

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación con las consecuencias asociadas al consumo de isoflavonas

Miembros del Comité Científico

Andreu Palou Oliver, Juan José Badiola Díez, Arturo Anadón Navarro, Margarita Arboix Arzo, Albert Bosch Navarro, Juan Francisco Cacho Palomar, Francesc Centrich Escarpenter, M^a Luisa García López, Manuela Juárez Iglesias, Manuel Martín Esteban, Susana Monereo Megías, Juan Antonio Ordóñez Pereda, Andrés Otero Carballeira, Fernando Rodríguez Artalejo, Elías Rodríguez Ferri, José Manuel Sánchez-Vizcaíno Rodríguez, Vicente Sanchís Almenar, Gregorio Varela Moreiras, Pablo Vera Vera, Gonzalo Zurera Cosano

Secretario

Jesús Campos Amado

Número de referencia: AESAN-2007-002

Documento aprobado por el Comité Científico en sesión plenaria de 27 de febrero de 2007

Grupo de Trabajo

Andreu Palou Oliver (Coordinador)
Margarita Arboix Arzo
Lluís Arola (consultor externo)
Cinta Bladé (consultora externa)

Resumen

Las isoflavonas son una subclase de flavonoides con una estructura química similar a la del estradiol. Existen tres formas libres mayoritarias de isoflavonas: Genisteína, Daidzeína y Gliciteína y dos minoritarias: Formononetina y Biochanina A.

Se considera que la soja es la fuente más importante de isoflavonas de la dieta, no obstante la cantidad de isoflavonas que contiene puede variar dependiendo de diversos factores, como la variedad, cosecha y localización geográfica.

Una vez consumidas, y según diversos estudios, las isoflavonas son absorbidas preferentemente como agliconas, las cuales son mucho más fácilmente absorbidas que los glucósidos debido a su alta hidrofobicidad y menor peso molecular. Esta absorción requiere una hidrólisis previa de los glucósidos de isoflavona a su forma aglicona.

Entre sus mecanismos de acción, se destaca la capacidad para unirse a los receptores estrogénicos, presentando una elevada selectividad por los receptores estrogénicos de tipo β (de 7 a 30 veces mayor) frente a los de tipo α .

En los últimos años se han efectuado numerosos estudios del potencial efecto que tendrían las isoflavonas sobre la salud desde un punto de vista preventivo. En este sentido se han realizado numerosos estudios para determinar la efectividad de las isoflavonas sobre los sofocos menopáusicos y otras alteraciones relacionadas, obteniéndose resultados contradictorios. Existen evidencias epidemiológicas de una menor incidencia de las enfermedades cardiovasculares en los países asiáticos asociada al consumo de soja, no obstante los resultados no parecen ser concluyentes. Diversos estudios han puesto de manifiesto la posibilidad de que el consumo de dietas ricas en proteína de soja se asocie con algunos efectos beneficiosos sobre la diabetes y la obesidad, aunque hay que señalar que también se han encontrado resultados contradictorios en algún caso. Aunque existen evidencias experimentales que asocian el consumo de isoflavonas con mejoras de las condiciones óseas, no es posi-

ble llegar a una conclusión firme. Se ha intentado establecer la relación entre el consumo de soja y la incidencia de diversos tipos de cáncer obteniéndose resultados contradictorios y señalándose la necesidad de realizar estudios complementarios.

El consumo de isoflavonas en forma de productos de soja es seguro según diversos estudios. No obstante, respecto a las formulaciones a base de soja para niños se concluye que no existen suficientes datos experimentales en humanos y animales para determinar su toxicidad.

Palabras clave

Isoflavonas, fitoestrógenos, aglicona, genisteína, daidzeína, soja.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) in relation to the consequences associated with the isoflavones consumption.

Abstract

Isoflavones are a subclass of flavonoids with a chemical structure similar to oestradiol. There are three principal free forms of isoflavones: Genistein, Daidzein and Glycitein and two lesser ones: Formononetin and Biochanin A.

It is considered that soya is the most important source of isoflavones in the diet, despite the fact that the amount of isoflavones soya contains can vary depending on diverse factors, such as the variety, the harvests and the geographic location.

According to diverse studies, once consumed isoflavones are absorbed preferably as aglycones, which are much more easily absorbed than glucosides due to their high hydrophobicity and lesser molecular weight. This absorption requires a previous hydrolysis of glucosides of isoflavone to its aglycone form.

Amongst its mechanisms of action, the capacity to be bound to the oestrogenic receptors, stands out presenting a high selectivity for the β oestrogenic receptors (7 to 30 times greater) as opposed to the α type.

In the last years several presentative studies have taken place concerning the potential effect that isoflavones have on health. In this sense numerous studies have been carried out to determine isoflavones effectiveness on menopausal hot flushes and other related alterations, obtaining contradictory results. There is epidemiological evidence of smaller incidence of cardiovascular diseases in Asian countries associated with soya consumption, although the results do not seem to be conclusive. Diverse studies have shown the possibility that a rich soya protein consumption diet is associated with some beneficial effects on diabetes and obesity, although it is necessary to indicate that contradictory results have also been found in some cases. Although experimental evidence exists that associate the consumption of isoflavones with improvements of bone condition, it is not possible to reach a firm conclusion. Attempts have been made to establish the relationship between the consumption of soya and the incidence of diverse types of cancer, obtaining contradictory results and indicating the necessity to carry out complementary research.

Isoflavones consumption as a soya product is safe according to diverse studies. However, in reference to soya-based formulations for children we can conclude that sufficient experimental data in humans and animals does not exist to determine their toxicity.

Key Words

Isoflavones, phytoestrogens, aglycone, genistein, daidzein, soya.

Introducción

1. Nomenclatura y estructura química

Las isoflavonas son una subclase de flavonoides con una estructura química similar a la del estradiol y con actividad estrogénica débil, a las que habitualmente se las conoce como fitoestrógenos. Además de las isoflavonas, también se consideran fitoestrógenos, aunque no se tratan en éste informe, los cumestanos, los flavonoides prenilados y los lignanos (Committee on Toxicity, 2003).

