

Cristina Ferreira Rebelo

# Desreguladores Endócrinos: O caso da Soja

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas,  
orientada pela Professora Doutora Isabel Rita Rebelo Ferreira Barbosa e apresentada à  
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

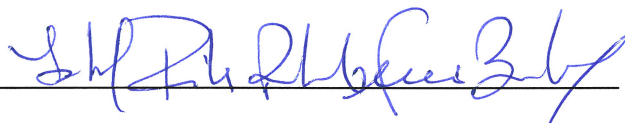
Eu, Cristina Ferreira Rebelo, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009009085, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade Estágio Curricular. Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 11 de Julho de 2014

---

(Cristina Ferreira Rebelo)


A Tutora da Faculdade,



(Professora Doutora Isabel Rita Rebelo Ferreira Barbosa)

Coimbra, 11 de julho 2014

A Aluna,



(Cristina Ferreira Rebelo)

“Devemos ser a mudança que queremos ver no Mundo”, Gandhi

#### Agradecimentos

Reservo este espaço para prestar um agradecimento especial à Professora Doutora Isabel Rita Rebelo Ferreira Barbosa pela disponibilidade, ajuda e apoio que demonstrou durante a realização da monografia.

Aos meus pais, avós e amigos. Obrigada.

Abreviaturas:

DE – Desreguladores Endócrinos

FE – Fitoestrogénios

TRH – Terapia de Reposição Hormonal

Gn – Genisteína

Dz – Daidzeína

FDA – Food and Drug Administration

ER $\alpha$  – Recetor Estrogénico Alfa

ER $\beta$  – Recetor Estrogénico Beta

PTK – Tirosina Cinase (Enzima)

DCV – Doenças Cardiovasculares

TSH – Hormona Estimuladora da Tireoide

TPO – Tireoide Peroxidase

MENQOL – Menopause-Specific Quality of Life Questionnaire

## Índice

Resumo.....	3
Abstract.....	3
I – Introdução .....	4
São os DE um motivo de preocupação?.....	5
Mecanismo de Ação Geral dos DE:.....	6
II – Fitoestrogénios.....	8
Metabolismo dos Fitoestrogénios.....	9
Mecanismo de Ação dos FE.....	10
Soja.....	11
Relação benefício/efeito adverso.....	12
· Efeitos Benéficos.....	13
· Efeitos Adversos.....	16
Conclusões.....	22
Bibliografia .....	23

## **Resumo**

Esta monografia tem por objetivo abordar um tema pouco conhecido pela população em geral, com potencialidade de constituir perigo para a mesma. Conhecer e dar a conhecer os Desreguladores Endócrinos e as problemáticas a eles associadas é pertinente considerando a falta de divulgação e a presença em tão grande escala destes constituintes na vida humana.

Os Desreguladores Endócrinos são uma temática “jovem” e que tem vindo a ser investigada por vários grupos de trabalho.

Esta monografia incidirá no caso da soja e suas Isoflavonas. Sendo Fitoestrogénios, “imitam” a ação dos estrogénios, ligando-se aos seus recetores e exercendo ações agonistas ou antagonistas, com consequentes resultados biológicos no organismo.

## **Abstract**

This monograph aims to address a little known issue by the general population, which has potential to cause harm to it. To know and make others know Endocrine Disruptors and associated problems is relevant considering the lack of disclosure and the presence on such a large scale of these constituents in human life.

The Endocrine Disrupters are a “young” theme, which has been investigated by several work groups. This monograph will address the case of soy and its isoflavones. Phytoestrogens, "mimic" the action of estrogens by binding to their receptors, exerting actions agonists or antagonists, with consequent biological results in the body.

## I – Introdução

O Sistema Endócrino é uma rede complexa de glândulas e hormonas que regula muitas das funções do organismo, incluindo o crescimento, desenvolvimento e maturação, bem como a forma como atuam os vários órgãos. As glândulas endócrinas, incluindo a hipófise, tireoide, suprarrenais, timo, o pâncreas, os ovários e testículos, libertam quantidades controladas de hormonas na corrente sanguínea, que atuam como mensageiros químicos e que vão distribuir-se por diferentes partes do corpo, a fim de controlar e ajustar muitas funções vitais [1].

Os Desreguladores Endócrinos (DE) são substâncias de origem natural ou sintética, que possuem potencial para interferir com o normal funcionamento deste Sistema. Este grupo de compostos é capaz de produzir efeitos adversos reprodutivos, neurológicos, imunológicos e no desenvolvimento de humanos e animais. Inseridos neste grupo está um grande número de substâncias de que são exemplo produtos farmacêuticos, dioxinas, pesticidas, plastificantes, como o Bisfenol-A e os Ftalatos, substâncias de origem vegetal [2]. Na Europa, um DE foi definido como uma substância estranha ao organismo que produz efeitos nocivos a ele ou à descendência após uma alteração da função hormonal [3]. Para a Agência de Proteção Ambiental Americana, EPA, um DE é um agente exógeno que interfere com a produção, libertação, transporte, metabolismo, ligação, ação ou eliminação do ligando natural responsável pela manutenção da homeostase e regulação do desenvolvimento do organismo. De notar que esta entidade ignora os efeitos diretos dos xenobióticos por mecanismos específicos e os efeitos transgeracionais [3]. No entanto, o que estas duas definições apresentam em comum é o consenso de que estas substâncias atuam por mecanismos de sinalização, regulação e ação fisiológicos e não por mecanismos convencionais de toxicidade.

Os Desreguladores Endócrinos são geralmente descritos como substâncias com efeitos anti-androgénicos ou androgénicos, estrogénicos ou anti-estrogénicos. Mais recentemente, outros alvos têm sido evidenciados, como a tireoide e o sistema imunológico. Muitos DE estão presentes nos vários elementos do ambiente (ar, água e terra) e em alimentos (de origem vegetal e animal). Podem existir em embalagens de alimentos, produtos de combustão, tratamentos fitossanitários, detergentes e na indústria química em geral. Além dos potenciais efeitos destes compostos em adultos, a sensibilidade dos embriões e fetos a



xenobióticos capazes de atravessar a placenta, tem levantado interesse considerável e levado ao aumento de investigação nessa área [3].

A exposição humana aos DE ocorre através da ingestão de alimentos e água, por meio de inalação de gases e partículas no ar e através da pele. Também podem ser transferidos a partir da mulher grávida, através da placenta, para o feto em desenvolvimento ou para a criança em amamentação. Mulheres grávidas e crianças são, por isso, as populações mais vulneráveis a estas exposições e o seu efeito pode só manifestar-se em idades tardias [4]. Um exemplo histórico da desregulação endócrina em seres humanos causada por xenobióticos é o caso do Dietilestilbestrol. Este foi um medicamento amplamente usado entre as décadas de 40 e 70, em mulheres grávidas, para prevenir o aborto espontâneo [5]. Estima-se que a sua potência seja cinco vezes maior que a do estrogénio natural (estradiol) e que tenham sido prescritas a entre dois e dez milhões de grávidas entre 1947 e 1971, data em que a prescrição foi cessada por indicação da FDA. Apesar disto, as diferentes reações adversas nas mulheres que tomaram este medicamento e na sua descendência continuam a encontrar-se. Esta é uma evidência de que os DE podem produzir efeitos negativos a curto e longo prazo [5].

