

I fitoestrogeni.

Profilo farmacologico e terapeutico

S. RICCIUTI*, C. CARDINI**

Phytoestrogens: pharmacological and therapeutic aspects.

Phytoestrogens are biologically active compounds ubiquitous to the plant kingdom belonging to four different chemical classes: isoflavones, lignans, cumestans and mycoestrogens. Soy foods are the most abundant dietary sources of isoflavones, the best known phytoestrogens.

Phytoestrogens are diphenolic compounds with structural similarity to estradiol-17- β .

They act as SERMs (selective estrogen receptor modulators), with estrogen-like agonist and antagonist effects on the different target tissues.

Phytoestrogens possess a wide range of biological properties that contribute to the many different health-related benefits reported for soy foods with special regard to climateric-related diseases like hot flashes, osteoporosis and cardiovascular diseases.

They are generally well tolerated.

Although scientific evidence allude to the possible protective effects on climateric-related diseases, more clinical trials are necessary to draw definitive conclusions regarding the use of phytoestrogens as an alternative to estrogens for replacement therapy in postmenopausal women.

KEY WORDS: Adverse effects, Phytoestrogens, Pharmacology, Therapeutic use.

Introduzione

La constatazione epidemiologica della minore incidenza, tra i Cinesi ed i Giap-

ponesi, di disturbi legati alla menopausa e malattie quali osteoporosi, aterosclerosi, carcinomi mammario ed endometriale, ha determinato un crescente interesse del mondo scientifico verso i fitoestrogeni contenuti nella soia, costituente principale della dieta delle popolazioni orientali, ed in altre piante ad azione estrogenica.

Lo studio di questa classe di principi attivi è stato incoraggiato, negli ultimi

* Accademia Romana di Storia della Farmacia e Scienze Farmaceutiche, Scuola di perfezionamento in Fitoterapia, Università di Viterbo.

** Accademia Romana di Storia della Farmacia e Scienze Farmaceutiche.

Per la corrispondenza: Dott. Sergio Ricciuti, Via Secondo Pagano 7, 03043 Cassino (FR).

tempi, anche dalla ricerca di una valida alternativa alla terapia ormonale sostitutiva (TOS), notevolmente ridimensionata in termini di importanza rispetto ad alcuni anni fa ed attualmente indicata solo per il trattamento a breve termine dei sintomi del climaterio, ma non per la prevenzione dell'osteoporosi, che richiederebbe tempi molto più lunghi (5-10 anni), con aumento significativo del rischio di tumore al seno e di tromboembolie.

Definizione

I fitoestrogeni sono sostanze non steroidee contenute in molte specie vegetali, aventi strutture ed azioni simili a quelle degli ormoni femminili.

Tale attività è decisamente meno intensa (da mille a 10 mila volte) rispetto a quella degli estrogeni naturali.

Presenza in natura

I fitoestrogeni sono presenti in oltre 300 specie di piante^{1,2}.

La loro concentrazione varia in relazione a vari fattori, quali la specie botanica, il tipo di terreno e le condizioni climatiche^{3,4}.

Spesso una pianta medicinale contiene più di un tipo di fitoestrogeni: ad esempio, il fagiolo della soia è ricco di isoflavoni mentre i germogli sono ricchi di cumestani (coumestrol); il tè verde è ricco di isoflavoni (daidzeina e genisteina) e di un lignano (il (secois) lariciresinolo).

Nella Tabella I viene riportato un elenco di piante ricche in fitoestrogeni.

TABELLA I
Piante contenenti fitoestrogeni

Principali piante contenenti fitoestrogeni	
Aglio	Mela
All'a-alla	Menta piperita
Aneto	Milfofolie
Arancio	Mirtillo
Avena	Mora
Callè	Orzo
Carota	Palma nana
Cavoli di Bruxelles	Patata dolce
Ciliegio	Pisello
Cimicifuga	Pomodoro
Cipolla	Rabarbaro verde
Cocco	Riso
Cumino nero	Ruta
Dragoncello	Salvia
Dulcamara	Sassafrasso
Finoocchio	Scutellaria
Ginkgo	Segale
Ginseng	Sesamo
Girasole	Soia
Grano saraceno	Tè
Lampone	Trifoglio rosso
Limone	Tubero
Lino semi	Uva
Liquirizia	

Chimica

I fitoestrogeni (Figura 1) sono composti difenolici strutturalmente simili al 17- β -estradiolo (il principale estrogeno prodotto dall'ovaio femminile), al dietilstilbestrolo (un farmaco di sintesi a struttura non steroidea dotato di attività estrogenica) ed al tamoxifene (un farmaco di sintesi dotato di attività agonista-antagonista impiegato nel trattamento del carcinoma mammario).

La posizione dei due gruppi OH-, in particolare la distanza reciproca tra di essi, è essenziale per stabilire il legame con il recettore e quindi per la manifestazione dell'attività estrogenica. La distanza tra i due gruppi OH- del 17- β -estradiolo è simile a quella esistente tra i

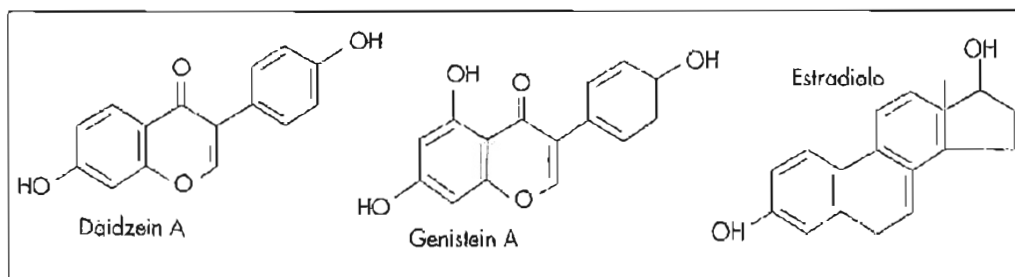


Fig. 1. - Strutture chimiche di daidzeina, genisteina ed estradiolo.

due gruppi OH- di fitoestrogeni quali l'equolo, l'enterolactone e l'enterodiolo.

I fitoestrogeni appartengono a 4 classi di composti chimici diversi, gli isoflavoni, i lignani, i cumestani ed i micooestrogeni.

Isoflavoni

Chimicamente sono derivati del 3 fenil- γ -benzopirone, isomero del flavone (2 fenil- γ -benzopirone), la struttura chimica di base di tutti i flavonoidi.

Gli isoflavoni sono i fitoestrogeni più noti e diffusi, non solo nel regno vegetale, ma anche in quello animale (sono stati rinvenuti in alcuni liquidi organici come sangue, urine, feci e sperma).

Un elenco dei principali isoflavoni è riportato in Tabella II.

TABELLA II
Principali isoflavoni

Principali isoflavoni	
Anetolo	Esperidina
Apigenina	Formononetina
Biochanina-A	Genisteina
Cumestrola	Gliciteina
Daidzeina	Pronectina
Equolo	Resveratrolo

Questi composti sono contenuti in numerosi alimenti come soia (farina e latte), ceci, lenticchie, fagioli, finocchio, grano saraceno, Tofu e cavolini di Bruxelles.

Gli isoflavoni meglio studiati sono la genisteina e la daidzeina, maggiormente diffusi in natura e presenti nelle piante in quantità più consistenti, che presentano notevoli analogie strutturali con gli estrogeni naturali (Figura 1).

Importanti fonti non alimentari di isoflavoni sono la cimicifuga (*Cimicifuga racemosa* o *Actaea racemosa*), una pianta ampiamente rivalutata dalla moderna fitoterapia soprattutto per il trattamento dei disturbi della menopausa, ed il trifoglio rosso (*Trifolium pratense*). La cimicifuga è ricca di formononetina; il trifoglio rosso contiene biochanina, formononetina ed i rispettivi metaboliti, genisteina e daidzeina.