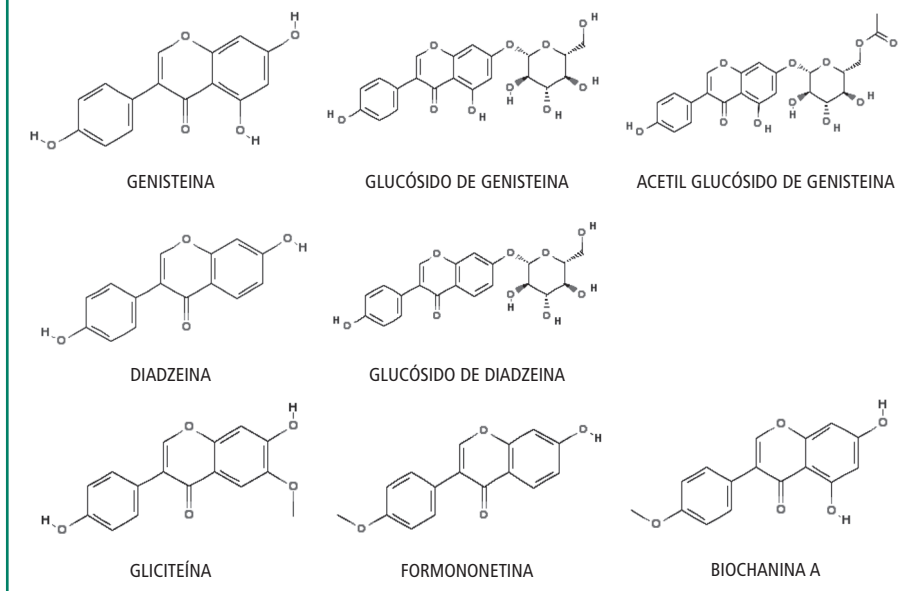
Existen tres formas libres (agliconas) mayoritarias de isoflavonas: Genisteína, Daidzeína y Gliciteína y dos minoritarias: Formononetina y Biochanina A. En los alimentos, las isoflavonas se encuentran mayoritariamente conjugadas con carbohidratos formando glucósidos, los cuales pueden estar esterificados con un grupo acetil o malonil. En la tabla 1 se indican los nombres de las isoflavonas más habituales en los alimentos. En la figura 1 se presentan las estructuras de la agliconas y sus derivados.

Tabla 1. Isoflavonas más habituales en los alimentos

Agliconas	Daidzeína Genisteína Gliciteína Formononetina Biochanina A
Glucósidos	Daidzina Genistina Glicitina Ononina Sisotrina
Acetil-Glucósidos	Acetildaidzina Acetilgenistina Acetilglicitina
Maloil-Glucósidos	Malonildaidzina Malonilgenistina Malonilglicitina

Fuente: (Committee on Toxicity, 2003).

Figura 1. Estructuras químicas representativas de las isoflavonas más habituales de los alimentos



2. Isoflavonas en los alimentos

Los alimentos que contienen más isoflavonas son las legumbres, siendo la soja la que presenta las concentraciones más elevadas (Mazur, 1998).

Las tablas de composición de los alimentos no contienen valores referentes al contenido en isoflavonas. Actualmente se dispone de una base de datos del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) que contiene las concentraciones de Genisteína, Daidzeína y Gluciteína en diferentes alimentos derivados de la soja y legumbres (U.S. Department of Agriculture, 2002). Otra base de datos de isoflavonas, que incluye otros fitoestrogenos, es la base de datos VENUS (<http://www.phytohealth.org/venus/>), objeto del proyecto de la Unión Europea "Vegetal Estrogens in Nutrition and the Skeleton (VENUS)" para evaluar la ingesta de isoflavonas en la población europea (Italia, Reino Unido, Irlanda y Holanda) (Kiely et al., 2003).

Las isoflavonas en los alimentos se encuentran mayoritariamente en forma de glucósidos (forma conjugada) (Committee on Toxicity, 2003). Un caso especial lo encontramos en alimentos fermentados derivados de la soja (miso, *tempeh*, pasta de soja...) en los que las formas mayoritarias son las agliconas debido a la acción de las hidrolasas bacterianas durante el proceso de fermentación (Xu., 2000) (Rozman et al., 2006b). La forma en la que se encuentran las isoflavonas en los alimentos es importante debido a que parece que se absorben preferentemente en forma de agliconas (Setchell, 2002a) (Kano et al., 2006).

La soja y sus derivados son los alimentos que presentan cantidades más elevadas de isoflavonas: haba de soja (60-239 mg/100g), harina de soja (60-235 mg/100g), proteína de soja (45-200 mg/100g), leche de soja (1-31mg/100g), *tempeh* (43-63 mg/100g), *tofu* (10-50 mg/100g), miso (20-

100mg/100g). El aceite de soja no contiene isoflavonas (según tablas U.S. Department of Agriculture, 2002).

Las lentejas, guisantes, judías blancas y garbanzos tienen una cantidad de isoflavonas mucho menor que la soja (0,1-0,7 mg/100g) (según tablas U.S. Department of Agriculture, 2002). Las crucíferas (col y coliflor) contienen muy poca cantidad de isoflavonas (5-10 microgramos/100 g peso seco). La cebada aparece como el único cereal que contiene isoflavonas (10-15 microgramos/100 g de peso seco) (Mazur, 1998) y un estudio realizado con cervezas Checas y Eslovacas reporta una concentración de isoflavonas en estas cervezas de 0,17-6,74 nM (Lapčík et al., 1998).

La cantidad de isoflavonas en la soja puede variar dependiendo de diversos factores, como la variedad, cosecha y localización geográfica (Eldrige y Kwolek, 1983) (Wang y Murphy, 1994). No se han encontrado referencias respecto a la variabilidad en el contenido de isoflavonas en otras legumbres.

3. Consumo de isoflavonas

La soja es la fuente más importante de isoflavonas de la dieta (Rozman et al., 2006b) (Committee on Toxicity, 2003) por lo que el consumo de alimentos derivados de la soja y alimentos procesados que contengan soja, determina de manera muy importante el consumo humano de isoflavonas. En este sentido Lampe (2003) y Lampe et al. (1999), a partir de un estudio con humanos en los Estados Unidos en el que determinaron la concentración de isoflavonas en orina y evaluaron el consumo de verduras, frutas y alimentos con soja, determinaron que casi la totalidad de las isoflavonas procedían del consumo de productos de soja.

La estimación del consumo de isoflavonas para cada grupo poblacional es muy variable según el estudio. La población asiática es la que ingiere más isoflavonas debido al elevado consumo de soja y alimentos derivados. En las poblaciones de Estados Unidos y Europa el rango de ingesta de isoflavonas es inferior a 1 mg / día (Committee on Toxicity, 2003) (Rozman et al., 2006b) (van Erp-Baart, 2003) (Valsta 2003) (Mulligan et al., 2006) (Heald et al., 2006).

Además del contenido de isoflavonas de la dieta, una fuente importante de isoflavonas en las mujeres es la utilización de tratamientos para la menopausia.

Un caso de especial interés es la ingesta elevada de isoflavonas en bebés que consumen formulaciones de soja como substitutos de leche materna. El aporte de isoflavonas de estas fórmulas puede representar entre 1,7 a 8 mg/kg de peso/día. La concentración plasmática de isoflavonas en los niños alimentados con fórmulas de soja (552-1775 µg/l) es muy superior a la de los niños alimentados con leche materna (unos 5 µg/l) o formulaciones de leche de vaca (unos 9 µg/l) (Rozman et al., 2006a) (Rozman et al., 2006b).

Absorción y metabolismo de las isoflavonas

Diversos estudios permiten deducir que las isoflavonas son absorbidas preferentemente como agliconas, las cuales son mucho más fácilmente absorbidas que los glucósidos debido a su alta liposolubilidad y menor peso molecular (Setchell, 2002a) (Kano et al., 2006) (Cassidy et al., 2006a). La absorción requiere una hidrólisis previa de los glucósidos de isoflavona a su forma aglicona y ello sería el

factor determinante de la velocidad de absorción de las isoflavonas de los alimentos, dependiendo de que se encontraran mayoritariamente como glucósidos o como agliconas (Manach et al., 2004). También hay estudios que no encuentran diferencias en la absorción entre las formas glucosidadas y agliconas (Richelle et al., 2002) (Zubik et al., 2003) junto a otros estudios que demuestran una absorción mayor y más rápida de las agliconas (Izumi et al., 2000) (Kano et al., 2006) (Cassidy et al., 2006a). También parece que la matriz del alimento y la edad pueden condicionar la biodisponibilidad y farmacocinética de las isoflavonas (Cassidy et al., 2006a).

