

Atualização Terapêutica

FITOESTROGÊNIOS: VALOR TERAPÊUTICO NO CLIMATÉRIO

PHYTOESTROGENS: THERAPEUTIC VALUE IN CLIMACTERIC

ANA MÁRCIA DE MIRANDA COTA*, JOSÉ HELVÉCIO KALIL DE SOUZA**, MARCUS VINÍCIUS RODRIGUES SILVA **, HENRIQUE MORAES SALVADOR SILVA **, JOÃO PEDRO JUNQUEIRA CAETANO***, RICARDO CABRAL SANTIAGO***, RICARDO MELLO MARINHO***

RESUMO

Os fitoestrogênios são um grupo de componentes não-esteróides com propriedades estruturais e funcionais semelhantes às dos estrogênios. As isoflavonas (genisteína e daidzeína) são as mais conhecidas nesse grupo. Seu mecanismo de ação se dá por meio de sua interação com os receptores estrogênicos; possuem efeitos antioxidantes e propriedades de inibição enzimática. Devido à sua capacidade de interagir com os receptores estrogênicos, tem-se aventado a sua utilização como alternativa à terapia de reposição hormonal no climatério. Embora a maioria dos estudos demonstre um efeito benéfico nos sintomas do climatério, há controvérsias. Os dados disponíveis no momento são controversos com relação à prevenção de doenças cardiovasculares e osteoporose.

Palavras-chave: Estrogênios não-esteróides / uso terapêutico; Terapia de Reposição Hormonal; Isoflavonas / uso terapêutico; Climatério

INTRODUÇÃO

Os fitoestrogênios são componentes não-esteróides, oriundos de diversas plantas, frutas e vegetais, com propriedades estruturais e funcionais semelhante às dos estrogênios. São compostos fenólicos heterocíclicos, portanto com capacidade de interagir com os receptores dos estrogênios devido à presença do anel fenólico em sua estrutura^{1,2}.

Existem três principais classes de fitoestrogênios: as isoflavonas, os coumestanos e os lignanos¹⁻³. Entre os lignanos, o secoisolariciresinol e o matairesinol são os mais encontrados nos alimentos, principalmente nos grãos, legumes, vegetais e sementes. Nos organismos, eles são transformados em enterodiol e enterolactona, que são suas formas biologicamente ativas. O coumestrol e o 4-metoxicoumestrol são os mais importantes derivados dos coumestanos com atividade estrogênica⁴.

A classe mais conhecida é a das isoflavonas (genisteína, daidzeína e gliciteína, e seus precursores), encontradas em um grande número de vegetais, principalmente na soja. Entre as isoflavonas, a genisteína e a daidzeína são as mais prevalentes neste grão, e têm uma importância clínica maior⁵.

Após a administração oral, as isoflavonas sofrem primariamente ação de enzimas da flora intestinal, ocorrendo hidrólise dos éteres, que libera a genisteína, a daidzeína e a gliciteína. Estas são submetidas a um metabolismo secundário, quando ocorre a perda do grupo hidroxila, formando a dihidrogenisteína, 6-hidroxi-O-demetilangolensina, equol e O-demetilangolensina, que são absorvidas através

do epitélio intestinal^{3,4,6}. Em seguida, elas passam pela circulação enterohepática, sendo metabolizadas e excretadas na bile em forma de glucorono e sulfato conjugados^{4,5}. Sua excreção se dá preferencialmente pela urina, mas uma pequena parte também é excretada através das fezes⁵.

Os mecanismos de ação das isoflavonas se dão através de sua interação com os receptores estrogênicos; elas possuem efeitos antioxidantes e propriedades de inibição enzimática importantes^{1,5}.

A similaridade estrutural entre a isoflavona e o estrogênio permite que esta se ligue aos receptores estrogênicos, com baixa afinidade, mas induzindo transcrição genética. Existem dois tipos de receptores estrogênicos (alfa e beta), com distribuição e concentração diferente entre os tecidos alvos. Os receptores alfa estão presentes no SNC, mama, endométrio e fígado, enquanto os receptores beta estão no SNC, osso, parede vascular e trato urogenital. A afinidade de ligação da isoflavona varia em função do tipo do receptor estrogênico, sendo muito mais marcante nos receptores do tipo beta⁶⁻⁸.

