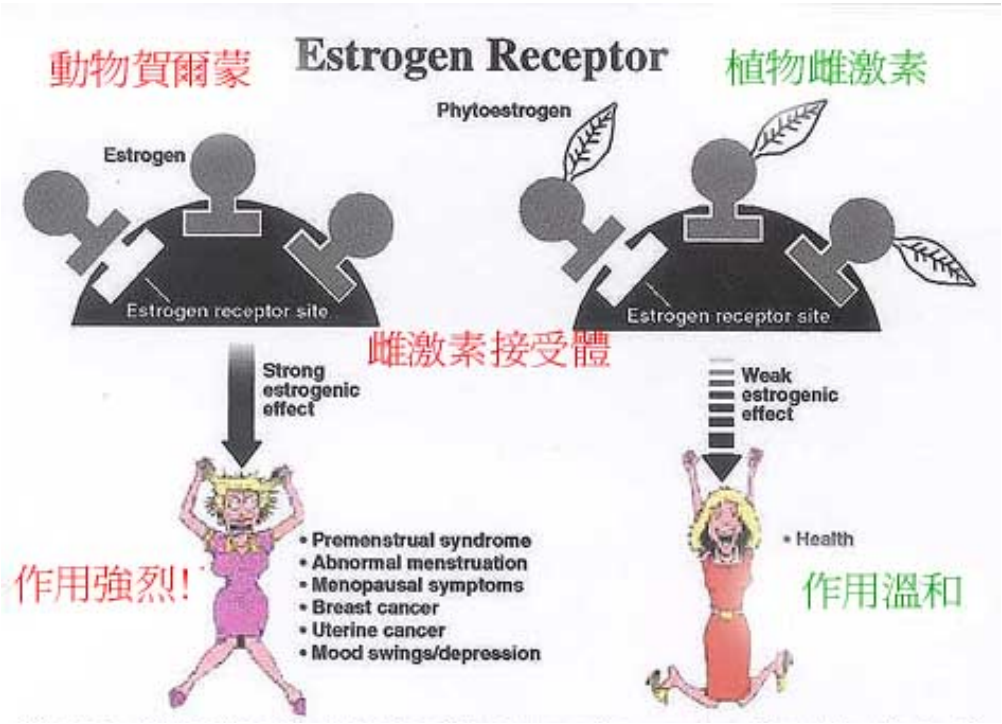
Η ΧΡΗΣΗ ΦΥΤΟΟΙΣΤΡΟΓΟΝΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ Η ΑΛΛΩΝ ΧΡΟΝΙΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ



Επιμέλεια
Μίχα Ειρήνη

Τριμελής επιτροπή
Μανιός Γ.
Δεδούσης Γ.
Ματάλα Α.

Αθήνα 2004
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Σημαντική ήταν η βοήθεια των ανθρώπων που συνέβαλαν στην οργάνωση του υλικού, αλλά και της σκέψης μου γύρω από τα ζητήματα που αφορούν τα φυτοοιστρογόνα και τον ρόλο τους στην αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης και άλλων χρόνιων παθήσεων. Ιδιαίτερα οφείλω τις πιο θερμές ευχαριστίες στον κύριο Γιάννη Μανιό, Λέκτορα του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, για τις πολύτιμες παρατηρήσεις και τις ουσιαστικές επισημάνσεις του. Καθόλη τη διάρκεια διεξαγωγής της έρευνας αφιέρωνε σημαντικό μέρος του πολύτιμου χρόνου του, προκειμένου να με κατευθύνει στους προβληματισμούς μου και στη συγκέντρωση του απαραίτητου υλικού. Η προσφορά του ήταν σημαντικότατη στη συγγραφή της παρούσας πτυχιακής διατριβής.

Επιπλέον, θα ήθελα ιδιαίτερα να ευχαριστήσω τον αδελφό μου, Γιώργο Μίχα, για τις εποικοδομητικές συζητήσεις που είχαμε, και βέβαια για τη σημαντική βοήθεια που προσέφερε στην παροχή χρήσιμων πληροφοριών. Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον αγαπητό μου φίλο, Δημήτρη Φλεμοτόμο, για την πολύτιμη βοήθεια και τον χρόνο του.

Όλοι οι παραπάνω συνετέλεσαν στην ολοκλήρωση της παρούσας πτυχιακής διατριβής, η οποία χωρίς τη βοήθειά τους δεν θα είχε την ίδια μορφή και περιεχόμενο. Τους ευχαριστώ όλους θερμά.

Ειρήνη Μίχα
Ιούνιος 2004

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το μεγάλο ενδιαφέρον για τα φυτοοιστρογόνα έχει προκύψει από την επιδημιολογική παρατήρηση ότι η κατανάλωση μιας διατροφής πλούσιας σε αυτά τα φυτοχημικά, όπως εκείνη στις παραδοσιακές ασιατικές κοινωνίες, σχετίζεται με χαμηλότερο κίνδυνο για ποικίλα χρόνια νοσήματα, και συγκεκριμένα για τις καρδιαγγειακές παθήσεις, την οστεοπόρωση και ορισμένους τύπους καρκίνου. Τα φυτοοιστρογόνα, σύμφωνα με πιο πρόσφατο ορισμό, είναι φυσικοί εκλεκτικοί τροποποιητές των υποδοχέων οιστρογόνων (SERMs) και όχι φυσικά «οιστρογόνα», τα οποία είναι παρόμοιοια στη δομή, αλλά ασθενέστερα σε όρους βιολογικής δραστικότητας σε σχέση με τα ενδογενή οιστρογόνα. Όπως και οι συνθετικοί SERMs, τα φυτοοιστρογόνα εμφανίζουν τόσο οιστρογονικές, όσο και αντι-οιστρογονικές ιδιότητες ανάλογα με τον «ιστό-στόχο». Ως τέτοιες ενώσεις, είναι πιθανόν να έχουν τις θετικές επιδράσεις των οιστρογόνων, χωρίς τις αρνητικές, ιδιαίτερα σε ιστούς όπως το ενδομήτριο και το στήθος. Οι σημαντικότερες τάξεις των φυτοοιστρογόνων περιλαμβάνουν τα ισοφλαβονοειδή (δηλαδή τις ισοφλαβόνες και τις κουμεστάνες) και τις λιγνάνες. Μάλιστα, οι ισοφλαβόνες λόγω του ότι προσλαμβάνονται ευρέως από τους ασιατικούς πληθυσμούς μέσω της κατανάλωσης τροφίμων σόγιας (πλουσιότερη πηγή ισοφλαβονών) και του ότι αποτελούν την πιο ισχυρή κατηγορία φυτοοιστρογόνων, έχουν συγκεντρώσει το ενδιαφέρον των ερευνητών. Συγκεκριμένα, έχει καθοριστεί από κλινικές δοκιμασίες και επιδημιολογικές παρατηρήσεις ότι τα επίπεδα των ισοφλαβονών που απαιτούνται προκειμένου να εκδηλωθούν φυσιολογικές δράσεις στον οργανισμό του ανθρώπου είναι 60-100 mg/ημέρα, τα οποία είναι σημαντικά υψηλότερα από εκείνα που έχουν εκτιμηθεί σε δυτικούς πληθυσμούς (<1 mg/ημέρα). Οι όποιες θετικές επιδράσεις των φυτοοιστρογόνων στην υγεία του ανθρώπου μπορούν να αποδοθούν τόσο στις ορμονικές (οιστρογονικές και αντι-οιστρογονικές), όσο και σε μη ορμονικές δράσεις (διαφοροποίηση καρκινικών κυττάρων, καταστολή αγγειογένεσης, αντιοξειδωτικές δράσεις, απόπτωση, κυτταρική προσκόλληση κλπ). Τις περισσότερες φορές μάλιστα είναι δύσκολο να αποδοθούν οι

παρατηρούμενες επιδράσεις στην υγεία αποκλειστικά σε ορμονικές ή μη ορμονικές δράσεις, αφού υπάρχει σημαντική αλληλοκάλυψη μεταξύ τους. Όσον αφορά τον ρόλο των φυτοοιστρογόνων στην οστεοπόρωση, φαίνεται πως η απώλεια της λειτουργικότητας των ωοθηκών ή το χαμηλό επίπεδο οιστρογόνων είναι απαραίτητα προκειμένου να παρατηρηθεί οποιαδήποτε οστεοπροστατευτική επίδραση (όπως στην οστεοπόρωση τύπου Ι στους ανθρώπους). Οι έρευνες σε ζώα και σε κυτταρικές καλλιέργειες έχουν προσφέρει αρκετές αποδείξεις, οι οποίες υποστηρίζουν τη δυνατότητα των ισοφλαβονών για διατήρηση ή και βελτίωση της οστικής πυκνότητας. Ωστόσο, τα ευρήματα από έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί έως τώρα σε ανθρώπους δεν είναι τόσο σαφή, ενώ πολλές φορές μάλιστα είναι αντικρουόμενα. Οι λόγοι για αυτές τις ασυνέπειες μεταξύ των ερευνών είναι πολλοί και περιλαμβάνουν διαφορές στην ηλικία, την κατάσταση εμμηνόπαυσης, την παραγωγή ή όχι εκουόλης, καθώς και τη σχετικά σύντομη χορήγηση ισοφλαβονών. Είναι αναγκαίο, επομένως, να πραγματοποιηθούν πολλαπλές προοπτικές, διπλά-τυφλές, *placebo*-ελεγχόμενες μακροπρόθεσμες έρευνες σε ανθρώπους, προκειμένου να προκύψουν τα ευρήματα εκείνα που χρειάζονται για να ληφθούν σαφείς και οριστικές αποφάσεις. Σύμφωνα, μάλιστα με την ομόφωνη απόφαση της North American Menopause Society «επιπρόσθετες κλινικές έρευνες είναι απαραίτητο να διεξαχθούν, προτού μπορούν να γίνουν συστάσεις για τη χρήση ισοφλαβονών στη διαχείριση της σκελετικής υγείας των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών». Πάντως, στην περίπτωση που επιβεβαιωθούν οι οστεοπροστατευτικές δράσεις των φυτοοιστρογόνων, οι θεραπευτικές τους επιπτώσεις θα είναι τεράστιες.

ΑΝΑΛΥΤΙΚΑ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Εισαγωγή 1-3

ΜΕΡΟΣ 1^{0}

ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΑ ΦΥΤΟΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Ορισμός και κατάταξη φυτοοιστρογόνων

1.1 Ορισμός 5

1.2 Κατάταξη 6-9

1.2.α Βάσει της χημικής τους δομής 6-8

1.2.β Βάσει της σχέσης τους με τη διατροφή 9

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Χημικές μορφές και διαιτητικές πηγές φυτοοιστρογόνων

2.1 Ισοφλαβονοειδή

2.1.1. Ισοφλαβόνες 11-26

2.1.1.α Χημικές μορφές ισοφλαβονών 11-13

2.1.1.β Διαιτητικές πηγές ισοφλαβονών 13-26

- Σόγια και παράγωγα σόγιας 15-17
- Παραδοσιακά τρόφιμα σόγιας 17-19
- Τρόφιμα σόγιας «δεύτερης γενιάς» 20-21
- Συστατικά σόγιας σε ευρωπαϊκά τρόφιμα 21
- Άλλες πηγές ισοφλαβονών 22-26
- Λαχανικά 22-24
- Φρούτα και ξηροί καρποί 25-26

2.1.2 Κουμεστάνες 27-28

2.1.2.α Χημικές μορφές κουμεστανών 27

2.1.2.β Διαιτητικές πηγές κουμεστανών 27-28

2.2 Λιγνάνες 29-34

2.2.α Χημικές μορφές λιγνανών 29-31

2.2.β Διαιτητικές πηγές λιγνανών 31-34

ΜΕΡΟΣ 2^{0}

ΒΙΟΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΦΥΤΟΟΙΣΤΡΟΓΟΝΩΝ

Γενικά 36-37

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Απορρόφηση φυτοοιστρογόνων

1.1 Ρυθμός και έκταση απορρόφησης 38-39

1.2 Υδρόλυση γλυκοζιτών 40-42

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Μεταβολισμός στον εντερικό σωλήνα

Γενικά 43-44

2.1 Αποδείξεις για τον ρόλο της μικροχλωρίδας στον μεταβολισμό των φυτοοιστρογόνων 45

2.2 Μεταβολίτες φυτοοιστρογόνων 46-50

2.3 Σύζευξη 51

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Κατανομή και Απέκκριση

3.1 Κατανομή 52-53

3.2 Απέκκριση 54

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Παράγοντες που ενδέχεται να επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητα των φυτοοιστρογονων 55-56

- Μικροχλωρίδα 56-57
- Φύλο 57
- Ηλικία 58
- Χημική σύσταση φυτοοιστρογόνων 58-59
- Τροφικό υπόστρωμα 59
- Διατροφικές συνήθειες 59-60
- Χρόνια έκθεση 60-61
- Πρώιμη έκθεση 61

ΜΕΡΟΣ 3^{0}

ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΦΥΤΟΟΙΣΤΡΟΓΟΝΩΝ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Βιολογικές δράσεις φυτοοιστρογόνων

