

ISOFLAVONAS: BIOQUÍMICA, FISILOGIA E IMPLICAÇÕES PARA A SAÚDE

RAQUEL BEDANI*

ELIZEU ANTONIO ROSSI**

Efetuu-se revisão de literatura sobre os recentes progressos na pesquisa com isoflavonas, abordando os principais aspectos da bioquímica e fisiologia desses compostos, além de destacar seus efeitos para a saúde. Diversos estudos apontam para a capacidade das isoflavonas em prevenir e/ou tratar doenças crônico-degenerativas como a osteoporose, câncer e doenças coronarianas, entre outras. No entanto, diversas questões ainda devem ser respondidas e novos estudos (com animais e humanos) necessitam ser realizados a fim de esclarecer seu verdadeiro mecanismo de ação, bem como os benefícios das isoflavonas para o organismo.

PALAVRAS-CHAVE: ISOFLAVONAS; PROTEÍNA DE SOJA; OSTEOPOROSE; CÂNCER; SINTOMAS DA MENOPAUSA; DOENÇAS CARDIOVASCULARES.

1 INTRODUÇÃO

Os fitoestrógenos são compostos vegetais, não-esteróides, capazes de exercer efeitos estrogênicos. Nas plantas, esses compostos atuam como fungicidas, detêm a herbivoria, regulam os hormônios vegetais e protegem as plantas contra os raios ultravioletas, além de funcionarem como antioxidantes (BARRET, 1996).

Há cerca de 20 tipos de fitoestrógenos, identificados a partir de 300 plantas de 16 famílias diferentes, que podem ser agrupados em três classes: as isoflavonas, os coumestanos (dos quais o principal é o coumestrol) e os lignanos, representados principalmente pelo enterodiol

* Doutoranda do Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araraquara, SP (e-mail: rbedani@universia.com.br).

** Professor, Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, SP (e-mail: rossiea@fctar.unesp.br).

e pela enterolactona (ADLERCREUTZ, 2002). De acordo com ADLERCREUTZ (2002) existe a quarta classe de fitoestrógenos que se refere aos micoestrógenos (lactonas do ácido resorcílico), representados pela zearalenona e zearalenol.

As isoflavonas são as formas mais comuns de fitoestrógenos, sendo predominantemente verificadas em leguminosas e especialmente na soja (THAM, GARDENER e HASKELL, 1998). As principais isoflavonas são genisteína, daidzeína e gliciteína, podendo ser encontradas na forma não-conjugada (aglicona), conjugada (glicosilada), acetilglicosilada e malonilglicosilada.

A estrutura química das isoflavonas assemelha-se à do 17 β -estradiol. Enquanto esses compostos ligam-se com maior afinidade aos receptores estrogênicos do tipo β (ER β), os estrógenos apresentam maior afinidade pelos receptores ER α (KUIPER et al., 1998).

Estudos em cultura de células, modelos animais e alguns ensaios clínicos em humanos têm mostrado que as isoflavonas representam alternativa promissora na prevenção e/ou tratamento de cânceres relacionados ou não com hormônios, doenças cardiovasculares, osteoporose e alívio dos sintomas da menopausa.

Este trabalho teve como objetivo realizar revisão de literatura sobre os recentes progressos na pesquisa com isoflavonas voltados, principalmente, aos efeitos benéficos à saúde humana decorrentes da ingestão desses compostos.

2 CLASSIFICAÇÃO E FONTE ALIMENTAR

As isoflavonas são compostos difenólicos pertencentes a uma subfamília dos flavonóides e encontrados em maior quantidade na soja (*Glycine max*) e em produtos a base de soja, embora estejam presentes em outros tipos de leguminosas (REINLI e BLOCK, 1996). A concentração de isoflavonas na soja e em seus derivados depende de inúmeros fatores, incluindo o tipo de alimento (WANG e MURPHY, 1994b), a variedade da soja, o ano de colheita e a localização geográfica do cultivo (WANG e MURPHY, 1994a).

As condições de processamento da soja podem provocar alterações no teor total e no perfil das isoflavonas presentes. NAKAMURA, TSUJI e

TONOGAI (2000) determinaram os níveis de isoflavonóides em onze tipos de soja e doze tipos de alimentos processados. O conteúdo mais alto de isoflavonas foi verificado no kinako (pó de soja tostado) e o mais baixo no molho de soja. O conteúdo e a composição de isoflavonóides nos onze tipos de soja variaram de acordo com a espécie e o país de origem e nos alimentos processados de acordo com o método de manufatura ou ingredientes.

ROSSI et al. (2002) quantificaram as isoflavonas nas diversas etapas do processamento de "iogurte" de soja fermentado com *E. faecium* e *L. jugurti*. Demonstraram que o processamento causou redução de 92% no teor total de isoflavonas em relação ao grão *in natura*.

Foi verificado que 97 a 98% do conteúdo total de isoflavonas em soja e derivados protéicos como farinha desengordurada, isolados, concentrados e proteína texturizada encontra-se na forma esterificada. A distribuição entre essas formas varia de um produto para outro. Por outro lado, em produtos fermentados de soja, tais como miso, tempeh e pasta de soja observa-se a predominância das agliconas em relação às formas conjugadas (WANG e MURPHY, 1994b).

A soja participa da dieta mediante consumo do próprio grão e de alimentos elaborados a partir dele. Estudos estimam que o consumo de isoflavonas por mulheres asiáticas na pós-menopausa está entre 25-40 mg/dia, enquanto as americanas consomem menos de 1 mg/dia (DE KLEIJN et al., 2001). A população brasileira tradicionalmente não consome soja. O óleo de soja, que apresenta contribuição efetiva na dieta brasileira, não contém isoflavonas. Desta forma, o desenvolvimento de produtos enriquecidos com derivados de soja seria uma alternativa para aumentar a presença dessas substâncias na dieta.

As principais isoflavonas verificadas na proteína de soja e nos alimentos a base de soja são: daidzeína, genisteína e gliciteína. Cada uma delas pode ser encontrada em quatro formas: não-conjugada ou agliconas, conjugada ou glicosilada (daidzina, genistina e glicitina), acetilglicosiladas e malonilglicosiladas.

As isoflavonas são estrutural e funcionalmente similares ao 17 β -estradiol (KUIPER et al., 1998). Dessa forma, as similaridades entre suas estruturas conferem às isoflavonas a ocupação dos receptores estrogênicos. Dependendo do ensaio empregado, as isoflavonas podem ter entre 1x10⁻⁴ a 1x10⁻² da atividade do 17 β -estradiol. No entanto, a

genisteína liga-se 5 a 20 vezes com mais afinidade pelo receptor estrogênico ER β do que ao ER α (KUIPER et al., 1997). A maior afinidade ao receptor ER β sugere que as isoflavonas podem exercer efeitos seletivos (estrogênico e antiestrogênico), dependendo do tecido e da concentração de isoflavonas. Essas substâncias ligam-se aos receptores estrogênicos ER, distribuídos principalmente nos ossos, cérebro, endotélio vascular e bexiga (PAECH et al., 1997). Já o estradiol de mamíferos tem maior afinidade por receptores estrogênicos ER α , presentes no tecido mamário e uterino (KUIPER et al., 1998).

3 ABSORÇÃO, METABOLISMO E BIODISPONIBILIDADE

Após a ingestão, as formas conjugadas das isoflavonas são hidrolisadas pelas β -glucosidases de bactérias intestinais, liberando as principais agliconas, daidzeína e genisteína (SETCHELL, 1998). Essas podem ser absorvidas e/ou metabolizadas por bactérias intestinais e produzir metabólitos específicos, tais como equol e/ou O-desmetilangolensin (O-DMA) a partir da daidzeína e p-etinilfenol a partir da genisteína (SETCHELL, 2000).

As agliconas e/ou metabólitos são absorvidos pelo trato intestinal e transportados pelo sistema porta-hepático até o fígado, no qual são eficientemente conjugados com ácido glucurônico (95%) e em menor proporção com sulfato (LUNDH, 1995). Essas formas são detectadas nos fluidos biológicos (ADLERCREUTZ, MARKKANEN e WATANABE, 1993) e excretadas pela urina e bile (ZHANG et al., 1999b). Similarmente aos estrógenos, essas substâncias podem sofrer recirculação enterohepática por meio da qual as isoflavonas (conjugadas com ácido glucurônico) são desconjugadas no intestino e reabsorvidas ou excretadas pelas fezes (SETCHELL, 1998). Estudos em humanos demonstraram que a concentração plasmática e urinária de isoflavonas aumenta de acordo com a quantidade consumida, indicando que a absorção ocorre na forma dose-dependente (KARR et al., 1997).

Tem sido proposto que o metabolismo intestinal é essencial para a absorção e biodisponibilidade das isoflavonas (REN et al., 2001). Vale ressaltar que a capacidade potencial das isoflavonas em prevenir o câncer e outras doenças crônicas depende dessa biodisponibilidade.

KING e BURSILL (1998) mostraram que a concentração de genisteína nos ratos tratados com essa substância, duas horas depois do consumo,

foi superior a duas vezes àquela alcançada em ratos tratados com genistina em igual quantidade.

De acordo com IZUMI et al. (2000), testes com isoflavonas agliconas (IFA) e isoflavonas glicosiladas (IFG) revelaram que as agliconas apresentam maior absorção em humanos se comparada com a sua forma conjugada. Portanto as IFG necessitam de tempo maior para atingir sua concentração plasmática máxima, ao contrário do que acontece com as IFA. Além disso, os pesquisadores mostraram que a genisteína é absorvida mais eficientemente que a daidzeína, mantendo alta concentração plasmática.

Avaliando a farmacocinética das IFG em homens japoneses depois do consumo de 60 g de pó de soja assada, WATANABE et al. (1998) registraram que a concentração plasmática de genisteína (1/2 vida 8,4h) foi maior do que a da daidzeína (1/2 vida 5,8h). Já a excreção urinária da daidzeína foi maior que a da genisteína.

Os indivíduos parecem absorver as isoflavonas de maneiras diversas. Isso pode ser devido a diferenças na microbiota intestinal.