Cuando se ingieren glucósidos de isoflavonas, estos son hidrolizados por β -glucosidasas de la mucosa intestinal y de bacterias de la flora bacteriana, liberándose la aglicona (Setchell, 2002a). La actividad β -glucosidasa del intestino parece aumentar con el consumo habitual de productos de soja (Wiseman et al., 2004).

Las agliconas pueden ser directamente absorbidas o bien ser metabolizadas por las bacterias de la flora intestinal a diferentes metabolitos que son absorbidos. De estos metabolitos el que ha generado más interés es el equol, producto de la daidzeína, que tiene una actividad más potente que la propia isoflavona (Setchell et al. 2002b) (Setchell et al., 2005). Mientras que todos los roedores alimentados con proteína de soja generan equol (Brown et al., 2001), solo el 20-30% de humanos son productores de equol después de ingerir isoflavonas (Hedlund et al., 2005). Se sugiere que los humanos productores de equol presentan respuestas más favorables a las isoflavonas (Hedlund et al., 2005) (Setchell et al., 2005) y se ha determinado que la capacidad de producir equol en humanos se ve favorecida por el consumo de altas cantidades de soja de forma continuada (Hedlund et al., 2005).

Una vez absorbidas, las agliconas son rápidamente conjugadas con ácido glucurónico (por medio de la UDP-glucuronil transferasa) y en menor proporción con sulfato (sulfotransferasas) (Committee on Toxicity, 2003). La conjugación se puede producir en el hígado o en el intestino en el cual también se ha demostrado que posee gluconil transferasa y actividad sulfotransferasa (Ronis et al., 2006). Las isoflavonas circulan por el plasma mayoritariamente en forma conjugada con ácido glucurónico (forma mayoritaria) y sulfato; las formas libres son minoritarias (Committee on Toxicity, 2003). Las isoflavonas conjugadas y sus metabolitos son excretados por la bilis y la orina. Los conjugados excretados vía biliar pueden ser eliminados en las heces o hidrolizados y/o metabolizados por las bacterias intestinales posibilitando su reabsorción (circulación enterohepática). Debido a la actividad de las bacterias intestinales hidrolizando los conjugados de isoflavonas y la generación de metabolitos más activos que las formas parentales, el perfil de la flora bacteriana individual puede afectar de manera significativa la biodisponibilidad y actividad de la isoflavonas (Committee on Toxicity, 2003).

Las isoflavonas y sus metabolitos se encuentran ampliamente distribuidos en los fluidos corporales, aunque no hay estudios definitivos de su distribución tisular en humanos. La concentración plasmática de genisteína en la población asiática es de 90-1200 nM y en Finlandia y Canadá es de 0,5-8 nM para omnívoros y 17-45nM para vegetarianos (Rozman et al., 2006b). La concentración máxima plasmática se alcanza entre 1 y 8 horas después de ingerir las isoflavonas. Hay evidencias del paso de isoflavonas y sus metabolitos al compartimiento fetal, encontrándose en el plasma del cordón umbilical y en el fluido amniótico concentraciones similares a las del plasma materno (Rozman et al., 2006b) (Committee on Toxicity, 2003). Diferentes estudios indican que las isoflavonas llegan a la leche

materna después de su consumo y por tanto la leche materna es una fuente de isoflavonas para los bebés (Rozman et al., 2006a).

Mecanismo de acción

Cabe destacar la capacidad que tienen las isoflavonas para unirse a los receptores estrogénicos, aunque esta capacidad de unión puede verse mermada tanto por la metilación como por la glucosilación de los grupos hidroxilo. Estudios con células humanas han demostrado la selectividad de las isoflavonas por los receptores estrogénicos de tipo β , siendo esta afinidad de 7 a 30 veces mayor que la afinidad por el tipo α , a diferencia del 17 β -estradiol que presenta afinidades similares por los receptores estrogénicos tipo α y β (Fitzpatrick, 2003).

El complejo que resulta de la citada unión, es funcionalmente equivalente al formado por el 17 β -estradiol ya que es capaz de inducir actividad transcripcional, aunque para que esto ocurra es necesario que la concentración de genisteína o daidzeína sea 10^4 veces mayor que para el 17 β -estradiol.

No obstante, esta actividad no sería exactamente igual a la inducida por el 17 β -estradiol y esto puede ser debido a que la estructura conformacional del complejo que forma la isoflavona con el receptor estrogénico es diferente a la del complejo que forma el estradiol, aunque esto se puede ver compensado por el hecho de que las isoflavonas tienen mayor afinidad por los receptores estrogénicos que el 17 β -estradiol (Navarro, 2005).

También se encuentra documentada la posibilidad de que las isoflavonas tengan capacidad antiestrogénica. Parece que la actividad estrogénica agonista o antagonista de las isoflavonas depende de la cantidad de estrógenos endógenos, de manera que actuarían como agonistas a concentraciones bajas de estrógenos y de antagonistas a concentraciones elevadas (Hwang et al., 2006). Existen también estudios que han demostrado efectos de la genisteína y el coumestrol inhibiendo la conversión de estrona a 17 β -estradiol (Head, 1999).

Es importante destacar también que las isoflavonas modulan diferentes receptores nucleares, mecanismo por el cual pueden ejercer sus funciones fisiológicas (Xiao et al., 2006). Las isoflavonas, especialmente la genisteína, modulan la expresión de los receptores nucleares: ER (receptor de estrógenos), PR (receptor de progesterona), AR (receptor de andrógenos), VDR (receptor de la vitamina D) y RAR (receptor del ácido retinoico). La regulación de la expresión de estos receptores se ejercería mediante la acción de las isoflavonas sobre ER, o por mecanismos no ligados a receptores, como la inhibición de la tirosina quinasa.

Efectos de las isoflavonas sobre la salud

En los últimos años se han efectuado numerosos estudios del potencial efecto que tendrían las isoflavonas sobre la salud desde un punto de vista preventivo, basándose en sus supuestas propiedades. La mayor parte de los estudios realizados están asociados al consumo de soja y sus fitoestrógenos, y es importante destacar que pueden existir otros componentes activos en esos alimentos que pueden contribuir a los efectos observados.

En general, el consumo de soja podría estar asociado a una mejora de los síntomas menopáusicos en mujeres y una reducción en la incidencia de algunas enfermedades que a continuación se relacionan.

1. Menopausia

La menopausia se asocia a un incremento de la concentración en suero de la hormona estimulante de los folículos (FSH), fallo ovárico y unos niveles reducidos de estradiol. La mayor parte de los estudios llevados a cabo en mujeres han sido orientados a examinar la habilidad de los fitoestrógenos para mitigar los síntomas de la menopausia, ya que se consideran una alternativa natural a la Terapia Hormonal Sustitutiva (THS) sobre la cual se ha descrito alguna potencial asociación con un incremento del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares o cáncer de mama.