1.1 Ορμονικές δράσεις 63-67

1.2 Μη ορμονικές δράσεις 68-72

- 1.2.1 Διαφοροποίηση και διαίρεση καρκινικών κυττάρων 68-71
  - 1.2.1.α Πρωτεϊνικές τυροσινοκινάσες 69-70
  - 1.2.1.β DNA τοποϊσομεράσες 70-71
- 1.2.2 Άλλες αναφερόμενες μη ορμονικές δράσεις 71-72

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Εκτίμηση της πρόσληψης φυτοοιστρογόνων 73-80

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Παραγωγή εκουόλης 81-85

ΜΕΡΟΣ 4^{0}

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΦΥΤΟΟΙΣΤΡΟΓΟΝΩΝ ΣΤΗΝ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Οστεοπόρωση

1.1. Ορισμός 87

1.2. Αιτιολογία και παθογένεια 88

1.3. Ορισμός μέγιστης οστικής μάζας 88-89

1.4. Απώλεια οστού κατά την ενήλικη ζωή 89-94

- 1.4.α Οστεοπόρωση τύπου I 90-93
- 1.4.β Οστεοπόρωση τύπου II 93-94

1.5. Διάγνωση της οστεοπόρωσης 95-99

- 1.5.α Παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση οστεοπόρωσης 95-96
- 1.5.β Αρχές που διέπουν τη μέτρηση της οστικής πυκνότητας 97
- 1.5.γ Βιοχημικοί οστικοί δείκτες 98-99

1.6. Πρόληψη και θεραπεία οστεοπόρωσης τύπου I 100-107

1.6.α Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης (Hormone replacement therapy, HRT) 100-103
1.6.β Εκλεκτικοί τροποποιητές των υποδοχέων των οιστρογόνων (selective estrogen receptor modulators, SERMs) 104-105
1.6.γ Ο πιθανός ρόλος των φυτοοιστρογόνων 106-107

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Φυτοοιστρογόνα και οστεοπόρωση: Έρευνες σε ζώα
Γενικά 108-109
2.1 Επιδράσεις των φυτοοιστρογόνων στα οστά των ζώων 110-111
2.2 Επιδράσεις των φυτοοιστρογόνων: από τα τρόφιμα στις χημικές ενώσεις 112-119
- Ισοφλαβόνες 113-117
- Κουμεστάνες 118
- Λιγνάνες 119

2.3 Θεραπευτική επίδραση έναντι προληπτικής επίδρασης 120
2.4 Συμπέρασμα 121-122

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Φυτοοιστρογόνα και οστεοπόρωση: Έρευνες σε ανθρώπους
Γενικά 123-126
3.1 Ισοφλαβόνες ή πρωτεΐνη σόγιας 127-128
3.2 Επιδημιολογικές έρευνες 129-131
3.3 Κλινικές έρευνες 132-142
- Επίδραση στην οστική πυκνότητα (BMD) 132-137
- Επίδραση στους οστικούς δείκτες 138-142

3.4 Ιπριφλαβόνη (ipriflavone, IP) 143-149
3.5 Ασφάλεια 150-154
3.6 Συμπέρασμα 155-156

ΜΕΡΟΣ 5^{0}

ΑΛΛΕΣ ΑΝΑΦΕΡΟΜΕΝΕΣ ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΦΥΤΟΟΙΣΤΡΟΓΟΝΩΝ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Καρδιαγγειακά νοσήματα

Γενικά 158-159

1.1 Η σόγια ως «λειτουργικό τρόφιμο» 160-162

1.2 Η πρωτεΐνη σόγιας και οι υπολιπιδαιμικές της ιδιότητες 162-165

1.3 Ο εγκεκριμένος από τον FDA ισχυρισμός υγείας για τη σόγια 166-169

1.4 Οι ισοφλαβόνες και η καρδιαγγειακή υγεία 170-178

- Οι ισοφλαβόνες και οι υπολιπιδαιμικές τους δράσεις 171-173
- Επίδραση στην οξείδωση της LDL 173-175
- Επίδραση στην αρτηριακή πίεση και την αρτηριακή ενδοτικότητα 176-177

1.5 Συμπέρασμα 178-179

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Διάφοροι τύποι καρκίνου

Γενικά 180-182

2.1 Καρκίνος του στήθους 182-184

2.2 Καρκίνος του προστάτη 185-187

2.3 Άλλες μορφές καρκίνου 188-189

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Συμπτώματα εμμηνόπαυσης 190-191

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Νοητική λειτουργία 192

Παράρτημα 193-201

Βιβλιογραφία **205-233**

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το μεγάλο ενδιαφέρον για τα φυτοοιστρογόνα έχει προκύψει από την επιδημιολογική παρατήρηση ότι η κατανάλωση μιας διατροφής πλούσιας σε αυτές τις ενώσεις, όπως εκείνη στις παραδοσιακές ασιατικές κοινωνίες, σχετίζεται με χαμηλότερο κίνδυνο για ποικίλα χρόνια νοσήματα (Adlercreutz & Mazur 1997, 1998, Messina et al. 2002), και συγκεκριμένα για τις καρδιαγγειακές παθήσεις (Anderson et al. 1995, Lissin et al. 2000, Van der Schouw et al. 2000), την οστεοπόρωση (Potter et al. 1998, Alekel et al. 2000, Horiuchi et al. 2000, Somekawa et al. 2000) και ορισμένους τύπους καρκίνου (Rose et al. 1986, Messina 1994, Adlercreutz 2002), όπως του προστάτη (Jacobsen et al. 1998), του στήθους (Nagata 2000, Tonkelaar Den 2001, Adlercreutz 2002), και πιθανώς του καρκίνου του παχέος εντέρου (Nagata 2000). Παρόλα αυτά, με την αλλαγή του τρόπου ζωής στις ασιατικές χώρες προς τα δυτικά πρότυπα και την απομάκρυνση από την παραδοσιακή διατροφή, η συχνότητα εμφάνισης των παθήσεων αυτών φαίνεται να αλλάζει στις χώρες αυτές (Messina et al. 2002).

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια εντυπωσιακή αύξηση στην κατανάλωση τροφίμων σόγιας, τα οποία αποτελούν την πλουσιότερη πηγή φυτοοιστρογόνων, η οποία οφείλεται στην αντίληψη των καταναλωτών ότι τα προϊόντα σόγιας είναι υγιεινά. Συγκεκριμένα, σε μια πρόσφατη έρευνα, η οποία πραγματοποιήθηκε στις ΗΠΑ, παρατηρήθηκε ότι το ποσοστό των καταναλωτών που θεωρεί τα προϊόντα σόγιας υγιεινά αυξήθηκε από 59% το 1998 σε 76% το 2000 (United Soybean Board, 2000).

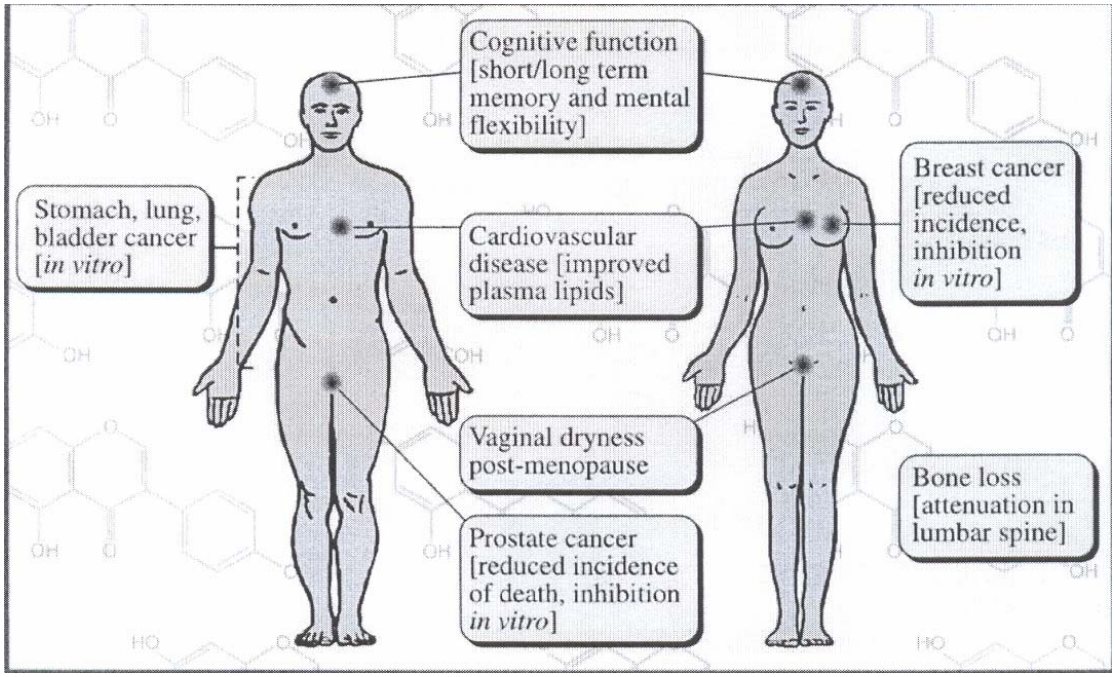
Η αλλαγή της στάσης των καταναλωτών προς τη σόγια μπορεί να αποδοθεί σε σημαντικό βαθμό στην αναγνώριση των θετικών επιδράσεων της σόγιας από αρκετούς κρατικούς και ιδιωτικούς οργανισμούς υγείας. Το 1999 ο Αμερικανικός Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) ενέκρινε να γίνονται ισχυρισμοί για τις υποχοληστερολαιμικές ιδιότητες της σόγιας σε τρόφιμα, τα οποία περιέχουν ένα ελάχιστο επίπεδο της τάξης των 6,25 g

πρωτεΐνης σόγιας ανά μερίδα (FDA 1999). Ένα χρόνο αργότερα the American Heart Association συνέστησε στους ασθενείς με αυξημένη χοληστερόλη να συμπεριλάβουν προϊόντα σόγιας στη διατροφή τους (Erdman 2000, Krauss et al. 2000). Το Υπουργείο Γεωργίας της Αμερικής (USDA) αναγνωρίζοντας την υψηλή βιολογική αξία της πρωτεΐνης σόγιας εξέδωσε μια απόφαση, η οποία επέτρεπε στην πρωτεΐνη σόγιας (και σε άλλες πρωτεΐνες υψηλής βιολογικής αξίας) να αντικαταστήσει πλήρως τη ζωική πρωτεΐνη in the Federal School Lunch Program (US Department of Agriculture-USDA, 2000) – προηγούμενες οδηγίες περιόριζαν τη σόγια στο 30% της υποκατάστασης. Το 1999 το Υπουργείο Γεωργίας της Αμερικής (USDA), σε συνεργασία με το κρατικό πανεπιστήμιο της Iowa δημιούργησε μια on-line βάση δεδομένων για το περιεχόμενο των τροφίμων σε φυτοοιστρογόνα (Murphy et al. 1999, USDA 2000). Τον ίδιο χρόνο, το NIH (National Institute of Health), διεξήγαγε ένα τριήμερο συνέδριο για τις θετικές επιδράσεις των φυτοοιστρογόνων στην υγεία (Lu et al. 2001). Τέλος, το 2000 η αυξημένη δημοτικότητα των τροφίμων σόγιας οδήγησε το USDA για πρώτη φορά στο να συμπεριλάβει το επεξεργασμένο με ασβέστιο τοφού και το γάλα σόγιας στις διαιτητικές οδηγίες ως καλές πηγές ασβεστίου (USDA 2000).

Η αυξημένη αναγνώριση των φυτοοιστρογόνων ως παραγόντων που μπορούν να ωφελήσουν την υγεία, σε συνδυασμό με τις ολοένα και αυξανόμενες έρευνες σχετικά με τις δράσεις τους, μπορούν τελικά να συμβάλουν στην αναγνώριση των καταστάσεων εκείνων που τα φυτοοιστρογόνα δρουν ή θα μπορούσαν να δράσουν θετικά.