Com exceção desta ligação claramente estabelecida entre o Dietilestilbestrol e as anomalias de saúde reprodutiva e cancros, muito pouco se sabe com certeza sobre os efeitos dos Desreguladores Endócrinos na saúde humana. Dada a falta de dados disponíveis, as atuais preocupações sobre o possível envolvimento de DE no aumento da incidência de cancro da mama e, possivelmente, de endometriose e puberdade precoce em meninas, permanecem hipotéticas. Por outro lado, as implicações na saúde reprodutiva masculina estão no centro das preocupações e dos progressos na análise da relação entre DE e saúde humana [3].

#### São os DE um motivo de preocupação?

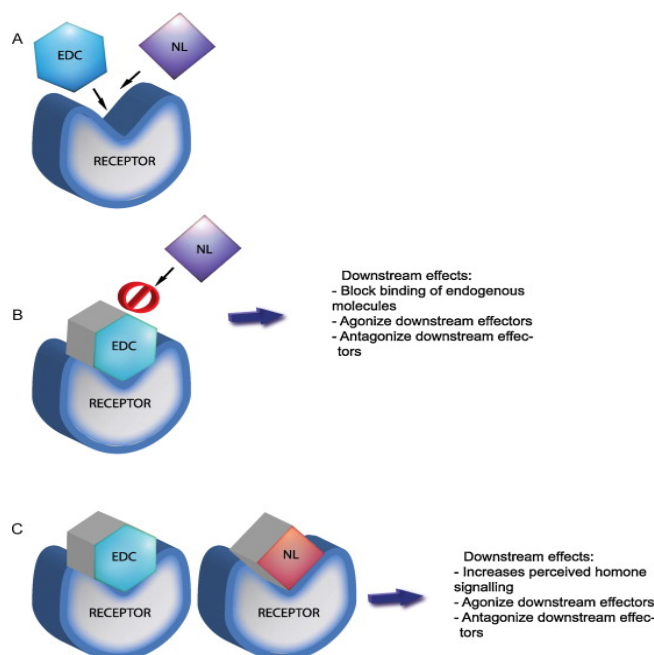
1. Aumento significativo em problemas de reprodução em algumas regiões do mundo nas últimas décadas aponta para um forte papel de fatores ambientais, não identificados, na etiologia da doença;
2. Incidência de cancro do sistema endócrino também aumentou durante o mesmo período;
3. Em algumas partes do Mundo, durante uma geração, houve um decréscimo significativo das taxas de fertilidade humana. Um aumento notável do recurso a técnicas de reprodução assistida também se verificou;

4. Número cada vez maior de produtos químicos aos quais as populações de países industrializados estão expostas demonstraram interferir com a produção, ação e metabolismo hormonais;
5. Estudos em animais ou culturas de células demonstraram que muitos destes químicos interferem com o desenvolvimento e função do sistema endócrino dos mamíferos;
6. Nos adultos, a exposição a DE foi recentemente relacionada a obesidade, doença cardiovascular, diabetes e síndrome metabólica. Algumas destas doenças estão mesmo a aumentar a incidência, algumas a nível global;
7. Na saúde pediátrica também surgem algumas preocupações. Alguns DE conseguem interagir com o sistema tiróideo, que é muito importante para o normal desenvolvimento do cérebro, especialmente durante a gravidez e primeiros anos de vida. Estas exposições têm sido associadas ao aumento das taxas de transtornos neuro-comportamentais, como a dislexia, atraso mental, hiperatividade e autismo.
8. A prevalência da asma pediátrica mais que duplicou nos últimos vinte anos e é atualmente a maior causa de hospitalizações em crianças. Alguns defeitos à nascença estão também a aumentar. A incidência de leucemia pediátrica e cancro do cérebro têm aumentado [6].

#### Mecanismo de Ação Geral dos DE:

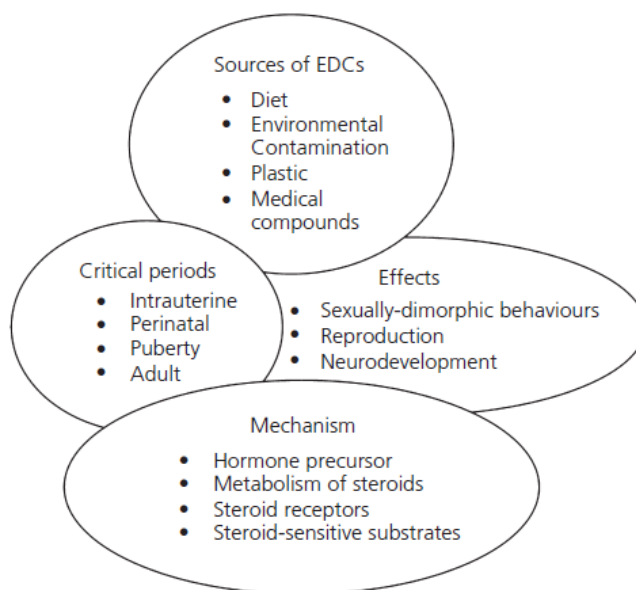
Os DE podem atuar de várias maneiras em diferentes partes do corpo. Estudos feitos focaram a influência dos DE nos recetores hormonais, uma vez que é a estes que as hormonas se ligam nos órgãos-alvo, a fim de provocar um determinado efeito. Os DE, ligando-se a estes recetores, conseguem “imitar” o efeito da hormona que a ele se ligaria ou bloquear a sua ação. De uma forma sucinta, os DE [7]:

- Reduzem a produção de hormonas nas glândulas endócrinas;
- Interferem na libertação de hormonas das glândulas endócrinas;
- Agonizam/Antagonizam a ação das hormonas nos órgãos-alvo;
- Aceleram o metabolismo hormonal, reduzindo a sua ação.



**Figura 1-** Representação de algumas interações dos DE com ligandos naturais (NL) em função do recetor: **A-** DE podem competir com os NLS para a ligação ao recetor; **B-** Deliga-se ao recetor impedindo a NLS resultando uma alteração na sinalização do recetor; **C-** DE podem ligar-se a recetores desconhecidos enquanto os NLS também se ligam podendo resultar uma sinalização agonista ou antagonista [7].

De uma forma sucinta podemos afirmar que cada um de nós está exposto a várias fontes de compostos desreguladores endócrinos, conforme esquematizado na Figura 2 [8]. No entanto, este trabalho terá como principal abordagem, dentro da temática dos Desreguladores Endócrinos, o grupo dos Fitoestrogénios (FE) inserido na dieta.



**Figura 2-** Representação esquemática de variadas fontes de Desreguladores endócrinos (DE), como eles podem influenciar o sistema reprodutor, os processos de desenvolvimento neurológico, em particular através da sua ações durante períodos críticos de desenvolvimento. Representação de alguns mecanismos que podem mediar as ações dos DE [8].

## II – Fitoestrogénios

Desde há muito tempo que é conhecido que certos compostos naturais são capazes de intervir no sistema endócrino, alterando-o. Dentro destes, que têm levantado alguma preocupação, encontram-se os Fitoestrogénios. Segundo o publicado pelo *Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment* da Food Standards Agency, os FE são definidos como “qualquer substância de origem vegetal ou seu metabolito que induza uma resposta biológica nos vertebrados, e que mimetize ou module a ação de estrogénios endógenos, normalmente por se ligar ao recetor estrogénico” [9].