Se han realizado bastantes ensayos clínicos para determinar la efectividad de las isoflavonas y de la soja sobre los sofocos menopáusicos y otras alteraciones relacionadas. Los resultados descritos en la literatura científica son contradictorios.

Nelson y colaboradores (2006) a partir de una revisión de 17 ensayos clínicos en mujeres menopáusicas a las que se les suministraron extractos de isoflavonas, concluyeron que los extractos de trébol rojo no eran eficaces en el tratamiento de los sofocos menopáusicos y que los resultados con extractos de soja son contradictorios. Krebs y colaboradores (2004) revisan 25 ensayos clínicos entre 1996-2004, concluyendo que los fitoestrógenos, ya sean como alimentos que contienen soja como extractos de soja y trébol rojo, no mejoran los sofocos ni otros síntomas de la menopausia. Kronenberg y Fugh-Berman (2002) revisan 11 ensayos clínicos que examinan el efecto de las isoflavonas sobre el sofoco menopáusico e indican que solo en tres ensayos se notaron mejoras por efecto de las isoflavonas.

Por otro lado, existen ensayos clínicos sobre fitoestrógenos donde se muestran sus efectos beneficiosos. Así, hay una serie de ensayos realizados en Japón donde se ha evaluado el efecto del consumo soja sobre los síntomas de la menopausia, en concreto sobre los sofocos asociados a esta. En un estudio prospectivo realizado durante seis años sobre 1.106 mujeres premenopáusicas se llegó a la conclusión de que la incidencia de los sofocos estaba inversamente asociada con el consumo de productos de soja e isoflavonas (Nagata et al., 2001). En este mismo sentido, similares resultados son los obtenidos por los estudios de Somekawa y colaboradores (2001) y Bryant y colaboradores (2005) en los que se observó una disminución de los síntomas de la menopausia asociados a un alto consumo de isoflavonas. Cassidy y colaboradores (2006b) consideran que los extractos de isoflavonas de soja pueden ser efectivos en combatir los sofocos.

En España, se realizó un ensayo clínico con un grupo de mujeres posmenopáusicas (n=109) observándose una disminución estadísticamente significativa de la incidencia de varios síntomas asociada a un consumo de isoflavonas (Albert et al., 2002). Además, la Sociedad Española de Ginecología Fitoterápica (SEGIF) ha presentado su Libro de *Consenso en Fitoterapia Ginecológica* en el que se concluye que se ha demostrado la eficacia de las isoflavonas para tratar los sofocos, mientras que aun no se ha evidenciado su eficacia en otros síntomas del climaterio. Esta potencial eficacia ha sido ratificada recientemente en la II Reunión del Consenso Multidisciplinar en Fitoterapia Ginecológica (Octubre 2006).

2. Enfermedad cardiovascular

Existen evidencias epidemiológicas de una menor incidencia de la enfermedad cardiovascular asociada al consumo de soja en países asiáticos, con una dieta menos rica en grasas saturadas y gran consumo de soja y derivados, respecto a Europa y Norteamérica. Sin embargo hay que destacar que no ha sido posible deducir si los efectos antihipercolesterolemicos descritos serían debidos a la soja o a sus fitoestrógenos.

El *American Heart Association Nutrition Committee* (Sacks et al., 2006) ha elaborado un informe en el que intenta discernir los efectos de las isoflavonas sobre factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares (colesterol-LDL, colesterol-HDL, triglicéridos, lipoproteína(a) y presión arterial) a partir de la literatura científica publicada en los últimos 10 años. Las conclusiones de este Comité son que las isoflavonas no reducen significativamente el colesterol-LDL y no modifican significativamente el colesterol-HDL, los triglicéridos y la presión arterial. En un meta-análisis elaborado por Weggemans y Trautwein (2003) y una revisión de Cassidy y colaboradores (2006b) también se observa que las isoflavonas no modifican las concentraciones de lípidos plasmáticos, aunque parece que pueden mejorar la función endotelial en mujeres post-menopausicas (Cassidy et al., 2006b). Las isoflavonas tampoco modifican los niveles de homocisteína ni de proteína C reactiva (Hanson et al., 2006).

La *American Heart Association* recomienda no consumir isoflavonas como suplementos mientras que recomienda consumir productos de soja que podrían tener efectos benéficos para la salud cardiovascular como consecuencia de su alto contenido en grasa poliinsaturada, fibra, vitaminas y minerales y su bajo contenido en grasa saturada (Sacks et al., 2006).

Es posible que el efecto antioxidante de las isoflavonas aumente la protección cardiovascular de la pared arterial, inhibiendo la formación de radicales libres, peróxido de hidrógeno y aniones superóxido. En este sentido, el equol inhibe la expresión de una NADPH oxidasa provocando un descenso de la producción de radical peroxinitrilo, lo que determina una disminución en la oxidación de las LDL limitando la formación de ateromas. Se ha descrito que la genisteína también aumenta la actividad de varios enzimas antioxidantes provocando un efecto de disminución, similar al equol, en especies oxigenadas y nitrogenadas (Navarro, 2005).

Otro efecto descrito es la inhibición de la agregación plaquetaria y la trombogénesis que puede ser debido a su actividad como inhibidoras de las tirosinquinazas, la inhibición competitiva de la unión del tromboxano A-2 a su receptor plaquetario o un mecanismo de bloqueo de los canales de calcio (Montalbán, 2005) (Committee on Toxicity, 2003).

3. Diabetes y obesidad

La evidencia experimental sugiere que dietas ricas en fitoestrógenos, como las que contienen proteína de soja, pueden tener efectos beneficiosos sobre diversos aspectos de la diabetes y la obesidad. Los efectos se han descrito tanto en humanos sanos como en obesos y en diabéticos; no está resuelto, sin embargo, cual de los componentes de la proteína de soja es el responsable. Podrían atribuirse a los fitoestrógenos, saponinas, inhibidor de la tripsina, a la naturaleza y cantidad de fibra consumida, a la composición de aminoácidos de la proteína consumida y a la composición en ácidos grasos

del aceite de soja o a efectos sinérgicos entre los factores citados (Bhathean y Velasquez, 2002). Son necesarios más estudios para esclarecer este punto.

Las dietas ricas en proteína de soja podrían mejorar la diabetes y la obesidad reduciendo la resistencia a la insulina (Teixeira et al., 2004) (Jayagopal et al., 2002) y la adiposidad a través de inhibición de la secreción de insulina por las células β pancreáticas (Bhathean y Velasquez, 2002) o mediante una inhibición de la lipogénesis y un aumento de la lipólisis en hígado y tejido adiposo (Szkudelska et al., 2000), pero hay información contradictoria y en mujeres premenopáusicas no se han podido constatar efectos sobre la diabetes y la obesidad (Duncan et al., 1999a y 1999b).