A produção de metabólitos a partir das isoflavonas pode afetar a sua bioatividade. Apenas um terço dos indivíduos produzem equol e a produção de O-DMA também parece variar (WATANABE et al., 1998). Além disso, a biodisponibilidade da genisteína e daidzeína pode variar significativamente entre as diferentes populações humanas (HENDRICH, 2002). ZHENG et al. (2003) mostraram que entre chineses (imigrantes recentes nos EUA) e caucasianos, os primeiros apresentaram maior proporção de indivíduos que degradam mais isoflavonas do que os caucasianos. Além disso, o tempo de trânsito intestinal (TTI) variou nesses dois fenótipos. O fenótipo +ISO dos chineses apresentou TTI de 65 horas, o -ISO dos chineses TTI de 40h e os indivíduos caucasianos que degradam isoflavonas TTI maior que 80 horas. Desta forma, o TTI pode alterar a biodisponibilidade das isoflavonas em interação com os fenótipos de indivíduos que degradam isoflavonas. Quanto maior o tempo em que as isoflavonas permanecem no intestino, maior a possibilidade dos microrganismos agirem e menor será a disponibilidade desses compostos para absorção. Todavia os produtos da degradação das isoflavonas e os microrganismos responsáveis necessitam ser melhor caracterizados (HENDRICH, 2002).

A presença de diferentes populações de microflora no intestino humano

pode influenciar a biodisponibilidade das isoflavonas e causar variação na excreção de metabólitos (XU et al., 1995). Além disso, estudos realizados em humanos mostraram que dieta contendo alimentos a base de soja (com baixa ou alta concentração de isoflavonas) e gordura afeta a excreção do fitoestrógeno na urina. Desta forma, a dieta que contém gordura diminui a capacidade da microflora intestinal para sintetizar equol (ROWLAND et al., 2000). Nessa linha, alguns estudos sugerem que o consumo de altos níveis de carboidratos complexos estimularia a fermentação pelo intestino podendo resultar em maior quebra de daidzeína a equol (SETCHELL e CASSIDY, 1999). No entanto, investigações sobre a biodisponibilidade de fitoestrógenos e os diferentes tipos de microflora intestinal são necessárias.

Concentração plasmática de 50-800 ng/mL (cerca de 0,2-3,2 µmol/L) foi encontrada para daidzeína, genisteína e equol em adultos consumidores de alimentos a base de soja contendo aproximadamente 50 mg de isoflavonas/dia (ADLERCREUTZ, MARKKANEN e WATANABE, 1993). Quando a soja é consumida de maneira regular, os níveis plasmáticos de isoflavonas podem exceder a concentração fisiológica do estradiol que no homem e na mulher está entre 40 e 80 pg/mL (SETCHELL, 1998). Essas observações conduzem à hipótese de que as isoflavonas seriam compostos biologicamente ativos com benefícios para a saúde. Desta forma, a baixa incidência de doenças hormônio-dependentes em indivíduos que vivem em países em que a soja representa a dieta principal poderia ser explicada.

4 EFEITOS DAS ISOFLAVONAS NA SAÚDE

4.1 OSTEOPOROSE

Distúrbio ósseo, caracterizado pela diminuição da massa óssea e deterioração da microarquitetura do tecido ósseo sem alterações significativas da proporção entre matriz mineral e não-mineral, a osteoporose aumenta a fragilidade óssea e o risco de fratura (WHO, 1994). Aproximadamente um milhão de americanos sofrem com fraturas, que acarretam custo de mais de 14 bilhões de dólares a cada ano (KENNY e PRESTWOOD, 2000), indicando que a prevenção constitui estratégia primordial para a saúde pública.

Múltiplas são as causas da osteoporose, dentre as quais as hormonais, mecânicas, genéticas e nutricionais. Nas mulheres, a osteoporose está

particularmente associada com a menopausa, uma vez que a diminuição de estrógenos acelera a perda óssea.

Terapias tradicionais para a osteoporose têm enfatizado agentes que inibem a reabsorção óssea (tais como: estrógenos, calcitonina e bisfosfonatos). Entre os agentes anti-reabsorção disponíveis, a terapia de reposição hormonal (TRH) é talvez o tratamento mais efetivo. No entanto, a TRH vem acompanhada por vários efeitos adversos, como o aumento de risco de câncer de mama e de endométrio (ZUMOFF, 1998).

O grupo de compostos conhecidos como moduladores seletivos de receptores estrogênicos (SERM) (BRYANT e DERE, 1998) vem sendo usados para o tratamento da osteoporose. Tais composto ligam-se e interagem com os receptores estrogênicos. Ultimamente, as isoflavonas têm sido caracterizadas como SERM naturais com benefícios similares para os ossos (BREZINSKI e DEBI, 1999).

Os efeitos hormonais das isoflavonas, aliados à baixa incidência de osteoporose em mulheres asiáticas, propiciaram a investigação da ação dessas substâncias sobre o tecido ósseo (COOPER, CAMPION e MELTON, 1992).

Estudos usando roedores ovariectomizados têm mostrado que as isoflavonas, isoladas ou associadas à proteína de soja, reduzem a perda de massa óssea que ocorre após a ovariectomia (ARJMANDI et al., 1998b; PICHERIT et al., 2001a). Similarmente, ensaios em humanos têm registrado que as isoflavonas, isoladas ou associadas à proteína, atenuam a perda óssea que ocorre durante e depois da menopausa (ALEKEL et al., 2000; MORABITO et al., 2002). Em geral, tanto evidências epidemiológicas como clínicas apontam para uma relação positiva entre o consumo de isoflavonas e a densidade mineral óssea.

ARJMANDI et al. (1996) estudaram a proteína de soja na prevenção da perda óssea induzida pela deficiência de hormônio ovariano em ratos. Os resultados sugeriram que dieta baseada em isolado de proteína de soja (22,7 g/100g de dieta) é efetiva na prevenção da perda óssea, devido à deficiência de hormônio ovariano, promovendo maior densidade mineral óssea de fêmures e vértebras se comparada com o grupo ovariectomizado sem tratamento.

PICHERIT et al. (2000) realizaram estudos com o objetivo de verificar o efeito da ingestão de genisteína e daidzeína comparada com o 17

α -etinilestradiol para prevenir a perda óssea em ratas ovariectomizadas. Notaram que o consumo de 17 α -etinilestradiol e daidzeína foi mais eficiente para prevenir a perda óssea do que a genisteína. Além disso, nem a genisteína nem a daidzeína exibiram atividade estrogênica no útero. No entanto, de acordo com DEYHIM et al. (2003), a suplementação da dieta de ratos com baixas doses de isoflavonas (0,575 e 1,15 mg/g de proteína da dieta) não foi capaz de exercer efeito protetor nos ossos.

Vários estudos com humanos apontam para a capacidade das isoflavonas em prevenir a osteoporose. POTTER et al. (1998) suplementaram 66 mulheres na pós-menopausa com preparações a base de soja enriquecidas com 56 mg e 90 mg de genisteína. Observaram aumento significativo na densidade mineral óssea no grupo suplementado com 90 mg, mas não no grupo com 56 mg, sugerindo a necessidade de consumo mínimo diário de isoflavonas para se alcançar efeito positivo sobre os ossos.

ALEKEL et al. (2000) estudaram o efeito do consumo de proteína de soja com isoflavonas (80,4 mg agliconas/dia) por 24 semanas em mulheres na transição da menopausa (perimenopausa). Verificaram que as isoflavonas atenuaram a perda óssea em vértebras lombares.

Evidências sugerem que a soja e suas isoflavonas, enquanto suprimem a reabsorção óssea, concomitantemente aumentam a atividade osteoblástica.

Estudos realizados em ratas ovariectomizadas mostraram que as isoflavonas diminuíram a excreção urinária de deoxipiridinolina (Dpd), marcador específico para reabsorção óssea (PICHERIT et al., 2001a; PICHERIT et al., 2001b). Similarmente, HORIUCHI et al. (2000) mostraram que o consumo de proteína de soja por mulheres japonesas na pós-menopausa foi associado com a diminuição da excreção de Dpd. ARJMANDI et al. (2000) registraram que o consumo diário de 40 g de proteína de soja, mas não de "leite" de soja, durante três meses por mulheres na pós-menopausa também promoveu diminuição de Dpd.

Estudos *in vitro* revelaram que a genisteína inibe a reabsorção óssea mediante inibição da formação e diferenciação de células osteoclastos *like*, provenientes da medula óssea, e pela indução da apoptose de osteoclastos maduros (YAMAGUCHI e GAO, 1997; GAO e YAMAGUCHI, 1999). O efeito supressor da genisteína sobre os osteoclastos deve-se parcialmente à inibição da proteína tirosina quinase e ativação da proteína tirosina fosfatase (GAO e YAMAGUCHI, 2000).

Em relação à formação óssea, vários estudos *in vitro* têm evidenciado o efeito estimulatório da genisteína sobre a formação e mineralização em sistema de cultura de células (YAMAGUCHI e GAO, 1997; YAMAGUCHI e GAO, 1998). Esses estudos mostraram que os efeitos são parcialmente mediados pela ligação da genisteína aos receptores estrogênicos e pela síntese de componentes protéicos nos osteoblastos. Além disso, a soja e suas isoflavonas promovem a produção do fator de crescimento (insulin-like growth factor I) IGF-I (ARJMANDI et al., 1998a), que aumenta a atividade osteoblástica em humanos e correlaciona-se positivamente com a massa óssea em mulheres na pré (ROMAGNOLI et al., 1993) e pós-menopausa (BOONEN et al., 1996). No entanto, essas observações indiretas devem ser confirmadas mediante modelos *in vivo* e *in vitro* incluindo estudos de longo prazo. Usando o modelo de osteopenia, a proteína de soja aumentou a expressão do gene para IGF-I indicado pelos altos níveis de RNAm femoral. Nesse estudo, a incorporação da proteína de soja ao conteúdo normal de isoflavonas (2,3 mg/g de proteína) exerceu maior efeito sobre o RNAm femoral de IGF-I. Esses resultados indicam que as isoflavonas devem influenciar o aumento da síntese de IGF-I. Similarmente, foi observado que a suplementação com proteína de soja aumentou os níveis séricos de IGF-I, confirmando os resultados em animais (ARJMANDI et al., 2000).

4.2 CÂNCER

4.2.1 Câncer de mama

Estudos epidemiológicos sugerem que dieta rica em isoflavonas, como a dos países asiáticos, propicia proteção contra várias formas de câncer, particularmente aqueles que são hormônio-dependentes, como o câncer de mama e o de próstata (ADLERCREUTZ et al., 2000). No entanto, a população asiática que emigrou para países do ocidente e adotou seus hábitos alimentares apresentou risco maior de câncer de mama e outros cânceres hormônios-dependentes comparados com a população do país de origem (LU et al., 2000).