Além disso, as isoflavonas atuam promovendo diminuição do número de receptores de alguns fatores de crescimento implicados nos processos de proliferação e/ou diferenciação celular, tais como fator de crescimento epidérmico, fator de crescimento insulina símile, fator de crescimento plaquetário e fator de crescimento tumoral, causando diminuição da proliferação tumoral e diminuição do processo de angiogênese, determinantes do crescimento tumoral e de metástases⁵. Ainda, são capazes de causar diminuição da inibição da enzima tirosinoquinase e uma inibição do tromboxano A2 em seu receptor plaquetário, que gera inibição da agregação plaquetária, podendo ter relevância na proteção cardiovascular, por meio deste efeito antitrombótico.

Entre os mecanismos independentes da atuação sobre os receptores, estão descritos efeitos antioxidantes, com redução dos radicais livres, podendo gerar efeito cardio-

* Especializanda em Climatério e Medicina Reprodutiva da Clínica Maturitas / Pró Criar / Mater Dei

** Coordenador da Residência Médica em Ginecologia e Obstetrícia do Hospital Mater Dei.

*** Coordenador da Pós-Graduação em Climatério e Medicina Reprodutiva da Clínica Maturitas / Pró Criar / Mater Dei.

Hospital Mater Dei

Endereço para correspondência:
Rua Alvarenga Peixoto, 1379
Santo Agostinho, Belo Horizonte, Minas Gerais.
CEP 30180.121
maturitas@maturitas.com.br

Data de Submissão:
21/08/03
Data de Aprovação:
19/08/04

vascular protetor, pela diminuição da oxidação do LDL-colesterol. A genisteína também causa menor influxo celular de cálcio, gerando vasodilatação. Em relação ao metabolismo ósseo, as isoflavonas geram diminuição da atividade dos osteoclastos, reduzindo o processo de reabsorção óssea⁵.

Além disso, as isoflavonas causam inibição de enzimas envolvidas na biossíntese dos estrógenos, tais como a aromatase e 17 β hidroxidesidrogenase, gerando menor produção de 17 β estradiol. Com a administração de isoflavona, observa-se maior produção da proteína carreadora dos esteroídes sexuais pelo fígado, reduzindo os níveis séricos da fração livre dos hormônios sexuais, podendo, dessa forma, ser benéfica nos casos de cânceres hormônio dependentes, tais como os de mama e endométrio⁵.

SINTOMAS DA MENOPAUSA

Estudos epidemiológicos indicam que a prevalência dos fogachos varia de 70% a 80% entre as mulheres menopausadas nos EUA, enquanto, no Japão, apenas 10% a 14% das mulheres apresentam estes sintomas⁹⁻¹¹. Embora esses dados possam refletir diferenças raciais e culturais, outra razão proposta é uma dieta rica em fitoestrogênios.

Vários estudos clínicos randomizados têm sido realizados na tentativa de demonstrar a associação entre dieta rica em fitoestrogênios e diminuição nos sintomas vasomotores causados pela menopausa, tais como fogachos, insônia, nervosismo, cefaléia, palpitações e mialgia. Entretanto, estes estudos apresentam discordância entre seus resultados, necessitando uma meta-análise direcionada à interação entre dietas com fitoestrogênio e sintomas climatéricos.

MurKies et al. em seu estudo envolvendo 58 mulheres pós-menopausadas, que receberam 45g/dia de farinha de soja ou de farinha de trigo durante 12 semanas, demonstraram uma redução de 40% na frequência e intensidade dos fogachos entre o grupo que utilizou farinha de soja (rica em isoflavonas) em comparação à redução de 25% no grupo tratado com farinha de trigo, que contém entrolactonas, fitoestrogênios da classe lignano com menor atividade estrogênica. Esta redução foi significativa em ambos os grupos¹². Resultados semelhantes foram encontrados por Albertazzi utilizando uma dosagem maior de isoflavona (60g/dia)¹³.

Em outro estudo mais recente, Han et al. avaliaram os sintomas da menopausa através da escala de Kupperman, utilizando isoflavona (100mg/dia) e placebo por 12 semanas, em 80 mulheres na pós-menopausa. Seus resultados evidenciaram uma diminuição em todos os parâmetros da escala ($p < 0,01$) durante este período¹⁴.