4. Osteoporosis

La observación de que las mujeres del sureste asiático manifiestan una menor incidencia de osteoporosis propició la hipótesis de que la soja o los fitoestrógenos de la soja podían ser una alternativa a la terapia hormonal en la prevención de esta patología de tanta incidencia en las mujeres posmenopáusicas. Se han revisado 31 ensayos clínicos para examinar los efectos de los fitoestrógenos sobre la masa ósea o su recambio, pero tan solo 6 de ellos utilizan criterios de inclusión (Cassidy, 2006b). Tres de estos ensayos utilizan extractos de isoflavonas o genisteína pura; dos de ellos sugiriendo un efecto sobre la densidad ósea en un intervalo entre 35 y 45mg de equivalente de aglicona (Clifton-Bligh et al. 2001) (Morabito et al. 2002), mientras que un tercero (Chen et al. 2003) no encuentra efectos. Otros tres ensayos utilizan un aislado de proteína de soja; y en tan solo un de ellos (Potter et al. 1998) se detectan efectos señalados, mientras que otros dos (Galagher et al. 2004) (Kreijkamp-Kaspers et al. 2004) no los detectan. La edad en la que aparece la menopausia no parece incidir sobre el posible efecto de los fitoestrógenos sobre la densidad o el contenido mineral en los huesos.

El mecanismo de acción aún no es del todo conocido, sugiriéndose que las isoflavonas modulan el sistema de la osteoprotegerina cuya alteración puede causar la osteoporosis. La osteoprotegerina es secretada por los osteoblastos que son los encargados de construir el hueso. Si la actividad de los osteoclastos, encargados de la reabsorción, es mayor que la de los osteoblastos habrá una reducción gradual de la estructura ósea, conduciendo a la osteoporosis. La osteoprotegerina neutraliza el sistema de ligandos nucleares $\kappa\beta$ regulando la diferenciación de osteoclastos y su actividad.

Las isoflavonas y concretamente las genisteínas, estimulan la actividad de la osteoprotegerina. Esta actividad moderada es suficiente para estimular una formación continua de los huesos (Morris et al., 2006) (Crisafulli et al., 2004).

Se puede afirmar que aunque hay algunas evidencias experimentales que sugieren una relación entre el consumo de isoflavonas y la mejora de las condiciones óseas, estas se consideran poco concluyentes (Cassidy, 2006b).

5. Cáncer

Son muchos los estudios que han intentado establecer la relación entre el consumo de soja y la incidencia de diversos tipos de cáncer, ya que se ha observado que esta incidencia es mucho menor en países asiáticos donde el consumo de soja y sus derivados es elevado. También se ha establecido que en esta incidencia pueden jugar un papel importante el estilo de vida, la dieta y la ingesta de grasas

y fibras (Magee et al., 2004). Entre los distintos tipos de cáncer estudiados cabe destacar los de mama, endometrio, próstata y colón.

Cáncer de mama

Los estudios en animales parecen mostrar resultados dispares, pudiéndose encontrar algunos donde se concluye que la genisteína puede ejercer un efecto protector en animales con cáncer inducido químicamente, mientras que otros estudios sugieren que la genisteína estimula el crecimiento de tumores mamarios implantados (Messina et al. 2006).

En España, la Sociedad Española de Ginecología y Fitoterapia (SEGIF) ha establecido que a la vista de los estudios científicos, no se han encontrado datos que sustenten adecuadamente un efecto protector de las isoflavonas sobre el desarrollo del cáncer de mama, aunque sí consideran establecido que las isoflavonas no suponen un factor de riesgo para el desarrollo de neoplasias mamarias. También se indica que no existen datos sobre su seguridad en pacientes con antecedentes de cáncer de mama (Jamo, 2006).

Cáncer de endometrio

Los resultados recogidos en la bibliografía respecto a los estudios sobre este tipo de cáncer parecen ser contradictorios. Por un lado, algunos autores han señalado que aunque se han podido medir varios efectos fisiológicos en el endometrio asociados a un consumo de isoflavonas, aún es necesario establecer el papel que éstas desempeñan (Hale et al., 2002). Se ha concluido que no se ha podido establecer una asociación directa entre la ingesta de fitoestrógenos y el cáncer de endometrio, destacando que los estudios en animales han dado lugar a resultados contradictorios (Committee on Toxicity, 2003).

Cáncer de próstata

Algunos estudios han revelado una relación entre la formación de equol, metabolito de la diadzeína, y el cáncer de próstata. Un estudio reciente ha evaluado los efectos de la genisteína, daidzeína y otros metabolitos sobre células cancerígenas para determinar tanto su evolución o crecimiento como la integridad del ADN. Los resultados obtenidos han permitido concluir que las isoflavonas no provocan daños en el ADN ni fomentan el crecimiento de dichas células, además algunas de las isoflavonas suprimen el crecimiento de dichas células (Raschke et al., 2006).

Sin embargo, en estudios anteriores se sugiere que los datos epidemiológicos sobre la relación entre la ingesta de soja o derivados y la incidencia del cáncer de próstata son inconsistentes, ya que muy pocos de ellos han estudiado específicamente los fitoestrógenos. No obstante, existen estudios en roedores donde se han examinado específicamente los efectos de los fitoestrógenos, encontrándose un efecto protector (Committee on Toxicity, 2003).

Cáncer de colon

Aunque diversos estudios epidemiológicos han sugerido que el consumo de productos no fermentados de soja puede disminuir el riesgo de padecer cáncer de colon, es conocido que el consumo de pro-

ductos fermentados de soja está asociado con un incremento del riesgo. Los diversos estudios en animales han dado lugar a resultados dispares y contradictorios (Committee on Toxicity, 2003).

Estudios más recientes indican que aunque los resultados obtenidos sugieren que las isoflavonas pueden tener un efecto protector, son necesarios más estudios en animales para poder entender mejor este efecto (MacDonald et al., 2005).

Toxicidad

No está clara la seguridad de las isoflavonas, la información toxicológica se considera insuficiente. Munro y colaboradores (2003) han revisado la literatura asociada con la seguridad de las isoflavonas, concluyendo que el consumo de isoflavonas es seguro si es en forma de productos de soja.

En Estados Unidos se ha evaluado recientemente la toxicidad de las formulaciones de soja para niños y de la genisteína sobre el sistema reproductor y el crecimiento (Rozman et al., 2006a) (Rozman et al., 2006b).

El panel de expertos que ha evaluado las formulaciones de soja para niños (Rozman et al., 2006a) concluye que no hay suficientes datos experimentales en humanos y animales para determinar su toxicidad, ya que la mayoría de estudios no tienen un grado de confianza suficiente (presentan problemas de diseño, número de individuos de la muestra estudiada, etc.). Hay estudios que indican que no hay diferencias significativas sobre el peso corporal e indicadores del sistema reproductor (edad de la menarquia, desarrollo de las mamas y duración ciclos menstruales en mujeres y edad de la primera eyaculación, aparición de pelo en el pecho y cambio de voz en hombres) entre individuos alimentados, cuando eran niños, con leche de vaca o formulación de soja (Strom et al., 2001). En cambio, algunos estudios encuentran efectos negativos de la formulación de soja, como es el desarrollo prematuro de las mamas en niñas (Freni-Titulaer et al., 1986). El panel de expertos que ha evaluado la genisteína concluye que, aunque no hay ensayos clínicos en humanos, los datos experimentales obtenidos con animales se pueden utilizar para evaluar el riesgo potencial de la genisteína en los humanos.