Nelle Tabelle III e IV sono illustrate, rispettivamente, la presenza in natura e le vie di metabolizzazione di genisteina e daidzeina.

Lignani. I lignani sono derivati del 2,3-dibenzilbutano.

In natura rappresentano sostanze basilari per la formazione della lignina, il co-

TABELLA III
Concentrazioni di genisteina e daidzeina in vari alimenti (Adlercreutz & Mazur, 1977)

Alimento	Genisteina mg/100 gr	Daidzeina mg/100 gr
Fagioli di soia	97	68
Tofu	20	7,5
Miso	15	14
Semi di girasole	0,1	0,008
Broccoli	0,007	0,005
Arachidi	0,08	0,05

TABELLA IV
Vie metaboliche degli isoflavoidi genisteina e daidzeina

Biochanina-A ↓ Genisteina ↓ p-etil-fenolo (inattivo)	Formononetina ↓ Daidzeina ↓ Equolo, O-desmetil-angolensina
---	---

stituente fondamentale delle pareti cellulari di Gimnosperme ed Angiosperme.

Come gli isoflavoni, i lignani sono presenti, oltre che nel regno vegetale, anche in quello animale (liquidi organici).

I principali rappresentanti di questa classe di composti sono il matairesinolo ed il (secois) lariciresinolo, presenti nei fagioli di soia, in varie granaglie (il primo soprattutto nei semi di sesamo, il secondo nei semi di lino), nelle piante a carotenoidi (carote e spinaci) e nelle Crucifere (broccoli e cavolfiori)^{5,6}. Appartengono al gruppo dei lignani anche artitegina, enterodiolo, enterolactone, guarcelina, machillina-A e quercetina, contenuti in numerosi alimenti come aglio, avena, birra, bourbon, carote, cereali integrali, ciliegie, cipolla, finocchio, olio di semi di girasole, grano, lino, olio di oliva, mele, orzo, pere, riso, segale e sesamo.

Questi composti hanno dimostrato attività anticarcinogeniche, antivirali, battericide e fungistatiche. Sarebbero, inoltre, in grado di influenzare il metabolismo del colesterolo inibendo l'attività della colesterolo-7 α -idrossilasi, enzima *rate-limiting* delle reazioni che portano alla formazione degli acidi biliari a partire dal colesterolo⁷.

Cumestani. I cumestani vengono sintetizzati prevalentemente durante i processi di germinazione.

Sono meno comuni degli isoflavoni e dei lignani. Le principali fonti sono il foraggio, i germogli dei fagioli di soia e soprattutto i germogli dell'alfa-alfa e del trifoglio^{8,9}.

Il principale rappresentante di questa classe di principi attivi è il coumestralo, componente relativamente raro della nostra dieta.

Sebbene ancora poco studiato¹⁰, il coumestrol sembra essere più estrogenico della genisteina e della daidzeina e, diversamente da altri fitoestrogeni, sarebbe in grado di stimolare la lattazione¹¹.

Micoestrogeni. I micoestrogeni sono lattoni dell'acido resorcilico prodotti da funghi, come lo zearelenone.

Farmacocinetica

I fitoestrogeni contenuti nelle piante (fitoestrogeni vegetali) sono coniugati con monosaccaridi, disaccaridi o polisaccaridi mediante legami glicosidici, prevalentemente di tipo β (formati dalla reazione di un ossidrile del fitoestrogeno con un gruppo aldeidico dello zucchero).

I fitoestrogeni in forma glicosilata non sono attivi e non vengono assorbiti¹².

Le β -glicosidasi, enzimi idrolitici prodotti dalla flora intestinale dei mammiferi, scindendo il legame con i carboidrati, liberano le molecole dei fitoestrogeni (fitoestrogeni animali) che, in questa forma, sono attivi e possono essere facilmente assorbiti¹³.

La daidzeina può essere metabolizzata dai batteri intestinali ad equolo, diidrodaidzeina e O-desmetilangolensina. Solo un terzo o, al massimo, la metà degli individui produce equolo¹⁴.

L'assorbimento dei fitoestrogeni a livello intestinale varia a seconda della dieta e di alcune caratteristiche individuali quali l'età, il sesso ed il fenotipo (*equol producers* ed *equol non-producers*)¹⁵.

Questo spiegherebbe le differenze nei livelli plasmatici dei rispettivi metaboliti e nelle risposte biologiche, che si osservano in soggetti diversi a parità di materiale ingerito.

Un altro fattore in grado di influenzare in modo determinante la biodisponibilità degli isoflavoni è il tempo di transito intestinale: donne con un tempo di transito intestinale più rapido (<40 ore) presentano un assorbimento 2-3 volte maggiore di donne con un tempo di transito intestinale più lungo (>65 ore)¹⁶.

Per i suddetti motivi, una valutazione dell'azione protettiva dei fitoestrogeni andrebbe fatta sulla base non soltanto dell'apporto, ma anche della concentrazione urinaria dei metaboliti.

Numerose condizioni possono limitare l'idrolisi intestinale e, quindi, l'attivazione dei fitoestrogeni; tra queste rivestono particolare importanza l'assunzione di antibiotici, la colelitiasi, alcuni interventi chirurgici ed un'alimentazione ricca di grassi.

Al fine di evitare che un trattamento antibiotico o una patologia intestinale possano determinare una compromessa attività della flora intestinale e quindi una minore disponibilità di glicosidasi, in alcune formulazioni i fitoestrogeni sono associati a fermenti lattici con provata attività glicosidasica.

La biochanina-A e la formononetina subiscono una reazione di O-demetilazione ossidativa a genisteina e daidzeina ad opera delle isoforme CYP1B1 e CYP1A2 del citocromo P450^{17,18}.

I metaboliti genisteina e daidzeina inibirebbero l'attività del CYP1B1; a tale azione potrebbero essere, in parte, legati gli effetti anticarcinogenici di biochanina-A e formononetina e dei loro metaboliti¹⁹.

Gli isoflavoni sono eliminati con le urine prevalentemente sotto forma di solfo- e glucurono-coniugati²⁰.

La supplementazione di isoflavoni per lunghi periodi non porta a fenomeni di accumulo²¹.

I lignani sono in parte assorbiti direttamente dall'intestino, in parte glucuronati e solforati nel fegato, re-escreti nell'intestino attraverso le vie biliari, deconiugati dai batteri intestinali e riassorbiti. Una parte è escreta con le urine in forma glicuronata ed una parte è eliminata con le feci in forma non coniugata²².

Farmacodinamica

I fitoestrogeni agiscono attraverso una modulazione selettiva dei recettori per gli estrogeni, con attività agonista parziale sui recettori di tipo α (rene, ipofisi, apparato riproduttivo) ed antagonista sui recettori di tipo β (osso, prostata, cervello, apparato riproduttivo).

L'affinità di legame per i due tipi recettoriali è molto diversa (genisteina e daidzeina presentano, rispetto all'estradiolo, circa il 37% di affinità di legame per i recettori β e circa il 5% per gli α)^{23,24}.

L'attività agonista a livello dei recettori α è modesta rispetto a quella degli estrogeni di origine endogena (cumestrololo 0,202, genisteina 0,084, equolo 0,061, daidzeina 0,013)^{25,26}.

Per la loro attività agonista parziale sui recettori α , i fitoestrogeni eserciterebbero un effetto antiestrogenico (dovuto allo spiazzamento degli estrogeni endogeni ad attività agonista pura) in condizioni di estrogenizzazione (nelle donne in età fertile), ed un effetto estrogenico, sia pure meno potente rispetto a quello degli estrogeni endogeni, in condizioni di carenza estrogenica (nelle donne in menopausa).