Entretanto, outros estudos falharam em demonstrar associação entre a ingestão de uma dieta rica em isoflavonas e a diminuição dos sintomas climatéricos. Upmalis et al. randomizaram 177 mulheres pós-menopausadas, com

idade média de 55 anos, para receber extrato de soja (50mg de genisteína e daidzina por dia) ou placebo. Ao final de 12 semanas, ocorreu melhora dos fogachos, embora não significativa, em ambos os grupos¹⁵.

Outros estudos avaliaram o uso de isoflavona para melhora dos fogachos em pacientes que haviam sido tratadas previamente para câncer de mama. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos placebo e os grupos que receberam isoflavona em relação à frequência e à intensidade dos fogachos^{16,17}.

APARELHO CARDIOVASCULAR

Existem vários mecanismos que podem explicar por que os fitoestrogênios poderiam prevenir ou reduzir a aterosclerose, tais como atividade antioxidante, melhora do perfil lipídico por meio do aumento da secreção de bile, ação direta sobre os receptores estrogênicos, inibição da síntese endógena do colesterol e melhora da função tireoidiana, além de diminuição da formação de trombos e melhora da complacência vascular².

É consenso que as populações que consomem predominantemente produtos derivados de vegetais, principalmente da soja, possuem uma baixa incidência de doenças cardiovasculares^{2,4}. Vários estudos epidemiológicos demonstraram que a dieta rica em soja tem ação cardioprotetora⁷. Um estudo corte-transversal demonstrou a relação entre a ingestão de produtos derivados da soja e a concentração sérica total de colesterol em 4.838 japoneses (homens e mulheres), com significativa redução do colesterol total sérico em função do aumento da ingestão de soja¹⁸. Os próprios autores discutem se isso também pode ser possível devido ao fato de essas pessoas utilizarem a soja como fonte de proteína, em vez da proteína animal.

Anderson et al., em meta análise de 38 estudos que avaliaram o uso de soja para redução do colesterol em humanos, concluíram que dieta rica em soja era responsável por significativa redução em níveis de colesterol, particularmente em pacientes que apresentavam hipercolesterolemia. Dos 38 estudos, 34 demonstraram este achado. Uma média de 47g de soja por dia resultou em diminuição significativa de 9,3% nos níveis de colesterol total, 12,9% nos níveis de LDL e 10,5% nos níveis de triglicérides. Não foi observada alteração nos níveis de HDL e VLDL. Nos pacientes com normocolesterolemia ($< 200\text{mg/dL}$), houve decréscimo não-significativo de 4,4%, ao passo que pacientes com níveis de colesterol maior que 335mg/dL apresentaram diminuição significativa de 19,6%¹⁹. Outros estudos também demonstraram redução significativa tanto na dosagem sérica do colesterol total quanto no LDL-colesterol com a suplementação de isoflavonas^{20,21}. No entanto, há estudos que falharam em demonstrar esta associação entre a suplementação de isoflavona e melhora do perfil lipídico²²⁻²⁴.

Outro indicador de risco cardiovascular que diminui com a menopausa é a complacência vascular. Em dois estudos realizados por Nestel et al. observou-se melhora em torno de 26% na complacência vascular com a administração de 45mg/dia de genisteína^{22,23}. Este efeito é visto na reposição hormonal com estrogênio, sendo consenso em vários estudos²⁵.

Apesar dos dados ainda inconsistentes, a maioria dos estudos relata melhora do perfil lipídico, não havendo nenhum que demonstre que o uso de fitoestrogênios aumente os níveis de colesterol.

OSTEOPOROSE

Potter et al., em seu estudo duplo cego, randomizado, com 66 mulheres pós-menopausadas, avaliaram a suplementação de isoflavona e seus efeitos sobre a densidade mineral óssea por seis meses. As pacientes foram divididas em três grupos: grupo placebo (caseína), um grupo recebendo 56mg de isoflavona diariamente e outro, 90mg de isoflavona. Foi realizada densitometria basal e outra ao término do período. Somente as mulheres que receberam 90mg de isoflavona diariamente exibiram aumento estatisticamente significativo (2%, $p < 0,05$) na densidade óssea de L1-L4, quando comparadas com o grupo controle²⁶. Em outro estudo, quando comparados grupos que receberam suplementação de soja ao grupo placebo, não foi observada diminuição na densidade óssea vertebral nos grupos tratados com soja, considerando-se a diminuição observada no grupo controle²⁷.