La genisteína purificada puede tener un efecto adverso sobre el desarrollo y sistema reproductor de la rata y ratón. Se ha establecido un LOAEL (*lowest observed adverse effect level*) de 35 mg/kg peso corporal/día para los machos y de 44 mg/kg peso corporal/día para las hembras. Así, el panel de expertos considera que, en condiciones habituales, es muy difícil que las personas consuman una cantidad de genisteína suficiente para producir toxicidad; se estima que la población japonesa (la población humana más expuesta a la genisteína) consume 0,43 mg de genisteína/kg peso corporal/día, muy inferior al LOAEL basado en un estudio en roedores (Rozman et al., 2006b).

Conclusiones del Comité Científico

Las evidencias epidemiológicas sugieren que el consumo de productos de soja está correlacionado con la mejora de los problemas asociados con la menopausia y la incidencia de enfermedades crónicas, como aterosclerosis, osteoporosis y ciertos tipos de cáncer. Los estudios con animales de labora-

torio y en cultivos celulares confirman esta correlación. En cambio los ensayos clínicos no son concluyentes y en ocasiones resultan contradictorios.

Los componentes más importantes de la soja en relación con las actividades biológicas reseñadas son la proteína de soja y la isoflavonas asociadas y son los que más se han estudiado en profundidad durante las últimas décadas.

No está claro que las isoflavonas tengan efectos beneficiosos sobre los síntomas de la menopausia y enfermedades crónicas, ya que hay ensayos clínicos que indican efectos positivos mientras que otros no encuentran diferencias. Posiblemente estas discordancias sean consecuencia de: 1) la utilización de diferentes extractos y dosis de isoflavonas y/o alimentos de soja, 2) diferencias en el metabolismo entre los individuos en el ensayo (productores o no de equol), 3) diferencias en la duración de los ensayos clínicos realizados, 4) posibles problemas en los criterios de inclusión y 5) una posible intervención de las diferentes dietas y estilos de vida de los individuos que participaban en los ensayos.

No existe información suficiente sobre el contenido de isoflavonas en los alimentos consumidos por los españoles, por lo que es difícil llegar a conclusiones precisas sobre el consumo habitual en la población. Se considera que el consumo medio de la población europea está por debajo de 1 mg/persona/día. No se ha encontrado ningún estudio concreto de estimación de la ingesta de isoflavonas en la población española.

La evidencia disponible indica que el consumo de isoflavonas en forma de alimentos derivados de la soja es seguro (Munro et al., 2003). Teniendo en cuenta la estructura química y las características toxicológicas de la genisteína, no existen evidencias para deducir que la cantidad habitual en los alimentos produzca efectos adversos.

No hay información suficiente como para concluir si el consumo de formulaciones a base de soja para bebés produce efectos sobre el desarrollo.

Referencias

- Albert, A., Altare, C., Baro, F., Buendía, E., Cabero, A., Cancelo, M.J., Castelo-Branco, C., Chantre, P., Duran, M., Haya, J., Imbert, P., Julia, D., Lanchares, J.L., Llaneza, P., Manubens, M., Minano, A., Quereda, F., Ribes, C., Vazquez, F. (2002). Efficacy and safety of a phytoestrogen preparation derived from *Glycine max* (L.) Merr in climacteric symptomatology: a multicentric, open, prospective and non-randomized trial. *Phytotherapy Research*, vol. 9, pp: 85-92.
- Brown, N.M., Setchell, K.D.R. (2001). Animal models impacted by phytoestrogens in commercial chow: implications for pathways influenced by hormones. *Lab Invest.* vol 81, pp: 735-747.
- Bryant, M., Cassidy, A., Hill, C., Powell, J., Talbot, D., Dye, L. (2005). Effect of consumption of soy isoflavones on behavioural, somatic and affective symptoms in women with premenstrual syndrome. *Br. J. Nutr* vol 93 (5), pp: 731-739.
- Bhathena, S.J., Velasquez, M.T (2002). Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *Am. J. Clin. Nutr*, vol 76, pp: 1191-1201.
- Cassidy, A., Albertazzi, P., Lise Nielsen, I., Hall, W., Williamson, G., Tetens, I., Atkins, S., Cross, H., Manios, Y., Wolk, A., Steiner, C., Branca, F. (2006b). Critical review of health effects of soyabean phytoestrogens in post-menopausal women. *Proc Nutr Soc.* vol 65(1), pp: 76-92.
- Cassidy, A., Brown, J.E., Hawdon, A., Faughnan, W.S., King, L.J., Millward, J., Zimmer-Nechemias, L., Wolfe, B.,

- Setchell, K.D.R. (2006a). Factors affecting the bioavailability of soy isoflavones in humans after ingestion of physiologically relevant levels from different soy foods. *J. Nutr.*, vol 136 (1), pp. 45-51.
- Chen, Y.M., Ho, S.C., Lam, S.S., Ho, S.S., Woo, J.L. (2003). Soy isoflavonas have a favourable effect on bone loss in Chinese post-menopausal women with lower bone mass: a double-blind, randomized, controlled trial. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* vol 88, pp: 4740-4747.
- Clifton-Bligh, P.B., Baber, R.J., Fulcher, G.R., Nery, M.L., Moreton, T. (2001). The effect of isoflavonas extracted from red clover (Rimostil) on lipid and bone metabolism. *Menopause*, vol 8, pp: 259-265.
- Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment (COT) (2003). Phytoestrogens and Health. The Food Standards Agency, Reino Unido. (http://www.food.gov.uk/science/ouradvisors/toxicity/COTwg/wg_phyto/)
- Crisafulli, A., Altavilla, D., Squadrito, G. (2004). Effects of the phytoestrogen genistein on the circulating soluble receptor activator of nuclear factor kappa β ligand-ostoprotegerin system in early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* , vol 89 (1), pp: 188-192.
- Duncan, A.M., Underhill, K.E.W., Xu, X., Lavalleur, J., Phipps, W.R., Kurzer, M.S. (1999a). Modest hormonal effects of soy isoflavones in postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol 84, pp: 3479-3484.
- Duncan, A.M., Merz, B.E., Xu, X., Nagel, T.C., Phipps, W.R., Kurzer, M.S. (1999b). Soy isoflavones exert modest hormonal effects in premenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol 84, pp: 192-197.
- Eldrige, A.C., Kwolek, W.F. (1983). Soybean isoflavones: effect of environment and variety on composition. *J. Agric. Food. Chem.*, vol 31, pp: 394-396.
- Fitzpatrick, L.A. (2003). Phytoestrogens-mechanism of action and effect on bone markers and bone mineral density. *Endocrinol Metab. Clin. North Am.*, vol 32, pp: 233-252.
- Freni-Titulaer, L.W., Cordero, J.F., Haddock, L., Lebron, G., Martinez, R., Mills, J.L. (1986). Premature thelarche in Puerto Rico. A search for environmental factors. *Am. J. Dis. Child.* vol 140, pp: 1263-1267.
- Gallagher, J.C., Satpathy, R., Rafferty, K., Haynatzka, V. (2004). The effect of soy protein isolate on bone metabolism. *Menopause*, vol 11, pp: 290-298.
- Hale, G.E., Hughes, C.L., Cline, J.M. (2002). Endometrial cancer: hormonal factors, the perimenopausal "window of risk", and isoflavones. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* Vol 87, pp: 3-15.
- Hanson, L.N., Engelman, H.M., Alekel, D.L., Schalinske, K.L., Kohut, M.L., Reddy, M.B. (2006). Effects of soy isoflavones and phytate on homocysteine, C-reactive protein, and iron status in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* Vol 84 (4), pp: 774-780.
- Head, K (1999). In: *Textbook of natural medicine*. Soy isoflavones and other constituents. Pizzorno, J.E., Murray, M., eds. 2nd ed. New York: Churchill Livingstone; pp. 953-965.
- Heald, C.L., Bolton-Smith, C., Ritchie, M.R., Morton, M.S., Alexander, F.E. (2006). Phytoestrogen intake in Scottish men: use of serum to validate a self-administered food-frequency questionnaire in older men. *Eur. J. Clin. Nutr.* vol 60(1), pp: 129-135.
- Hedlund, T.E., Maroni, P.D., Ferucci, P.G., Dayton, R., Barnes, S., Jones, K., Moore, R., Ogden, L.G., Wahala, K., Sackett, H.M., Gray, K.J. (2005). Long-term dietary habits affect soy isoflavone metabolism and accumulation in prostatic fluid in caucasian men. *J. Nutr.*, vol 135 (6), pp: 1400-1406.
- Hwang, C.S., Kwak, H.S., Lim, H.J., Lee, S.H., Kang, Y.S., Choe, T.B., Hur, H.G., Han, K.O. (2006). Isoflavone metabolites and their in vitro dual functions: they can act as an estrogenic agonist or antagonist depending on the estrogen concentration. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* vol 101 (4-5), pp: 246-253.
- Izumi, T., Piskula, M.K., Osawa, S., Obata, A., Tobe, K., Saito, M., Kataoka, S., Kubota, Y., Kikuchi, M. (2000). Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. *J. Nutr.* vol 130, pp: 1695-9.
- Jamo on line. Las isoflavonas son un tratamiento seguro y muy bien tolerado para el síndrome climatérico. 2006. <http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/doyma/press.plantilla?ident=43772>