L'attività antiestrogenica si svolgerebbe non solo attraverso un'azione recettoriale diretta, ma anche attraverso un'interferenza con il metabolismo degli estrogeni endogeni mediante: (1) inibizione dell'aromatasi, con ridotta conversione dell'estrone in estradiolo; (2) aumento della sintesi della S.H.B.G. (*Sex Hormon Binding Globulin*), con riduzione della quota libera di estradiolo; (3) riduzione della secrezione di FSH; (4) inibizione della 17- β -idrossisteroide deidrogenasi, con blocco della conversione del deidroepiandrosterone in androstenedione (da cui origina, ad opera dell'aromatasi, l'estrone) e dell'androstenediolo in testosterone (da cui origina, ad opera dell'aromatasi, il 17- β -estradiolo); (5) alterazione del metabolismo intestinale degli estrogeni, con parziale interruzione del circolo enteroepatico ed inibizione del riassorbimento.

I fitoestrogeni presentano anche altre attività, quali quella anti-ossidante, non riconducibili ad una modulazione positiva o negativa dell'attività estrogenica. L'attività antiossidante si esplica principalmente attraverso il blocco dei radicali liberi presenti nell'ambiente biologico ad opera del gruppo ossidrilico in posizione 4 e, secondariamente, mediante un'azione sequestrante i metalli di transizione come ferro e rame, in grado di generare specie radicaliche per catalisi (reazione di Fenton). Gli isoflavoni a più elevato potere antiossidante sono la genisteina e, in misura minore, la daidzeina. L'azione antiossidante potrebbe rivestire un ruolo importante nella prevenzione dell'aterosclerosi e del cancro²⁷.

Secondo recenti acquisizioni, i fitoestrogeni esplicano azioni antiflogistica, antiipertensiva, antibatterica, antivirale e fungicida.

Gli effetti sul S.N.C. sono molteplici, complessi e non ancora ben definiti; sono stati documentati una riduzione della concentrazione di F.S.H. e L.H., una normalizzazione del test al T.R.H., un effetto antidopaminergico ed un calo della secrezione di prolattina.

In campo oncologico, di particolare interesse ed oggetto di approfondimenti sono l'azione inibitoria *in vitro* sulla proliferazione delle cellule tumorali, l'inibizione della tirosinchinasi (genisteina) e della DNA-topoisomerasi I e II, il blocco della neoangiogenesi (migrazione e proliferazione delle vellole endoteliali) e la stimolazione dell'apoptosi (processo di autodistruzione selettiva delle cellule alterate).

Impieghi terapeutici e studi clinici

I potenziali campi di applicazione dei fitoestrogeni sono molteplici.

Le evidenze epidemiologiche e sperimentali sono per ora limitate ad alcune condizioni patologiche, come i disturbi del climaterio, l'osteoporosi, le cardiovasculopatie, la sindrome premenstruale e le neoplasie.

Gli studi presenti in letteratura si riferiscono soprattutto agli isoflavoni.

Sindrome da climaterio

L'incidenza delle vampate di calore in menopausa scende dal 70-80% nei Paesi occidentali al 57% in Malesia⁵⁸, ed al 14-18% in Cina e a Singapore^{29,31}.

Queste differenze sarebbero da attribuire al maggiore apporto in isoflavoni con i regimi dietetici, propri delle popolazioni orientali, ad alto contenuto di soia; si stima, infatti, in circa 25-45

mg/die l'apporto in isoflavoni nelle donne orientali e solo in 5 mg/die in quelle occidentali³².

Gli isoflavoni sono in grado di ridurre sensibilmente la maggior parte dei disturbi della menopausa, quali vampate, secchezza vulvare, disturbi neurologici ed affettivi, incontinenza urinaria, discromie cutanee, osteoporosi, alterazione del quadro lipidico e della reattività vascolare, con conseguente aumento del rischio di ictus e malattie coronariche.

Per questa ragione sembrano rappresentare una valida alternativa alla TOS, che comporta effetti collaterali di rilievo, quali edemi, emicrania, incremento ponderale, disturbi comportamentali, ed aumento del rischio di cancro e tromboembolie.

Le vampate di calore in menopausa non sarebbero tanto in rapporto ad una carenza estrogenica, quanto a squilibri del feedback ipotalamico, con ripercussioni sul rilascio pulsatile di LH e di altri ormoni ipolisari; gli isoflavoni sembrano attenuare il flushing riducendo le concentrazioni ematiche di LH.

I risultati di recenti studi clinici controllati e randomizzati comprovano l'efficacia degli isoflavoni nel ridurre le vampate³³⁻⁴⁰, nel migliorare il trofismo vaginale⁴¹⁻⁴³ e le funzioni cognitive e di memoria^{44,45}.

I dosaggi utilizzati negli studi considerati variano tra i 35 mg/die e i 110 mg/die, mentre la durata dei trattamenti varia tra 1 e 15 mesi.

Questi dati contrastano con quelli emersi da altre indagini, che sembrano smentire l'efficacia dei fitoestrogeni nella sindrome climaterica⁴⁶⁻⁵¹.

Osteoporosi

La densità ossea è più alta nelle donne afro-americane, intermedia nelle donne di razza bianca e minore nelle donne asiatiche; nonostante ciò, le donne asiatiche in menopausa presentano un'incidenza di fratture dell'anca più bassa rispetto a quella delle donne bianche ed afro-americane⁵²⁻⁵⁴.

Molti studi clinici sono concordi nel riconoscere agli isoflavoni un'importante azione preventiva sul riassorbimento osseo in menopausa⁵⁵⁻⁵⁷.

I dosaggi utilizzati negli studi considerati variano tra i 40 mg/die e i 130 mg/die, mentre la durata dei trattamenti varia tra 3 e 24 mesi.

La cessata produzione di estrogeni ovarici, tipica della menopausa, rappresenta un importante fattore di rischio per l'insorgenza di osteoporosi; gli estrogeni, infatti, attraverso l'attivazione dei recettori β , regolano la quantità di calcio presente nel tessuto osseo ed inibiscono l'attività degli osteoclasti, deputati al riassorbimento dell'osso.

Gli effetti benefici dei fitoestrogeni sulla densità ossea non sarebbero, tuttavia, legati ad una stimolazione di tipo estrogenico dei recettori β , recettori su cui questi composti esplicano, peraltro, un'attività di tipo antagonista, piuttosto che agonista.

A sostegno di questa ipotesi, Fanti et al. hanno dimostrato che la genisteina riduce la perdita dell'osso trabecolare e della densità minerale stimolando l'attività osteoblastica, quindi la formazione di tessuto osseo, senza però ridurre quella osteoclastica; poiché, come si è detto, la riduzione dell'attività degli osteoclasti rappresenta l'effetto caratte-

ristico degli estrogeni sull'osso, si ritiene che la genisteina possa agire con un meccanismo diverso da quello degli ormoni endogeni⁶⁸.

La capacità degli isoflavoni di soia di stimolare l'attività osteoblastica è stata recentemente confermata anche dallo studio di Chicchi et al.⁶⁹.

Lo studio di Morabito et al. dimostrerebbe, invece, che la genisteina previene la perdita di tessuto osseo non solo stimolando l'attività degli osteoblasti, ma riducendo quella degli osteoclasti; in questo modo verrebbero convalidati i risultati di alcuni studi preclinici, condotti in ratti ovariectomizzati⁷⁰.

Ulteriori studi clinici appaiono, pertanto, necessari per approfondire il meccanismo d'azione dei fitoestrogeni a livello osseo.