Wangen et al. avaliaram os efeitos de diferentes dosagens de isoflavona, variando de 8mg/dia a 130mg/dia, sobre o metabolismo ósseo através de marcadores como a osteocalcina e fator de crescimento insulina-símile (IGF-1 e IGFB-3), não sendo demonstrados efeitos benéficos com a isoflavona²⁸. Resultados semelhantes foram encontrados por Atkinson et al. Neste estudo, não foram observados nenhuma diferença na densidade óssea do fêmur e nos marcadores urinários do metabolismo ósseo entre o grupo placebo e o grupo que recebeu isoflavona. No entanto, demonstrou-se uma diminuição na taxa de perda na densidade mineral óssea na coluna lombar em pacientes que utilizaram a isoflavona²⁹.

Outros estudos têm sido realizados para avaliar os efeitos da ipriflavona, uma isoflavona sintética, na preservação ou ganho de massa óssea. Adami et al. e Gennari et al. observaram que pacientes que receberam 600mg/dia de ipriflavona por dois anos mantiveram a sua massa óssea, sendo significativa a diferença com o grupo controle^{30,31}.

Entretanto, em estudo mais recente, prospectivo, multicêntrico, randomizado, duplo-cego, placebo controlado, envolvendo 474 mulheres na pós-menopausa, utilizando 600mg de ipriflavona por um período de três anos, não foi observada prevenção na perda óssea nem alterações nos marcadores do metabolismo ósseo quando

comparados ao grupo placebo, sendo que o número de mulheres com novas fraturas foi semelhante em ambos os grupos. Além disso, observou-se diminuição significativa na concentração de linfócitos das mulheres que receberam ipriflavona. Trinta e uma mulheres (13,2%) do grupo que utilizou ipriflavona desenvolveram linfopenia subclínica, sendo que, destas, em 29 isso ocorreu durante o tratamento³².

CÂNCER DE MAMA

Os fitoestrogênios têm várias atividades anticarcinogênicas, sendo provavelmente suas ações não hormonais, tais como a supressão da angiogênese, indução na diferenciação das células tumorais, indução da apoptose, propriedades antioxidantes e supressão de enzimas que promovem o crescimento celular, como a tirosinoquinase e a topoisomerase I e II, as mais importantes na prevenção do câncer^{2,33}.

Os fitoestrogênios têm uma semelhança estrutural com os estrogênios, sugerindo que a ingestão de isoflavona poderia aumentar o risco de câncer de mama. Entretanto, estudos epidemiológicos sugerem que o consumo dos fitoestrogênios é inversamente associado ao desenvolvimento do câncer de mama. Estudos observacionais demonstram que países onde a ingestão de fitoestrogênios é elevada apresentam as menores incidências de câncer de mama². No Japão, a taxa de mortalidade por câncer de mama representa quase um quarto da dos EUA¹.

McMichael-Phillips et al. randomizaram 48 mulheres que seriam submetidas à ressecção de nódulos mamários, fornecendo 45mg/dia de isoflavona ou placebo por duas semanas antes da cirurgia. O grupo de mulheres que recebeu isoflavona apresentou aumento no crescimento do epitélio lobular e aumento na expressão dos receptores de progesterona quando comparado ao grupo placebo³⁴.

Ingram et al. realizaram estudo caso-controle com 288 mulheres para avaliar a associação entre a excreção urinária de fitoestrogênios e câncer de mama. O grupo apresentou idade variando de 30 a 84 anos, com diagnóstico recente de câncer de mama. Observou-se que um aumento na excreção urinária de fitoestrogênios foi associado à significativa redução no risco de câncer de mama (OR 0,27; 95%, CI 0,10 – 0,69)³⁵. Zheng encontrou resultados semelhantes, em que a excreção de isoflavona das pacientes com câncer de mama foi 50% a 65% menor que a das pacientes do grupo controle³⁶.