A inclusão deste tipo de compostos no grupo dos Desreguladores Endócrinos prende-se com alguma história desta temática:

1940: primeira identificação e reconhecimento dos FE como compostos bioativos; observaram-se efeitos de infertilidade temporária ou permanente em ovelhas com pastagem à base de trevos passando a ser designada como “doença dos trevos”, sendo esta alteração devida à presença de FE;

1980: tornou-se claro que os FE podem produzir efeitos biológicos em humanos.

1999: FDA aprovou a alegação de saúde do consumo diário de soja ser efetivo na redução do risco de doença arterial coronária; (o que terá levado a um rápido e profundo impacto na prevalência dos produtos de soja) [10].

2000: Valor do mercado de Isoflavonas foi estimado em 106 milhões de euros, estando este em expansão e tendo sido a previsão para o ano de 2008 de 163 milhões de euros [11].

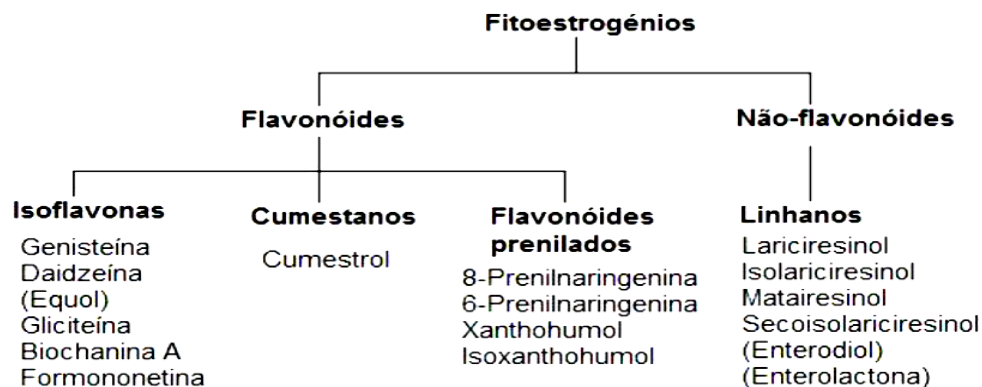
2003: Mercado de suplementos com Isoflavonas em expansão, representa 9% do valor de mercado de fitonutrientes [9].

2004: A North American Menopause Society emitiu uma declaração de posição que refere: "Entre os remédios sem receita médica, os resultados de ensaios clínicos são insuficientes para apoiar ou refutar a eficácia de alimentos de soja e suplementos de Isoflavonas (soja ou de qualquer um trevo vermelho)" [10].

### Classificação

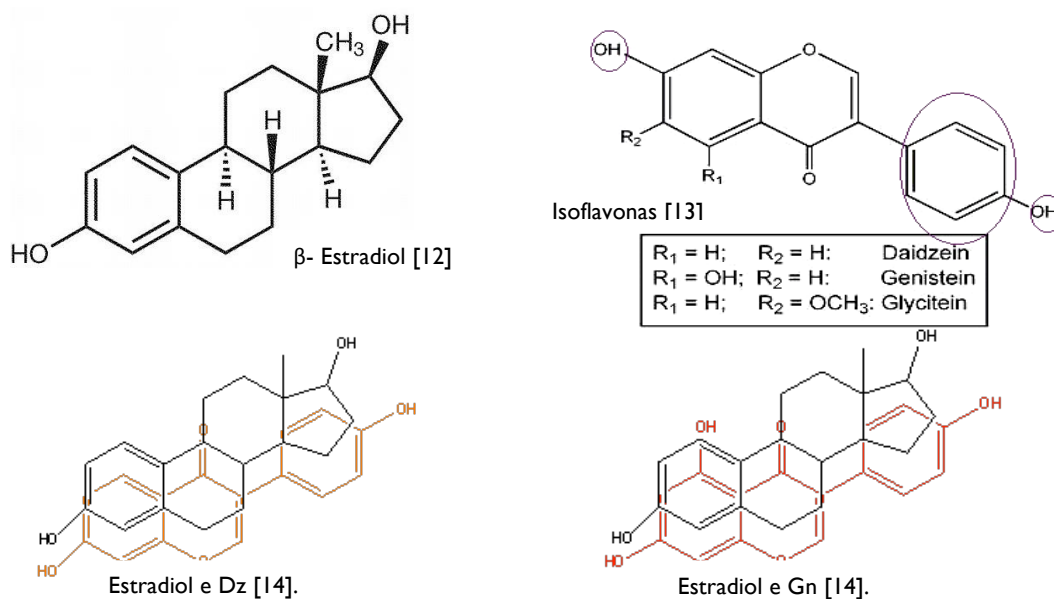
Existem dois grandes grupos que incluem os principais FE existentes na família das leguminosas: os flavonóides e os não-flavonóides. Na soja, predominam as Isoflavonas que

pertencem ao grupo dos flavonóides, conforme se apresenta na Figura 3. Além dos flavonóides existe ainda um grupo de FE não-flavonóides, os linhanos [9].



**Figura 3.** Classificação dos FE e seus metabolitos

Os FE possuem propriedades estrogénicas devido á sua semelhança estrutural com o  $\beta$ -estradiol (Fig. 4).



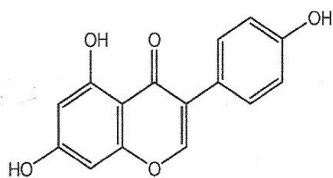
**Figura 4.** Semelhança entre estruturas químicas:  $\beta$ -estradiol e isoflavonas.

Estes são os principais grupos de Fitoestrogénios presentes nos alimentos. De todos estes, estudaremos as Isoflavonas, mais concretamente a Genisteína (Gn) e a Daidzeína (Dz), que são as predominantes na soja (leguminosa) e produtos à base de soja.

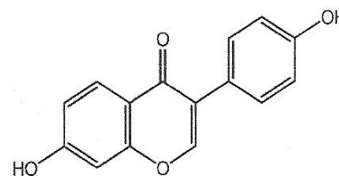
### Metabolismo dos Fitoestrogénios

As Isoflavonas estão presentes na soja na forma glicosídica, predominantemente como Genisteína, Daidzeína e Gliciteína. Após a ingestão, as Isoflavonas são parcialmente hidrolisadas no intestino delgado pela ação da enzima  $\beta$ -glicosidase, libertando as formas agliconas - Daidzeína, Genisteína e Gliciteína. O local de hidrólise das Isoflavonas não é completamente conhecido mas, as enzimas  $\beta$ -glicosidases produzidas no intestino delgado e pela microflora intestinal, são essenciais para essa metabolização.

Após a metabolização inicial no intestino delgado, as Isoflavonas agliconas são diretamente absorvidas através do epitélio intestinal ou submetidas à nova metabolização pela ação de bactérias presentes no cólon. A Gn (Fig. 5) é convertida a *p*-etilfenol e 4-hidroxi-fenil-2-ácido propiônico. No caso específico da Dz (Fig. 6), a porção não absorvida é hidrogenada, dando origem à diidro-Daidzeína (DHD), e esta é então transformada em O-desmetilangolensina (O-DMA) ou Equol.