LEE et al. (1991) mostraram, num estudo com mulheres na pós-menopausa em Singapura, correlação inversa entre o consumo de proteína de soja e de produtos a base de soja com o risco de câncer de mama.

A maioria dos estudos *in vitro* com cultura de células de câncer de mama MCF-7 evidencia que altas concentrações de isoflavonas reduzem a proliferação celular, enquanto baixas concentrações exercem efeito

estimulatório sobre a proliferação das células MCF-7 (WU, YANG e PIKE, 2000). Portanto a dose de isoflavonas parece desempenhar importante papel sobre o aumento ou diminuição do risco dessa doença. Há vários estudos mostrando que a genisteína inibe o crescimento tanto de células cancerosas hormônio-dependentes quanto as hormônio-independentes.

Em experimentos com animais, 55 estudos investigaram os efeitos das isoflavonas sobre o câncer de mama. Na maioria, a incidência de tumores não foi afetada (ALLRED et al., 2001a). No estudo de LAMARTINIERE (2000), a multiplicação do tumor foi reduzida em 25-50%. Em outro estudo, a administração de genisteína para ratos com 21 dias de idade durante alguns dias inibiu em mais de 50% o câncer de mama induzido por dimetilbenzantraceno (DMBA) (APPLET e REICKS, 1999). No entanto, em estudo utilizando a indução biológica do câncer em ratos imunodeficientes, a genisteína estimulou o desenvolvimento de tumor de mama (ALLRED et al., 2001b).

Acredita-se que o consumo precoce de isoflavonas, já na infância, pode proteger contra o desenvolvimento do câncer de mama na fase adulta. Estudos realizados com ratos nos quais administravam-se, durante o período neonatal, genisteína em quantidades “suprafisiológicas” ou “fisiológicas” mostraram proteção significativa contra o câncer de mama induzido experimentalmente pela droga DMBA (LAMARTINIERE et al., 1995; MURRIL et al., 1996; BROWN et al., 1998; FRITZ *et al.*, 1998). Nos primeiros estudos, a genisteína foi administrada durante o período neonatal ou na pré-puberdade em altas concentrações (LAMARTINIERE et al., 1995; MURRIL et al., 1996), mas nos últimos quantidades fisiológicas foram dadas antes dos 21 dias de idade. Tais estudos mostraram claramente que a genisteína na dieta em baixas concentrações pode proteger os ratos contra o desenvolvimento do câncer de mama induzido por DMBA. Esses resultados assemelham-se a dois estudos de caso que registraram que a ingestão de alimentos de soja ricos em isoflavonas na adolescência está associada com a redução do risco de câncer de mama na vida adulta (SHU et al., 2001; WU et al., 2002).

Acredita-se que a densidade do tecido mamário constitua indicador para o risco de câncer de mama e que a produção de fluido mamário fora do período de lactação seja fator de risco para o desenvolvimento do câncer de mama. PETRAKIS et al. (1996) mostraram que o consumo de 40 g de proteína de soja (contendo isoflavonas) por vários meses aumentou a produção de fluido mamário e o número de células anormais. ATKINSON e BINGHAM (2002) demonstraram que a suplementação com soja

diminuiu a densidade da mama, enquanto o tratamento com estrógeno provocou seu aumento. Nota-se que há incertezas quanto ao efeito benéfico da soja em relação ao câncer de mama, desta forma novos estudos devem ser realizados para confirmar esses resultados (MESSINA e LOPRINZI, 2001).

O mecanismo pelo qual as isoflavonas podem diminuir o risco de câncer de mama afeta os níveis de hormônios sexuais endógenos e o ciclo menstrual. LU et al. (2000) mostraram que o consumo diário de dieta a base de soja (113-207 mg/dia) por mulheres reduz os níveis circulatórios de 17 β -estradiol em 25% e de progesterona em 45% comparados com os níveis da dieta controle.

Há evidências *in vitro* e *in vivo* que indicam que os fitoestrógenos estimulam a produção de globulinas sex hormone globuline (SHBG) nas células do fígado, reduzem os níveis de hormônios e prolongam o ciclo menstrual. Todavia, há controvérsias a respeito do efeito sobre o ciclo menstrual, pois alguns resultados indicam que a estimulação parece ocorrer apenas em mulheres com baixa quantidade de SHBG (ADLERCREUTZ, 2002; PINO et al., 2000).

O mecanismo anticâncer das isoflavonas parece não ocorrer exclusivamente via receptor estrogênico. Estudos *in vitro* têm revelado que numerosos mecanismos podem estar envolvidos. Um deles é via inibição da proteína tirosina quinase. Vários fatores de crescimento estão implicados no desenvolvimento do câncer. Muitos fitoestrógenos mostraram-se inibidores de tirosina quinase e, desta forma, podem prevenir a proliferação mediada por alguns fatores de crescimento (REN et al., 2001). Portanto, inibidores de circulação de tirosina quinase (tais como a genisteína) podem apresentar efeitos benéficos no tratamento do câncer (BARNES, 1998). Contudo, em várias células de superfície, a genisteína não alterou a fosforilação do receptor para o fator de crescimento epidérmico (EGF) ou substratos da tirosina quinase (BARNES et al., 2000). Outro mecanismo anticâncer das isoflavonas pode envolver a inibição da 3 β -hidroxiesteróide-dehidrogenase, da 17 β -hidroxiesteróide-dehidrogenase, da 5 α -redutase e da aromatase que afetam os níveis de hormônio esteróides ativos (KRAZEINSEN et al., 2001; ADLERCREUTZ et al., 2002). Além disso, as isoflavonas podem inibir a atividade DNA topoisomerase I e II que causam danos ao DNA (SALTI et al., 2000). A genisteína tem induzido regulação positiva da proteína p53 (YE et al., 2001), que desempenha importante papel na supressão de tumores (ZEIMERT et al., 2000). Foi sugerido que a genisteína pode inibir o

crescimento celular pelo aumento da expressão e produção do fator de crescimento transformador (TGF) β 1 (KIM, PETERSON e BARNES, 1998).

Uma das pesquisas mais importantes no tratamento do câncer de mama envolve inibidores de angiogênese. Estudos mostraram que a genisteína é capaz de bloquear esse processo (ZHOU et al., 1998; ZHOU et al., 1999).

A produção de equol no intestino parece estar associada ao baixo risco de câncer de mama (MESSINA e LOPRINZI, 2001), sendo mais alta em indivíduos cuja dieta é rica em carboidratos, fibra, proteína vegetal e pobre em gordura (ROWLAND et al., 2000).

É provável que vários compostos atuem e que a composição da dieta com respeito a ácidos graxos, proteína animal e vegetal, vários carboidratos e fibras também desempenhem papel essencial na prevenção do câncer (ROSE e CONNOLY, 1998).

4.2.2 Câncer de próstata

O câncer de próstata constitui o câncer hormônio-dependente mais comum no homem e a incidência vem aumentando rapidamente em muitos países. Acredita-se que o alto consumo de isoflavonas por homens asiáticos contribua para a baixa incidência de câncer de próstata (ADLERCREUTZ, 1995). O alto consumo de isoflavonas por homens japoneses é evidenciado pela alta concentração de isoflavonas detectadas no sangue (ADLERCREUTZ, MARKKANEN e WATANABE, 1993), urina (HAGGANS et al, 1999) e fluido prostático (MORTON, CHAN e CHENG, 1997), comparado com europeus e ocidentais. Resultados de estudo de emigração registraram alto risco em desenvolver câncer de próstata quando os asiáticos são expostos às dietas ocidentais (SHIMIZU, ROSS e BERSTEIN, 1991).

Estudos epidemiológicos relacionando o consumo de soja rica em isoflavonas e o risco de câncer de próstata têm sido sustentados, embora não consistentemente. Dois grandes estudos, um com homens japoneses-hawainos e outro com homens adventistas do 7º dia da Califórnia, registraram que o consumo de tofu e “leite de soja” foram associados com a redução no risco de câncer de próstata em 65 e 70%, respectivamente (SEVERSON et al., 1989; JACOBSEN, KNUTSEN e FRASER, 1998). Esses resultados devem ser vistos com reservas uma vez que o “leite” de soja, assim como o “iogurte” de soja, perde cerca de

92% de isoflavonas em decorrência do processamento (ROSSI et al., 2002). No estudo de caso realizado por KOLONEL et al. (2000) foi encontrada relação inversa significativa entre o consumo de alimentos de soja e o risco de câncer de próstata. Nessa linha, STROM, YAMAMURA e DUPHORNE (1999) observaram tendência à associação inversa entre consumo de daidzeína e o risco de câncer de próstata. No entanto, outras pesquisas, todas feitas em países asiáticos foram incapazes de detectar associações significativas entre o consumo de soja e o risco de câncer de próstata (LEE et al., 1998; OISHI, OKADA e YOSHIDA, 1988).

O mecanismo provável pelo qual as isoflavonas podem reduzir o câncer de próstata envolve seus efeitos sobre os hormônios sexuais sanguíneos, uma vez que os mesmos desempenham importante papel nesse tipo de câncer (LOPEZ-OTIN e DIAMANDIS, 1998). Segundo FRITZ et al. (2002), a genisteína da dieta é capaz de promover regulação negativa em relação aos andrógenos e receptores estrogênicos na próstata de ratos.

WEBER et al. (2001) afirmam que se a dieta rica em soja/fitoestrógenos é capaz de diminuir os níveis de testosterona e o peso da próstata, a baixa incidência de câncer de próstata entre os japoneses pode estar relacionada com altos níveis de isoflavonas. Nessa linha, MENTOR-MARCEL et al. (2001) mostraram que a ingestão de genisteína no início da puberdade protege contra o desenvolvimento do câncer de próstata e pode regular os esteróides sexuais e os fatores de crescimento em modelos animais. Tal resultado poderia, de certa forma, ser extrapolado para o homem.