Αξιοσημείωτο είναι μάλιστα ότι ήδη κυκλοφορούν συμπληρώματα φυτοοιστρογόνων, τα περισσότερα από τα οποία περιέχουν ισοφλαβόνες που προέρχονται από τη σόγια ή το κόκκινο τριφύλλι. Μία έρευνα στο διαδίκτυο τον Ιανουάριο του 2001 (Kurzer 2003) αποκάλυψε πως υπήρχαν περισσότερα από 50-100 διαφορετικά συμπληρώματα φυτοοιστρογόνων την συγκεκριμένη χρονική στιγμή, χωρίς να ληφθούν υπόψη τα συμπληρώματα πρωτεΐνης σόγιας. Οι κύριοι ισχυρισμοί που γίνονται για τα συμπληρώματα φυτοοιστρογόνων είναι η μείωση των

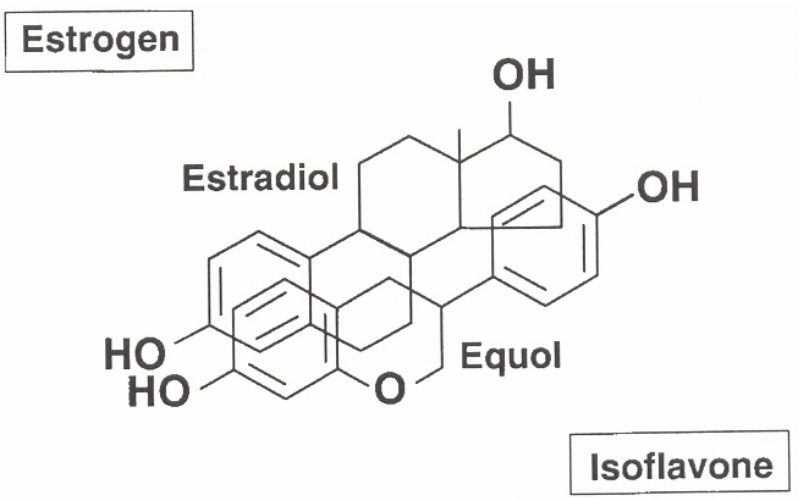
εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων, η προώθηση της καρδιαγγειακής και οστικής υγείας, και της καλής υγείας του στήθους. Οι ισχυρισμοί αυτοί αποτελούν και τους κύριους λόγους για τη λήψη φυτοοιστρογόνων από τις περι- και μετα- εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Kurzer 2003). Πάντως, σε γενικές γραμμές, οι πιθανοί στόχοι για τις θετικές επιδράσεις των φυτοοιστρογόνων συνοψίζονται στο σχήμα (Dixan & Ferreira 2002) που ακολουθεί.



Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση του πιθανού προστατευτικού ρόλου και μηχανισμού δράσης των φυτοοιστρογόνων κύρια στην μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση, που έχει αρχίσει να αποτελεί αντικείμενο έντονου ερευνητικού ενδιαφέροντος τα τελευταία χρόνια. Προτού όμως είμαστε σε θέση να ερμηνεύσουμε τα ευρήματα των υπαρχόντων μελετών, θα πρέπει να διευκρινίσουμε τι είδους ενώσεις είναι τα φυτοοιστρογόνα, να εντοπίσουμε τις διαιτητικές πηγές και τις χημικές μορφές τους, να μελετήσουμε τον μεταβολισμό τους και να αναγνωρίσουμε τις βιολογικές δράσεις τους. Μόνο έτσι θα είναι δυνατή η πληρέστερη κατανόηση των ενώσεων αυτών που καλούμε φυτοοιστρογόνα, καθώς και των πιθανών οστεοπροστατευτικών και άλλων δράσεών τους.

Μέρος 1ο

Γενικά για τα φυτοοιστρογόνα

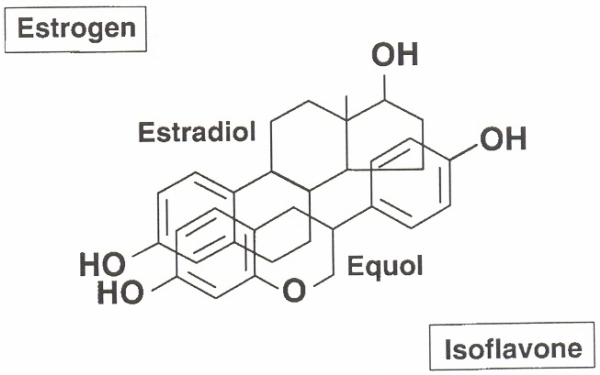


Κεφάλαιο 1

ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΦΥΤΟΟΙΣΤΡΟΓΟΝΩΝ

1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ

Τα φυτοοιστρογόνα αποτελούν μια ομάδα διαφορετικών ενώσεων, οι οποίες απαντώνται σε πληθώρα εδώδιμων φυτών και οι οποίες έχουν ως κοινό παρανομαστή μια φαινολική ομάδα. Η παρουσία της φαινολικής αυτής ομάδας φαίνεται να διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στον καθορισμό των οιστρογονικών αγωνιστικών/ ανταγωνιστικών ιδιοτήτων των ενώσεων αυτών (Humfrey 1998). Το κύριο μάλιστα χαρακτηριστικό τους είναι η δομική ομοιότητα της φαινολικής τους ομάδας με εκείνη της 17β-οιστραδιόλης (E_2) (Setchell 1984, Aliza Stark & Zacharia Madar 2002) (σχήμα 1.1.1), στην οποία μπορεί να αποδοθεί η προστατευτική δράση των φυτοοιστρογόνων ενάντια σε μια σειρά παθήσεων, συμπεριλαμβανομένων της οστεοπόρωσης, των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων, των καρδιαγγειακών νοσημάτων και διαφόρων τύπων καρκίνου (Messina et al. 1994, Adlercreutz & Mazur 1997, Brzezinski et al. 1997, Kurzer & Xu 1997, Bingham et al. 1998, Murkies et al. 1998, Chiechi 1999, Kurzer 2003, Dunkan 2003).



Σχήμα 1.1.1: Δομική ομοιότητα οιστρογόνων – φυτοοιστρογόνων (Kurzer & Xu 1997).

1.2 ΚΑΤΑΤΑΞΗ

1.2.α Βάσει της χημικής τους δομής

Τα φυτοοιστρογόνα ανήκουν στην ευρύτερη ομάδα των πολυφαινολών (polyphenols, PP), μια μεγάλη ομάδα ενώσεων με ένα ή περισσότερα υδροξύλια απευθείας συνδεδεμένα σε έναν ή περισσότερους αρωματικούς ή/ και ετεροκυκλικούς δακτυλίους. Οι πολυφαινόλες αποτελούν μια από τις πιο πολυπληθείς και ποικιλόμορφες από άποψης δομής κατηγορίες ενώσεων του φυτικού βασιλείου. Σήμερα είναι γνωστές περισσότερες από 8.000 πολυφαινόλες και συνήθως απαντώνται στη φύση συζευγμένες με υδατάνθρακες μέσω των υδροξυλίων τους. Τα συζευγμένα σάκχαρα μπορεί να είναι είτε μονοσακχαρίτες είτε δισακχαρίτες είτε ακόμη και ολιγοσακχαρίτες. Το πιο κοινό σάκχαρό, το οποίο απαντάται είναι η γλυκόζη. Άλλα σάκχαρα είναι η γαλακτόζη, η ξυλόζη, η αραβινόζη, τα γλυκουρονικά και γαλακτουρονικά οξέα, κλπ (Ανδρικόπουλος 2003).

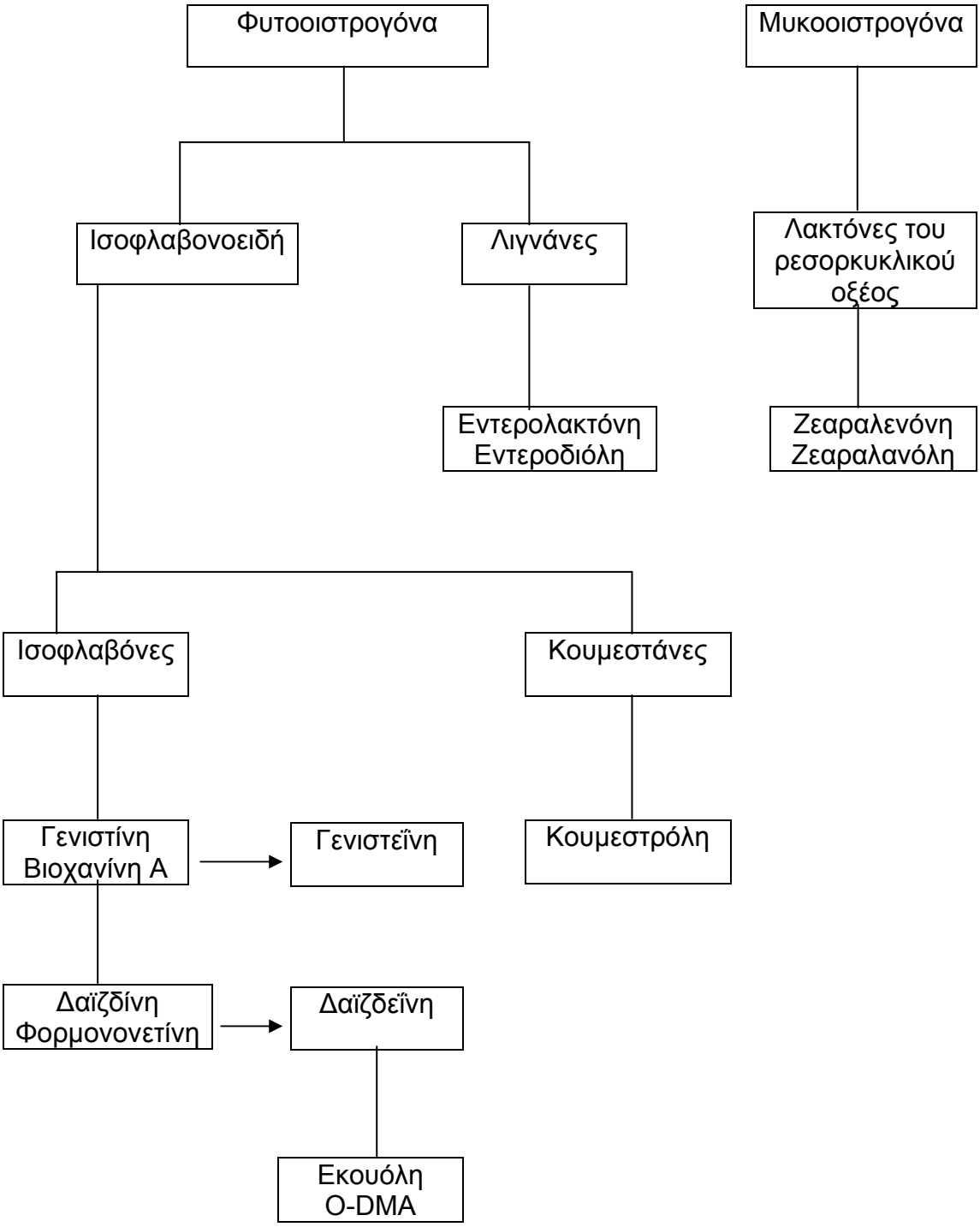
Οι πολυφαινολικές ενώσεις με βάση τη χημική τους δομή κατατάσσονται σε 10 κατηγορίες, η σημαντικότερη από τις οποίες είναι εκείνη των φλαβονοειδών (flavonoids) (κατάταξη κατά Harborne, Ανδρικόπουλος 2003). Τα φυτοοιστρογόνα, με βάση τη χημική τους δομή διακρίνονται σε δύο κύριες τάξεις και σε μία τρίτη, λιγότερο σημαντική, η οποία μάλιστα για λόγους που θα αναφερθούν στη συνέχεια, δεν θα αποτελέσει αντικείμενο της παρούσας μελέτης: (α) τα ισοφλαβονοειδή (isoflavonoids), που περιλαμβάνουν τις ισοφλαβόνες (isoflavones) (τα πιο ισχυρά και συνεπώς τα περισσότερο μελετημένα) και τις κουμεστάνες (coumestans), (β) τις λιγνάνες (lignans) και (γ) τις λακτόνες του ρεσορκυκλικού οξέος (resorcyclic acid lactones) (σχήμα 1.1.2). Οι λιγνάνες αποτελούν τη μία από τις δέκα κύριες τάξεις των πολυφαινολικών ενώσεων, και τα ισοφλαβονοειδή αποτελούν μία από τις υποκατηγορίες των φλαβονοειδών.

Συγκεκριμένα, οι ισοφλαβόνες και οι κουμεστάνες αναφέρονται μερικές φορές και ως ενδογενή οιστρογονικά συστατικά, επειδή εντοπίζονται μέσα στο ίδιο το φυτό. Αντιθέτως, οι οιστρογονικώς ενεργά λιγνάνες σχηματίζονται από τη

δράση της εντερικής μικροχλωρίδας στις πρόδρομες φυτικές ενώσεις των λιγνανών. Μαζί μάλιστα με τις ισοφλαβόνες αποτελούν την ομάδα των φυτοπροστατευτικών φαινολών.

Η τρίτη κατηγορία των φυτοοιστρογόνων, δηλαδή οι λακτόνες του ρεσορκυκλικού οξέος, δεν αποτελούν ενδογενή συστατικά των φυτών, αλλά δευτερογενείς μεταβολίτες ποικίλων ειδών μυκήτων, κυρίως του *Fusarium*, οι οποίοι αποτελούν κοινούς οργανισμούς του εδάφους που αναπτύσσονται στα κακώς αποθηκευμένα σιτηρά, τα σπορέλαια και τον σανό (Davis et al. 1999). Συγκεντρώνονται κυρίως στον φλοιό του σπόρου, ο οποίος συνήθως απομακρύνεται κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας των σπόρων. Από τις ενώσεις αυτές εκείνες οι οποίες έχουν αναγνωριστεί ότι διαθέτουν οιστρογονική δραστηριότητα είναι η ζεαραλενόνη (zearalenone) και τα ισομερή α- και β- ζεαραλανόλη (zearalanol). Οι ενώσεις αυτές αναφέρονται ως μυκοοιστρογόνα (Price and Fenwick 1985) και εφόσον δεν απαντώνται σε φυτά δεν θα συζητηθούν στη μελέτη αυτή.