**Figura 5.** Estrutura química da Genisteína [15]



**Figura 6.** Estrutura química da Daidzeína. [16]

### Mecanismo de Ação dos FE

Existem dois tipos de recetores estrogénicos:  $ER\alpha$  e  $ER\beta$ , que se encontram distribuídos em diferentes tecidos. O  $ER\beta$  é encontrado em tecidos reprodutivos, como a próstata, o ovário, os testículos e a hipófise, enquanto o  $ER\alpha$  é encontrado no útero, no fígado, nas mamas e nos rins. As Isoflavonas são os FE que mais possuem ação estrogénica; entre elas destacam-se a Gn, e a Dz que se encontram presentes no gérmen da soja [17].

As Isoflavonas possuem afinidade com recetores específicos que se encontram em diferentes tecidos, exercendo determinados efeitos. No entanto, estes efeitos não estão completamente esclarecidos. O que os estudos demonstram são algumas ações que interferem metabolicamente em alguns nutrientes, ação estrogénica e anti estrogénica, regulação da atividade proteica e do ciclo celular, além de ser antioxidante. Este composto fenólico pode atuar como modulador dos recetores seletivos de estrogénio (SERMS), ou seja, ser agonista ou antagonista. O seu efeito varia com o órgão do corpo envolvido, o tipo de célula, a concentração de Isoflavonas, a condição hormonal, a idade, entre outros. Em razão de sua estrutura química ser semelhante à do estradiol, hormona feminina, estes

compostos bioativos têm a capacidade de se encaixar nos recetores de estrogénio, “imitando” a sua ação e tendo propriedades fisiológicas que podem causar benefícios à saúde e impedir que estrogénios potentes atuem no organismo humano, causando possíveis doenças, como o cancro [17].

Algumas Isoflavonas, principalmente a Genisteína, inibem vias importantes do crescimento e proliferação celulares, um efeito que afeta diversos sistemas de órgãos. A Gn inibe a atividade da enzima tirosina cinases (PTKs) em numerosos tecidos, incluindo células de cancro da mama. As PTKs catalisam a fosforilação dos seus próprios resíduos de tirosina e os de outras proteínas, incluindo os fatores de crescimento envolvidos na proliferação de células tumorais. Ao inibir as PTKs, a Gn pode abrandar a carcinogénese, um efeito que deixou muitos laboratórios interessados na exploração do seu potencial terapêutico para cancro da mama e da próstata. As PTKs também são altamente expressas em várias regiões do cérebro, incluindo o hipocampo, e a sua fosforegulação é fundamental para inúmeras respostas do cérebro, incluindo a plasticidade sináptica, neuro degeneração e resposta à lesão neuronal. Em doses elevadas, a Gn suprime a expressão de PTKs no cérebro, um efeito que é interpretado como sendo neuroprotetor. A inibição da atividade da PTK podem também desempenhar um papel na melhoria da função cardiovascular e impedir a vascularização de tumores. Além da PTK, a Gn também pode inibir outras enzimas de replicação do ADN associadas à carcinogénese, incluindo as Topoisomerases I e II. Também pode regular negativamente a expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), juntamente com outros genes de fator de crescimento relacionados [10].

Por sua vez, a Dz, ao chegar ao intestino é convertida em Equol, que apresenta maior afinidade para os recetores estrogénicos e atividade antioxidante que a sua “molécula-mãe” [12]. Sendo um estrogénio não-esteróide que pertence à classe das Isoflavonas, o Equol exibe atividade estrogénica, com afinidade para os recetores de estrogénio (ER), tais como ER $\alpha$  e ER $\beta$  [13].

### Soja

A soja é uma leguminosa de origem chinesa, com aproximadamente 2.500 variedades, classificadas de acordo com a cor do grão. Embora as suas propriedades funcionais e nutricionais tragam benefícios às pessoas e a sua produtividade ser alta, a população portuguesa ainda não consome muito esta leguminosa, em virtude de alguns fatores como o odor, o sabor desagradável e a flatulência causada pelos oligossacarídeos presentes em sua

composição [17]. A soja é uma fonte completa de proteínas na dieta, o que significa que, ao contrário da maioria das proteínas vegetais, contém todos os aminoácidos essenciais [18]. O interesse original na Soja foi impulsionado pela epidemiologia geográfica: a observação de que as populações que consomem grandes quantidades de Soja, especialmente a Asiática, têm menos incidência de cancro da mama, doença cardiovascular, e fraturas ósseas. Além deste fator, as mulheres dessas populações relatam menos sintomas da menopausa, como afrontamentos, e tanto mulheres como homens têm menos incidência de doenças cerebrais relacionadas com a idade. Uma vez que o estilo de vida pode afetar o desenvolvimento de doenças crónicas e a dieta é um importante fator do estilo de vida, as dietas tradicionais asiáticas chamaram consideravelmente à atenção. Embora a pesquisa inicial tenha superestimado a quantidade de soja consumida pelos asiáticos, a evidência acumulada de numerosos estudos de biomarcadores confirmou que a sua dieta é significativamente mais elevada em ambas as isoflavonas, em comparação com a dieta típica ocidental. Os estudos mostraram ainda que, quando os asiáticos emigraram para os países ocidentais, como os Estados Unidos, e adotaram a dieta local, as suas taxas de doenças mudaram. O que é interessante é que as pessoas que mudam de uma dieta tradicional alta em proteína vegetal para uma dieta de estilo americano, assumem as características de doença da população hospedeira, e não aquelas da sua população ancestral. Assim, parece depender de algo que está no meio ambiente [18].

A população Asiática tem, historicamente, taxas mais baixas de doença cardiovascular, sintomas da menopausa, cancro da mama, diabetes e obesidade, quando comparadas com as populações Ocidentais. Sendo a soja uma das bases da alimentação destas populações alimenta-se a crença de que estes factos correlacionam-se com este consumo. Mas é necessário encontrar evidência que suporte esta ideia, comprovar esta ligação e identificar os compostos responsáveis por esses efeitos [10].

#### Relação benefício/efeito adverso

Alguns benefícios, como a diminuição do risco de osteoporose, de doenças cardíacas, cancro da mama e sintomas da menopausa, bem como o controlo da diabetes são frequentemente atribuídos a FE. No entanto, muitos são também considerados DE, significando que têm igualmente potencial para causar efeitos adversos à saúde. Desta forma, a questão do efeito benéfico ou prejudicial dos FE para a saúde humana continua por esclarecer. A resposta pode depender de fatores como a idade, estado de saúde, e até mesmo da microflora



intestinal. Os FE estão presentes em inúmeros suplementos alimentares e são cada vez mais utilizados como alternativa à terapia de substituição estrogénica [10].

- Efeitos Benéficos

São vários os alvos apontados ao consumo de Isoflavonas de soja. O estudo do seu impacto nos sintomas associados à menopausa, cancros hormona-dependentes, controlo da diabetes, prevenção da osteoporose e doenças cardiovasculares (DCV), bem como estudos que avaliam o impacto negativo na fertilidade e função tiroideia, contam já vários anos, mas a verdade é que a sua ligação a estas patologias ainda não foi completamente comprovada e são necessários mais estudos e ensaios clínicos em seres humanos.

Numerosos estudos epidemiológicos e clínicos já avaliaram a relação entre o consumo de FE e a evolução das doenças humanas, mas os resultados não produziram uma imagem clara quanto à possibilidade destes compostos terem potencial terapêutico. A dose, composição da dieta, os FE administrados, e a duração da utilização variaram consideravelmente entre os estudos epidemiológicos tornando-os difíceis de comparar. Alguns testes de alimentação são limitados pela pequena dimensão da amostragem, e vários estudos amplamente popularizados foram financiados, pelo menos em parte, pelos fabricantes de soja e suplementos à base de soja, o que conduz a alguma desconfiança [10].