4.2.3 Câncer de endométrio

Sob o ponto de vista geográfico, o risco de câncer de endométrio segue o mesmo modelo de incidência do câncer de mama (PARKIN, 1989). Num estudo caso/controle com asiáticos e não-asiáticos, realizado no Hawaii, o baixo risco de câncer endometrial foi associado ao consumo de produtos de soja e outras leguminosas (GOODMAN et al., 1997). Estudos *in vitro* têm demonstrado que células endometriais de adenocarcinoma respondem às isoflavonas da mesma maneira que o estradiol (ISHIMI et al., 1999). No entanto, ratas ovariectomizadas suplementadas com isoflavonas não mostraram os mesmos efeitos uterotróficos evidenciados pela administração de estradiol (HARRISON et al., 1998).

NAGAMI, CAO e LU (1998) investigaram os efeitos de diferentes fitoestrógenos (genisteína, daidzeína, biochanina A e apigenina) sobre o crescimento de culturas de células de câncer de endométrio (HEC-I-A). Mostraram que os quatro compostos produziram inibição dose-dependente sobre o crescimento celular. Todavia, a genisteína foi o inibidor mais potente do crescimento de células de câncer endometrial. Não há estudos clínicos consistentes que possam responder com certeza se as isoflavonas apresentam efeito estimulatório ou inibitório em relação ao desenvolvimento desse tipo de câncer. Em experimento com animais, altas doses de isoflavonas (particularmente genisteína) estimularam o crescimento uterino e a expressão genética de vários parâmetros uterinos conhecidos por regularem os estrógenos endógenos (BURDETTE et al., 2002).

Em estudo prospectivo foi examinada a suplementação com isoflavonas e as mudanças no endométrio de mulheres na pós-menopausa. As biópsias endometriais antes e depois do período de 3 meses de dieta não revelaram nenhuma evidência de proliferação nas 14 mulheres estudadas (DUNCAN et al., 1999). No entanto, estudos de longo prazo são necessários antes de qualquer conclusão definitiva em relação à diminuição do risco de câncer de endométrio.

4.2.4 Outros tipos de cânceres

Várias são as pesquisas que investigam o papel das isoflavonas em relação a outros tipos de cânceres. A relação entre o consumo de alimentos de soja e o risco de câncer gástrico parece depender do alimento ser fermentado ou não. A meta-análise feita por WU, YANG e PIKE (2000) evidenciou que o consumo de soja foi significativamente protetor contra o câncer de estômago. As análises não incluíram estudos com alimentos de soja fermentados, que são associados com aumento significativo de risco de câncer de estômago. Tais resultados contraditórios podem estar relacionados com o alto conteúdo de sal, compostos nitrogenados ou outros componentes não-identificados nos alimentos fermentados. Vale ressaltar que esse estudo não focalizou particularmente os alimentos a base de soja.

MESSINA et al. (1994), pesquisando a relação entre o consumo de soja e outros tipos de cânceres em populações orientais, mostraram que o consumo de soja apresenta efeito protetor em relação ao câncer de pulmão e estômago.

Vários estudos epidemiológicos sugerem que a dieta está entre os fatores mais importantes que determinam a incidência de câncer de colon-retal (DRASAR e IRVING, 1973; WYNDER, 1975). O consumo de soja e seus derivados foi associado com o efeito protetor sobre o desenvolvimento de câncer de cólon em humanos (TUYNS, KAAKS e HAELTERMAN, 1988). No entanto, outras pesquisas que avaliaram a relação entre o consumo de soja e o risco de câncer de cólon e reto não apresentaram os mesmos resultados (MESSINA e BENNIK, 1998).

Grande estudo envolvendo 38 países não evidenciou associação significativa entre o consumo de soja e o risco de câncer de cólon. No entanto, TAJIMA e TOMINAGA (1985) registraram que o miso aumenta significativamente o risco de câncer retal.

SORENSEN et al. (1998) investigaram se as isoflavonas da soja inibiriam o desenvolvimento de tumores intestinais em ratos *Apc^{min}* (modelo animal para câncer de intestino). Em contraste aos estudos epidemiológicos afirmaram que altas quantidades de isoflavonas presentes em dieta do tipo ocidental (grande quantidade de gordura, baixa quantidade de fibra e cálcio) não apresentaram efeito protetor contra o desenvolvimento de tumor intestinal.

4.3 SINTOMAS DA MENOPAUSA

A severidade e a freqüência de sintomas vasomotores, especialmente ondas de calor, são menores em mulheres asiáticas que em mulheres ocidentais (BOULET et al., 1994). Essas diferenças têm sido atribuídas às características social e racial, estilo de vida e dieta. Acredita-se que o conteúdo de isoflavonas no alimento possa explicar esse fenômeno. Há poucos estudos clínicos a respeito dos efeitos dos fitoestrógenos sobre os sintomas do climatério. BAIRD et al. (1995) não encontraram qualquer efeito benéfico da soja em relação à sintomatologia durante 4 semanas de estudos. Mais de 10 pesquisas, usando isoflavonas ou proteína de soja enriquecida com isoflavonas, revelaram que se a soja apresenta algum efeito ele é modesto (MESSINA, 1999). Explicação possível para esses efeitos pouco expressivos pode estar relacionada com o período de consumo das isoflavonas, que deve ocorrer no início da menopausa (MESSINA, 2000).

MURKIES et al. (1995) mediram as ondas de calor como determinante da atividade estrogênica em resposta a dieta rica em fitoestrógenos. Encontraram redução significativa na ocorrência de ondas de calor quando

a dieta das mulheres pós-menopausa foi suplementada com soja ou farinha de trigo por 12 semanas. Em 6 semanas a dieta a base de soja produziu melhores resultados, ou seja, reduziu o número diário de ondas de calor mais significativamente que a dieta a base de trigo. ALBERTAZZI et al. (1998) verificaram que a soja foi significativamente superior para reduzir a média do número de ondas de calor por 24 horas depois de 4, 8 e 12 semanas de tratamento. As mulheres que consumiram soja apresentaram redução de 45% nas ondas de calor diárias em comparação com a redução de 30% obtida pelo placebo no final de 12 semanas. Em outro estudo realizado por QUELLA et al. (2000) não foi observado nenhum efeito benéfico das isoflavonas em relação a esses sintomas.

WASHBURN et al. (1999) estudaram 51 mulheres na peri-menopausa com sintomas climatéricos em ensaio randomizado, duplo-cego, no qual utilizaram suplementos contendo carboidratos ou proteínas de soja em duas formulações. Verificaram que os sintomas vasomotores melhoraram significativamente em mulheres que utilizaram 29 g de proteínas de soja com 34 mg de fitoestrógenos, duas vezes ao dia, em comparação ao grupo que utilizava carboidratos.

Empregando a mesma quantidade (45 g/dia) de proteína de soja como suplemento alimentar, WILCOX et al. (1990) confirmaram a melhora da atrofia vaginal e MURKIES et al. (1995) não. Tais resultados podem estar relacionados com as concentrações variadas de fitoestrógenos presentes na proteína de soja utilizada.

As ondas de calor estão relacionadas à queda de estrógenos circulantes e associam-se ao aumento repentino das gonadotrofinas originárias da hipófise, particularmente do hormônio luteinizante (LH). Tal aumento não é a causa das ondas, no entanto, elas estão sob o controle da liberação de gonadotrofinas no hipotálamo, região muito próxima dos centros de regulação térmica e cardiovascular. Por essa razão, os pulsos de LH no sangue freqüentemente coincidem com as ondas de calor e taquicardia. Qualquer redução nos pulsos de LH que resulte numa redução sérica dos níveis de LH em ratas ovariectomizadas, induzida por substâncias com atividades estrogênicas, pode diminuir as ondas de calor (TATARYN et al., 1980). Outro estudo mostrou que os fitoestrógenos, tanto isoflavonas (soja) como lignanos, diminuem os níveis de gonadotrofinas plasmáticas pós-menopausa, embora a redução tenha ocorrido no hormônio folículo estimulante (FSH) ao invés do LH (WILCOX et al., 1990). Em contrapartida, dois estudos semelhantes não evidenciaram qualquer efeito (MURKIES et al., 1995; BAIRD et al., 1995). Em vista do exposto,

os resultados a cerca dos efeitos benéficos das isoflavonas sobre os sintomas da menopausa são insuficientes para permitir conclusões definitivas a respeito do uso de isoflavonas para o tratamento de tais sintomas.

4.4 SISTEMA IMUNOLÓGICO

O estrógeno apresenta efeito importante sobre o sistema imunológico. Por exemplo, a maioria das doenças auto-imune é mais comum em mulheres e se inicia geralmente em condições de mudanças nos níveis de estrogênios endógenos, como nos casos da puberdade, menopausa e gravidez (ENMARK e GUSTAFSSON, 1999).

WANG, HIGUCHI e ZHANG (1997) demonstraram *in vitro* que a daidzeína aumentou a ativação de linfócitos em camundongos. Para ZHANG et al. (1999a) as isoflavonas (conjugadas com ácido glucurônico) não competem apenas com o estrogênio endógeno (inibindo a proliferação de células cancerígenas dose-dependentes), sendo capazes de ativar células *natural killer* (NK) e aumentar as defesas imunológicas contra o câncer.

WATANABE et al. (2000) sugeriram que o aumento de células NK pode ser devido à influência das isoflavonas sobre o sistema imune. Em seus estudos preliminares, a atividade das células NK mostrou-se aumentada em 13%.

4.5 DOENÇAS CARDIOVASCULARES

As doenças cardiovasculares são uma das principais causas de morte entre homens e mulheres. O risco de tais doenças nas mulheres aumenta substancialmente depois da menopausa, provavelmente devido à deficiência estrogênica.

Sabe-se que a dieta desempenha papel importante em relação às doenças cardiovasculares. Pesquisas têm demonstrado que o consumo de alimentos a base de soja pode contribuir para a redução de tais doenças.

O componente protéico parece crucial no efeito protetor da soja contra as doenças cardiovasculares. Nenhum efeito foi observado quando as isoflavonas foram extraídas da proteína de soja e adicionadas em proteína animal (caseína) (GREAVES et al., 1999). No entanto, quando a proteína de soja e isoflavonas estavam presentes houve diminuição no perfil lipoprotéico, sendo a redução proporcional à concentração de isoflavonas

(CROUSE et al., 1998).

Estudos realizados com primatas tratados com proteína de soja, rica em isoflavonas, mostraram redução das lipoproteínas plasmáticas. No entanto, quando eram tratados com proteína de soja livre de isoflavonas esse efeito não foi observado. Vale ressaltar que tais efeitos não foram restaurados quando as isoflavonas extraídas pelo álcool retornaram à matriz protéica da soja (CLARKSON, ANTHONY e MORGAN, 2001). Resultados semelhantes foram observados em estudos realizados com humanos por NESTEL et al. (1999) e DEWELL, HOLLENBECK e BRUCE, (2002).