Σχήμα 1.1.2: Κατάταξη των κύριων διαιτητικών φυτοοιστρογόνων.



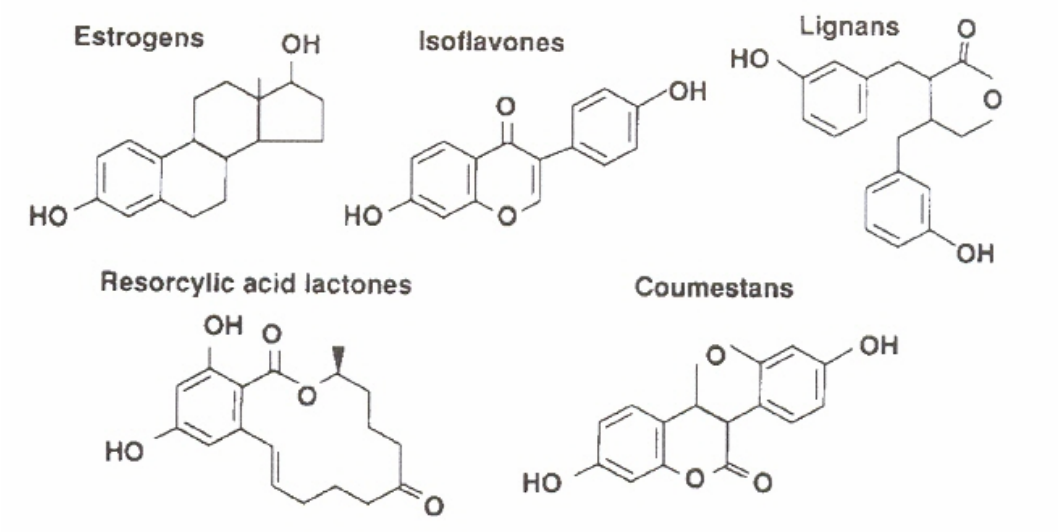
1.2.β Βάσει της σχέσης τους με τη διατροφή

Έχει αναγνωριστεί ότι η διατροφή του ανθρώπου περιέχει, εκτός από τα απαραίτητα μικρο- και μακρο- θρεπτικά συστατικά, μια σύνθετη ομάδα φυσικά προερχόμενων βιοενεργών μη θρεπτικών συστατικών (non-nutrients), τα οποία καλούνται φυτοχημικά (phytochemicals). Οι ενώσεις αυτές αν ενσωματωθούν στη διατροφή είτε φυσικά ως αναπόσπαστο μέρος του τροφίμου, είτε ως συμπλήρωμα τροφίμου, μπορεί να παρέχουν μακροπρόθεσμα σημαντικά οφέλη για την υγεία. Τα φυτοχημικά είναι ενώσεις που απαντώνται στα φυτά (φυσικής προέλευσης) και ο αριθμός τέτοιων ενώσεων που αναγνωρίζεται ότι έχουν βιολογική δραστικότητα αυξάνεται σημαντικά, καθώς οι επιδημιολογικές έρευνες εξακολουθούν να δείχνουν πιθανές θετικές συσχετίσεις μεταξύ της διατροφής και της υγείας του ανθρώπου. Τα πρόσφατα επιστημονικά δεδομένα κατατάσσουν τα φυτοοιστρογόνα στην κατηγορία των φυτοχημικών, μαρτυρώντας με αυτόν τον τρόπο τα πιθανά σημαντικά οφέλη τους για την υγεία του ανθρώπου (Murkies et al. 1999).

Κεφάλαιο 2

ΧΗΜΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ ΦΥΤΟΟΙΣΤΡΟΓΟΝΩΝ

Οι τρεις τάξεις των φυτοοιστρογόνων, δηλαδή οι δύο κύριες τάξεις τους (ισοφλαβονοειδή και λιγνάνες), αλλά και τα μυκοοιστρογόνα είναι ετεροκυκλικές φαινόλες. Οι οιστρογονικές και αντι-οιστρογονικές ιδιότητες που έχουν αποδοθεί στα φυτοοιστρογόνα οφείλονται στη δομική ομοιότητά τους με τα ενδογενή οιστρογόνα και συγκεκριμένα στη θέση της φαινολικής ομάδας (Setchell & Adlercreutz 1988, Doris Tham et al. 1998, Setchell & Cassidy 1999) (σχήμα 1.2.1). Σκοπός του παρόντος κεφαλαίου είναι η παρουσίαση των χημικών μορφών και των διαιτητικών πηγών των δύο κύριων τάξεων των φυτοοιστρογόνων, ξεκινώντας με τα ισοφλαβονοειδή, δηλαδή τις ισοφλαβόνες και τις κουμεστάνες, και καταλήγοντας με τις λιγνάνες.



Σχήμα 1.2.1: Σύγκριση της χημικής δομής μεταξύ αντιπροσωπευτικών ενώσεων των κύριων τάξεων των φυτοοιστρογόνων και του ενδογενούς οιστρογόνου, της οιστραδιόλης (Setchell & Cassidy 1999).

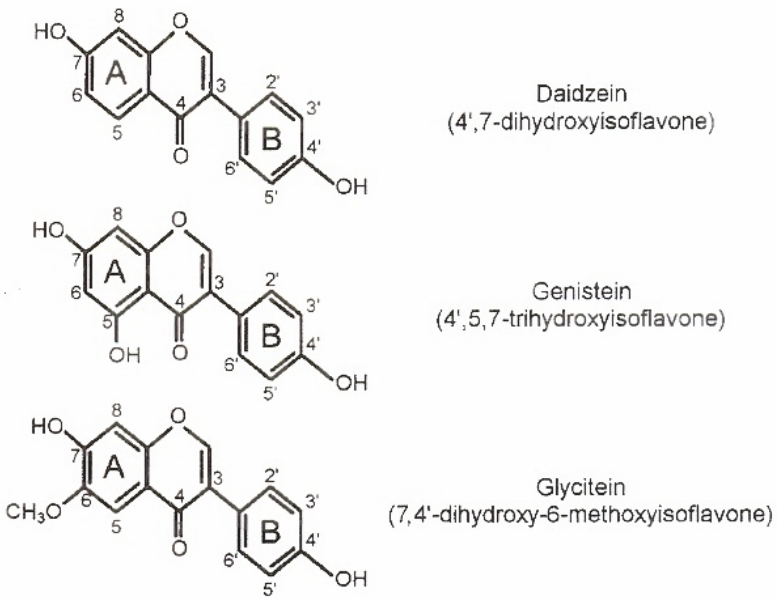
2.1 ΙΣΟΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ (ISOFLAVONOIDS)

2.1.1 ΙΣΟΦΛΑΒΟΝΕΣ

2.1.1.α Χημικές μορφές ισοφλαβονών

Οι ισοφλαβόνες αποτελούν την τάξη των φυτοοιστρογόνων που έχουν συγκεντρώσει το ενδιαφέρον των ερευνητών, με περισσότερο από 1000 τύπους ισοφλαβονών να έχουν αναγνωριστεί. Είναι ετεροκυκλικές ενώσεις, οι οποίες σχετίζονται δομικά με τα οιστρογόνα (Messina 1994, 1999). Το βασικό δομικό τους χαρακτηριστικό είναι ο φλαβονικός πυρήνας, ο οποίος συνίσταται από δυο βενζοϊκούς δακτυλίους (A και B), οι οποίοι συνδέονται μέσω ενός ετεροκυκλικού πυρανικού C δακτυλίου.

Οι πιο οιστρογονικά ενεργές ισοφλαβόνες και συνεπώς εκείνες που έχουν συγκεντρώσει το ενδιαφέρον των ερευνητών είναι η γενιστεΐνη (genistein), η δαϊζδεΐνη (daidzein) και η γλυκιτεΐνη (glycitein) (Price and Fenwick 1985, Davis 1999) (σχήμα 1.2.2).



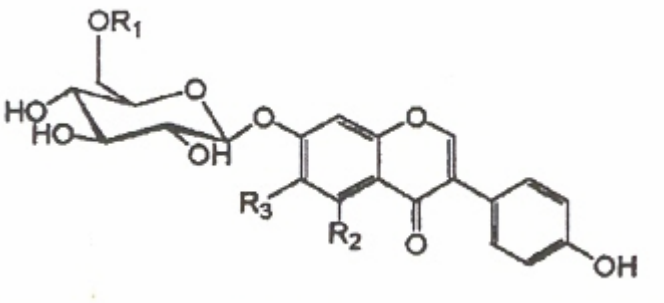
Σχήμα 1.2.2: Χημικές δομές των κυριότερων ισοφλαβονών (Messina 1999).

Καθεμία από τις ενώσεις αυτές ανευρίσκεται στα φυτά σε τέσσερις χημικές μορφές (σχήμα 1.2.3). Οι μη συζευγμένες μορφές ή αγλυκόνες, οι οποίες είναι και οι οιστρογονικά ενεργές, είναι η γενιστεΐνη, η δαϊζδεΐνη και η γλυκιτεΐνη, από τις οποίες η τελευταία απαντάται σε πολύ μικρότερες ποσότητες. Τρεις διαφορετικοί γλυκοζίτες έχουν αναγνωριστεί στη σόγια, οι οποίοι συνδέονται όμως όλοι στον C-7 της ισοφλαβόνης. Οι γλυκοζίτες αυτοί αποτελούν τη φυσική μορφή με την οποία απαντώνται οι ισοφλαβόνες στα τρόφιμα. Είναι πιθανό, ότι μπορεί να υπάρχουν πολλοί άλλοι διαφορετικοί γλυκοζίτες ισοφλαβονών, οι οποίοι όμως δεν έχουν ακόμη αναγνωριστεί. Τόσο η δαϊζδεΐνη όσο και η γενιστεΐνη φέρουν και άλλες υδροξυλικές ομάδες εκτός από εκείνη στον C-7, στις οποίες θα μπορούσαν να προσδεθούν με γλυκοζιτικό δεσμό γνωστά μονοσάκχαρα ή και άλλα σάκχαρα.

Επομένως, κάθε μία από τις ισοφλαβόνες αυτές απαντάται ως β-γλυκοζίτης – τα σάκχαρα προσαρμόζονται στη θέση 7 του Α δακτυλίου (δαϊζδίνη - daidzin, γενιστίνη - genistin, γλυκιτίνη - glycitin), ακετυλο-γλυκοζίτης και μαλονυλο-γλυκοζίτης. Άλλες σημαντικές οιστρογονικές μη συζευγμένες μορφές είναι η φορμονονετίνη (formononetin) και η βιοχανίνη Α (biochanin A), οι οποίες είναι οι 4-μεθυλ-εστέρες της δαϊζδεΐνης και της γενιστεΐνης αντίστοιχα, που απαντώνται στο κόκκινο τριφύλλι[1.1] (red clover) (Davis 1999, Wiseman 2002).

1.1 Το κόκκινο τριφύλλι (*Trifolium pratense*) είναι ένα άγριο είδος φυτού, το οποίο φυτρώνει σε λιβάδια της Ευρώπης, της Ασίας και της Βόρειας Αμερικής. Έχει χρησιμοποιηθεί στην πρακτική ιατρική για την αντιμετώπιση ενός εύρους παθήσεων, συμπεριλαμβανομένων του καρκίνου, της οστεοπόρωσης, της μαστίτιδας, διαταραχών των αρθρώσεων, βρογχίτιδας, άσθματος, ψωρίασης και εκζεμάτων. Τα κόκκινα (ή πορφυρά) λουλούδια στην άκρη κάθε διακλαδισμένου μίσχου θεωρούνται ως η πηγή των θεραπευτικών του ιδιοτήτων και συνήθως αποξηραίνονται πριν χρησιμοποιηθούν. Το κόκκινο τριφύλλι είναι πλούσια πηγή θρεπτικών συστατικών, όπως του ασβεστίου, του χρωμίου, του μαγνησίου, της νιασίνης, του φωσφόρου, του καλίου, της θειαμίνης και της βιταμίνης C. Θεωρείται ως μία από τις πλουσιότερες πηγές ισοφλαβονών (Internet).

Σχήμα 1.2.3: Χημικές δομές και μοριακά βάρη ισοφλαβονών (Wiseman 2002)



R1	R2	R3	Ένωση	Μοριακό βάρος
-	-	-	γενιστεΐνη	270
H	OH	H	γενιστίνη	432
$COCH_3$	OH	H	6-O-ακετυλγενιστίνη	474
$COCH_2COOH$	OH	H	6-O-μαλονυλγενιστίνη	518
-	-	-	δαϊζδεΐνη	254
H	H	H	δαϊζδίνη	416
$COCH_3$	H	H	6-O-ακετυλδαϊζδίνη	458
$COCH_2COOH$	H	H	6-O-μαλονυλδαϊζδίνη	502
-	-	-	γλυκιτεΐνη	284
H	H	OCH_3	γλυκιτίνη	446
$COCH_3$	H	OCH_3	6-O-ακετυλγλυκιτίνη	488
$COCH_2COOH$	H	OCH_3	6-O-μαλονυλγλυκιτίνη	532

2.1.1.β Διαιτητικές πηγές ισοφλαβονών

Οι ισοφλαβόνες είναι φυσικά συστατικά των <u>οσπρίων</u> (μαύρα φασόλια, σόγια, πράσινα μπιζέλια), καθώς επίσης των ξηρών καρπών και του τριφυλλιού. Άλλες σημαντικές πηγές είναι και τα δημητριακά ολικής άλεσης (πίνακας 1.2.1). Παρόλα αυτά, η συγκέντρωση τους είναι δυο φορές μεγαλύτερη στη σόγια από ότι στα άλλα όσπρια.