#### - Menopausa

O primeiro benefício de saúde atribuído ao consumo de FE foi o alívio de sintomas vasomotores na menopausa, como os afrontamentos e suores noturnos. Estes sintomas podem afetar a qualidade de vida, interferindo com as atividades diárias [10].

Com o objetivo de diminuir os sintomas da menopausa, muitas mulheres recorrem à Terapia de Reposição Hormonal (TRH). No entanto, este método apresenta alguns aspetos negativos, de que é exemplo o risco de cancros hormono-dependentes, como o cancro da mama. Além disso, para algumas mulheres, a TRH está contraindicada. Por estes motivos, cresceu o interesse em terapias alternativas com o intuito de aliviar os sintomas da menopausa com os mesmos benefícios proporcionados pela TRH, porém, sem contraindicações ou efeitos colaterais [17].

As Isoflavonas podem diminuir os sintomas da menopausa, tanto em intensidade quanto em frequência. Estas observações são constatadas a partir de estudos epidemiológicos feitos em regiões de alto consumo da soja, como no Oriente, já que as mulheres japonesas

apresentam 20% menos ondas de calor, quando comparadas a europeias. A ingestão de Isoflavonas por mulheres na menopausa não elimina o número de ondas de calor, mas reduz a intensidade dependendo da quantidade ingerida [17]. A incidência de sintomas vasomotores é maior em países ocidentais (70-80% das mulheres) do que nos países asiáticos (10-20%), uma observação que levou à atual crença popular de que os FE da soja podem trazer alívio [10].

Os vários estudos acerca do efeito das Isoflavonas da soja mostraram um decréscimo na severidade das ondas de calor em mulheres na menopausa. No entanto, existe um efeito placebo a considerar, e a resposta parece estar dependente da dose administrada. São necessários mais estudos para conclusões mais fidedignas. Algumas dessas evidências serão apresentadas de seguida.

- Ensaio 1:

Objetivo - estudar a eficácia das Isoflavonas da soja nos sintomas da menopausa.

Ensaio clínico randomizado, dupla-ocultação, controlado com placebo, no qual participaram 80 mulheres (idade média=55.1), que apresentavam, pelo menos, 5 episódios de ondas de calor por dia. Por dia, foram dados 100mg de Isoflavonas de extrato de soja a um grupo ensaio (n=40), sendo que a outra metade do grupo (n=40) recebeu placebo. Critérios de exclusão: TRH contraindicada, doenças gastrointestinais crónicas e indivíduos a fazer TRH nos 6 meses que antecederam o ensaio. O estudo teve a duração de 10 meses, durante os quais foram avaliados os sintomas climatéricos e sua frequência. Resultados: Ocorreu uma maior diminuição da frequência das ondas de calor no grupo ensaio em comparação ao grupo controlo; o Índice de Kupperman<sup>1</sup> revelou uma redução significativa em ambos os grupos, no entanto, a Isoflavona de soja foi significativamente superior ao placebo, na redução da severidade dos afrontamentos. Conclusão: A ingestão de 100mg de Isoflavonas de soja mostrou ter efeitos favoráveis na diminuição de sintomas vasomotores, com diminuição do número e severidade das ondas de calor [19].

- Ensaio 2:

Ensaio prospectivo, randomizado, de dupla-ocultação, controlado com placebo. Fizeram parte do estudo 50 mulheres em menopausa. Critérios de inclusão: última menstruação pelo menos 12 meses antes do início do estudo, níveis de FSH <40mIU/ml, com queixa de ondas de calor, e com TRH contraindicada ou não tolerada. Critérios de exclusão: dieta vegetariana ou macrobiótica, pessoas asiáticas, fumadores, alcoólicos, doenças

gastrointestinais crônicas, mulheres a fazer TRH, mulheres que tivesse feito tratamento nos seis meses anteriores com tamoxifeno ou antibióticos. Antes do início do estudo foram medidos os níveis de TRH, T4 e TPO-AB, por forma a excluir disfunções tiroideias. Foram criados dois grupos: Grupo 1 (n=25): cápsulas de Isoflavonas, 60 mg/id; Grupo 2 (n=25): cápsulas de lactose. Duração: 6 meses, durante os quais foram feitas três avaliações através do Índice de Kupperman<sup>1</sup> (2, 4 e 6 meses), no qual se avaliaram sintomas como ondas de calor, ansiedade, cefaleias, insónia, variações do peso corporal. Resultados: Nos dois grupos o teste Kupperman<sup>1</sup> identificou redução da frequência dos sintomas vasomotores (efeito placebo), mas quando avaliadas as ondas de calor de forma isolada, o grupo ensaio mostrou uma redução estatisticamente significativa em relação ao grupo placebo; em 44% das pessoas do grupo ensaio as ondas de calor desapareceram, enquanto no grupo placebo apenas 10%. Conclusão: A evidência não é suficiente para afirmar que os FE podem substituir a TRH, mas neste ensaio, a administração de 60mg/id de germen de soja, demonstrou ter efeitos favoráveis nos sintomas vasomotores [20].

- Ensaio 3

Objetivo: avaliar o efeito da ingestão diária de uma porção correspondente a 25g de soja, 101 mg de Isoflavonas: 61 mg de Gn, 30 mg de Dz, 10mg de Gliciteína. Duração: oito semanas. Ensaio randomizado, controlado, utilizou 60 mulheres saudáveis na pós-menopausa. Foram incluídas no estudo mulheres cuja última menstruação tivesse tido lugar pelo menos doze meses antes do início do estudo, e com referência de ondas de calor. Critérios de exclusão: fumadoras, doença arterial coronária, Diabetes diagnosticada, história de cancro da mama, hipotireoidismo. Dois meses antes, qualquer terapia para osteoporose, à base de soja, TRH ou de controlo das frações lipídicas, foram descontinuados. As mulheres foram divididas em dois grupos, consoante a média de ondas de calor reportadas, por dia, na linha de base: Grupo 1: > 4.5 ondas de calor/dia; Grupo 2: ≤ 4.5 ondas calor/dia. Em cada um dos dois grupos foram criados dois grupos: um controlo, ao qual foi administrada uma dieta sem soja e um grupo ensaio, que recebeu grãos de soja, na dosagem acima referida. Ao fim das oito semanas, as participantes foram sujeitas ao “Menopause-Specific Quality of Life Questionnaire” (MENQOL), que incluía pontuações para sintomas vasomotores, físicos, sexuais e psicossociais. Resultados: das 60 mulheres, 39 apresentaram ondas de calor; a

---

<sup>1</sup> O Índice de Kupperman trata-se de uma tabela que relaciona os sintomas da menopausa, como as ondas de calor, insónias, parestesia, depressão, cefaleias, entre outros. A cada sintoma é atribuído um valor entre zero e três, em que 0 corresponde a ausência do sintoma e três corresponde a queixas severas. Para calcular este índice as pontuações atribuídas a cada sintoma são somadas e o total é avaliado segundo um quadro de resultados possíveis.

fração de Isoflavonas de soja medidas na urina foi maior no grupo ensaio; as ondas de calor não sofreram alteração nos grupos controlo; comparado com os grupos controlo, o consumo dos grãos de soja foi associado a um decréscimo de 45% do número de ondas de calor no Grupo 1 e 41% no Grupo 2. Comparativamente com o grupo controlo, o consumo de soja esteve também associado a uma melhoria no MENQOL<sup>2</sup>: 19% decréscimo de sintomas vasomotores, 12.9% decréscimo nos psicossociais, 9.7% nos físicos e 17.7% nos sexuais. Conclusão: o consumo de soja mostrou estar associado à redução de ondas de calor, bem como melhoria nos sintomas pós-menopausa [21].