DISCUSSÃO

Os dados disponíveis atualmente são insuficientes para se obterem conclusões definitivas sobre o uso das isoflavonas como alternativa ao uso de estrogênios para terapia de reposição hormonal, em mulheres no climatério. A maioria dos estudos observacionais avalia os efeitos da

ingesta de grãos inteiros que contêm isoflavonas desde a infância e não a ingestão de isoflavonas purificadas somente após a menopausa. Isso talvez explique, em parte, o porquê de os estudos clínicos randomizados não conseguirem reproduzir com a mesma magnitude os resultados obtidos por meio dos estudos epidemiológicos. A maioria dos estudos disponíveis no momento nos permite indicar o uso das isoflavonas para o tratamento dos sintomas do climatério, tais como os fogachos, embora haja controvérsias com relação à procedência, quantidade específica ou tipo de fitoestrogênios. Não há nenhuma segurança para se indicar o uso dos fitoestrogênios em pacientes com qualquer contra-indicação formal para a terapia de reposição hormonal. Mais ensaios clínicos, randomizados, com longa duração se fazem necessários para responder a tais questões.

ABSTRACT

Phytoestrogens are non-steroid compounds that have structural and functional properties similar to estrogens. The isoflavones (genistein and daidzein) are well known among these components. Isoflavones have antioxidant effects and anti-enzyme properties. In addition, isoflavones interact with estrogen receptors, opening the possibility of their utilization as a possible alternative to the usual hormone replacement therapy in the climacterium.

Keywords: Non-steroidal estrogens / therapeutic use; Hormone replacement therapy; Isoflavones / therapeutic use; Climateric

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Vicent A, Fitzpatrick LA. Soy Isoflavones: are they useful in menopause? *Mayo Clin Proc* 2000; 75:1174-84.
- 2- Glazier MG, Bowman MA. A review of the evidence for the use of phytoestrogens as a replacement for traditional estrogen replacement therapy. *Arch Intern Med.* 2001; 161:1161-72.
- 3- Tsurounis C. Clinical effects of phytoestrogens. *Clin Obstet Gynecol* 2001; 44:836-42.
- 4- Sirtori CR. Risks and benefits of soy phytoestrogens in cardiovascular diseases, cancer, climateric symptoms and osteoporosis. *Drug Safety* 2001; 24:665-82.
- 5- Naftolin F, Stanbury MG. Phytoestrogens: are they really estrogen mimics? *Fertility and Sterility* 2002; 77:15-7.
- 6- Nachtigall LE. Isoflavones in the management of menopause. *J British Menopause Society* 2001; S1:8-11.
- 7- Wagner JD, Anthony MS, Cline JM. Soy phytoestrogens: research on benefits and risks. *Clin Obstet Gynecol* 2001; 44:843-52.
- 8- Ewies AAA. Phytoestrogens in the management of the menopause: up-to-date. *Obstet Gynecol* 2002; 57:306-13.
- 9- Lock M. Ambiguities of aging: Japanese experience and perceptions of menopause. *Cult Med Psychiatry* 1986; 10:23-46.
- 10- Boulet MJ, Oddens BJ, Lhert P, Vemer HM, Visser A. Climateric and menopause in seven south-east Asian countries. *Maturitas* 1994; 19:157-76.
- 11- Tang GWK. The climateric of Chinese factory works. *Maturitas* 1994; 19:177-82.
- 12- Murkies A L, Lombard C, Strauss BJG, Wilcox G, Burger HG, Morton MS. Dietary flour supplementation decreases postmenopausal hot flushes: effects of soy and wheat. *Maturitas* 1995; 21:189-95.
- 13- Albertazzi P, Pansini F, Bonaccorsi G, Zanotti L, Forini E, De Aloysio D. The effect of dietary soy supplementation on hot flushes. *Obstet Gynecol* 1998; 91:6-11.
- 14- Han KK, Soares JM, Haidar MA, Lima GR, Baracat EG. Benefits of soy isoflavone therapeutic regimen on menopausal symptoms. *Obstet Gynecol* 2002; 99:389-94.
- 15- Upmalis DH, Lobo R, Bradley L, Warren M, Cone FL, Lamia CA. Vasomotor symptom relief by soy isoflavone extract tablets in postmenopausal women: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Menopause* 2000; 7:236-42.
- 16- Van Patten CL, Olivotto IA, Chambers GK, Gelmon KA, Hislop TG, Templeton E, et al. Effect of soy phytoestrogens on hot flashes in postmenopausal women with breast cancer: a randomized, controlled clinical trial. *J Clin Oncol* 2002; 20:1449-55.
- 17- Quella SK, Loprinzi CL, Barton DL, Knost JA, Sloan JA, LaVasseur BI, et al. Evaluation of soy phytoestrogens for the treatment of hot flashes in breast cancer survivors: A north central cancer treatment group trial. *J Clin Oncol* 2000; 18:1068-74.
- 18- Nagata C, Takatsuka N, Kurisu Y, Shimizu H. Decreased serum total cholesterol concentration is associated with high intake of soy products in Japanese men and women. *J Nutr* 1998; 128:209-13.
- 19- Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Engl J Med* 1995; 333:276-82.
- 20- Washburn S, Burke GL, Morgan T, Anthony M. Effect of soy protein supplementation on serum lipoproteins, blood pressure and menopausal symptoms in perimenopausal women. *Menopause* 1999; 6:7-13.
- 21- Crouse JR, Morgan TM, Terry JG, et al. A randomized trial comparing the effect of casein with that of soy protein containing varying amounts of isoflavones on plasma concentrations of lipids and lipoproteins. *Arch Intern Med* 1999; 159:2070-75.
- 22- Nestel PJ, Yamashita T, Sasahara T, et al. Soy isoflavones improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal and perimenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17:3392-8.
- 23- Nestel PJ, Pomeroy S, Kay S, Komesaroff P, Behrsing J, Cameron JD, West L. Isoflavones from red clover improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal women. *J Clin Endoc Metab* 1999; 84:895-8.
- 24- Hodgson JM, Puddey IB, Berlin LJ, Mori TA, Croft KD. Supplementation with isoflavonoid phytoestrogens does