Για τον λόγο αυτό, τα τρόφιμα τα οποία βασίζονται στη σόγια αποτελούν την πλουσιότερη πηγή ισοφλαβονών όχι μόνο για τους ασιατικούς, αλλά και για τους δυτικούς πληθυσμούς (Mazur 1998, Liggins et al. 2000a,b). Αξίζει μάλιστα να αναφερθεί ότι οι καρποί της σόγιας χαρακτηρίζονται από την υψηλή περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνες και λίπος.

Πίνακας 1.2.1: Κατάταξη κυριότερων πηγών ισοφλαβονών (Murkies et al. 1998).

ΙΣΟΦΛΑΒΟΝΕΣ		
Όσπρια	**Προϊόντα σόγιας**	**Δημητριακά ολικής άλεσης**
Σόγια	Σογιάλευρο	Σιτάρι
Φακές	Τοφού (tofu)	Φύτρο σιταριού
Φασόλια	Γάλα σόγιας	Κριθάρι
• Χάρικοτ (haricot)[1.2]		Λυκίσκος
• Κουκιά		Σίκαλη
• Κόκκινα[1.3] (kidney)		Ρύζι
• Λίμα (lima)[1.4]		Πίτουρο
Μπιζέλια		Βρώμη

1.2 Φασόλια χάρικοτ (haricot beans): Τα ώριμα αποξηραμένα σπέρματα της κοινής φασολιάς (*Phaseolus vulgaris*).

1.3 Φασόλια κόκκινα (red kidney beans): Τα σπέρματα ποικιλίας της κοινής φασολιάς *Phaseolus vulgaris*. Έχουν ομοιόμορφο ερυθρό χρώμα, νεφροειδές σχήμα, γλυκιά γεύση και απαλή σύσταση. Τα φασόλια αυτά είναι ιδιαίτερα προσφιλή στο Μεξικό και χρησιμοποιούνται κυρίως στο chili con came, αλλά και σε πολλά εδέσματα των λαών της Καραϊβικής.

1.4 Φασόλια της Λίμα (lima beans): Τα σπέρματα του αναρριχώμενου φυτού *Phaseolus lunatus var. macrocarpus* της οικογένειας των Ψυχανθών. Χρησιμοποιούνται περισσότερο χλωρά, στη χώρα μας όμως διατίθενται κυρίως εγκυιωμένα.

1.2, 1.3, 1.4: Αλέξανδρος Καρδούλης 2003.

Σόγια και παράγωγα σόγιας

Η συγκέντρωση των ολικών ισοφλαβονών στις ωμές ποικιλίες σόγιας ποικίλει σημαντικά λόγω διαφορών σε γενετικούς παράγοντες, στις συνθήκες καλλιέργειας, στο κλίμα, στην τοποθεσία και στις γεωργικές πρακτικές (Liggins et al. 2000a,b). Έτσι, έχουν αναφερθεί τιμές, οι οποίες κυμαίνονται μεταξύ 580 και 3.810 mg/kg. Παρόλο που η επίδραση της θερμοκρασίας φαίνεται να αλλάζει τις σχετικές αναλογίες των ποικίλων γλυκοζιτών, κυρίως με τη μετατροπή των μαλονυλ- και των ακετυλ- γλυκοζιτών στους περισσότερο σταθερούς μη ακετυλιωμένους β-γλυκοζίτες, το συνολικό περιεχόμενο σε ισοφλαβόνες παραμένει σχετικά ανεπηρέαστο με το μαγείρεμα. Έτσι, μπορεί φαινομενικά οι ψητοί καρποί σόγιας να περιέχουν υψηλότερα επίπεδα ολικών ισοφλαβονών, αυτό όμως συμβαίνει λόγω της μειωμένης τους περιεκτικότητας σε νερό. Βέβαια, τα επίπεδα αυτά μπορεί να παρουσιάζουν μεγάλο εύρος (πίνακας 1.2.2), γεγονός το οποίο αποδίδεται περισσότερο στους παράγοντες που αναφέρθηκαν παραπάνω, παρά στην επίδραση της θερμοκρασίας.

Το σογιέλαιο παραλαμβάνεται από ολόκληρους καρπούς σόγιας, συνήθως είτε με εκχύλιση με εξάνιο είτε με πίεση. Οι ισοφλαβόνες δεν είναι διαλυτές στο εξάνιο ή τα λιπίδια και επομένως, το σογιέλαιο δεν περιέχει ισοφλαβόνες, σε αντίθεση με τις νιφάδες σόγιας που απομένουν μετά την απομάκρυνση των λιπιδίων από τους καρπούς σόγιας (residual oil-depleted soya flakes) και οι οποίες αποτελούν πλούσια πηγή ισοφλαβονών. Αυτές αποτελούν την πρώτη ύλη για τα συμπυκνώματα και υπερσυμπυκνώματα σόγιας (soya protein concentrates and isolates), τα οποία χρησιμοποιούνται για την παρασκευή πολλών προϊόντων σόγιας «δεύτερης γενιάς» (second-generation) (Fletcher 2003).

Οι τεχνικές επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή των εμπορικών συμπυκνωμάτων και υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας ποικίλουν σημαντικά. Η διαφορά στις τεχνικές επεξεργασίας έχει σημαντική επίδραση στα επίπεδα ισοφλαβονών του τελικού προϊόντος (πίνακας 1.2.2). Τα συμπυκνώματα σόγιας παραλαμβάνονται από αποφλοιωμένα και από αποελαιωμένα σπέρματα σόγιας, με εκχύλιση πρωτεϊνών είτε με νερό είτε με αλκοόλη. Περιλαμβάνουν το λιγότερο 65% πρωτεΐνη σε βάρος επί ξηρού. Τα υπερσυμπυκνώματα σόγιας παράγονται με παρόμοιο τρόπο, αλλά έχουν υψηλότερο ποσοστό πρωτεΐνης, επειδή μεγαλύτερο μέρος από τα μη-πρωτεϊνικά και ινώδη συστατικά απομακρύνεται με νερό ή με ήπια αλκαλική επεξεργασία. Περιλαμβάνουν το λιγότερο 90% πρωτεΐνη σε βάρος επί ξηρού.

Τα πλούσια σε πρωτεΐνη αυτά προϊόντα μπορούν με διάφορες κατεργασίες να αποκτήσουν ιδιότητες που μοιάζουν με εκείνες των φυσικών πρωτεϊνών, να αποκτήσουν δηλαδή υφή και σχήμα (επεξεργασμένη πρωτεΐνη, texturized protein). Αυτό γίνεται με με τους εξωθητές (extruders), συσκευές που η λειτουργία τους είναι να προσδίδουν στο τρόφιμο μορφή ή να προκαλούν ξήρανση, ζελατινοποίηση, αποστείρωση, ανάμειξη κλπ. Τέτοιες συσκευές βρίσκουν εφαρμογή στην παρασκευή πρωτεϊνικών συμπληρωμάτων, υποκατάστατων κρέατος κλπ. Όπου απαιτείται εκχύλιση με αλκοόλη, το περιεχόμενο του τελικού προϊόντος σε ισοφλαβόνες μειώνεται σημαντικά, καθώς οι περισσότερες ισοφλαβόνες είναι διαλυτές σε αλκοόλη (Wang & Murphy 1994a, Fletcher 2003). Αντιθέτως, απομάκρυνση με νερό έχει πολύ μικρότερη επίδραση στα επίπεδα ισοφλαβονών του τελικού προϊόντος.

Τα τελευταία χρόνια συμπυκνώματα σόγιας που προκύπτουν με εκχύλιση με διαλύτη είναι διαθέσιμα, με περιεκτικότητες μέχρι και 50% σε ισοφλαβόνες. Η κύρια εφαρμογή τους είναι η παραγωγή τροφίμων με βελτιωμένα επίπεδα ισοφλαβονών, αλλά με μηδαμινή επίδραση στη γεύση, την ποιότητα ή την τεχνολογική λειτουργία. Ωστόσο, παρά τα σημαντικά τεχνολογικά πλεονεκτήματα των συμπυκνωμάτων και υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας ως πηγών των φυτοοιστρογόνων, τα εν λόγω παρασκευάσματα έχουν βρει μικρή εφαρμογή στα ευρωπαϊκά τρόφιμα μέχρι σήμερα. Αυτό μπορεί να οφείλεται εν μέρει στους ρυθμιστικούς περιορισμούς που υφίστανται στην Ευρώπη, για να

διασφαλίζονται το δυνατόν οι θετικές επιδράσεις των τροφίμων στην υγεία των καταναλωτών. Επιπρόσθετα, η νομοθεσία ορισμένων χωρών απαγορεύει την προσθήκη θρεπτικών ουσιών ή συστατικών, όπως είναι τα συμπυκνώματα ισοφλαβονών στα τρόφιμα (Fletcher 2003).

Πίνακας 1.2.2: Περιεχόμενο συστατικών τροφίμων σόγιας σε ισοφλαβόνες (βάρος επί υγρού, Fletcher 2003).

Συστατικό	**Ολικές ισοφλαβόνες (mg/kg)**	**Αναφορά**
Καρποί σόγιας	560-3.810	Reinli & Block (1996), Adlercreutz & Mazur (1997), Liggins et al. (2000a,b)
Σογιάλευρο	830-1.780	Reinli & Block (1996)
Επεξεργασμένη πρωτεΐνη Σόγιας	701-1.184	Reinli & Block (1996), Adlercreutz & Mazur (1997), Liggins et al. (2000a,b)
Υπερσυμπυκνώματα σόγιας	466-615	Wang & Murphy (1994a)
Συμπυκνώματα σόγιας	561,1	Wang & Murphy (1994a)
Συμπυκνώματα ισοφλαβονών	1.000-400.000	Δεδομένα παρασκευαστή

Παραδοσιακά τρόφιμα σόγιας

Στις Ασιατικές κοινωνίες υπάρχει μια μακρά παράδοση παρασκευής τροφίμων από ολόκληρους καρπούς σόγιας ή από σογιάλευρο. Τα τρόφιμα αυτά αποτελούν σήμερα μέρος της διατροφής των Ευρωπαϊκών χωρών και είναι ευρέως διαθέσιμα. Παρόλα αυτά, εκτός από μία μικρή υποομάδα συχνών καταναλωτών, η μέση πρόσληψη τροφίμων που βασίζονται στη σόγια είναι προς το παρόν πολύ χαμηλή στην Ευρώπη (Valsta et al. 2003, van Erp-Baart et al. 2003).

Ορισμένες ποικιλίες σόγιας τρώγονται ως ολόκληροι καρποί, είτε μαγειρεμένοι (συνήθως βραστοί) είτε ωμοί. Η πρόσληψη νερού και σε μικρότερο βαθμό η απομάκρυνση ισοφλαβονών λόγω βρασμού είναι υπεύθυνη για την μείωση της συγκέντρωσης των ισοφλαβονών στα τρόφιμα αυτά, σε σχέση με τα ακατέργαστα φασόλια.

Στα παραδοσιακά τρόφιμα σόγιας συμπεριλαμβάνεται το τοφού (tofu), το οποίο είναι πήγμα γάλακτος σόγιας, το οποίο συμπιέζεται και παίρνει μορφή παραπλήσια με εκείνη του τυριού φέτα. Παρασκευάζεται με κατεργασία με χλωριούχο νάτριο και γάλα σόγιας. Στερείται ιδιαίτερης γεύσης, πλην όμως χρησιμοποιείται ευρέως στις χώρες της Άπω Ανατολής, ιδιαίτερα στην Ιαπωνία και την Κίνα (Καρδούλης 2003). Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, οι ισοφλαβόνες δεν είναι διαλυτές στα λιπίδια. Παρόλα αυτά, η συγκέντρωσή τους στο πλήρες σε λίπος τοφού και γάλα σόγιας έχει αναφερθεί να είναι υψηλότερη σε σχέση με τα μειωμένα σε λίπος έκδοχα (Coward et al. 1998). Το γεγονός αυτό μπορεί ενδεχομένως να αποδοθεί στην απομάκρυνση των ισοφλαβονών ως ένα πολύπλοκο οργανικό/ πολικό γαλάκτωμα κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας των χαμηλότερων σε λίπος εκδόχων.