ANDERSON, JOHSTONE, COOK-NEWELL (1995) realizaram meta-análise de 38 estudos clínicos. Demonstraram que a média diária de consumo de 47 g de proteína de soja pode diminuir a concentração plasmática de triglicerídeos em 11% e o LDL-colesterol em 13%, bem como aumentar o HDL-colesterol em 2%.

Pesquisas têm evidenciado que há relação entre os níveis de colesterol inicial e a magnitude de sua redução. Acredita-se que a diminuição seja mais pronunciada em indivíduos com níveis iniciais acima da média. Ensaio randomizado controlado corrobora essas informações, mostrando redução de 9% no colesterol total e de 10% no LDL-colesterol de homens e mulheres hipercolesterolêmicos. Nenhum efeito foi observado em relação ao HDL-colesterol ou triglicerídeos (CROUSE, 1998).

SANDERS et al. (2002), utilizando indivíduos normocolesterolêmicos, investigaram os efeitos de dieta a base de proteína de soja contendo alta concentração de isoflavonas (56 mg/dia) e outra com baixa concentração (2 mg/dia) durante 17 dias. Demonstraram que a primeira dieta permitiu o aumento do HDL-colesterol e apolipoproteína A-I, mas não influenciou as concentrações do LDL-colesterol, TGF- β 1 e as atividades do fator VII de coagulação e do PAI-1 (plasminogen activator inhibitor type 1).

A partir de outubro de 1999, em virtude de análises de diversas pesquisas, preparações contendo 25 g de proteína de soja passaram a ser recomendadas pelo Food and Drug Administration (FDA) por contribuir para a redução do colesterol.

A maioria dos pesquisadores considera que os efeitos benéficos da proteína de soja/isoflavonas estejam relacionados com a redução plasmática do LDL e triglicerídeos (ASHTON e BALL, 2000). No entanto,

outros mecanismos estão sendo sugeridos, incluindo a redução da pressão sanguínea diastólica em mulheres (WASHBURN et al., 1999) e melhora nas funções das células endoteliais e vasculares (HORONE'S et al., 1997). Há indicações que a proteína de soja/isoflavonas pode inibir a ativação e agregação plaquetária (SCHOENE e GUIRDY, 1999)

A proteína de soja isolada, rica em isoflavonas, pode aumentar a reatividade vascular em primatas com aterosclerose, efeito similar ao observado com a terapia de reposição de estrógenos. Acredita-se que esse fenômeno esteja ligado ao conteúdo de fitoestrógenos, pois tal efeito não foi observado quando os animais foram tratados com proteína de soja sem isoflavonas (HORONE'S et al., 1997).

Em humanos que consomem soja ou isoflavonas, a redução da susceptibilidade à oxidação do LDL em indivíduos normo ou hipercolesterolêmicos (TIKKANEN et al., 1998; JENKINS, KENDALL e GARSETTI, 2000) parece estar relacionada ao efeito antioxidante e ao aumento da reatividade vascular. Tais efeitos contribuem para a redução do colesterol e para a proteção do organismo contra doenças cardiovasculares.

Alternativamente, a proteção contra aterosclerose pode envolver a circulação do fator de crescimento de transformação $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) na sua forma ativa, implicado na manutenção da arquitetura da parede dos vasos sanguíneos. A cardioproteção propiciada pela genisteína envolveria a indução de TGF- $\beta 1$. Vale ressaltar que baixa concentração de TGF- $\beta 1$ foi observada no quadro de aterosclerose (HORONE'S et al., 1997; ANTHONY et al., 1996). Todavia tais evidências devem ser melhor estudadas.

5 CONCLUSÃO

Número muito grande de estudos já realizados demonstra os efeitos benéficos das isoflavonas em relação à osteoporose, vários tipos de cânceres, sintomas da menopausa, sistema imunológico e doenças cardiovasculares. No entanto, esses resultados ainda são insuficientes para permitir conclusões definitivas em relação ao uso dessas substâncias para prevenção e/ou tratamento de doenças crônicas degenerativas. Diversas questões ainda devem ser respondidas como, por exemplo, o verdadeiro mecanismo de ação das isoflavonas, a dose necessária para se alcançar o efeito desejado, além de eventuais efeitos de interação

como a necessidade de associação com a proteína de soja, entre outras. Em vista disso, novos estudos de longo prazo, realizados com animais e humanos, devem ser conduzidos a fim de que os benefícios das isoflavonas sejam realmente comprovados e compreendidos.

Abstract

ISOFLAVONES: BIOCHEMISTRY, PHYSIOLOGY AND IMPLICATIONS FOR HEALTH

The aim of this paper was to review recent progress on isoflavones research, approaching the main aspects of its biochemistry and physiology of this compounds besides standing out its positive effects for health. Many studies provide evidence for a protective and treatment capacity of isoflavones against the development of numerous chronic diseases, including osteoporosis, several cancers, cardiovascular diseases and others. However, many questions still must be answered and new researches, as much in animals as in humans, need to be realized with the aim to elucidate the real mechanism of action as well as the positive effects of isoflavones for the organism.

KEY-WORDS: ISOFLAVONES; SOY PROTEIN; OSTEOPOROSIS; CANCER; MENOPAUSE; CARDIOVASCULAR DISEASE.

REFERÊNCIAS

- 1 ADLERCREUTZ, H.; MARKKANEN, H.; WATANABE, S. Plasma concentrations of phyto-oestrogens in Japanese men. **Lancet**, v. 342, p. 1209-1210, 1993.
- 2 ADLERCREUTZ, H.; MAZUR, W.; BARTELS, P.; ELOMAA, V.; WATANABE, S.; WAHALA, K.; LANSTROM, M.; LUNDIN, E.; BERGH, A.; DAMBER, J.E.; AMAN, P.; WIDMARK, A.; JOHANSSON, A.; ZHANG, J.X.; HALLMANS, G. Phytoestrogens and prostate disease. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 658S-659S, 2000.
- 3 ADLERCREUTZ, H. Phyto-oestrogens and cancer. **Lancet Oncology**, v. 3, p. 364-373, 2002.
- 4 ADLERCREUTZ, H. Phytoestrogens: epidemiology and a possible role in cancer protection. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, sup. 7, p. 103-112, 1995.
- 5 ALBERTAZZI, P.; PANSINI, F.; BONACCORSI, G.; ZANOTTI, L.; FORINI, E.; DE ALOYSIO, D. The effect of dietary soy supplementation on hot flushes. **Obstetrics and Gynecology**, v. 91, n.1, p. 6-11, 1998.
- 6 ALEKEL, D.L.; GERMAIN, A. S.; PETERSON, C.T.; HANSON, K.B.;

- STEWART, J.W.; TODA, T. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, p. 844-852, 2000.
- 7 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 strogen-dependent (MCF-7) tumors in a dose dependent manner. **Cancer Research**, v. 61, p. 5045-5050, 2001b.
 - 8 ALLRED, C.D.; JU, Y.H.; ALLRED, K.F.; CHANG, J.; HELFERICH, W.G. Dietary genistein stimulates growth of estrogen-dependent breast cancer tumors similar to that observed with genistein. **Carcinogenesis**, v. 22, p. 1667-1673, p. 2001a.
 - 9 ANDERSON, J.W.; JOHSTONE, B.M.; COOK-NEWELL, M.E. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. **The New England Journal of Medicine**, v. 333, p. 276-282, 1995.
 - 10 ANTHONY, M.S.; CLARKSON, T.B.; HUGHES, C.L.; MORGAN, T.M.; BURKE, J.L. Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkeys. **The Journal of Nutrition**, v. 126, p. 43-50, 1996.
 - 11 APPLETT, L.C.; REICKS, M.M. Soy induces phase II enzymes but does not inhibit dimethylbenz(a)anthracene-induced carcinogenesis in female rats. **The Journal of Nutrition**, v. 29, p. 1820-1826, 1999.
 - 12 ARJMANDI, B.H.; ALEKEL, L.; HOLLIS, B.W.; AMIN, D.; STACEWICZ-SAPUNTZAKIS, M.; GUO, P.; KUKREJA, S.C. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. **The Journal of Nutrition**, v. 126, p. 161-167, 1996.
 - 13 ARJMANDI, B.H.; BIRNBAUM, R.; GOYAL, N.V.; GETLIGER, M.J.; JUMA, S.; ALEKEL, L.; HASLER, C.M.; DRUM, M.L.; HOLLIS, B.W.; KUKREJA, S.C. Bone-sparing effect of soy protein in ovarian hormone - deficient rats is related to its isoflavone content. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, p. 1364S-13648S, 1998a.
 - 14 ARJMANDI, B.H.; GETLIGER, M.J.; GOYAL, N.V.; ALEKEL, L.; HASLER, C.M.; JUMA, S.; DRUM, M.L.; HOLLIS, B.W.; KUKREJA, S.C. Role of soy protein with normal or reduced isoflavone content in reversing bone loss induced by ovarian hormone defience in rats. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, p. 1358S-1363S, 1998b.
 - 15 ARJMANDI, B.H.; KHALIL, D.A.; LUCAS, E.A.; JUMA, S.; SINICHI, N.; HODGES, S.B.; PAYTON, M.; HAMMOND, L.; MUNSON, M.E.; WILD,