- Jayagopal, V., Albertazzi, P., Kilpatrick, E.S., Howarth, E.M., Jennings, P.E., Hepburn, D.A., Atkin, S.L. (2002). Beneficial effects of soy phytoestrogen intake in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes Care* vol 25, pp: 1709-1714.
- Kano, M., Takayanagi, T., Harada, K., Sawada, S., Ishikawa, F. (2006). Bioavailability of isoflavones after ingestion of soy beverages in healthy adults. *J. Nutr.*, vol 136 (9), pp: 2291-2296.
- Kiely, M., Faughnan, M., Wahala, K., Brants, H., Mulligan, A. (2003). Phyto-oestrogen levels in foods: The design and construction of the VENUS database. *Br. J. Nutr.* vol 89 Suppl 1:519-23
- Krebs, E.E., Ensrud, K.E., MacDonald, R., Wilt, T.J. (2004). Phytoestrogens for treatment of menopausal symptoms: a systematic review. *Obstet. Gynecol.*, vol 104 (4), pp: 824-836.
- Kreijkamp-Kaspers, S., Kok, L., Grobbee, D.E., deHaan, E.H., Aleman, A., Lampe, J.W., van der Schouw, Y.T. (2004). Effect of soy protein containing isoflavones on cognitive function, bone mineral density, and plasma lipids in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *J. Am. Med. Ass.* vol 292, pp: 65-74.
- Kronenberg, F., Fugh-Berman, A. (2002). Complementary and alternative medicine for menopausal symptoms: a review of randomized, controlled trials. *Ann. Intern. Med.*, vol 137 (10), pp: 805-813.
- Lampe, J.W. (2003). Isoflavonoid and lignan phytoestrogens as dietary biomarkers. *J. Nutr* vol 133, pp: 956-964.
- Lampe, J.W., Gustafson, D.R., Hutchins, A.M., Martini, M.C., Li, S., Wahala, K., Grandits, G.A., Potter, J.D., Slavin, J.L. (1999). Urinary isoflavonoid and lignan excretion on a Western diet: relation to soy, vegetable, and fruit intake. *Cancer. Epidemiol. Biomarkers Prev.*, vol 8, pp: 699-707.
- Lapčák, O., Hill, M., Hampl, R., Wa'ha'ala, K., Adlercreutz, H. (1998). Identification of isoflavonoids in beer. *Steroids*, vol 63, pp: 14-20.
- Magee, P.J., Rowland, I.R. (2004). Phytoestrogens, their mechanism of action: current evidence for a role in breast and prostate cancer. *Br. J. Nutr.*, vol 91 (4), pp: 513-531.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol 79, pp: 727-747.
- Mazur, W. (1998) Phytoestrogen content in foods. *Baillieres Clin. Endocrinol. Metab.*, vol 12, pp: 729-742.
- MacDonald, R.S., Guo, Y., Copeland, J., Browning, J., Sleper, D., Rottinghaus, G.E., Berthow, M.A. (2005). Environmental influences on isoflavones and saponins in soybeans and their role in colon cancer. *J. Nutr.*, vol 135 (5), pp: 1239-1242.
- Messina, M., McCaskill, W., Lampe, J.W. (2006). Addressing the soy and breast cancer relationship: Review, commentary, and workshop proceedings. *J. Nutr. Cancer. Inst.*, vol 98, pp: 1275-1284.
- Montalbán, E. (2005). Isoflavonas y riesgo cardiovascular en la menopausia. *Ginecol. Obstet. Clín.*, vol 6 (4), pp: 221-229.
- 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. (2002) Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebo-controlled study. *J. Bone. Min. Res.*, vol 17, pp: 1904-1912.
- Morris, C., Thorpe, J., Ambrosio, L., Santin, M. (2006). The soybean isoflavone genistein induces differentiation of MG63 human osteosarcoma osteoblasts. *J. Nutr.*, vol 136(5), pp: 1166-1170.
- Mulligan, A.A., Welch, A.A., McTaggart, A.A., Bhaniani, A., Bingham, S.A. (2006). Intakes and sources of soya foods and isoflavones in a UK population cohort study (EPIC-Norfolk). *Eur. J. Clin. Nutr.*; doi: 10.1038/sj.ejcn.1602509.
- Munro, I.C., Harwood, M., Hlywka, J.J., Stephen, A.M., Doull, J., Flamm, W.G., Adlercreutz, H. (2003). Heart and Stroke foundation of Canada. Soy isoflavones: a safety review. *Nutr. Rev.*, vol 61(1), pp: 1-33.
- Navarro Moll, M^a. C. (2005). Mecanismo de acción de las isoflavonas. *Ginecol. Obstet. Clín.* Vol 6(3), pp:159-165.
- Nagata, C., Takatsuka, N., Kawakani, N., Shimizu, H. (2001). Soy product intake and hot flashes in Japanese women: results from a community-based prospective study. *Am. J. Epidemiol.*, vol 153, pp: 790-793.
- Nelson, H.D., Vesco, K.K., Haney, E., Fu, R., Nedrow, A., Miller, J., Nicolaidis, C., Walker, M., Humphrey, L. (2006).