- Efeitos Adversos

- Função Tiroideia

A glândula tiroide é responsável pela produção de hormonas envolvidas na regulação do metabolismo, peso corporal, crescimento e desenvolvimento normais durante a infância. As hormonas da tiroide, tri-iodotironina (T3) e tiroxina (T4), são sintetizadas na glândula e a sua quantidade produzida é controlada pela hormona estimuladora da tiroide (TSH). Esta, por sua vez, é secretada a partir da glândula pituitária e é regulada pelo Sistema Nervoso Central (SNC) [9]. O eixo hipotálamo-hipófise-tiroide funciona como um sistema de regulação por *feedback*. A diminuição na concentração circulante de T4 é respondida com um aumento da secreção de TSH pela glândula pituitária, que resulta num retorno da circulação de concentrações de tiroxina a um ponto definido. Em estados de doença em que há produção excessiva de tiroxina, a secreção de TSH pituitária é desligada. Quando a produção de tiroxina está comprometida, a pituitária, para superar a deficiência de tiroxina, aumenta a secreção de TSH. Isto pode ser parcialmente bem-sucedido, inicialmente, com a normalização das concentrações de tiroxina na circulação, à custa de um aumento da secreção de TSH a partir da pituitária. Mas, à medida que o processo da doença avança e a glândula tiroideia é destruída, as concentrações de tiroxina diminuem e as de TSH sobem [9].

---

<sup>2</sup> MENQOL: ferramenta para avaliar a qualidade de vida no período pós-menopausa. Assumindo que os estados de doenças e condições como a menopausa podem perturbar os aspetos emocionais, físicos e sociais da vida de um indivíduo, o MENQOL consiste num total de 29 itens em formato de escala de Likert. Cada item avalia o impacto de um dos quatro domínios de sintomas da menopausa: vasomotores (itens 1-3), psicossociais (itens 4-10), físicos (itens 11-26) e sexuais (itens 27 -29), classificados como presente ou ausente e, se estiver presente, de zero (não incómodos) a seis (extremamente incómodos) Para cada subescala são somados os valores obtidos e divididos pelo número de itens desse domínio. A pontuação final, para que seja válido, varia entre 1 e 8. [22]

Numa situação de Hipertireoidismo, a atividade da glândula está exacerbada, os níveis de T4 no plasma estão acima dos valores normais e a TSH está abaixo. No Hipotireoidismo, a situação inverte-se. Os valores de TSH estão elevados relativamente aos parâmetros normais e a T4 está diminuída [9].

Os estudos sobre a relação entre o consumo de grãos de soja e a função tiroideia sugerem que o consumo das suas Isoflavonas, como a Gn, altera o seu normal funcionamento.

A Tiroide Peroxidase (TPO) encontra-se localizada na membrana apical das células foliculares da tiroide. A TPO catalisa a iodação da tiroglobulina (glicoproteína que contém inúmeros resíduos de tirosina) e acoplamento oxidativo da diiodotironina, resultando na formação da hormona da tiroide.

Assim, a inibição da TPO leva a uma redução dos níveis das hormonas da tiroide, com um aumento consequente da libertação de TSH que, por sua vez, proporciona um forte estímulo para o crescimento da glândula tiroide. Além disso, a Gn também afeta o metabolismo das hormonas da tiroide e reutilização de iodeto por inibição de enzimas sulfotransferase [23].

A Gn e a Dz foram apontadas como sendo os constituintes da soja responsáveis pela inibição destes dois processos. A Figura 7 mostra um esquema proposto para o mecanismo da Gn e onde e quando ela interfere nestes processos, através da interceção de intermediários enzimáticos reativos envolvidos na iodação e acoplamento necessários à síntese de T4. Os possíveis mecanismos envolvem a reação do composto I com as Isoflavonas, produzindo um radical reativo da Isoflavona no local ativo, que em conjunto com a forma radical do composto II podem formar uma enzima inativada, provavelmente através da modificação covalente do sítio ativo dos resíduos de aminoácidos [24].

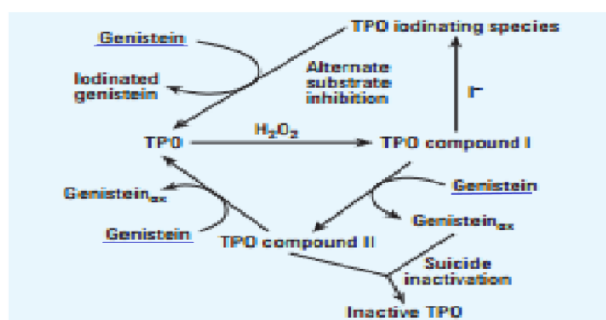


Figura 7. Mecanismos propostos para a inibição da TPO, pela Gn [24]

Assim, os efeitos na atividade da glândula parecem estar diretamente relacionados com a interferência das Isoflavonas no seu metabolismo, síntese e proteínas transportadoras da

hormona tiroideia. Estudos *in vitro* e *in vivo* revelam que a Gn é um potente inibidor da tiroide peroxidase (TPO), uma chave na síntese da hormona tiroideia.

A ingestão excessiva de soja tem sido associada ao desenvolvimento de bócio, incluindo o alargamento da tiroide, em roedores com deficiência de iodo e lactentes alimentados-base de farinha de soja fórmula sem fortificação de iodo. Animais alimentados com uma dieta de soja requerem quase o dobro de iodo em comparação com animais não alimentados com soja. Recém-nascidos com hipotireoidismo congénito, que consomem fórmula de soja exigem cerca de 25% mais hormona sintética. Os componentes da soja estimulam dramaticamente o desenvolvimento de hiperplasia da tiroide em ratos com deficiência de iodo. Alguns estudos em ratos demonstraram que o consumo de 20% de proteína isolada de soja suprimiu marcadamente a capacidade de ligação do recetor da hormona da tiroide hepática ao elemento de resposta de hormona da tiroide dos genes-alvo. Estes resultados sugerem que a ingestão de soja pode reduzir a eficiência da função hormonal da tiroide e que a soja pode conter compostos com atividade goitrogénica, que podem interferir com a utilização de iodo ou com o funcionamento da glândula tiroide, causando problemas associados a esta glândula. No entanto, verifica-se que o consumo de soja pode causar bócio apenas em animais ou seres humanos que consomem dietas inadequadas em teor de iodo ou predispostas a desenvolver bócio e, na maioria dos casos, a suplementação da dieta com iodo pode inverter os distúrbios [25].

A ação anti tiroide da soja parece ser congruente entre animais e humanos, tornando mais fácil a comparação de estudos. Vejamos os seguintes casos:

- Caso I:

Ensaio prospetivo, randomizado, controlado com placebo, de dupla-ocultação. Participaram 27 indivíduos. A cada indivíduo foram administrados 60mg de proteína de soja isolada (G1) ou 60mg de proteína extraída de leite coalhado (G2) diariamente, durante três meses. A função tiroideia (T3, T4 e TSH) foi avaliada nas semanas 0, 6 e 12. Os dados foram analisados por forma a detetar alterações ao longo do tempo. Ao longo do tempo, para o G1 verificou-se um decréscimo do valor da T4, enquanto no G2 não houve alterações.