Cardiovasculopatie

L'incidenza delle malattie cardiovascolari è inferiore per le donne in pre-menopausa rispetto agli uomini e tende ad equipararsi con il progredire dell'età. Nelle donne in menopausa, la TOS a lungo termine riduce il rischio di malattie cardiovascolari⁷¹; l'effetto protettivo degli estrogeni sarebbe legato a modificazioni vascolari (tono vasomotorio e *compliance* della parete vascolare)⁷² e del quadro lipidico (riduzione del colesterolo LDL ed aumento del colesterolo HDL).

Diversi studi epidemiologici hanno consolidato l'idea che, nelle donne in menopausa, i fitoestrogeni della dieta producano effetti cardioprotettivi superiori a quelli degli estrogeni.

Una tale attività sembra manifestarsi non soltanto attraverso un'azione simil-

estrogenica, con normalizzazione del quadro lipidico (diminuzione delle LDL e dei trigliceridi, aumento delle HDL) e modificazione della reattività vascolare (soprattutto ad opera del resveratrolo contenuto nel vino rosso), ma anche attraverso un'azione antiossidante, antiaggregante piastrinica ed ipotensiva.

L'effetto cardioprotettivo di questi composti in menopausa è convalidato da studi autorevoli⁷³⁻⁸⁵.

I fitoestrogeni sembrano esercitare effetti positivi sull'apparato cardiovascolare non solo in menopausa, ma anche nelle donne in età fertile ed in individui di sesso maschile⁸⁶⁻⁸⁸.

Diversamente da quanto si verifica nella donna, nell'uomo quest'azione sarebbe legata all'assunzione di sola genisteina o di suoi precursori (biochanina), ma non di altri isoflavoni^{89,90}.

I dosaggi utilizzati negli studi considerati variano tra i 40 mg/die e i 130 mg/die, mentre la durata dei trattamenti varia tra 1 e 12 mesi.

Anche una recente metanalisi condotta su 8 studi clinici controllati e randomizzati ha dimostrato che gli isoflavoni riducono il colesterolo-LDL⁹¹.

L'effetto sul colesterolo sarebbe così rilevante che, nell'ottobre 1999, l'FDA, sulla base di prove scientifiche ricavate da più di 50 studi indipendenti, ha consentito ai produttori di alimenti contenenti un minimo di 6,25 g di proteine di soia per porzione, di affermare, sul contenitore del prodotto alimentare o della bevanda, che "25 g di proteine di soia al giorno, come parte di una dieta a basso contenuto di grassi saturi e colesterolo, possono ridurre il rischio di infarto".

A conclusioni completamente opposte sono, tuttavia, giunti alcuni Autori, che smentiscono l'azione cardiopreventiva dei fitoestrogeni⁹⁰⁻⁹².

Sindrome premestruale

Gli isoflavoni sono in grado di ridurre i disturbi che accompagnano il ciclo mestruale, come ansia, irritabilità, insonnia, crampi, ritenzione idrica e tensione mammaria. L'attività antidopaminergica e la ridotta secrezione di prolattina potrebbero essere alla base dell'effetto positivo sulla mastodinia.

In uno studio clinico randomizzato e controllato, il trattamento con fitoestrogeni al dosaggio di 60 mg/die per 6 mesi ha ridotto la frequenza media di attacchi di emicrania associati al ciclo mestruale da $10,3 \pm 2,4$, nel gruppo di controllo, a $4,7 \pm 1,8$, nel gruppo trattato⁹³.

Neoplasie

L'incidenza di tumori ormono-dipendenti (mammella, ovaio, endometrio e prostata) varia sensibilmente (fino a 20 volte) a seconda della popolazione considerata.

Tale differenza sembra dipendere più da fattori ambientali che da fattori genetici^{94,95}.

In particolare il Giappone presenta la più bassa incidenza di tumori ormono-dipendenti⁹⁶.

Studi condotti su emigrati dall'Asia nei Paesi occidentali hanno evidenziato come l'incidenza delle suddette neoplasie sia sostanzialmente invariata in individui che hanno mantenuto regimi dietetici tradizionali (*plant-based diets*)⁹⁷, mentre risulti significativamente più elevata in soggetti che si sono occidentalizzati,

adottando diete prevalentemente carnee, ad alto contenuto di grassi ed a basso contenuto di fibre (*high-fat, meat-based, low-fiber diets*)⁹⁸⁻¹⁰⁰.

L'ipotesi che i fitoestrogeni svolgano un effetto protettivo nei confronti di varie neoplasie nasce non solo da osservazioni epidemiologiche, ma anche da alcune considerazioni fisiopatologiche.

Uno dei fattori di rischio per lo sviluppo del tumore al seno, così come di altri tumori ormono-dipendenti, sembra essere rappresentato dalla sovraesposizione agli estrogeni endogeni; diversi studi hanno, infatti, dimostrato che la sovraesposizione agli estrogeni altera il normale equilibrio di crescita cellulare di molti tessuti, con aumento dell'indice mitotico e replicazione incontrollata.

Gli isoflavoni, per la loro capacità di modulare gli effetti degli estrogeni endogeni, potrebbero svolgere un ruolo protettivo nei confronti dei tumori ormono-sensibili. In particolare, competendo con gli estrogeni endogeni per gli stessi siti recettoriali, renderebbero questi ultimi indisponibili, riducendo il rischio di innescare il processo di divisione cellulare incontrollata. Ovviamente, poiché la loro attività estrogenica è molto debole, non si ha il rischio di una stimolazione della proliferazione cellulare.

A supporto di questa ipotesi vi è l'osservazione che mentre l'incidenza del carcinoma uterino negli U.S.A. è di 25 ogni 100 mila donne/anno in Giappone è di 2 ogni 100 mila donne/anno. Inoltre, in Giappone esiste una riduzione, da 5 ad 8 volte, del rischio di sviluppare il tumore della mammella.

Un recente studio clinico controllato e randomizzato sembra evidenziare, per gli isoflavoni di soia, un effetto stimo-

lante la risposta immunitaria di tipo estrogenico, che renderebbe in parte ragione della minore incidenza di alcuni tipi di tumore presso le popolazioni con una dieta ad elevato contenuto di soia¹⁰¹.

L'isoflavone genisteina svolge un ruolo cruciale nell'inibire la crescita delle cellule tumorali. L'effetto antiproliferativo si realizzerebbe, oltre che con il meccanismo antiestrogenico di tipo recettoriale sopra esposto, mediante: (1) inibizione dell'enzima tirosin-chinasi, responsabile della stimolazione della crescita cellulare; (2) inibizione dell'angiogenesi, indispensabile per la neoformazione vascolare finalizzata alla nutrizione delle cellule neoplastiche; (3) induzione dell'apoptosi cellulare per inibizione dose-dipendente del citocromo P450; (4) blocco della produzione delle *stress proteins* HSP e GRP₁, che proteggono le cellule tumorali dall'azione distruttiva del sistema immunitario.

Gli isoflavoni sarebbero utili anche nella prevenzione del carcinoma prostatico, modificando la concentrazione degli androgeni circolanti. A supporto di questa ipotesi vi è l'osservazione che la popolazione maschile asiatica presenta un'incidenza di cancro prostatico inferiore a quella occidentale.

Uno studio clinico controllato e randomizzato su 76 pazienti con carcinoma prostatico in fase iniziale ha evidenziato che 60 mg/die di isoflavoni di soia per 12 mesi hanno modificato i livelli di PSA e testosterone libero, *markers* surrogati di proliferazione cellulare¹⁰².

Secondo Akaza et al., sembra esistere una correlazione tra incidenza di carcinoma prostatico e capacità di metabolizzazione della daidzeina ad equolo¹⁰³.