- not alter serum lipid concentrations: A randomized, controlled trial in humans. *J Nutr* 1998; 128:728-32.
- 25- Caetano JPJ, Fonseca EC, Falcão Jr JOA, et al. Estudo da resistência vascular periférica das artérias uterinas durante o climatério através da dopplerfluxometria transvaginal colorida. *Rev Med Minas Gerais* 1994.
- 26- Potter SM, Baum JÁ, Teng H, Stillman RJ, Shay NF, Erdman JW. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1998; 68:1375-9.
- 27- Alekel DL, St Germain A, Peterson CT. Isoflavone rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2000; 72:844-52.
- 28- Wangen KE, Duncan AM, Merz-Demlow BE et al. Effects of soy isoflavones on markers of bone turnover in premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:3043-8.
- 29- Atkinson C, Comston JE, Robins SP, Bingham AS. The effects of isoflavone phytoestrogens on bone, preliminary results from a large randomized controlled trial. *ENDO* 2000, The Endocrine Society 82n Annual Meeting 2000.
- 30- Adami S, Bufalino L, Cervetti R. Ipriflavone prevents radial bone loss in post-menopausal women with low bone mass over 2 years. *Osteopors Int* 1997; 7:119-25.
- 31- Gennari C, Adami S, Agnusdei D, et al. Effect of chronic treatment with ipriflavone in postmenopausal women with low bone mass. *Calcif Tissue Int* 1997; 61:S19-S22.
- 32- Alexandersen P, Toussaint A, Christiansen C. Ipriflavone in the treatment of post-menopausal osteoporosis: A randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 285:1482-8.
- 33- Barners S, Peterson TG. Biochemical targets of the isoflavone genistein in tumor cell lines. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995; 208:103-8.
- 34- McMichael-Phillips DF, Harding C, Morton M, et al. Effects of soy-protein supplementation on epithelial proliferation in the histologically normal human breast. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 1431s-5s.
- 35- Igram D, Sanders K, Kolybaba M, Lopez D. Case-control study of phytoestrogens and breast cancer. *Lancet* 1997; 9083:990-4.
- 36- Zheng W, Dai Q, Custer LJ, et al. Urinary excretion of isoflavonoids and the risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8:35-40.