- Nonhormonal therapies for menopausal hot flashes: systematic review and meta-analysis. *JAMA*, vol 295(17), pp: 2057-71.
- Potter, S.M., Braum, J.A., Teng, H.Y., Stillman, R.J., Shay, N.F., Erdman, J.W. (1998). Soy protein and isoflavonas: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol 68, pp: 1375S-1379S.
- Raschke, M., Wahala, K., Beatrice, L. (2006). Reduced isoflavone metabolites formed by the human gut microflora suppress growth but do not affect DNA integrity of human prostate cancer cells. *Br. J. Nutr.*, vol 96(3), pp: 426-434.
- Richelle, M., Prodmore-Merten, S., Bodenstab, S., Enslin, M., Offord, E.A. (2002). Hydrolysis of isoflavone glycosides to aglycones by β -glycosidase does not alter plasma and urine isoflavone pharmacokinetics in postmenopausal women. *J. Nutr.* vol 132, pp: 2587–2592.
- Ronis, M.J., Little, J.M., Barone, G.W., Chen, G., Radomska-Pandya, A., Badger, T.M. (2006) Sulfation of the isoflavones genistein and daidzein in human and rat liver and gastrointestinal tract. *J. Med. Food.* Vol 9(3), pp: 348-355.
- Rozman, K.K., Bhatia, J., Calafat, A.M., Chambers, C., Culty, M., Etzel, R.A., Flaws, J.A., Hansen, D.K., Hoyer, P.B., Jeffery, E.H., Kesner, J.S., Marty, S., Thomas, J.A., Umbach, D. (2006a).: NTP-CERHR expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of soy formula. *Birth. Defects Res. B. Dev. Reprod. Toxicol.* vol 77(4), pp: 280-397.
- Rozman, K.K., Bhatia, J., Calafat, A.M., Chambers, C., Culty, M., Etzel, R.A., Flaws, J.A., Hansen, D.K., Hoyer, P.B., Jeffery, E.H., Kesner, J.S., Marty, S., Thomas, J.A., Umbach, D. (2006b). NTP-CERHR expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of genistein. *Birth. Defects Res. B. Dev. Reprod. Toxicol.*, vol 77(6), pp: 485-638.
- Sacks, F.M., Lichtenstein, A., Van Horn, L., Harris, W., Kris-Etherton, P., Winston, M. (2006) Soy protein, isoflavones, and cardiovascular health: a summary of a statement for professionals from the american heart association nutrition committee. *Circulation*, vol 113, pp: 1034-1044.
- Setchell, K.D., Clerici, C., Lephart, E.D., Cole, S.J., Heenan, C., Castellani, D., Wolfe, B.E., Nechemias-Zimmer, L., Brown, N.M., Lund, T.D., Handa, R.J., Heubi, J.E. (2005). S-equol, a potent ligand for estrogen receptor beta, is the exclusive enantiomeric form of the soy isoflavone metabolite produced by human intestinal bacterial flora. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol 81(5), pp: 1072-1079.
- Setchell, K.D.R., Brown, N.M., Lydeking-Olsen, E. (2002b). The clinical importance of the metabolite equol-A clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *J. Nutr.*, vol 132, pp: 3577–3584.
- Setchell, K.D.R., Brown, N.M., Zimmer-Nechemias, L., Brashear, W.T., Wolfe, B.E., Kirschner, A.S., Heubi, J.E. (2002a). Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* vol 76, pp: 447–454.
- Somekawa, Y., Chiguchi, M., Ishibashi, T., Aso, T. (2001). Soy intake related to menopausal symptoms, serum lipids and bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *Obstet. Gynecol.*, vol 97, pp: 109-115.
- Strom, B.L., Schinnar, R., Ziegler, E.E., Barnhart, K.T., Sammel, M.D., Macones, G.A., Stallings, V.A., Drulis, J.M., Nelson, S.E., Hanson, S.A. (2001). Exposure to soy-based formula in infancy and endocrinological and reproductive outcomes in young adulthood. *JAMA*, vol 286, pp: 817-814.
- Szkudelska, K., Nogowski, L., Szkudelski, T. (2000). Genistein affects lipogenesis and lipolysis in isolated rat adipocytes. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, vol 75, pp: 265-271.
- Teixeira, S., Tappenden, K.A., Carson, L., Jones, R., Prabhudesai, M., Marshall, W., Erdman, J.W. (2004). Isolated soy protein consumption reduces urinary albumin excretion and improves the serum lipid profile in men with type 2 diabetes mellitus and nephropathy. *J. Nutr.*, vol 134(8), pp: 1874-1880.
- U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 2002. USDA-Iowa State University Database on the Isoflavone Content of Foods, Release 1.3 - 2002. Nutrient Data Laboratory Web site: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/isoflav/isoflav.html>

- Valsta, L.M., Kilkkinen, A., Mazur, W., Nurmi, T., Lampi, A.M., Ovaskainen, M.L., Korhonen, T., Adlercreutz, H., Pietinen, P. (2003). Phyto-oestrogen database of foods and average intake in Finland. *Br. J. Nutr.*, vol 89 Suppl 1:S31-38.
- Van Erp-Baart, M.A., Brants, H.A., Kiely, M., Mulligan, A., Turrini, A., Sermoneta, C., Kilkkinen, A., Valsta, L.M. (2003). Isoflavone intake in four different European countries: the VENUS approach. *Br. J. Nutr.*, vol 89 Suppl 1:S25-30.
- Wang, H.J., Murphy, P.A. (1994a). Isoflavone Composition of American and Japanese Soybeans in Iowa: Effects of Variety, Crop Year, and Location. *J. Agric. Food Chem.*, vol 42, pp: 1674-1677.
- Weggemans, R.M., Trautwein, E.A. (2003). Relation between soy-associated isoflavones and LDL and HDL cholesterol concentrations in humans: a meta-analysis. *Eur. J. Clin. Nutr.*, vol 57(8), pp: 940-946.
- Wiseman, H., Casy, K., Bowey, E.A., Duffy, R., Davies, M., Rowland, I.R., Lloyd, A.S., Murray, A., Thompson, R., Clarke, D.B. (2004). Influence of 10 wk of soy consumption on plasma concentrations and excretion of isoflavonoids and on gut microflora metabolism in healthy adults. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol 80; pp: 692-699.
- Xiao, C.W., Wood, C., Gilani, G.S (2006). Nuclear receptors: potential biomarkers for assessing physiological functions of soy proteins and phytoestrogens. *J. AOAC Int.* vol 89(4), pp: 1207-1214.
- Xu, X., Wang, H.J., Murphy, P.A., Hendrich, S. (2000). Neither background diet nor type of soy food affects short-term isoflavone bioavailability in women. *J. Nutr.*, vol 130, pp: 798-801
- Zubik, L., Meydani, M. (2003). Bioavailability of soybean isoflavones form aglycone and glucoside from in American women. *Am. J. Clin. Nutr.* vol 77, pp: 1459-1465.