Os resultados deste estudo demonstraram que o consumo diário de 60mg de proteína de soja isolada tem um efeito negativo na síntese de T4, enquanto a ingestão de proteína de leite não provocou alterações [26].

- Estudos em Animais

1 – Um estudo realizado por Filisetti & Lajolo em 1981, demonstrou que a ingestão de extrato de grão de soja, não- autoclavado e sem gordura, a roedores durante 16 semanas provocou um aumento do tamanho da tiroide bem como a captação de iodo. Por outro lado a ingestão de grão de soja cru aumentou o tamanho da tiroide, mas diminuiu a captação de iodo. Não foram observados efeitos no tamanho da glândula após a administração de grãos de soja autoclavados, sem gordura, mas a captação de iodo verificou-se mais elevada do que os controlos. Um estudo posterior de 29 dias mostrou que um extrato de grão de soja não-autoclavado aumentou a captação de iodo enquanto um extrato autoclavado inibiu-a. A medição das hormonas tiroideias sugeriu que esta inibição resultou num aumento da síntese da T3 e T4. Os autores concluíram que o tratamento com calor inativa o componente do grão de soja responsável pelos efeitos no tamanho da tiroide, mas não inativa os responsáveis pelas alterações na captação de iodo [9].

2 – Avaliação do efeito do consumo de proteína de soja isolada, concentrada (250g por kg de dieta) e suplementação com caseína, na concentração da hormona tiroideia, num período de 35 dias em *hamsters* machos. As concentrações séricas de T4 aumentaram nos animais alimentados com proteína de soja isolada, quando comparados com os controlos [9].

3 – O grupo de trabalho Ikeda e colaboradores (Ikeda et al) concluíram que um suplemento com grão de soja e uma deficiência na dieta em iodo, sinergicamente, estimula o crescimento da glândula em ratos fêmea. O peso das glândulas aumentou significativamente em ratos com dieta deficiente em iodo, com ou sem grãos de soja, e os níveis de T4 reduziram de forma significativa comparados com os controlos. Os níveis séricos de TSH estavam aumentados nestas mesmas condições [9].

- Estudos em Humanos

1 – Num outro estudo, avaliou-se os efeitos do consumo de 30g de grãos de soja por dia na função tiroideia, em dois grupos de Japoneses do sexo masculino. O primeiro grupo (n=20) consumiu diariamente durante um mês grãos de soja, e os resultados mostraram que as concentrações de hormonas tiroideias não se alteraram, mas os níveis de TSH aumentaram ligeiramente. No segundo grupo, a ingestão de grãos de soja foi feita por três meses. Também não houve alteração nas concentrações das hormonas tiroideias, mas os níveis de TSH estavam aumentados e, em metade dos indivíduos, houve evidência de bócio e hipotiroidismo. Os sintomas desapareceram no espaço de um mês após o abandono do consumo de soja.

É também sabido que as doenças da tiroide são mais comuns em mulheres, especialmente durante a peri-menopausa e menopausa, talvez como consequência das alterações no equilíbrio entre estrogénios e progesterona. Foram, por isso, analisados os efeitos da Gn na função tiroide em mulheres na pós-menopausa. Os resultados de um estudo de três meses em mulheres na pós-menopausa com uma dieta rica em Isoflavonas (contendo 58% de Gn total), não mostrou efeito significativo destes compostos sobre os níveis séricos de hormonas tiroideias.

○ Estudo 1:

Ensaio randomizado com duração de 16 semanas. Participaram 77 mulheres na pós-menopausa, receberam leite de vaca e um suplemento placebo, leite de soja e suplemento placebo, ou leite de vaca e suplemento de Isoflavonas. Resultados: um suplemento com Isoflavonas de soja não afeta significativamente a função tiroideia, avaliado através dos níveis séricos de TSH que permaneceram dentro da normalidade após o período de intervenção em todas as mulheres [23].

○ Estudo 2:

Avaliação dos efeitos da administração de Gn pura (54 mg / dia) nos marcadores relacionados com a tiroide; duração: 3 anos. Foram avaliadas as alterações na expressão dos recetores das hormonas, os níveis séricos de hormonas da tiroide, e seus anticorpos. O estudo incidiu em mulheres na pós-menopausa; Resultados: consumo diário de Gn não modificou os níveis circulantes de FT4, FT3, e os níveis de TSH ou anticorpos de tiroide. Além disso, a administração de Gn durante os 3 anos não afetou a expressão dos recetores de hormonas tiroideias em células mononucleares do sangue periférico, confirmando assim que a Gn parece não alterar a função da tiroide em mulheres pós-menopáusicas [23].

○ Estudo 3:

Ensaio de dupla-ocultação, em mulheres pós-menopausa. Duração de 6 meses com consumo diário de suplemento de proteína de soja (0, 56 ou 90 mg Isoflavonas/dia). Resultados: concentrações de T4 aumentadas no grupo que tomou 56mg diários em relação aos controlos; concentrações de TSH e T3 aumentaram e mostraram-se mais elevadas no grupo que tomou 90mg por dia, comparados com os controlos. Os autores deste trabalho (Persky



et al) [27] sugerem que as Isoflavonas podem afetar os níveis das hormonas da tiroide, mas consideram as alterações nas concentrações demasiado baixas para terem significado clínico.

Relato de caso real:

FC é uma senhora com idade superior a 55 anos, residente em Aveiro. Foi-lhe removida cirurgicamente a tiroide por presença de um carcinoma na mesma. Depois deste tratamento e considerando a faixa etária em que se encontrava, começou a queixar-se de “calores”, provocados quer pela desregulação hormonal consequente da remoção da tiroide, quer pela entrada na menopausa. Por iniciativa própria, e uma vez que lhe foi interdita a terapia de substituição hormonal, recorreu a um produto natural à base de soja. Umas semanas depois de iniciar a toma deste produto, FC relata que começou a ter insónias, ansiedade, estado nervoso, diarreia, arritmia, sintomas de hipotiroidismo. Sem perceber exatamente o motivo destes acontecimentos, falou com uma farmacêutica, à qual expôs o problema e que lhe aconselhou parar de imediato a toma da soja. Após cessar a terapêutica, os sintomas desapareceram.

A relação entre o consumo de Isoflavonas de soja e a alteração da função tiroideia ainda está por esclarecer. No entanto, os estudos feitos até agora demonstram que existe desregulação endócrina que, no entanto, pode estar dependente de outros fatores que não apenas do consumo isolado destes compostos. Os efeitos podem depender de fatores como a quantidade ingerida, ação sinérgica de outros fatores (exemplo: deficiência em iodo), bem como a forma em que a soja se encontra [9].

## Conclusões

Os DE são uma realidade ainda pouco conhecida pela população em geral. No entanto, a sua ação na vida humana e selvagem é cada vez mais evidente.

Ao longo dos últimos anos cresceu um interesse no seu estudo e têm vindo a ser realizados ensaios em animais, estudos em humanos, com o objetivo de avaliar o impacto destes compostos na saúde humana e animal.