Effetti avversi

I fitoestrogeni sono, in genere, molto ben tollerati.

Una dose singola di isoflavoni purificati in forma agliconica, a dosaggi superiori rispetto a quelli garantiti da un normale apporto dietetico, ha provocato, in donne sane in postmenopausa, una tossicità minima caratterizzata da episodi isolati di nausea, tensione mammaria e gonfiore degli arti inferiori¹⁰⁴.

In un recente studio clinico controllato e randomizzato in doppio cieco condotto su 376 donne in menopausa il trattamento a lungo termine (oltre 5 anni) con 150 mg/die di isoflavoni di soia è stato associato con un aumento dell'incidenza di iperplasia endometriale¹⁰⁵.

Questo risultato, peraltro in contrasto con altri dati di letteratura^{43,106,107}, sembra mettere in discussione la sicurezza d'impiego dei fitoestrogeni in terapie di lunga durata.

Il rischio dell'automedicazione

La crescente convinzione dell'efficacia dei fitoestrogeni e l'ampia disponibilità di prodotti commerciali (di qualità talvolta discutibile) induce molte donne ad avviare autonomamente una terapia, diadando i controlli ginecologici.

Purtroppo questa prassi, reputata in costante crescita, rappresenta un fattore di rischio da non sottovalutare, in quanto preclude allo specialista la possibilità di intervenire nelle fasi di esordio di patologie impegnative come quelle neoplastiche, con conseguente necessità di interventi chirurgici e farmacologici drastici e compromissione della prognosi.

Conclusioni

I fitoestrogeni possono rappresentare una valida alternativa agli estrogeni nelle forme di menopausa accompagnate da lievi disturbi ed in quelle che non consentono il ricorso alla terapia ormonale sostitutiva classica. Il trattamento deve essere sufficientemente lungo ed andrebbe iniziato per tempo.

Le pazienti interessate a questo trattamento dovrebbero essere seguite periodicamente dal ginecologo, come nel caso della TOS classica; la pratica dell'autoprescrizione potrebbe, infatti, ritardare l'intervento dello specialista, con rischi imprevedibili.

RIASSUNTO

RICCIUTI S., CARDINI C.: I fitoestrogeni. Profilo farmacologico e terapeutico.

I fitoestrogeni sono composti biologicamente attivi ubiquitari nel regno vegetale appartenenti a quattro diverse classi chimiche: isoflavoni, lignani, cumestani e mioestrogeni. La soia rappresenta la principale fonte alimentare di isoflavoni, i fitoestrogeni meglio conosciuti.

I fitoestrogeni sono composti difenolici strutturalmente correlati al 17-beta-estradiolo.

Essi agiscono come SERMs (*selective estrogen receptor modulators*), con effetti agonisti o antagonisti degli estrogeni sui diversi tessuti bersaglio.

I fitoestrogeni possiedono un ampio range di proprietà biologiche, che contribuiscono ai molti effetti benefici sulla salute evidenziati per gli alimenti a base di soia, in particolare nei riguardi dei disturbi del climaterio come vampate, osteoporosi e malattie cardiovascolari.

Sono generalmente ben tollerati.

Sebbene l'evidenza scientifica suggerisca un possibile effetto protettivo nei disturbi del climaterio, ulteriori studi clinici sono necessari per trarre conclusioni definitive sull'uso dei fitoestrogeni in alternativa agli estrogeni per una terapia sostitutiva nella donna in menopausa.

BIBLIOGRAFIA

- BRADBURY R.B., WHITE D.C.: *Estrogens and related substances in plants*. Vitamin & Hormones 1954; **12**: 207-233.
- FARNSWORTH N.R., BINGEL A.S., CORDELL G.A., CRANE F.A., FONG H.H.S.: *Potential value of plants as sources of new antifertility agents II*. J Pharm Sci 1975; **64**: 717-754.
- EDRIDGE A.C., KWOLEK W.F.: *Soybean isoflavones: effect of environment and variety on composition*. J Agric Food Chem 1983; **31**: 394-396.
- CHAPIN R.E., STEVENS J.T., HUGHES C.L., KELCE W.R., HESS R.A., DASTOK G.P.: *Endocrine modulation of reproduction*. Fund Appl Toxicol 1996; **29**: 1-17.
- THOMPSON L.U., ROBB P., SERRAINO M., CHEUNG F.: *Mammalian lignan production from various foods*. Nutr Cancer 1991; **16**: 43-52.
- THAM D., GARDNER C., HASKELL W.: *Potential health benefits of dietary phytoestrogens. A review of the clinical, epidemiological and mechanistic evidence*. J Clin Endocrinol Metab 1998; **83**: 2223-2235.
- HIRASE N., INOUE T., NISHIHARA K., et al.: *Inhibition of cholesterol absorption and synthesis in rats by sesamin*. J Lipid Res 1999; **32**: 629-638.
- PRICE K.R., FENWICK G.R.: *Naturally occurring estrogens in foods. A review*. Food Addit Contam 1985; **2**: 73-106.
- FRANKE A.A., CUSHNER L.J., CERNA C.M., NAKALA K.K.: *Quantitation of phytoestrogens in legumes by HPLC*. J Agr Food Chem 1994; **42**: 1905-1913.
- ADLERCREUTZ H.: *Western diet and western diseases: some hormonal and biochemical mechanisms and associations*. Scand J Clin Lab Invest 1990; **50**: 3/S-23/S.
- HARBORNI J.B., BAXTER H., MOSS G.P. (eds): *Dictionary of plant toxins*. Chichester: John Wiley & Sons, 1996.
- SETCHELL K.D., BROWN N.M., ZIMMER-NEUBERGMAS L., BRASHEAR W.T., WOLFE B.E., KIRSCHNER A.S.: *Neubi JE. Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability*. Am J Clin Nutr 2002; **76**(2): 447-453.
- TURNER N.J., THOMPSON B.M., SHAW I.C.: *Bioactive isoflavones in functional foods: the importance of gut microflora on bioavailability*. Nutr Rev 2003; **61**(6 Pt 1): 204-213.
- ATKINSON C., BERMAN S., HUMBERT O., LAMPE J.W.: *In vitro incubation of human feces with daidzein and antibiotics suggests interindividual differences in the bacteria responsible for equol production*. J Nutr 2004; **134**(3): 596-599.
- FALGHINAN M.S., HAWDON A., AH-SINGU E., BROWN J., MILWAID D.J., CASSIDY A.: *Urinary isoflavone kinetics: the effect of age, gender, food matrix and chemical composition*. Br J Nutr 2004; **91**(4): 567-574.
- HENDRICH S.: *Bioavailability of isoflavones*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2002; **777**(1-2): 203-210.
- ROBERTS D.W., DOERGE D.R., CHURCHWELL M.L., GAMBOA DA COSTA G., MARQUEL M.M., TOLLESON W.H.: *Inhibition of extrahepatic human cytochromes P450 1A1 and 1B1 by metabolism of isoflavones found in Trifolium pratense (red clover)*. J Agric Food Chem 2004; **52**(21): 6623-6632.
- HU M., KRAUSZ K., CHEN J., GE X., LI J., GEIBON H.L., GONZALEZ F.J.: *Identification of CYP1A2 as the main isoform for the phase I hydroxylated metabolism of genistein and a prodrug converting enzyme of methylated isoflavones*. Drug Metab Dispos 2003; **31**(7): 924-931.
- ROBERTS D.W., DOERGE D.R., CHURCHWELL M.L., GAMBOA DA COSTA G., MARQUEL M.M., TOLLESON W.H.: *Inhibition of extrahepatic human cytochromes P450 1A1 and 1B1 by metabolism of isoflavones found in Trifolium pratense (red clover)*. J Agric Food Chem 2004; **52**(21): 6623-6632.
- SHELDON S.R., CIMINO C.O., WIGGINS P.A., BADGER T.M.: *Urinary pharmacokinetics of the glucuronide and sulfate conjugates of genistein and daidzein*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2000; **9**(4): 413-419.
- BLUEDON L.T., JEFFCOAT A.R., LOPACZYNSKI W., SCHELL M.J., BLACK T.M., DIX K.J., THOMAS B.F., ABBRIGHT C., BUSBY M.G., CROWELL J.A., ZEISEL S.H.: *Safety and pharmacokinetics of purified soy isoflavones: single-dose administration to postmenopausal women*. Am J Clin Nutr 2002; **76**(5): 1126-1137.
- SETCHELL K.D.R., ADLERCREUTZ H.: *Mammalian lignans and phytoestrogens. Recent studies on their formation, metabolism, and biological role in health and disease*. In: ROWLAND I.R. (ed): *Role of the gut flora in toxicity and cancer*. London: Academic 1993; 315-345.
- WANG T., SATHYAMOORTHY N., PHANG J.: *Molecular effects of genistein on receptor mediated pathways*. Carcinogenesis 1996; **17**: 271-275.