- R. Soy protein with its isoflavones improves bone markers in middle-aged and elderly women. **The FASEB Journal**, v. 15, p. 728, 2000 (abstract).
- 16 ASHTON, E.; BALL, M. Effects of soy as tofu vs meat on lipoprotein concentrations. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 54, p. 14-19, 2000.
 - 17 ATKINSON, C.; BINGHAM, S.A. Mammographic breast density as a biomarker of effects of isoflavones on the female breast. **Breast Cancer Research**, v. 4, p. 1-4, 2002.
 - 18 BAIRD, D.D.; UMBACH, D.M.; LANSDELL, L.; HUGHES, C.L.; SETCHELL, K.D.R.; WEINBERG, C.R.; HANEY, A.F.; WILCOX, A.J.; McLACHLAN, J.A. Dietary intervention study to assess oestrogenicity of dietary soy among postmenopausal women. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 80, p. 1685-1690, 1995.
 - 19 BARNES, S. Evolution of the health benefits of soy isoflavones. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 217, p. 386-392, 1998.
 - 20 BARNES, S.; KIM, H.; DARLEY-USMAR, V.; PATEL, R.; XU, J.; BOERSMA, B.; LUO, M. Beyond ER-alpha and ER-beta: estrogen receptor binding is only part of the isoflavone story. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 656S-657S, 2000.
 - 21 BARRET, J. Phytoestrogens. Friends or foes? **Environmental Health Perspectives**, v. 104, p. 478-482, 1996.
 - 22 BOONEN, S.; LESAFFRE, E.; DEQUEKER, J.; AERSSSENS, J.; NIJS, J.; PELEMANS, W.; BOUILLON, R. Relationship between baseline IGF-I and femoral bone density in women aged over 70 years: potential implications for prevention of aged-related bone loss. **The Journal of the American Geriatrics Society**, v. 44, p. 1301-1306, 1996.
 - 23 BOULET, M.J.; ODDENS, B.J.; LEHERT, P.; VEMER, H.M.; VISSER, A. Climateric and menopause in seven south-east Asian countries. **Maturitas**, v. 19, p. 157-176, 1994.
 - 24 BREZINSKI, A.; DEBI, A. Phytoestrogens: the "natural" selective estrogen receptor modulators. **European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology**, v. 85, p. 47-51, 1999.
 - 25 BROWN, N.M.; WANG, J.; COTRONEO, M.S.; ZHAO, Y.X.; LAMARTINIERE, C.A. Prepubertal genistein treatment modulates TGF-alpha, EGF and EGF-receptor mRNAs and proteins in the rat mamary

- gland. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 144, p. 149-165, 1998.
- 26 BRYANT, H.U.; DERE, W.H. Selective estrogen receptor modulators: an alternative to hormone replacement therapy. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 217, p. 45-52, 1998.
- 27 BURDETTE, E.; LIU, J.; LANTVIT, D.; LIM, E.; BOOTH, N.; BHAT, K.P.; HEDAYAT, S.; VAN BREEMEN, R.B.; CONSTANTINOU, A.I.; PEZZUTO, J.M.; FARNSWORTH, N.R.; BOLTON, J.L. Trifolium pratense (red clover) exhibits estrogenic effects "in vivo" in ovariectomized Sprague-Dawley rats. **The Journal of Nutrition**, v. 132, p. 27-30, 2002.
- 28 CLARKSON, T.B.; ANTHONY, M.S.; MORGAN, T.M. Inhibition of postmenopausal atherosclerosis progression: a comparison of the effects of conjugated equine estrogens and soy phytoestrogens. **The Journal of Clinical Endocrinology**, v. 186, p. 41-47, 2001.
- 29 COOPER, C.; CAMPION, G.; MELTON, L.J. Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. **Osteoporosis International**, v. 2, p. 285-289, 1992.
- 30 CROUSE, J.R.; MORGAN, T.; TERRY, J.G.; ELLIS, J.; VITOLINS, M.; BURKE, G.L. A randomized trial comparing the effect of caseine with that of soy protein containing varying amount of isoflavones on plasma concentration of lipids and lipoproteins. **Archives of Internal Medicine**, v. 159, p. 2070-2076, 1998.
- 31 DE KLEIJN, M.J.; VAN DER SCHOUW, Y.T.; WILSON, P.W.; ADLERCREUTZ, H.; MAZUR, W.; GROBBEE, D.E.; JACQUES, P.F. Intake of dietary phytoestrogen is low in post-menopausal women in the United States; the Framingham study. **The Journal of Nutrition**, v. 131, p. 1826-1832, 2001.
- 32 DEWELL, A.; HOLLENBECK, C.B.; BRUCE, B. The effects of soy-derived phytoestrogens on serum lipids and lipoproteins in moderately hypercholesterolemic post-menopausal women. **The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**, v. 87, p. 118-121, 2002.
- 33 DEYHIM, F.; STOECKER.; BRUSEWITZ, G.H.; ARJMANDI, B.H. The effects of estrogen depletion and isoflavones on bone metabolism in rats. **Nutrition Research**, v. 23, p. 123-130, 2003.
- 34 DRASAR, B.S.; IRVING, D. Environmental factors and cancer of the colon and breast. **British Journal of Cancer**, v. 27, p. 167-172, 1973.

- 35 DUNCAN, A.M.; UNDERHILL, K.E.W.; XU, X.; LAVALLEUR, J.; PHIPPS, W.R.; KURZER, M.S. Modest hormonal effects of soy isoflavones in postmenopausal women. **The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**, v. 84, p. 3479-3484, 1999.
- 36 ENMARK, E.; GUSTAFSSON, J.A. Oestrogen receptors – an overview. **Journal of Internal Medicine**, v. 246, p. 133-138, 1999.
- 37 FRITZ, W.A.; COWARD, L.; WANG, J.; LAMARTINIERE, C.A. Dietary genistein: perinatal mammary cancer prevention, bioavailability and toxicity testing in the rat. **Carcinogenesis**, v. 19, p. 2151-2158, 1998.
- 38 FRITZ, W.A.; WANG, J.; ELTOUM, I.E.; LAMARTINIERE, C.A. Dietary genistein down-regulates androgen and oestrogen receptor expression in the rat prostate. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 186, p. 89-99, 2002.
- 39 GAO, Y.H.; YAMAGUCHI, M. Suppressive effect of genistein on rat bone osteoclasts: apoptosis induced through Ca²⁺ signaling. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 22, p. 805-809, 1999.
- 40 GAO, Y.H.; YAMAGUCHI, M. Suppressive effect of genistein on rat bone osteoclasts: involvement of protein kinase inhibition and protein tyrosine phosphatase activation. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 5, p. 261-267, 2000.
- 41 GOODMAN, M.T.; WILKENS, L.R.; HANKIN, J.H.; WU, A.H.; KOLONEI, L.N. Association of soy and fiber consumption with the risk of endometrial cancer. **American Journal of Epidemiology**, v. 146, p. 294-306, 1997.
- 42 GREAVES, K.A.; PARKS, J.S.; WILLIAMS, J.K.; WAGNER, J.D. Intact dietary soy protein, but not adding an isoflavone-rich soy extract to casein, improves plasma lipids in ovariectomized cynomolgous monkeys. **The Journal of Nutrition**, v. 129, p. 1585-1592, 1999.
- 43 HAGGANS, C.J.; HUTCHINS, A.M.; OLSON, B.A.; THOMAS, W.; MARTINI, M.C.; SLAVIN, J.L. Effect of flaxseed consumption on urinary oestrogen metabolites in post-menopausal women. **Nutrition and Cancer**, v. 33, p. 188-195, 1999.
- 44 HARRISON, E.; ADJEI, A.; AMEHO, C.; YAMAMOTO, S.; KONO, S. The effect of soybean protein on bone loss in a rat model of postmenopausal osteoporosis. **Journal of Nutrition Science and Vitaminology**, v. 44, p. 257-268, 1998.
- 45 HENDRICH, S. Bioavailability of isoflavones. **Journal of**

Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, v. 777, p. 203-210, 2002.

- 46 HONORE'S, E.K.; WILLIAMS, J.K.; ANTONY, M.S.; CLARKSON, T.B. Soy isoflavones enhance coronary vascular reactivity in atherosclerotic female macaques. **Fertility and Sterility**, v. 67, p. 148-154, 1997.
- 47 HORIUCHI, T.; ONOUCHI, M.; TAKAHASHI, M.; ITO, H.; ORIMO, H. Effects of soy protein on bone metabolism in postmenopausal Japanese women. **Osteoporosis International**, v. 11, p. 721-724, 2000.
- 48 ISHIMI, Y.; MIYaura, C.; OHMURA, M.; ONOE, Y.; SATO, T.; UCHIYAMA, Y.; ITO, M.; WANG, X.; SUDA, T.; IKEGAMI, S. Selective effects of genistein, a soybean isoflavone, on B-lymphopoiesis and bone loss caused by estrogen deficiency. **Endocrinology**, v. 140, p. 1893-1900, 1999.
- 49 IZUMI, T.; PISKULA, M.K.; OSAWA, S.; OBATA, A.; TOBE, K.; SAITO, M.; KATAOKA, S.; KUBOTA, Y.; KIKUCHI, M. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1695-1699, 2000.
- 50 JACOBSEN, B.K.; KNUTSEN, S.F.; FRASER, G.E. Does high soy milk intake reduce prostate cancer incidence? The adventist health study (United States). **Cancer Causes and Control**, v. 9, p. 553-557, 1998.
- 51 JENKINS, D.J.A.; KENDALL, C.W.C.; GARSETTI, M. Effects of soy protein food on low density lipoprotein oxidation and ex vivo sex hormone receptor activity – a controlled cross over trial. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 49, p. 537-543, 2000.
- 52 KARR, S.C.; LAMPE, J.W.; HUTCHINS, A.M.; SLAVIL, J.L. Urinary isoflavonoid excretion in humans is dose dependent at low to moderate levels of soy-protein consumption. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 66, p. 46-51, 1997.
- 53 KENNY, A.M.; PRESTWOOD, K.M. Osteoporosis: pathogenesis, diagnosis and treatment in older adults. **Rheumatic Diseases Clinics of North America**, v. 26, p. 569-591, 2000.
- 54 KIM, H.; PETERSON, T.G.; BARNES, S. Mechanism of action of the soy isoflavone genistein: emerging role for its via transforming growth factor beta signaling pathways. **The American Clinical of Nutrition**, v. 68, p. 1418S-1425S, 1998.