Referindo os FE, e mais especificamente as Isoflavonas da Soja, existem dados e evidências que apontam para o seu papel na desregulação endócrina. A questão que se mantém é: são os FE úteis ou prejudiciais? Quando é que eles podem mostrar uma mais-valia e quando o seu consumo é contraindicado? São necessários mais estudos, mais pesquisa, e alargar os conhecimentos aplicando-os em ensaios em animais e humanos por forma a alcançar um maior conhecimento e respostas mais consistentes à volta desta temática.

Por agora, pressupõe-se que os resultados estão dependentes da idade, estado de saúde, nível de consumo, e até mesmo da composição da microflora intestinal do indivíduo [14]. Mas ainda há um longo caminho a percorrer e são necessários mais estudos, bem como a sua prolongação aos ensaios clínicos em humanos. Os estudos realizados não são ainda consistentes e muitos deles são até incongruentes.

De uma forma geral, este trabalho permitiu concluir que apesar de ser evidente que certos químicos podem interferir nos processos hormonais, a evidência sobre a correlação com a saúde humana ainda é insuficiente. No entanto, há evidência suficiente para concluir que ocorreram efeitos adversos mediados pelo sistema endócrino em algumas espécies animais. É necessária maior clareza nesta questão, uma vez que o consumo está a aumentar rapidamente.

Finalmente, não esquecendo o papel do Farmacêutico como agente de saúde pública, e considerando que a Farmácia é um local de primeira escolha do utente para resolver problemas de saúde, o farmacêutico deve intervir ativamente no aconselhamento e dispensa de medicamentos ou produtos que não necessitem de prescrição médica. Para a otimização desta atividade é essencial um constante conhecimento e sua atualização, bem como o estudo das principais temáticas científicas da atualidade, como são os Desreguladores Endócrinos.

“The well-being of future human and wildlife generations depends on safe environments.”[6].

## Bibliografia

1. Natural Resources Defense Council. Disponível em: <http://www.nrdc.org/health/effects/qendoc.asp#system>, acessado a 01/04/2014;
2. National Institute of Environmental Health Sciences. Disponível em: <http://www.niehs.nih.gov/health/topics/agents/endocrine/>, acessado a 01/04/2014;
3. Cravedi, J-P, Zalko, D., Savouret, J-F, Menuet, A., Jégou, B. 2007. Le concept de perturbation endocrinienne et la santé humaine. *Medicine/Sciences*, 23 (2): 198-204
4. Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs), WHO. Disponível em: <http://www.who.int/ceh/risks/cehemerging2/en/>, acessado a 01/04/2014;
5. Reed, C. E., Fenton, S.E. 2013. Exposure to Diethylstilbestrol during Sensitive Life Stages: A legacy of heritable health effects. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 99(2):134-46.
6. State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals 2012, Summary for Decision-Makers. Disponível em: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78102/1/WHO\\_HSE\\_PHE\\_IHE\\_2013.1\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78102/1/WHO_HSE_PHE_IHE_2013.1_eng.pdf), acessado a 01/04/2014;
7. Rogers, J. A., Metz, Luanne, Wee Yong, V. 2013. Review: Endocrine disrupting chemicals and immune responses: A focus on bisphenol-A and its potential mechanisms. *Molecular Immunology*, 53: 421– 430.
8. Frye, C. A., Bo, E., Calamandreis, GG, Calzà, L., Dessi-Fulgher, F., Fernández, M., Fusani, L., Kahss, O., Kajta, M., Le Paggess, Y, Patisaul, H. B., Venerosi, A., Wojtowicz A. K. and Panzica, G. C. 2011. Endocrine Disruptors: A Review of Some Sources, Effects, and Mechanisms of Actions on Behaviour and Neuroendocrine Systems. *Journal of Neuroendocrinology*, 24: 144–159.
9. Phytoestrogens and Health, 2003; Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment. Disponível em: <http://cot.food.gov.uk/pdfs/phytoreport0503>, acessado a 02/04/2014
10. Patisaul, H. B., Jefferson, W. The pros and cons of Phytoestrogens. 2010. *Front Neuroendocrinol.* 31(4):400-19.
11. Frost & Sullivan market analysis report. 2002. The European Phytonutrients. 1.1-1.12
12. <http://www.drugs.com/druginfo/estrogen-0-06.html>; acessado a 02/04/2014
13. <http://www.ehu.es/biomoleculashcsugar33c4.htm>; acessado a 02/04/2014

14. [Http://www.ff.up.pt/monografias\\_toxicologia/monografias/ano0708/g39\\_fitoestrogenios/ma.html](http://www.ff.up.pt/monografias_toxicologia/monografias/ano0708/g39_fitoestrogenios/ma.html); acessado a 02/04/2014.
15. [Http://www.phytochemicals.info/phytochemicals/genistein.php](http://www.phytochemicals.info/phytochemicals/genistein.php); acessado a 02/04/2014;
16. [Http://www.benbest.com/health/soy.html](http://www.benbest.com/health/soy.html); acessado a 02/04/2014
17. Consoni, R.C., Bongioiolo, A. M. 2008. Effects of isoflavone of soy in the period of climacteric. *Geriatrics & Gerontologia*. 3(2):115-121.
18. Barret, J. R. 2006. The Science of Soy – What do we really know? *Environmental Health Perspectives*, 114(6): A352–A358.
19. Nashas, E.P., Nahas-Neto, J., Orsatti, F.L., Carvalho, E.P., Oliveira, M.L.C.S., Dias, R. 2007. Efficacy and safety of a soy isoflavone extract in postmenopausal women: A randomized, double-blind, and placebo-controlled study. *Maturitas*. 58(3):249-58.
20. Nahas, E.P., Nahás Neto, J., De Luca, L., Traiman, P., Pontes, A., Dalben, I. 2004. Benefits of soy germ isoflavones in postmenopausal women with contraindication for conventional hormone replacement therapy. *Maturitas*. 48(4):372-80.
21. Marini, H., Polito, F., Adamo, E.B., Bitto, A., Squadrito, F., Benvenga, S., Update on genistein and thyroid: an overall message of safety. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012. 31; 3:94.
22. Radtke, J. V., Terhorst, L., Cohen, S. M., The Menopause-Specific Quality of Life (MENQOL) Questionnaire: Psychometric Evaluation among Breast Cancer Survivors. *Menopause*. 2011;18(3):289-95.
23. Marini, H., Polito, F., Adamo, E.B., Bitto, A., Squadrito, F., Benvenga, S. 2012. Update on genistein and thyroid: an overall message of safety. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 31: 3:94.
24. Doerge, D.R., Sheehan, D.M. 2002. Goitrogenic and Estrogenic Activity of Soy Isoflavones. *Environ Health Perspect*, 110 (Suppl 3):349-53.
25. Xiao, C.W. 2008. Health Effects of Soy Protein and Isoflavones in Humans. *J Nutr*. 138(6):1244S-9S.
26. Colker, C.M., Swain, M.A., Lynch, L. 2001. Effects of daily consumption of soy protein isolate verses whey protein isolate on thyroid function: a randomized, double blind study. *Journal of the American Dietetic Association*, 101 (Suppl 1), 9:128.
27. Persky, VW, Turyk, ME, Freels, S, Chatterton, JR, Barnes, S, Erdman, JJ, Sepkovic, DW, Bradlow, HL, Potter, S. 2002. Effect of soy protein on endogenous hormones in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 75(1):145-153.