24. KLITZ R.G.G., LEMMEN J.G., CARLSSON B., et al.: *Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta*. *Endocrinology* 1998; **139**: 4252-4263.
25. ADLERCREUTZ H.: *Western diet and western diseases: Some hormonal and biochemical mechanisms and association*. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; **50**: 3/S-23/S0.
26. MARKIEWICZ L., GAREY J., ADLERCREUTZ H., GLURPIDE E.: *In vitro bioassay of non-steroidal phytoestrogens*. *J Steroid Biochem Molec Biol* 1993; **45**: 399-405.
27. WISEMAN H., O'REILLY J.D., ADLERCREUTZ H., MATTHEI A.L., BOWEN E.A., ROWLAND I.R., SANDERS T.A.: *Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decrease F(2)-isoprostane concentrations and increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans*. *Am J Clin Nutr* 2000; **72**(2): 395-400.
28. ISMAIL N.N.: *A study of menopause in Malaysia*. *Maturitas* 1994; **19**: 205-209.
29. LOCK M.: *Contested meanings of the menopause*. *Lancet* 1991; **337**: 1270-1272.
30. TANG G.W.K.: *The climacteric of Chinese factory workers*. *Maturitas* 1994; **19**: 177-182.
31. BOULET M.J., ODDENS B.J., LEHERT P., VEMER H.M., VISSER A.: *Climacteric and menopause in seven south-east Asian countries*. *Maturitas* 1994; **19**: 157-176.
32. COWARD L., BARNES N.C., SETCHEL K.D.R., BARNES S.: *The isoflavones genistein and daidzein in soybean foods from American and Asian diets*. *J Agric Food Chem* 1993; **41**: 1961-1967.
33. PEIRI NAHAS E., NAHAS NEIG J., DE LUCIA L., TRAIMAN P., PONTES A., DALBEN J.: *Benefits of soy germ isoflavones in postmenopausal women with contraindication for conventional hormone replacement therapy*. *Maturitas* 2004; **48**(4): 372-380.
34. CRISAPPELLI A., MARINI H., BITTO A., ALFANELLA D., SQUADRITO G., ROMEO A., ADAMO E.B., MARINI R., D'ANNA R., CORRADO F., BARTOLONE S., FRISINA N., SQUADRITO F.: *Effects of genistein on hot flashes in early postmenopausal women: a randomized, double-blind EPT and placebo-controlled study*. *Menopause* 2004; **11**(4): 400-404.
35. RILSSO R., COROSU R.: *The clinical use of a preparation based on phyto-estrogens in the treatment of menopausal disorders*. *Acta Biomed Ateneo Parmense* 2003; **74**(3): 137-143.
36. FAURE E.D., CIANTRE P., MARES P.: *Effects of a standardized soy extract on hot flashes: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study*. *Menopause* 2002; **9**(5): 329-334.
37. VAN DE WETER P.H., BARENTSEN R.: *Isoflavones from red clover (Promensil) significantly reduce menopausal hot flush symptoms compared with placebo*. *Maturitas* 2002; **42**(3): 187-193.
38. UPMALIS D.H., LOBO R., BRADLEY L., WARREN M., CONE F.L., LAMIA C.A.: *Vasomotor symptom relief by soy isoflavone extract tablets in postmenopausal women: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study*. *Menopause* 2000; **7**(4): 236-242.
39. SCAMBIA G., MANGO D., SIGNORILE P.G., ANSELMI ANGELI R.A., PUJENA C., GALLO D., BOMBARDELLI E., MORAZZONI P., RIVA A., MANCUSO S.: *Clinical effects of a standardized soy extract in postmenopausal women: a pilot study*. *Menopause* 2000; **7**(2): 105-111.
40. ALDELTAZZI P., PANSINI F., BONACCORSI G., et al.: *The effects of dietary soy supplementation on hot flashes*. *Obstet Gynecol* 1998; **91**: 6-11.
41. UESUGI T., TODA T., OKUHIRA T., CHEN J.T.: *Evidence of estrogenic effect by the three-month-intervention of isoflavone on vaginal maturation and bone metabolism in early postmenopausal women*. *Endocr J* 2003; **50**(5): 613-619.
42. CINECHI L.M., PLEIGNANO G., GUERRA V., SCHIAVELLI M.P., CISTERNINO A.M., CARRIERO C.: *The effect of a soy rich diet on the vaginal epithelium in postmenopause: a randomized double blind trial*. *Maturitas* 2003; **45**(4): 241-246.
43. VALENTE M.: *I flavestrogeni 2002*. FN Editrice, 2002.
44. DUFFY R., WISEMAN H., FILE S.E.: *Improved cognitive function in postmenopausal women after 12 weeks of consumption of a soya extract containing isoflavones*. *Pharmacol Biochem Behav* 2003; **75**(3): 721-729.
45. KRITZ-SILVERSTEIN D., VON MUHLEN D., BARRETT-CONNOR E., BRESSI M.A.: *Isoflavones and cognitive function in older women: the SOY and Postmenopausal Health In Aging (SOPHIA) Study*. *Menopause* 2003; **10**(3): 196-202.
46. KRELIKAMP-KASPER S., KOK L., GROBBEL D.E., DE HAAN E.H., ALTMAN A., LAMPE J.W., VAN DER SCHOUW Y.T.: *Effect of soy protein containing isoflavones on cognitive function, bone mineral density, and plasma lipids in postmenopausal women: a randomized controlled trial*. *JAMA* 2004; **292**(1): 65-74.
47. GALLAGHER J.C., SATCHELBY R., RABERTY K., HAYNATZKA V.: *The effect of soy protein isolate on*