- 55 KING, R.A.; BURSILL, D.B. Plasma and urinary kinetics of the isoflavones daidzein and genistein after a single soy meal in humans. **The American Clinical of Nutrition**, v. 67, p. 867-872, 1998.
- 56 KOLONEL, L.N.; HANKIN, J.H.; WHITTEMORE, A.S.; WU, A.H.; GALLANGHER, R.P.; WILKENS, L.R.; JOHN, E.M.; HOWE, G.R.; DREON, D.M.; WEST, D.W.; PAFFENBARGER, R.S. Vegetables, fruits, legumes and prostate cancer: a multiethnic case-control study. **Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention**, v. 9, p. 795-804, 2000.
- 57 KRAZEISEN, A.; BREITLING, R.; MOLLER, G.; ADAMSKI, J. Phytoestrogens inhibit human 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 5. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 171, p. 151-162, 2001.
- 58 KUIPER, G.G.J.M.; CARLSSON, B.; GRANDIEN, K.; ENMARK, E.; HAGGBLAD, J.; NILSSON, S.; GUSTAFSSON, J.A. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. **Endocrinology**, v. 138, p. 863-870, 1997.
- 59 KUIPER, G.G.; LEMMEN, J.G.; CARLSSON, B.; CORTON, J.C.; SAFE, S.H.; VAN DER SAAG, P.T.; VAN DER BURG, B.; GUSTAFSSON, J.A. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. **Endocrinology**, v. 139, p. 4252-4263, 1998.
- 60 LAMARTINIERE, C.A.; MOORE, J.B.; BROWN, N.M.; THOMPSON, R.; HARDIN, M.J.; BARNES, S. Genistein suppresses mammary cancer in rats. **Carcinogenesis**, v. 16, p. 2833-2840, 1995.
- 61 LAMATINIERE, C.A. Protection against breast cancer with genistein: a component of soy. **The American of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 1705-1709S, 2000.
- 62 LEE, H.P.; GOURLEY, L.; DUFFY, S.W.; ESTEVE, J.; LEE, J.; DAY, N.E. Dietary effects on breast-cancer risk in Singapore. **Lancet**, v. 337, p. 1197-1200, 1991.
- 63 LEE, M.M.; WANG, R.T.; HSING, A.W.; GU, F.L.; WANG, T.; SPITZ, M. Case-control study of diet and prostate cancer in China. **Cancer Causes and Control**, v. 9, p. 545-552, 1998.
- 64 LOPEZ-OTIN, C.; DIAMANDIS, E.P. Breast and prostate cancer: an analysis of common epidemiological, genetic, and biomechanical features. **Endocrine Reviews**, v. 19, p. 365-396, 1998.

- 65 LU, L.J.; ANDERSON, K.E.; GRADY, J.J.; KOHEN, F.; NAGAMANI, M. Decreased ovarian hormones during a soya diet: implications for breast cancer prevention. **Cancer and Research**, v. 60, p. 4112-4121, 2000.
- 66 LUNDH, T. Metabolism of estrogenic isoflavones in domestic animals. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 208, p. 33-39, 1995.
- 67 MENTOR-MARCEL, R.; LAMARTINIERE, C.A.; GREENBERG, N.M.; ELGAVISH, A. Genistein in the diet reduces the incidence of prostate tumors in a transgenic mouse (TRAMP). **Cancer Research**, v. 61, p. 6777-6782, 2001.
- 68 MESSINA, M.; BENNIK, M. Soyfoods, isoflavones and risk of colonic cancer: a review of the "in vitro" and "in vivo" data. **Baillière's Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 12, p. 707-728, 1998.
- 69 MESSINA, M.J.; LOPRINZI, C.L. Soy for breast cancer survivors: a critical review of the literature. **The Journal of Nutrition**, v. 131, p. 3095-3108, 2001.
- 70 MESSINA, M.; PERSKY, V.; SETCHELL, K.D.R.; BARNES, S. Soy intake and cancer risk: review of the "in vitro" and "in vivo" data. **Nutrition and Cancer**, v. 21, p. 113-131, 1994.
- 71 MESSINA, M. Soyfoods and soybean phyto-oestrogens (isoflavones) as possible alternatives to hormone replacement therapy (HRT). **European Journal of Cancer**, v. 36, p. S71-S77, 2000.
- 72 MESSINA, M. Soy, soy phytoestrogens (isoflavones), and breast cancer. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, p. 574-575, 1999.
- 73 MORABITO, N.; CRISAFULLI, A.; VERGARA, C.; GAUDIO, A.; LASCO, A.; FRISINA, N.; D'ANNA, R.; CORRADO, F.; PIZZOLEO, M.A.; CINCOTTA, M.; ALTAVILLA, D.; IENTILE, R.; SQUADRITO, F. Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebo-controlled study. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 17, p. 1904-1912, 2002.
- 74 MORTON, M.S.; CHAN, P.S.; CHENG, C. Lignans and isoflavonoids in plasma and prostatic fluid in men: samples from Portugal, Hong Kong, and the United Kingdom. **The Prostate**, v. 32, p. 122-128, 1997.

- 75 MURKIES, A.L.; LOMBARD, C.; STRAUSS, B.J.G.; WILCOX, G.; BURGER, H.G.; MORTON, M.S. Dietary flour supplementation decreases postmenopausal hot flushes: effect of soy and wheat. **Maturitas**, v. 21, p. 189-195, 1995.
- 76 MURRIL, W.B.; BROWN, N.M.; ZHANG, J.X.; MANZOLILLO, P.A.; BARNES, S.; LAMARTINIERE, C.A. Prepubertal genistein exposure suppresses mamary cancer and enhances gland differentiation in rats. **Carcinogenesis**, v. 17, p. 1451-1457, 1996.
- 77 NAGAMI, M.; CAO, H.A.; LU, L.J.W. Potency of different isoflavones on growth inhibition of endometrial cancer cells in culture. **Journal of the Society for Gynecology Investigation**, v. 5, p. 112, 1998 (abstract).
- 78 NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Determination of the levels of isoflavonoids in soybeans and soy-derived foods and estimation of isoflavonoids in the japanese daily intake. **Journal of AOAC International**, v. 8, n. 3, p. 635-650, 2000.
- 79 NESTEL, P.J.; POMEROY, S.; KAY, S.; KOMESAROFF, P.; BEHSING, J.; CAMERON, J.D.; WEST, L. Isoflavones from red clover improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal women. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 84, p. 895-898, 1999.
- 80 OISHI, K.; OKADA, K.; YOSHIDA, O. A case-control study of prostatic cancer with reference to dietary habits. **The Prostate**, v. 12, p. 179-190, 1988.
- 81 PAECH, K.; WEBB, P.; KUIPPER, G.G.J.; NILSSON, S.; GUSTAFSSON, J.A.; KUSHNER, P.J.; SCANLAN, T.S. Differential ligand activation of estrogen receptors ER and ER β at API sites. **Science**, v. 277, p. 1508-1510, 1997.
- 82 PARKIN, D.M. Cancers of the breast, endometrium and ovary: geographic correlations. **European Cancer of Clinical Oncology**, v. 25, p. 1917-1925, 1989.
- 83 PETRAKIS, N.L.; BARNES, S.; KING, E.B.; LOWENSTEIN, J.; WIENCKE, J.; LEE, M.M.; MIIKE, R.; KIRK, E.B.; COWARD, L. Stimulatory influence of soy protein isolate on breast secretion in pre and postmenopausal women. **Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention**, v. 5, p. 785-794, 1996.
- 84 PICHERIT, C.; BENNETAU-PELISSERO, C.; CHANTERANNE, B.; LEBECQUE, P.; DAVICCO, M.J.; BARLET, J.P.; COXAM, V. Soybean isoflavones dose dependently reduce bone turnover but do not

- reverse established osteopenia in adult ovariectomized rats. **The Journal of Nutrition**, v. 131, p. 723-728, 2001b.
- 85 PICHERIT, C.; CHANTERANNE, B.; BENNETAU-PELISSERO, C.; DAVICCO, M.J.; LEBECQUE, P.; BARLET, J.P.; COXAM, V. Dose-dependent bone-sparing effects dietary isoflavones in the ovariectomized rat. **British Journal of Nutrition**, v. 85, p. 307-316, 2001a.
- 86 PICHERIT, C.; COXAM, V.; BENNETAU-PELISSERO, C.; KATI-COULIBALY, S.; DAVICCO, M.J.; LEBECQUE, P.; BARLET, J.P. Daidzein is more efficient than genistein in preventing ovariectomy-induced bone loss in rats. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1675-1681, 2000.
- 87 PINO, A.M.; VALLADARES, L.E.; PALMA, M.A.; MANCILLA, A.M.; YANEZ, M.; ALBALA, C. Dietary isoflavones affect sex hormone-binding globulin levels in postmenopausal women. **The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**, v. 85, p. 2797-2800, 2000.
- 88 POTTER, S.M.; BAUM, J.A.; TENG, H.; STILMAN, R.J.; SHAY, N.F.; ERDMAN, J.W. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, p. 1375S-1379S, 1998.
- 89 QUELLA, S.K.; LOPRINZI, C.L.; BARTON, D.L.; KNOST, J.A.; SLOAN, J.A.; LA VASSEUR, B.I.; SWAN, D.; KRUPP, K.B.; MILLER, K.D.; NOVOTNY, P.J. Evaluation of soy phytoestrogens for the treatment of hot flashes in breast cancer survivors: a North Central Cancer Treatment Group Trial. **Journal of Clinical Oncology**, v. 18, p. 1068-1074, 2000.
- 90 REINLI, K.; BLOCK, G. Phytoestrogen content of foods – a compendium of literature values. **Nutrition and Cancer**, v. 26, p. 123-148, 1996.
- 91 REN, M.Q.; KUHN, G.; WEGNER, J.; CHEN, J. Isoflavones, substances with multi-biological and clinical properties. **European Journal of Cancer**, v. 40, p. 135-146, 2001.
- 92 ROSE, D.P.; CONNOLY, J.M. Influence of dietary linoleic acid an experimental human breast cancer cell metastasis in athymic nude mice. **International Journal of Oncology**, v. 13, p. 1179-1183, 1998.
- 93 ROSSI, E.A.; ROSIER, I.; SETCHELL, K.D.R.; CARLOS, I.Z.; VENDRAMINI, R.C.; ADDALLA, L.; TALARICO, V.H.; MINTO, D.F. Quantificação de isoflavonas nas diversas etapas do processamento