Ορισμένα προϊόντα όπως το μίσο (πηχτή σούπα από σόγια, miso), η σάλτσα σόγιας και το τεπέ (σφιχτό κέικ από καλλιεργημένη σόγια, tempeh) παρασκευάζονται με ζύμωση, χρησιμοποιώντας ποικιλίες ζυμομυκήτων και βακτηρίων. Η φάση της ζύμωσης μπορεί να είναι εξαιρετικά παρατεταμένη, συχνά φτάνοντας αρκετούς μήνες ή και χρόνια. Η κύρια μορφή των ισοφλαβονών στα τρόφιμα που παραλαμβάνονται με τη μέθοδο αυτή είναι οι αγλυκόνες, εξαιτίας της υδρόλυσης των γλυκοζιτών από τους πιθανούς μικροοργανισμούς που χρησιμοποιούνται ή ακόμη και από τις γλυκοζιδάσες που ενδεχομένως περιέχονται στην ίδια τη σόγια. Οι διαφορές αυτές μπορεί να έχουν επίδραση στην απορρόφηση, τον μεταβολισμό και την υγεία του ανθρώπου (Fletcher 2003).

Τα επίπεδα ισοφλαβονών στα παραδοσιακά τρόφιμα σόγιας αντανακλούν κατά ένα μεγάλο βαθμό τη σύσταση των ωμών καρπών σόγιας, αλλά οι συγκεντρώσεις τους είναι συνήθως χαμηλότερες στο έτοιμο τρόφιμο, λόγω της διαλυτοποίησης από το νερό που χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας. Παρόλα αυτά, τα παραδοσιακά τρόφιμα σόγιας αποτελούν μια πλούσια πηγή ισοφλαβονών σε σχέση με άλλες διαιτητικές πηγές, όπως είναι ο αρακάς και άλλα όσπρια.

Πίνακας 1.2.3: Συγκέντρωση ισοφλαβονών σε παραδοσιακά τρόφιμα σόγιας (βάρος επί υγρού, Fletcher 2003).

Παραδοσιακό τρόφιμο	**Ολικές ισοφλαβόνες (mg/kg)**	**Αναφορά**
Ψητή σόγια	170-2.020	USDA-Iowa State University (2002)
Μίσο*	260-890	Reinli & Block (1996), Adlercreutz & Mazur (1997), Liggins et al. (2000a,b)
Τοφού	80-670	USDA-Iowa State University (2002)
Τεπέ*	69-625	USDA-Iowa State University (2002)
Αποξηραμένη σόγια (βραστή)	470	Liggins et al. (2000a,b)
Πράσινη σόγια (βραστή)	550	Franke et al. (1995, 1998)
Βλαστάρια σόγιας	250-530	USDA-Iowa State University (2002)
Γάλα σόγιας	13-211	Reinli & Block (1996)
Σάλτσα σόγιας*	13-75	Reinli & Block (1996)
Αρακάς (ωμός)	0-73	USDA-Iowa State University (2002) Liggins et al. (2000a,b)

USDA, United States Department of Agriculture

* έχει υποστεί ζύμωση κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας

Τρόφιμα σόγιας «δεύτερης γενιάς»

Παράλληλα με τα παραδοσιακά τρόφιμα τα οποία αναφέρθηκαν παραπάνω, στην Ευρώπη ολοένα και αυξάνεται η ζήτηση για τρόφιμα σόγιας, τα οποία όχι μόνο παρέχουν οφέλη για την υγεία, αλλά είναι και σε μια πιο οικεία και εύγεστη μορφή. Τα προϊόντα αυτά, τα οποία αποκαλούνται τρόφιμα σόγιας «δεύτερης γενιάς» (Wang & Murphy 1994a, Fletcher 2003), μπορούν να παρασκευαστούν από ολόκληρους καρπούς σόγιας, αλεύρι ή τοφού, αλλά μπορεί επίσης να περιέχουν συμπυκνώματα ή υπερσυμπυκνώματα σόγιας. Τα τεχνολογικά και οικονομικά οφέλη των προϊόντων αυτών, καθιστούν δυνατή την παραγωγή μιας μεγαλύτερης ποικιλίας τροφίμων σόγιας που θα παρέχουν πιθανές θετικές επιδράσεις στην υγεία, αλλά χωρίς να υστερούν σε γεύση σε σχέση με τα πιο γνωστά τρόφιμα.

Τα προϊόντα αυτά παίρνουν σε μεγάλο μέρος τη μορφή αναλόγων Δυτικών τροφίμων, κυρίως γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως γάλακτος, γιαουρτιού και τυριών, καθώς και προϊόντων κρέατος, όπως κοτόπουλου, λουκάνικου, μπέικον και πατέ. Το περιεχόμενο σε ισοφλαβόνες τέτοιων τροφίμων ενδέχεται να είναι τόσο υψηλό όσο στα περισσότερα παραδοσιακά τρόφιμα. Ωστόσο, παρασκευάζονται συνήθως ως εναλλακτικά για φυτοφάγους και σπάνια ως πηγή ισοφλαβονών *per se*. Το περιεχόμενο σε ισοφλαβόνες των τροφίμων «δεύτερης γενιάς» ποικίλει σημαντικά και επηρεάζεται από τη συγκέντρωση των ισοφλαβονών στο αρχικό συστατικό σόγιας, τη διαλυτοποίηση από άλλα συστατικά, όπως είναι το άλευρο γλουτένης, τα δημητριακά ή γαλακτοκομικά προϊόντα και σε μικρότερο βαθμό από την επακόλουθη επεξεργασία. Παραδείγματα προϊόντων σόγιας «δεύτερης γενιάς δίνονται στον πίνακα 1.2.4.

Ορισμένα είδη ψωμιού παρασκευάζονται από σημαντικά ποσά σογιάλευρου και άλλων συστατικών και μπορεί να αποτελούν σημαντική πηγή ισοφλαβονών. Παρόλα αυτά, ελάχιστα ή και καθόλου αναλυτικά δεδομένα είναι διαθέσιμα. Ένα παράδειγμα τέτοιου ψωμιού, το οποίο παρασκευάζεται στην Ολλανδία, περιλαμβάνει τέτοια ποσότητα συμπυκνώματος ισοφλαβονών σόγιας, ώστε να περιέχονται περίπου 50 mg ανά μερίδα (Fletcher 2003).

Πίνακας 1.2.4: Περιεχόμενο ισοφλαβονών σε τρόφιμα σόγιας «δεύτερης γενιάς» (βάρος επί υγρού, Fletcher 2003).

Τρόφιμα «δεύτερης γενιάς»	**Ολικές ισοφλαβόνες (mg/kg)**	**Αναφορά**
Κιμάς σόγιας με κρεμμύδι	745-894	Manufactures data
Κιμάς σόγιας	533-3.000	Manufactures data
Γιαούρτι από τοφού	164	Wang & Murphy (1994a)
Hot dog από σόγια	150	Wang & Murphy (1994a)
Μπέικον σόγιας	122	Wang & Murphy (1994a)
Τυρί σόγιας*	34-109	Manufactures' data

* έχει υποστεί ζύμωση κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας

Συστατικά σόγιας σε ευρωπαϊκά τρόφιμα

Παράλληλα με τα τρόφιμα «δεύτερης γενιάς», τα παράγωγα σόγιας χρησιμοποιούνται ευρέως στα τρόφιμα σε ποικίλες συγκεντρώσεις για διατροφικούς, τεχνολογικούς και οικονομικούς λόγους. Ως παράδειγμα αναφέρεται η χρήση επεξεργασμένης πρωτεΐνης σόγιας ως συμπλήρωμα κρέατος σε ορισμένα εμπορικά παρασκευασμένα προϊόντα κρέατος, καθώς και η προσθήκη χαμηλών επιπέδων συστατικών σόγιας στο ψωμί, προκειμένου να βελτιωθεί η υφή και η ποιότητά του. Η διατροφική σημασία τροφίμων, τα οποία περιέχουν σχετικά χαμηλά επίπεδα φυτοοιστρογόνων σόγιας και τα οποία καταναλώνονται ευρέως είναι δύσκολο να εκτιμηθεί. Αυτό οφείλεται εν μέρει στην έλλειψη κατάλληλων τεχνικών για τη διατροφική ανάλυση σημαντικού αριθμού τροφίμων (Fletcher 2003).

Άλλες πηγές ισοφλαβονών

Μέχρι τώρα παρατηρήσαμε πως οι πλουσιότερες πηγές ισοφλαβονών είναι η σόγια και άλλα όσπρια. Τα τρόφιμα αυτά όμως, αποτελούν ένα μικρό μόνο μέρος της «Δυτικής Διατροφής», και προκειμένου να είμαστε σε θέση να εκτιμήσουμε την επίδραση των φυτοοιστρογόνων στην υγεία ενός πληθυσμού είναι απαραίτητο να γνωρίζουμε τις συγκεντρώσεις τους και σε άλλα τρόφιμα. Η έλλειψη μάλιστα επαρκών πληροφοριών σχετικά με το περιεχόμενο των τροφίμων σε φυτοοιστρογόνα, ευθύνεται για τον περιορισμένο αριθμό επιδημιολογικών ερευνών. Έτσι, μικρές συγκεντρώσεις φυτοοιστρογόνων έχουν μετρηθεί σε αρκετά φρούτα και λαχανικά, καθώς επίσης και στον καφέ (Mazur et al. 1998), το τσάι (Mazur et al. 1998), την μπύρα (Lapcik et al. 1998) και το κρασί (Mazur 1998), τα οποία καταναλώνονται συχνά από τους Δυτικούς πληθυσμούς.

Λαχανικά

Η πρώτη εις βάθος περιγραφή της περιεκτικότητας των λαχανικών σε ισοφλαβόνες (συγκεκριμένα γενιστεΐνης και δαϊζδεΐνης), έγινε από τους Liggins et al. 2000. Τα δεδομένα που προκύπτουν από την έρευνα αυτή, δεν έχουν ως σκοπό να παρέχουν μια οριστική συγκέντρωση φυτοοιστρογόνων για ένα συγκεκριμένο τρόφιμο, αφού η φυσική ποικιλομορφία μπορεί να είναι σημαντική, γεγονός που έχει παρατηρηθεί και στη σόγια (Wang & Murphy 1994, Reinli & Block 1996, Gang et al. 1997, Lers et al. 1998, Mazur et al. 1998). Συγκεκριμένα, ετοιμάστηκαν 114 δείγματα από λαχανικά, τα οποία αποτελούν μέρος της συνηθισμένης διατροφής στην Ευρώπη. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε περιλάμβανε την απομάκρυνση των γλυκοζιτών των φυτοοιστρογόνων γενιστεΐνης και δαϊζδεΐνης από τα αποξηραμένα τρόφιμα σε υγρή μεθανόλη. Η ποσοτικοποίηση των ισοφλαβονών έγινε με GC-MS (αέριος χρωματογραφία), μετά την υδρολυτική απομάκρυνση όλων των συζευγμένων υδρογονανθράκων. Η ολοκλήρωση της απομάκρυνσης και τυχόν απώλειες

ισοφλαβονών λήφθηκαν υπόψη, με τη χρήση συνθετικής γενιστίνης και δαϊζδίνης ως εσωτερικά πρότυπα (internal standards), οι οποίες μάλιστα προστέθηκαν σε τέτοιες υπολογίσιμες ποσότητες, ώστε να δώσουν την ίδια συγκέντρωση γενιστεΐνης και δαϊζδεΐνης που υπήρχε στο αρχικό τρόφιμο.

Από τα 114 τρόφιμα που μελετήθηκαν, τα 48 δεν περιείχαν μετρήσιμες ποσότητες γενιστεΐνης ή δαϊζδεΐνης, τα 41 περιείχαν λιγότερο από 100 μg/kg και των δυο ισοφλαβονών μαζί, και τα υπόλοιπα 25 περισσότερο από αυτό το ποσό. Ο πίνακας Α (παράρτημα) παρουσιάζει το περιεχόμενο της γενιστεΐνης και δαϊζδεΐνης των λαχανικών και των φυτικών προϊόντων (και σε ξηρό βάρος και σε βάρος επί υγρού). Επίσης, περιλαμβάνει το ποσοστό της αποκατάστασης των εσωτερικών προτύπων που προσδιορίστηκαν με τα δείγματα. Οι αποκαταστάσεις κυμάνθηκαν από 70% έως 109%.

Διακρίθηκαν τρεις ομάδες (σχήμα Α - παράρτημα). Από αυτές, όπως ήταν αναμενόμενο, τα προϊόντα σόγιας περιείχαν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις ($5x10^5$ – $14x10^5$ μg δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης/kg υγρού βάρους τροφίμου), οι οποίες μάλιστα ήταν δυο φορές μεγαλύτερες από την αμέσως επόμενη πλουσιότερη πηγή (των οσπρίων) ($2\text{-}6x10^3$). Η τρίτη ομάδα (υπόλοιπα λαχανικά) περιείχε μέχρι 8 μg/kg. Στην τελευταία αυτή ομάδα ανήκαν κατά σειρά υψηλότερης συγκέντρωσης, οι πατάτες (ωμές), οι μπάμιες (ωμές), σελινόριζα (ωμή), γλυκό καλαμπόκι (ωμό), πατάτες (βραστές), λάχανο (ωμό), λάχανο (βραστό), μανιτάρια, αγγούρι και άλλα τα οποία παρουσιάζονται αναλυτικά στο σχήμα Α. Όσον αφορά την επίδραση του βρασμού, γενικά προκάλεσε μια μείωση στη συγκέντρωση (σε βάρος επί υγρού) της δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης. Η αύξηση που παρατηρήθηκε σε τέσσερα τρόφιμα είναι, εντούτοις, σχετικά μικρή και θα μπορούσε να αποδοθεί σε πειραματικό λάθος.