- bone metabolism. *Menopause* 2004; **11**(3): 290-298.
48. SECRETO G., CHIECHI L.M., AMADORI A., MICELI R., VENTURELLI E., VALERIO T., MARUDINI E.: *Soy isoflavones and melatonin for the relief of climacteric symptoms: a multicenter, double-blind, randomized study.* *Maturitas* 2004; **47**(1): 11-20.
 49. TICE J.A., ETtinger B., ENSRI D.K., WALLACE R., BLACKWELL T., CUMMINGS S.R.: *Phytoestrogen supplements for the treatment of hot flashes: the Isoflavone Clover Extract (ICE) Study: a randomized controlled trial.* *JAMA* 2003; **290**(2): 207-214.
 50. PENOTTI M., FABIO E., MODONA A.B., RINALDI M., OMODEI U., VIGANO P.: *Effect of soy-derived, thickened, and the pulsatility index of the uterine and cerebral arteries.* *Fertil Steril* 2003; **79**(5): 1112-1117.
 51. KOTSOPOULOS D., DALAIS F.S., LIANG Y.L., McGRATH B.P., Telford H.J.: *The effects of soy protein containing phytoestrogens on menopausal symptoms in postmenopausal women.* *Climacteric* 2000; **3**(3): 161-167.
 52. COOPER C., CAMPION G., MELTON L.J. III: *Hip fractures in the elderly: a world-wide projection.* *Osteoporos Int* 1992; **2**: 285-289.
 53. LAUBERDALI D.S., JACOBSEN S., FURNER S., LEVY P., BRODY J., GOLDBERG J.: *Hip fracture incidence among elderly Asian populations.* *Am J Epidemiol* 1997; **146**: 502-509.
 54. Ho S.C., Bacon W.E., Harris T., Looker A., Maggi S.: *Hip fracture rates in Hong Kong and the United States, 1988 through 1989.* *Am J Public Health* 1993; **83**: 694-697.
 55. LYMFKING-Olsen E., BECK-JENSEN J.F., SUTCHILL K.D., HOLM-JENSEN T.: *Soy milk or progesterone for prevention of bone loss: a 2 year randomized, placebo-controlled trial.* *Eur J Nutr* 2004; **43**(4): 246-257. *Epub* 2004 Apr 14.
 56. CHEN Y.M., Ho S.C., LAM S.S., Ho S.S., Woo J.L.: *Beneficial effect of soy isoflavones on bone mineral content was modified by years since menopause, body weight, and calcium intake: a double-blind, randomized, controlled trial.* *Menopause* 2004; **11**(3): 246-254.
 57. ATKINSON C., COMPTON J.E., DAY N.E., DOWSETT M., BINGHAM S.A.: *The effects of phytoestrogen isoflavones on bone density in women: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial.* *Am J Clin Nutr* 2004; **79**(2): 326-333.
 58. CHEN Y.M., Ho S.C., LAM S.S., Ho S.S., Woo J.L.: *Soy isoflavones have a favorable effect on bone loss in Chinese postmenopausal women with lower bone mass: a double-blind, randomized, controlled trial.* *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**(10): 4740-4747.
 59. COTTER A., CASHMAN K.D.: *Genistein appears to prevent early postmenopausal bone loss as effectively as hormone replacement therapy.* *Nutr Rev* 2003; **61**(10): 346-351.
 60. MOELLER L.E., PETERSON C.T., HANSON K.B., DENT S.B., LEWIS D.S., KING D.S., ALEKEL D.L.: *Isoflavone-rich soy protein prevents loss of hip lean mass but does not prevent the shift in regional fat distribution in perimenopausal women.* *Menopause* 2003; **10**(4): 322-331.
 61. UESHIGI T., TODA T., OKUBIRA T., CHEN J.T.: *Evidence of estrogenic effect by the three-month-intervention of isoflavone on vaginal maturation and bone metabolism in early postmenopausal women.* *Endocr J* 2003; **50**(5): 613-619.
 62. MORABITO N., CRISAFULLI A., VERGARA C., GALDIO A., LASCO A., FRISINA N., D'ANNA R., CORRADO F., PIZZOLFO M.A., CINCOTTA M., ALTAVILLA D., IENHLE R., SOLARULO F.: *Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebo-controlled study.* *J Bone Miner Res* 2002; **17**(10): 1904-1912.
 63. CHIECHI L.M., SECRETO G., D'AMORE M., FANELLI M., VENTURELLI E., CANTATORE F., VALERIO T., LASIEMA G., LOZZI P.: *Efficacy of a soy rich diet in preventing postmenopausal osteoporosis: the Menfis randomized trial.* *Maturitas* 2002; **42**(4): 295-300.
 64. KRITZ-SILVERSTEIN D., GOODMAN-GRIEN D.L.: *Usual dietary isoflavone intake, bone mineral density, and bone metabolism in postmenopausal women.* *J Womens Health Gend Based Med* 2002; **11**(1): 69-78.
 65. YAMORI Y., MORIGUCHI E.H., TERAMOTO T., MIURA A., FUKUI Y., HONDA K.I., FUKUI M., NARA Y., TAIRA K., MORIGUCHI Y.: *Soybean isoflavones reduce postmenopausal bone resorption in female Japanese immigrants in Brazil: a ten-week study.* *J Am Coll Nutr* 2002; **21**(6): 560-563.
 66. ALEKEL D.L., GERMAN 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.* *Am J Clin Nutr* 2000; **72**(3): 844-852.
 67. POTTER S.M., BAUM J.A., TENG H., STILLMAN R.J., SHAY D.F., ERIBAN J.W.J.: *Soy protein and isoflavones. Their effects on blood lipids*

- and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1998; **68**(Suppl 6): 1375S-1379S.
68. PANTI P., MOUÏR-FAUGIERE M., GANG Z., SCHIMDI J., MORRIS P., COHEN D., MALLERUP H.: *The phytoestrogen genistein reduces bone loss in short term ovariectomized rats*. *Osteoporosis Int* 1998; **8**: 274-281.
 69. CIHERI L.M., SCRIFITO G., D'AMORE M., FANELLI M., VENTURELLI E., CANTATORE F., VALERIO T., LASEIVA G., LOZZI P.: *Efficacy of a soy rich diet in preventing postmenopausal osteoporosis: the Menfis randomized trial*. *Maturitas* 2002; **30**; **42**(4): 295-300.
 70. MORABITO N., CRISAFULLI A., VERGARA C., GAUDIO A., LANCO A., FRISINA N., D'ANNA R., CORRADO F., PIZZOLO M.A., CINCOTTA M., ALTAVILLA D., IENFILLE R., SOLADRITO F.: *Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebo-controlled study*. *J Bone Miner Res* 2002; **17**(10): 1904-1912.
 71. STAMPER M.J., COLETTI G.A.: *Estrone replacement therapy and coronary heart*. *Preventive Med* 1991; **20**: 47-63.
 72. KNIGHT D.C., EBEN J.A.: *A review of the clinical effects of phytoestrogens*. *Obstet Gynecol* 1996; **87**: 897-904.
 73. PEKRI NAHAS E., NAHAS NETO J., DI LUCA L., TERHIMAN P., PONTES A., DALIBEN I.: *Benefits of soy germ isoflavones in postmenopausal women with contraindication for conventional hormone replacement therapy*. *Maturitas* 2004; **48**(4): 372-380.
 74. LISSIN L.W., OKA R., LAKSHMI S., COOKE J.P.: *Isoflavones improve vascular reactivity in post-menopausal women with hypercholesterolemia*. *Vasc Med* 2004; **9**(1): 26-30.
 75. HOWES J.B., TRAN D., BRILIANTE D., HOWES I.G.: *Effects of dietary supplementation with isoflavones from red clover on ambulatory blood pressure and endothelial function in postmenopausal type 2 diabetes*. *Diabetes Obes Metab* 2003; **5**(5): 325-332.
 76. STEINBERG E.M., GUTHRIE N.L., VILLALANCA A.C., KUMAR K., MURRAY M.J.: *Soy protein with isoflavones has favorable effects on endothelial function that are independent of lipid and antioxidant effects in healthy postmenopausal women*. *Am J Clin Nutr* 2003; **78**(1): 123-130.
 77. TEDE H.J., MCGRAH B.P., DESILVA L., CEDONI M., FASSIOUARIS A., NESTLE P.J.: *Isoflavones reduce arterial stiffness: a placebo-controlled study in men and postmenopausal women*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; **23**(6): 1066-1071. Epub 2003 Apr 24.
 78. SOLADRITO F., ALTAVILLA D., CRISAFULLI A., SAITTA A., CERCIGNOTTA D., MORABITO N., D'ANNA R., CORRADO F., RUGGERI P., FRISINA N., SOLADRITO G.: *Effect of genistein on endothelial function in postmenopausal women: a randomized, double-blind, controlled study*. *Am J Med* 2003; **114**(6): 470-476.
 79. UESUGI T., FUKUI Y., YAMORI Y.: *Beneficial effects of soybean isoflavone supplementation on bone metabolism and serum lipids in postmenopausal Japanese women: a four-week study*. *J Am Coll Nutr* 2002; **21**(2): 97-102.
 80. HAN K.K., SOARES J.M. JR, HAIDAR M.A., DE LIMA G.R., BARACI E.C.: *Benefits of soy isoflavone therapeutic regimen on menopausal symptoms*. *Obstet Gynecol* 2002; **99**(3): 389-394.
 81. VALENTE M.: *Istitutoestrogeni 2002*. FN Editrice.
 82. JAYAGOPAL V., ALBERTAZZI P., KILPATRICK E.S., HOWARTH E.M., JENNINGS P.E., HEPBURN D.A., ATKIN S.L.: *Beneficial effects of soy phytoestrogen intake in postmenopausal women with type 2 diabetes*. *Diabetes Care* 2002; **25**(10): 1709-1714.
 83. SOLADRITO F., ALTAVILLA D., MORABITO N., CRISAFULLI A., D'ANNA R., CORRADO F., RUGGERI P., CAMPO G.M., CALAPÒ G., CAPITI A.P., SOLADRITO G.: *The effect of the phytoestrogen genistein on plasma nitric oxide concentrations, endothelin-1 levels and endothelium dependent vasodilation in postmenopausal women*. *Atherosclerosis* 2002; **163**(2): 339-347.
 84. GOODMAN-GRUEN D., KRITZ-SILVERSTEIN D.: *Usual dietary isoflavone intake is associated with cardiovascular disease risk factors in postmenopausal women*. *J Nutr* 2001; **131**(4): 1202-1206.
 85. WANGEN K.E., DUNCAN A.M., XU X., KURZER M.S.: *Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic postmenopausal women*. *Am J Clin Nutr* 2001; **73**(2): 225-231.
 86. NESIDI P., CHEN M., CHRONOPOULOS A., DASILVA L., TEDE H., MCGRAH B.: *A biochanin-enriched isoflavone from red clover lowers LDL cholesterol in men*. *Eur J Clin Nutr* 2004; **58**(3): 403-408.
 87. SAGARA M., KANDA T., NJELEKERA M., TEREMOTOS T., ARMITAGE L., BIRI N., BIRT C., YAMORI Y.: *Effects of dietary intake of soy protein and isoflavones on cardiovascular disease risk factors in high risk, middle-aged men in Scotland*. *J Am Coll Nutr* 2004; **23**(1): 85-91.