- do "iogurte" de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2002. 1 CD-Room.
- 94 ROMAGNOLI, E.; MINISOLA, S.; CARNEVALE, V.; SCARDA, A.; ROSSO, R.; SCARNECCHIA, L.; PACITTI, M.T.; MAZZUOLI, G. Effect of estrogen deficiency on IGF-I plasma levels: relationship with bone mineral density in premenopausal women. **Calcified Tissue International**, v. 53, p. 1-6, 1993.
- 95 ROWLAND, L.R.; WISEMAN, H.; SANDERS, T.A.B.; ADLERCREUTZ, H.; BOWEY, E.A. Interindividual variation in metabolism of soy isoflavones and lignans: influence of habitual diet on equol production by the gut microflora. **Nutrition and Cancer**, v. 36, p. 27-32, 2000.
- 96 SALT, G.I.; GREWAL, S.; MEHTA, R.R.; DAS, G.T.; BODDIE, A.W.; CONSTANTINO, A.I. Genistein induces apoptosis and topoisomerase II-mediated DNA breakage in colon cancer cells. **European Journal of Cancer**, v. 36, p. 796-802, 2000.
- 97 SANDERS, T.A.B.; DEAN, T.S.; GRAINGER, D.; MILLER, G.J.; WISEMAN, H. Moderate intakes of intact soy protein rich in isoflavones compared with ethanol-extracted soy protein increase HDL but do not influence transforming growth factor β , concentrations and hemostatic risk factors for coronary heart disease in healthy subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, p. 373-377, 2002.
- 98 SCHOENE, N.W.; GUIRDY, C.A. Dietary soy isoflavones inhibit activation of rat platelets. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 10, p. 421-426, 1999.
- 99 SETCHELL, K.D. Absorption and metabolism of soy isoflavones – from food to dietary supplements and adults to infants. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 654S-655S, 2000.
- 100 SETCHELL, K.D.; CASSIDY, A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. **The Journal of Nutrition**, v. 129, p. 758S-767S, 1999.
- 101 SETCHELL, K.D. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology and implications for human health of soy isoflavones. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, p. 1333S-1346S, 1998.
- 102 SEVERSON, R.K.; NOMURA, A.M.; GROVE, J.S.; STEMMERMANN, G.N. A prospective study of demographics, diet, and prostate cancer

- among men of Japanese ancestry in Hawaii. **Cancer Research**, v. 49, p. 1857-1860, 1989.
- 103 SHIMIZU, H.; ROSS, R.K.; BERSTEIN, L. Cancers of the prostate and breast among Japanese and white immigrants in Los Angeles Country. **British Journal of Cancer**, v. 63, p. 963-966, 1991.
- 104 SHU, X.O.; JIN, F.; DAI, Q.; WEN, W.; POTTER, J.D.; KUSHI, L.H.; RUAN, Z.; GAO, Y.T.; ZHENG, W. Soyfood intake during adolescence and subsequent risk of breast cancer among Chinese women. **Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention**, v. 10, p. 483-488, 2001.
- 105 SORENSEN, I.K.; KRISTIANSEN, E.; MORTENSEN, A.; NICOLAISEN, G.M.; WIJNANDS, J.A.H.; VAN KRANEN, H.J.; VAN KREIJL, C.F. The effects of soy isoflavones on the development of intestinal neoplasia in APC^{min} mouse. **Cancer Letters**, v. 130, p. 217-225, 1998.
- 106 STROM, S.S.; YAMAMURA, Y.; DUPHORNE, C.M. Phytoestrogen intake and prostate cancer: a case-control study using a new database. **Nutrition and Cancer**, v. 33, p. 20-25, 1999.
- 107 TAJIMA, K.; TOMINAGA, S. Dietary habits and gastro-intestinal cancers: a comparative case-control study of stomach and large intestinal cancers in Nagoya, Japan. **The Journal of Cancer Research**, v. 76, p. 705-716, 1985.
- 108 TATARYN, I.V.; LOMAX, P.; BAJOREK, J.G.; CHESAREK, W.; MELDRUM, D.R.; JUDD, H.L. Postmenopausal hot flashes: a disorder of thermoregulation. **Maturitas**, v. 2, p. 101-107, 1980.
- 109 THAM, D.M.; GARDENER, C.D.; HASKELL, W.L. Potential health benefits of dietary phytoestrogens: a review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 83, p. 2223-2235, 1998.
- 110 TIKKANEN, M.J.; WHAHALA, K.; OJALA, S.; VIHMA, V.; ADLERCREUTZ, H.Z. Effects of phytoestrogen intake on low density lipoprotein oxidation resistance. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, p. 3106-3110, 1998.
- 111 TUYNS, A.J.; KAKS, R.; HAELTERMAN, M. Colorectal cancer and the consumption of foods: a case-control study in Belgium. **Nutrition and Cancer**, v. 11, p. 189-204, 1988.
- 112 WANG, H.J.; MURPHY, P.A. Isoflavone composition of American and Japanese soybeans in Iowa: effects of variety, crop year, and location.

- Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 42, p. 1674-1677, 1994a.
- 113 WANG, H.J.; MURPHY, P.A. Isoflavone content in commercial soybean foods. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 42, p. 1666-1673, 1994b.
- 114 WANG, W.; HIGUCHI, C.M.; ZHANG, R. Individual and combinatory effects of soy isoflavones on the "in vitro" potentiation of lymphocyte activation. **Nutrition and Cancer**, v. 29, p. 29-34, 1997.
- 115 WASHBURN, S.; BURKE, G.L.; MORGEN, T.; ANTHONY, M. Effect of soy protein supplementation on serum lipoproteins, blood pressure, and menopausal symptoms in perimenopausal women. **Menopause**, v. 6, p. 7-13, 1999.
- 116 WATANABE, S.; TERASHIMA, K.; SATO, Y.; ARAI, S.; EBOSHIDA, A. Effects of isoflavone supplement on healthy women. **Biofactors**, v. 12, p. 233-241, 2000.
- 117 WATANABE, S.; YAMAGUCHI, M.; SOBUE, T.; TAKAHASHI, T.; MIURA, T.; ARAI, Y.; MAZUR, W.; WAHALA, K.; ADLERCREUTZ, H. Pharmacokinetics of soybean isoflavone in plasma, urine and feces of men after ingestion of 60g baked soybean powder (kinako). **The Journal of Nutrition**, v. 128, p. 1710-1715, 1998.
- 118 WEBER, K.S.; SETCHELL, K.D.; STOCCO, D.M.; LEPHART, E.D. Dietary soy-phytoestrogens decrease testosterone levels and prostate weight without altering LH, prostate 5 alpha-reductase or testicular steroidogenic acute regulatory peptide levels in adult male Sprague-Dawley rats. **The Journal of Endocrinology**, v. 170, p. 591-599, 2001.
- 119 WILCOX, G.; WAHLQUIST, M.L.; BURGER, H.G.; MEDLEY, G. Oestrogenic effects of plants foods in postmenopausal women. **British Medical Journal**, v. 301, p. 905-906, 1990.
- 120 WHO. World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of WHO Study Group. **World Health Organization Technical Report Series**, v. 843, p. 1-129, 1994.
- 121 WU, A.H.; WAN, P.; HANKIN, J.; TSENG, C.C.; YU, M.C.; PIKE, M.C. Adolescent and adult soy intake and risk of breast cancer in Asian-Americans. **Carcinogenesis**, v. 23, p. 1491-1496, 2002.
- 122 WU, A.H.; YANG, D.; PIKE, M.C. A meta-analysis of soyfoods and risk of stomach cancer: the problem of potential confounders. **Cancer**

- Epidemiology, Biomarkers and Prevention**, v. 9, p. 1051-1058, 2000.
- 123 WYNDER, E.I. The epidemiology of large bowel cancer. **Cancer Res.**, v. 35, p. 3388-3394, 1975.
- 124 XU, X.; HARRIS, K.S.; WANG, H.-J.; MURPHEY, P.A.; HENDRICH, S. Bioavailability of soybean isoflavones depends upon gut microflora in women. **The Journal of Nutrition**, v. 125, p. 2307-2315, 1995.
- 125 YAMAGUCHI, M.; GAO, Y.H. Anabolic effect of genistein on bone metabolism in the femoral-metaphyseal tissues of elderly rats is inhibited by the anti-estrogen tamoxifen. **Research Experimental Medicine**, v. 197, p. 101-107, 1997.
- 126 YAMAGUCHI, M.; GAO, Y.H. Inhibitory effect of genistein on bone resorption in tissue culture. **Biochemical Pharmacology**, v. 55, p. 71-76, 1998.
- 127 YE, R.; BORDERO, A.; ZHOU, B.B.; KHANNA, K.K.; LAVIN, M.F.; LEES-MILLER, S.P. The plant isoflavonoid, genistein, activates p53 and Chk2 in an ATM-dependent manner. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, p. 4828-4833, 2001.
- 128 ZEIMERT, A.G.; RIHA, K.; BERGER, J.; WIDSCHWENDTER, M.; HERMANN, M.; DAXENBICHLER, G.; MARTH, C. New insights into p53 regulation and gene therapy for cancer. **Biochemical and Pharmacology**, v. 60, p. 1153-1163, 2000.
- 129 ZHANG, Y.; SONG, T.T.; CUNNICK, J.E.; MURPHY, P.A.; HENDRICH, S. Daidzein and genistein glucuronides "in vitro" are weakly estrogenic and activate human natural killer cells at nutritionally relevant concentrations. **The Journal of Nutrition**, v. 129, p. 399-405, 1999a.
- 130 ZHANG, Y.; WANG, G.-J.; SONG, T.T.; MURPHY, P.A.; HENDRICH, S. Urinary disposition of soybean isoflavones daidzein, genistein and glycitein differs among humans with moderate fecal isoflavones degradation activity. **The Journal of Nutrition**, v. 129, p. 957-962, 1999b.
- 131 ZHENG, Y.; HU, J.; MURPHY, P.A.; ALEKEL, D.L.; FRANKE, W.D.; HENDRICH, S. Rapid gut transit time and slow fecal isoflavone disappearance phenotype are associated with greater genistein bioavailability in women. **Human Nutrition and Metabolism**, v. 133, p. 3110-3116, 2003.
- 132 ZHOU, J.R.; GUGGER, E.T.; TNAKA, T.; GUO, Y.; BLACKBURN, G.L.;

- CLINTON, S.K. Soybean phytochemicals inhibit the growth of transplanted human prostate carcinoma and tumor angiogenesis in mice. **The Journal of Nutrition**, v. 129, p. 1628-1635, 1999.
- 133 ZHOU, J.R.; MUKHEJEE, P.; GUGGER, E.T.; TANAKA, T.; BLACKBURN, G.L.; CLINTON, S.K. Inhibition of murine bladder tumorigenesis by soy isoflavones via alterations in the cell cycle, apoptosis and angiogenesis. **Cancer Research**, v. 58, p. 5231-5238, 1998.
- 134 ZUMOFF, B. Does postmenopausal estrogen administration increase the risk of breast cancer? Contributions of animal, biochemical and clinical investigative studies to resolution of the controversy. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 217, p. 30-37, 1998.