Ο πίνακας 1.2.5 συγκρίνει τις συγκεντρώσεις της δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης που αναφέρονται εδώ, με τις συγκεντρώσεις τους στα ίδια τρόφιμα, οι οποίες όμως έχουν δημοσιευτεί από άλλους ερευνητές. Τα αποτελέσματα του πίνακα συμπίπτουν σε μεγάλο βαθμό με τις δημοσιευμένες τιμές. Μικρές, αλλά και μεγαλύτερες αποκλίσεις στις συγκεντρώσεις μπορούν να αποδοθούν είτε σε

φυσική ποικιλομορφία είτε σε διαφορετικές τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν για την ποσοτικοποίηση.

Πίνακας 1.2.5: Σύγκριση συγκεντρώσεων δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης (μg/kg) σε λαχανικά και προϊόντα λαχανικών που εκτιμήθηκαν από τους Liggins et al. 2000 με προηγούμενες μελέτες*.

	Liggins et al. 2000		**Άλλες έρευνες**	
Τρόφιμο	**Δεϊζδεΐνη**	**Γενιστεΐνη**	**Δεϊζδεΐνη**	**Γενιστεΐνη**
Σόγια, ωμή	$58x10^4$	$84x10^4$	$33x10^4$ [α]	$48x10^4$ [α]
Σόγια, ωμή (ww)	$58x10^4$	$84x10^4$	$54x10^4$ [β]	$84x10^4$ [β]
Σόγια, βραστή (ww)	$15x10^4$	$32x10^4$	$20x10^4$ [β]	$31x10^4$ [β]
Μίσο	$59x10^4$	$67x10^4$	$14x10^4$ [γ]	$15x10^4$ [γ]
Μίσο (ww)	$59x10^4$	$67x10^4$	$19x10^4$ [γ]	$31x10^4$ [γ]
Βλαστάρια φασολιών (μούνγκο)	$39x10^3$	$68x10^4$	$8x10^3$ [γ] nd [δ]	$19x10^3$ [γ] nd [δ]
Κουκιά	70	60	240 [α]	tr [α]
Μπρόκολο, σελινόριζα	nd	nd	50 [γ]	70 [γ]
Καρότο	nd	nd	20 [γ]	20 [γ]
Μύρτιλλο μακρόκαρπο (Cranberry) [1.5]	50	210	0 [γ]	0 [γ]
Μπιζέλια (chic peas)	480	770	110 [γ]	760 [γ]
Πράσινα μπιζέλια (green split pea)	130	350	80 [α] $73x10^3$ [δ]	tr [α] nd [δ]
Φασόλια χάρικοτ	130	110	140 [α]	$4x10^3$ [α]
Αλεύρι από βρώμη	nd	nd	0 [γ]	0 [γ]
Φασόλια μούνγκο [1.6]	50	110	100 [γ] nd [δ]	$4x10^3$ [γ] nd [δ]
Μανιτάρια	10	210	200 [γ]	1170 [γ]
Κόκκινα φασόλια	190	210	80 [α]	70 [α]

nd: not detected - μη ανιχνεύσιμο, tr: οι ισοφλαβόνες αναγνωρίστηκαν, αλλά δεν ήταν δυνατόν να ποσοτικοποιηθούν, ww: wet weight - υγρό βάρος

***** Οι συγκεντρώσεις εκφράζονται επί ξηρού βάρους, διαφορετικά αναγράφεται.

[α] Mazur et al. (1998), [β] Reinli et al. (1996), [γ] Adlercreutz & Mazur (1997), [δ] Franke et al. (1994)

1.5 Φρούτο για την παρασκευή χυμού μύρτιλλου, σαλτσών, ζελέδων, ντρέσινγκ, παγωτών, σορμπέ κ.α. (Αλέξανδρος Καρδούλης 2003).

1.6 Τα σπέρματα του αναρριχώμενου φυτού *Vigna radiate* (=*Phaseolus aureus*) της Οικογένειας των Χενδρωπών. Τα λουβιά του είναι χνουδωτά και φέρουν σπέρματα με χρώμα που ποικίλει από το πράσινο μέχρι το μαύρο. Χρησιμοποιούνται νωπά ως λαχανικά και αποξηραμένα, ολόκληρα ή σπασμένα. Ως όσπριο είναι ιδιαίτερα γνωστό στην ινδική κουζίνα. Από το αλεύρι τους παράγονται τα κινέζικα λαζάνια και από τα σπέρματά τους τα φύτρα οσπρίων (Αλέξανδρος Καρδούλης 2003).

Φρούτα και ξηροί καρποί

Η μοναδική πηγή πληροφοριών για το περιεχόμενο των φρούτων και των ξηρών καρπών σε ισοφλαβόνες (συγκεκριμένα δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης) είναι από τους Liggins et al. 2000. Οι περισσότερες δημοσιευμένες έρευνες σχετικά με τη συγκέντρωση των φυτοοιστρογόνων περιορίζονται σε έναν μικρό αριθμό τροφίμων, τα περισσότερα από τα οποία είναι πλούσιες πηγές. Πηγές με χαμηλή περιεκτικότητα σε φυτοοιστρογόνα μπορεί να απαντώνται πιο συχνά σε ορισμένους διατροφικούς συνδυασμούς και αθροιστικά οι χαμηλές συγκεντρώσεις μπορεί να έχουν σημαντικές επιδράσεις στην υγεία. Τα τρόφιμα, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την έρευνα αποτελούν μέρος της συνηθισμένης διατροφής των Ευρωπαίων. Ογδόντα συνολικά φρούτα και ξηροί καρποί αναλύθηκαν για το περιεχόμενό τους σε δαϊζδεΐνη και γενιστεΐνη, από τα οποία τα 36 περιείχαν μετρήσιμες ποσότητες. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την ποσοτικοποίησή τους είναι ίδια με εκείνη που αναφέρθηκε στην προηγούμενη παράγραφο για τα λαχανικά. Ο πίνακας Β (παράρτημα) παρουσιάζει το περιεχόμενο ποικίλων φρούτων και ξηρών καρπών σε δαϊζδεΐνη και γενιστεΐνη (τόσο σε βάρος επί ξηρού όσο και επί υγρού). Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η δαϊζδεΐνη και η γενιστεΐνη απαντώνται σε ποικιλία φρούτων και ξηρών καρπών σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 1 έως 2.250 μg γενιστεΐνης και δαϊζδεΐνης/kg υγρού βάρους τροφίμου.

Από τα 36 τρόφιμα που περιείχαν μετρήσιμες ποσότητες δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης, οι μαύρες σταφίδες (Κορινθιακή, currants) και οι σταφίδες (raisins) ήταν οι πλουσιότερες πηγές, περιέχοντας 2.250 και 1.840 μg/kg υγρού βάρους αντίστοιχα. Τα υπόλοιπα 34 τρόφιμα περιείχαν μεταξύ 1 και 250 μg/kg υγρού βάρους. Το σχήμα Β (παράρτημα) συγκρίνει τη συνολική συγκέντρωση δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης στα 36 τρόφιμα, τα οποία περιέχουν μετρήσιμες ποσότητες ισοφλαβονών. Τρεις ποικιλίες φυστικιών αναλύθηκαν και όλες είχαν συγκεντρώσεις δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης (100-240 μg/kg) στο υψηλότερο άκρο του σχήματος, μεταξύ των 10 πλουσιότερων πηγών. Παρόλα αυτά,

άλλοι μη οσπριοειδείς (non-leguminous) ξηροί καρποί περιείχαν ποικίλες συγκεντρώσεις και μάλιστα σε τρεις από αυτούς δεν ανιχνεύτηκε καμία από τις ισοφλαβόνες.

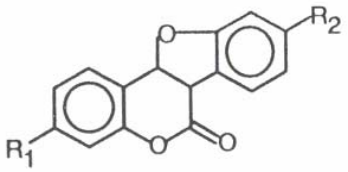
Πολλά από τα τρόφιμα, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την έρευνα αυτή είχαν υποστεί κάποιου είδους επεξεργασία πριν από την αγορά τους. Είναι επομένως πιθανό, ότι κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας τους μπορεί να ήρθαν σε επαφή με άλλα τρόφιμα τα οποία περιέχουν δαϊζδεΐνη και γενιστεΐνη. Στα σταφύλια δεν παρατηρήθηκαν ανιχνεύσιμες ποσότητες δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης (πίνακας Β - παράρτημα), αλλά αυτό μπορεί να οφείλεται στις διαφορές στην ποικιλία μεταξύ των φρούτων που τρώγονται είτε ωμά είτε αποξηραμένα.

Συμπερασματικά, σε ό,τι αφορά τα φρούτα και τους ξηρούς καρπούς που περιέχουν δαϊζδεΐνη και γενιστεΐνη, οι συγκεντρώσεις τους ήταν σημαντικά όμοιες με εκείνες των λαχανικών, αλλά μεγαλύτερη αναλογία λαχανικών περιείχαν τις ισοφλαβόνες αυτές. Προφανώς, η προσθήκη έστω και μικρής ποσότητας ενός προϊόντος σόγιας στη διατροφή, θα εκθέσει τον καταναλωτή σε σημαντικές συγκεντρώσεις δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης. Παρόλα αυτά, τα φρούτα, οι ξηροί καρποί και τα λαχανικά περιέχουν ένα μεγάλο εύρος των ενώσεων αυτών και συνεισφέρουν στην καθημερινή διαιτητική πρόσληψη.

2.1.2 ΚΟΥΜΕΣΤΑΝΕΣ

2.1.2.α Χημικές μορφές κουμεστανών

Οι κουμεστάνες είναι στενά δομικά συγγενείς ενώσεις με τις ισοφλαβόνες και από τις ποικίλες που έχουν καταγραφεί έως σήμερα, η κουμεστρόλη (coumestrol) και η 4΄-μεθοξυκουμεστρόλη (4΄-methoxycoumestrol) είναι εκείνες που απαντώνται πιο συχνά (σχήμα 1.2.4), οι οποίες μάλιστα εμφανίζουν οιστρογονική δραστηριότητα.



Κουμεστάνες	**R_1**	**R_2**
Κουμεστρόλη	OH	OH
4΄-μεθοξυκουμεστρόλη	OH	OCH_3

Σχήμα 1.2.4: Οι χημικές δομές της κουμεστρόλης και της 4΄-μεθοξυκουμεστρόλης, δυο οιστρογονικών κουμεστανών που απαντώνται στο αλφάλφα, σε ορισμένα είδη τριφυλλιού και σε άλλα σπαρτά (Kurzer & Xu, 1997).

2.1.2.β Διαιτητικές πηγές κουμεστανών

Οι πιο σημαντικές διαιτητικές πηγές των κουμεστανών είναι βλαστάρια τριφυλλιού και αλφάλφα, τα οποία έχουν περιεκτικότητα σε κουμεστρόλη 5,6 και 0,7 mg/g ξηρού βάρους, αντίστοιχα. Μπιζέλια, καρποί από φασόλια λίμα και βλαστάρια σόγιας, επίσης περιέχουν μικρές ποσότητες κουμεστρόλης (15-80 μg/g ξηρού βάρους) (Kurzer & Xu 1997, Davis et al. 1999). Οι κυριότερες πηγές των κουμεστανών μπορούν να ταξινομηθούν σε πίνακα ως εξής (Murkies et al. 1998):

Πίνακας 1.2.6: Κυριότερες διαιτητικές πηγές κουμεστανών (Murkies et al. 1998).

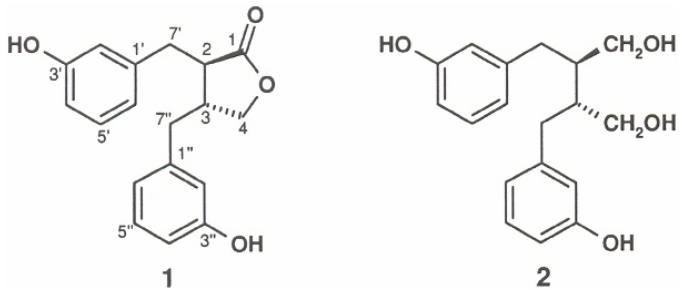
ΚΟΥΜΕΣΤΑΝΕΣ		
Αλκοολικές πηγές	**Βλαστάρια φασολιών**	**Σπαρτά**
Μπύρα από λυκίσκο	Σόγια	Αλφάλφα
Ουίσκι από καλαμπόκι		Τριφύλλι

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 1.2.6, οι πηγές των κουμεστανών δεν αποτελούν τρόφιμα, τα οποία καταναλώνονται συχνά στις Δυτικές κοινωνίες. Εξάλλου, όπως αναφέρθηκε, η συγκέντρωσή τους στις πηγές αυτές είναι αρκετά χαμηλή. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με το ότι ο μεταβολισμός τους είναι ελάχιστα μελετημένος στους ανθρώπους, καθιστά τις ισοφλαβόνες και τις λιγνάνες ως τις περισσότερο και καλύτερα μελετημένες κατηγορίες φυτοοιστρογόνων.