88. RIVAS M., GARAY R.P., ESCANERO J.F., CIA P. JR., CIA P., ALDA J.O.: Soy milk lowers blood pressure in men and women with mild to moderate essential hypertension. *J Nutr* 2002; **132**(7): 1900-1902.
89. NESTEL P., CEHUN M., CHRONOPOULOS A., DA SILVA L., TEEPE H., McGRATH B.: A biochanin-enriched isoflavone from red clover lowers LDL cholesterol in men. *Eur J Clin Nutr* 2004; **58**(3): 403-408.
90. RIVAS M., GARAY R.P., ESCANERO J.F., CIA P. JR., CIA P., ALDA J.O.: Soy milk lowers blood pressure in men and women with mild to moderate essential hypertension. *J Nutr* 2002; **132**(7): 1900-1902.
91. ZHOU X.G., MELBY M.K., WATANABE S.: Soy isoflavone intake lowers serum LDL cholesterol: a meta-analysis of 8 randomized controlled trials in humans. *J Nutr* 2004; **134**(9): 2395-400.
92. MYER B.J., LABRIN T.A., OWEN A.J., ASTHEIMER L.B., TAPSELL L.C., HOWE P.R.: Limited lipid-lowering effects of regular consumption of whole soybean foods. *Ann Nutr Metab* 2004; **48**(2): 67-78. Epub 2003 Dec 16.
93. BURKE B.E., OLSON R.D., CUSACK B.J.: Randomized, controlled trial of phytoestrogen in the prophylactic treatment of menstrual migraine. *Biomed Pharmacother* 2002; **56**(6): 283-288.
94. PARKIN D.M.: Cancers of the breast, endometrium and ovary. *Geographic correlations*. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1989; **25**: 1917-1925.
95. ZIEGLER R.G., HOOVER R.N., PIKE M.C., et al.: Migration patterns and breast cancer risk in Asian-American women. *J Natl Cancer Inst* 1993; **85**: 1819-1827.
96. PARKIN D.M.: Cancers of the breast, endometrium and ovary. *Geographic correlations*. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1989; **25**: 1917-1925.
97. KOLONEL L.N.: Variability in diet and its relation to risk in ethnic and migrant groups. *Basic Life Sc* 1988; **43**: 129-135.
98. ROSE D.P., BOYAR A.P., WYNDER E.L.: International comparisons of mortality rates for cancer of the breast, ovary, prostate, and colon, and per capita food consumption. *Cancer* 1986; **58**: 2363-2371.
99. PARKIN D.M.: Cancers of the breast, endometrium and ovary. *Geographic correlations*. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1989; **25**: 1917-1925.
100. LEE H.P., GOURLY L., DUFFY S.W.: Dietary effects on breast cancer risk in Singapore. *Lancet* 1991; **337**: 1197-1200.
101. JENKINS D.J., KENDALI C.W., CONNELLY P.W., JACKSON C.J., PARKER T., FAULKNER D., VIDGEN E.: Effects of high- and low-isoflavone (phytoestrogen) soy foods on inflammatory biomarkers and proinflammatory cytokines in middle-aged men and women. *Metabolism* 2002; **51**(7): 919-24.
102. KUMAR N.B., CANTOR A., ALLEN K., RICCARDI D., BESTERMAN-DAHAN K., SEIGNI J., HELAL M., SALUF R., POW-SANG J.: The specific role of isoflavones in reducing prostate cancer risk. *Prostate* 2004; **59**(2): 141-147.
103. AKAZA H., MIYANAGA N., TAKASHIMA N., NAITO S., HIRAO Y., TSUKAMOTO T., FUJIOKA T., MORI M., KIM W.J., SUNG J.M., PANTUCK A.J.: Comparisons of percent equol producers between prostate cancer patients and controls: case-controlled studies of isoflavones in Japanese, Korean and American residents. *Jpn J Clin Oncol* 2004; **34**(2): 86-89.
104. BOLDON L.T., JEFFCOAT A.R., LOPACZYNSKI W., SCHELL M.J., BLACK T.M., DIX K.J., THOMAS B.F., AUBRIGHT C., BUSEY M.G., CROWELL J.A., ZEISEL S.H.: Safety and pharmacokinetics of purified soy isoflavones: single-dose administration to postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2002; **76**(5): 1126-1137.
105. UNFER V., CASINI M.L., COSTABILE L., MIGNOSA M., GERLI S., DI RENZO G.C.: Endometrial effects of long-term treatment with phytoestrogens: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Fertil Steril* 2004; **82**(1): 145-18, quiz 265.
106. SAMMARTINO A., DI CARLO C., MANDATO V.D., BIFFRICO G., DI STEFANO M., NAPPI C.: Effects of genistein on the endometrium: ultrasonographic evaluation. *Gynecol Endocrinol* 2003; **17**(1): 45-49.