normal	atrofic	atrofic	ausente
4	52	60	19,9	70,2	4	3	25	25	normal	normal	atrofic	Insufic	present
5	44	12	25,1	82,4	3	5	61	50	normal	normal	atrofic	atrofic	ausente
6	41	24	18,7	69,7	3	3	40	37	normal	espes	atrofic	hiperpl	present
7	51	12	17,8	65,9	2	5	26	41	normal	espes	atrofic	prolif	ausente
8	50	24	30,1	49,1	3	2	107	82	normal	normal	insufic	atrofic	ausente
9	51	12	15,7	51,1	3	3	54	47	normal	normal	atrofic	atrofic	ausente
10	48	23	22	136	3	2	37	44	normal	normal	atrofic	atrofic	ausente
11	53	36	20,3	121	4	4	59	40	normal	normal	atrofic	atrofic	present
12	54	18	16	49,2	3	2	83	59	normal	normal	atrofic	atrofic	present
13	51	48	20,9	127	4	2	50	47	mioma	mioma	atrofic	atrofic	ausente
14	52	12	29,7	57,3	5	5	163	83	mioma	mioma	atrofic	atrofic	ausente
15	44	60	24,1	80,7	4	5	49	57	normal	normal	atrofic	atrofic	present
16	53	38	17	88,9	2	3	23	25	normal	normal	insufic	atrofic	ausente
17	50	28	20,3	101	2	3	25	24	normal	normal	atrofic	atrofic	ausente
18	43	24	24	74,4	3	4	42	43	normal	normal	atrofic	atrofic	ausente
19	53	34	19,5	62,7	3	4	44	62	normal	normal	atrofic	atrofic	ausente
20	52	60	22,3	155	3	3	38	36	normal	normal	insufic	atrofic	ausente
21	54	60	20,6	286	2	3	39	32	normal	normal	atrofic	atrofic	ausente
22	55	12	27,6	111	4	4	54	49	normal	normal	atrofic	atrofic	ausente
23	48	28	21,1	109	4	4	63	52	normal	normal	atrofic	atrofic	ausente
24	56	20	19,3	60,3	4	3	38	30	normal	normal	atrofic	insufic	ausente
25	51	20	18,7	74,1	4	4	35	34	adeno	adeno	atrofic	atrofic	ausente
26	56	14	23,2	78,5	5	4	98	136	normal	normal	insufic	insufic	ausente
27	43	12	28,9	72,6	5	4	63	63	normal	espes	atrofic	prolif	present
28	49	23	20,3	145	4	3	76	54	normal	normal	atrofic	insufic	ausente
29	53	60	19,6	130	1	3	59	52	normal	normal	atrofic	atrofic	ausente
30	56	24	29,1		2	2	59	49	normal	normal	atrofic	atrofic	ausente
31	44	36	18,1		5	4	35	58	normal	normal	atrofic	atrofic	ausente
32	52	24	23,1	48,6	5	6	101	98	normal	normal	atrofic	atrofic	ausente

N = caso

Id = idade

TM = Tempo de menopausa

IMC = Índice de massa corporal

FSH = Hormônio Folículo Estimulante

LE* e LE** = Linha endometrial inicial e final

Vol* e Vol** = Volume uterino inicial e final

Hister* e Hister** = Histeroscopia inicial e final

Histo* e Histo** = Histologia inicial e final

Sang = Sacramento genital