2.2 ΛΙΓΝΑΝΕΣ

2.2.α Χημικές μορφές λιγνανών

Οι λιγνάνες αποτελούν την τάξη εκείνη των φυτοοιστρογόνων, η οποία χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενός 2,3 διβενζυλοβουτανικού (2,3 dibenzylobutane) σκελετού και εμφανίζονται στα φυτά κύρια με τη μορφή γλυκοζιτών (Michell Waren 2002). Οι δυο πιο σημαντικές λιγνάνες που έχουν αναγνωριστεί στο πλάσμα, τα ούρα, τη χολή και τα σπερματικά υγρά του ανθρώπου είναι η trans-2,3-δι(3-υδροξυβενζυλ)-γ-βουτυρολακτόνη [trans-2,3-bis(3-hydroxybenzyl)-γ-butyrolactone] (εντερολακτόνη, enterolactone, ENL, **1**) και η 2,3-δι(3-υδροξυβενζυλο)βουτανο-1,4-διόλη [2,3–bis(3-hydroxybenzyl) butane-1,4-diol] (εντεροδιόλη, enterodiol, END, **2**) (σχήμα 1.2.5) (Li-Quan Wang 2002). Επειδή οι ενώσεις αυτές παράγονται από τα ζώα και δεν αποτελούν ενδογενή συστατικά των φυτών, χαρακτηρίζονται συνήθως ως λιγνάνες των θηλαστικών (mammalian lignans) για να διακρίνονται από τις λιγνάνες των φυτών. Η δομική διαφορά των λιγνανών των θηλαστικών από τις φυτικές λιγνάνες είναι ότι έχουν φαινολικές υδροξυλικές ομάδες σε meta-θέση μόνο στους αρωματικούς τους δακτυλίους. Όπως και τα άλλα φυτοοιστρογόνα, οι λιγνάνες των θηλαστικών μπορεί να παίζουν ρόλο στην προστασία από οιστρογονοεξαρτώμενες παθήσεις (Adlercreutz & Mazur 1997, Mazur et al. 1998b, Wutke et al. 2003). Παρόλα αυτά, οι βιολογικές επιδράσεις των λιγνανών στην υγεία του ανθρώπου, έχουν τύχει μικρής προσοχής μέχρι σήμερα σε σχέση με τις αντίστοιχες των ισοφλαβονών.



Σχήμα 1.2.5: Χημικές δομές εντερολακτόνης και εντεροδιόλης (Li-Quan Wang 2002).

Η εντερολακτόνη και η εντεροδιόλη σχηματίζονται από την επίδραση βακτηρίων του εντερικού σωλήνα στις πρόδρομες φυτικές λιγνάνες ματαϊρεσινόλη (matairesinol, MAT, **3**) και σεκοϊσολαρικιρεσινόλη (secoisolariciresinol, SECO, **4**), οι οποίες απαντώνται σε πληθώρα δημητριακών ολικής άλεσης (κριθάρι, σίκαλη και σιτάρι), σπόρους, ξηρούς καρπούς, όσπρια και λαχανικά. Από το 1980 που αναγνωρίστηκαν οι δύο αυτές λιγνάνες των θηλαστικών, έλαβαν μεγάλη προσοχή λόγω των οιστρογονικών βιολογικών ιδιοτήτων τους και των αλληλεπιδράσεών τους με ποικίλα ένζυμα και πρωτεΐνες (Li-Quan Wang 2002).

Ο κύριος ρόλος των φυτικών λιγνανών είναι η συμμετοχή τους στον σχηματισμό λιγνίνης των φυτικών κυτταρικών τοιχωμάτων. Σε σχέση με τις ισοφλαβόνες, οι λιγνάνες είναι περισσότερο διαδεδομένες στο φυτικό βασίλειο. Όπως αναφέρθηκε, οι κυριότερες λιγνάνες που απαντώνται στα φυτά είναι η ματαϊρεσινόλη (matairesinol, **3**) (MAT) και η σεκοϊσολαρικιρεσινόλη (secoisolariciresinol, **4**) (SECO), οι οποίες αποτελούν πρόδρομες ενώσεις της εντερολακτόνης και της εντεροδιόλης αντίστοιχα, παρόλο που η εντεροδιόλη μπορεί επίσης να σχηματίσει εντερολακτόνη. Επιπρόσθετα, γλυκοζίτες των ενώσεων **3** και **4**, όπως ο ματαϊρεσινοζίτης (matairesinoside, **5**), ο διγλυκοζίτης της σεκοϊσολαρικιρεσινόλης (secoisolariciresinol diglucoside, SDG, **6**) και ο 4-O-β-D-γλυκοπυρανοζίτης της σεκοϊσολαρικιρεσινόλης (secoisolariciresinol 4-O-β-D-glucopyranoside, **7**) πιθανώς δρουν ως πρόδρομες φυτικές ενώσεις της εντεροδιόλης και της εντερολακτόνης, αφού υδρολύονται εύκολα στις αγλυκόνες τους από τις εντερικές β-γλυκοζιδάσες. Ο SDG είναι το κύριο συστατικό του λιναρόσπορου, και η συγκέντρωσή του ποικίλει μεταξύ 11,7-24,1 mg/g στο αποελαιωμένο άλευρο και μεταξύ 6,1-13,3 mg/g σε ολόκληρους λιναρόσπορους (Johnson et al. 2000). Εκτός από τις παραπάνω πρόδρομες ενώσεις, η λαρικιρεσινόλη (lariciresinol, **8**), η ισολαρικιρεσινόλη (isolariciresinol, **9**), και η υδροξυματαϊρεσινόλη (hydroxymatairesinol, **10**) θεωρούνται επίσης πρόδρομες ενώσεις της εντεροδιόλης και της εντερολακτόνης. Παρόλο που ο σκελετός της λαρικιρεσινόλης (**8**) είναι εντελώς διαφορετικός από εκείνον της εντεροδιόλης και της εντερολακτόνης, το βιοσυνθετικό μονοπάτι από την λαρικιρεσινόλη (**8**) στην σεκοϊσολαρικιρεσινόλη (**4**) έχει αποκαλυφθεί (Gang et

al. 1996). Πιο πρόσφατα ανακαλύφθηκαν στη σίκαλη ως πρόδρομες ενώσεις η πινορεσινόλη (pinoresinol, **12**) και η συρινγκαρεσινόλη (syringaresinol, **13**) (Heinonen et al.2001). Για τους γλυκοζίτες της αρκτιγενίνης (glycosides of arctigenin, **10**) είχε δειχτεί ότι δεν μπορούν να μετατραπούν σε ENL με τη χρήση γαστρικού υγρού και εντερικής μικροχλωρίδας σε ποντίκια (Nose et al. 1992-1993). Παρόλα αυτά ο Adlercreutz et al. (2001), πρόσφατα ανακάλυψε ότι 4% της αρκτιγενίνης μεταβολίζεται σε ENL κατά τη διάρκεια 24ωρης περιττωματικής επώασης.

2.2.β Διαιτητικές πηγές λιγνανών

Οι παραπάνω φυτικές λιγνάνες απαντώνται σε πληθώρα τροφίμων. Οι Adlercreutz και Mazur (1997) βρήκαν υψηλά επίπεδα SECO στο σκόρδο, τα καρότα και το μπρόκολο. Οι Horn-Ross et al. (2000) βρήκαν τα σπαράγγια και τα αποξηραμένα βερίκοκα και δαμάσκηνα ως τις πλουσιότερες πηγές SECO. Το σκόρδο, μαζί με τα καρότα, το κουνουπίδι/ λαχανάκια Βρυξελλών και τα ροδάκινα ως μέτρια πηγή, και τις γλυκοπατάτες ως σημαντική πηγή ΜΑΤ. Οι Thompson et al. (1991) δημιούργησαν μια *in vitro* μέθοδο ζύμωσης χρησιμοποιώντας ανθρώπινους περιττωματικούς μικροοργανισμούς, προκειμένου να εξομοιώσουν τη ζύμωση που πραγματοποιείται στο παχύ έντερο. Χρησιμοποιώντας τη μέθοδο αυτή, η παραγωγή της εντεροδιόλης και της εντερολακτόνης σε 68 διαφορετικά τρόφιμα, κυμαινόταν μεταξύ 21-67.541 μg/100 g δείγματος. Σε βάρος επί υγρού, όπως φαίνεται στον πίνακα Γ (παράρτημα), οι <u>ελαιώδεις καρποί</u> (λιναρόσπορος, συναπόσπορος, σόγια, φυστίκια κλπ) ως ομάδα έδωσαν τη μεγαλύτερη συγκέντρωση συνολικών λιγνανών (20.461 ± 12.685), ακολουθούν τα φύκια (seaweeds) (900 ± 247), τα όσπρια (562 ± 211), τα δημητριακά με πίτουρο (486 ± 90), τα φύτρα οσπρίων (371 ± 52), τα δημητριακά ολικής άλεσης (359 ± 81), τα λαχανικά (144 ± 23) και τα φρούτα (84 ± 22). Σε βάρος επί ξηρού, οι ελαιώδεις καρποί παρέμειναν ως η ομάδα τροφίμων με την υψηλότερη παραγωγή συνολικών λιγνανών (23.123 ± 14.414), ακολούθησαν

τα λαχανικά (1.553 ± 265), τα αποξηραμένα φύκια (998 ± 269), τα όσπρια (624 ± 231), τα φρούτα (548 ± 124), τα δημητριακά με πίτουρο (542 ± 99), τα φύτρα οσπρίων (413 ± 58) και τα δημητριακά ολικής άλεσης (407 ± 93).

Βρέθηκε ότι η παραγωγή λιγνανών με την κατανάλωση αλεύρου από λιναρόσπορο ήταν 75 φορές υψηλότερη από ότι με τα φύκια (δεύτερη υψηλότερη ομάδα παραγωγής λιγνανών) και 804 φορές υψηλότερη από τα φρούτα (χαμηλότερη ομάδα παραγωγής λιγνανών) (Thompson et al. 1991). Οι φακές (1.787), το φύκι *mekuba* (1.147), συναπόσπορος (1.130), το σιτάρι (924), η σόγια (863), το φύκι ιζίκι (*hijiki)*[1.7] (653), το πίτουρο βρώμης (651), το πίτουρο καλαμποκιού (648), το πίτουρο σίτου (567), τα κόκκινα φασόλια (561), ο καρπός αλφάλφα (498) και το σκόρδο (407), αποτελούν επίσης σημαντικές πηγές παραγωγής λιγνανών, αλλά σε μεγέθη σημαντικά χαμηλότερα από ότι ο λιναρόσπορος.

Επίσης, σε μία μελέτη παρατηρήθηκε ότι η απέκκριση των λιγνανών, εντερολακτόνης και εντεροδιόλης, ήταν μεγαλύτερη σε ανθρώπους που κατανάλωναν ειδική φυτοφαγική δίαιτα (πλούσια σε καρότο, σπανάκι, μπρόκολο και κουνουπίδι), παρά σε εκείνους που κατανάλωναν ελεύθερη φυτοφαγική δίαιτα. Το εύρημα αυτό υποδηλώνει πως τα προαναφερθέντα λαχανικά αποτελούν πλούσιες πηγές φυτικών λιγνανών (Michelle P. Waren 2002).

1.7 Το φύκι *Hizikia fusiforme* της κλάσεως των φαιοφυκών. Αναπτύσσεται σε βράχους αμέσως κάτω από την επιφάνεια της θάλασσας και αποτελείται από πολλούς κλαδίσκους, οι οποίοι είναι συνδεδεμένοι σε κυλινδρικούς θαλλούς. Έτσι, έχει την όψη θάμνου ύψους από 40-100 cm. Αφού συλλεχθεί, αφυδατώνεται και στη συνέχεια θερμαίνεται στον ατμό λίγες ώρες για να γίνει τρυφερό, μετά αφυδατώνεται εκ νέου και στην τελική του μορφή παρουσιάζεται σαν λεπτές χυλοπίτες σχεδόν μαύρες. Χρησιμοποιείται με λαχανικά, με ρύζι, με ψάρια, σε σάντουιτς, καθώς και ως λαχανικό που συνοδεύει κύρια πιάτα (Αλέξανδρος Καρδούλης 2003).

Η παραγωγή λιγνανών με την *in vitro* μέθοδο σχετίζεται άμεσα με την ουρική απέκκριση λιγνανών που παρατηρήθηκε σε ποντίκια και ανθρώπους. Όταν η δίαιτα των ανθρώπων συμπληρώθηκε με άλευρο λιναρόσπορου σε ένα επίπεδο της τάξης του 10% (υπολογισμένο επί ξηρού), η ουρική απέκκριση λιγνανών αυξήθηκε κατά 21%, περίπου ίδια με τη αύξηση που παρατηρήθηκε όταν η συνηθισμένη δίαιτα των ποντικιών συμπληρώθηκε με άλευρο λιναρόσπορου σε ένα επίπεδο της τάξης του 10% (Li-Q. Wang 2002). Τέτοιου είδους ισχυρές συσχετίσεις υποδεικνύουν τη χρησιμότητα ενός *in vitro*[1.8] συστήματος για την εκτίμηση της *in vivo*[1.9] παραγωγής λιγνανών από τα τρόφιμα.

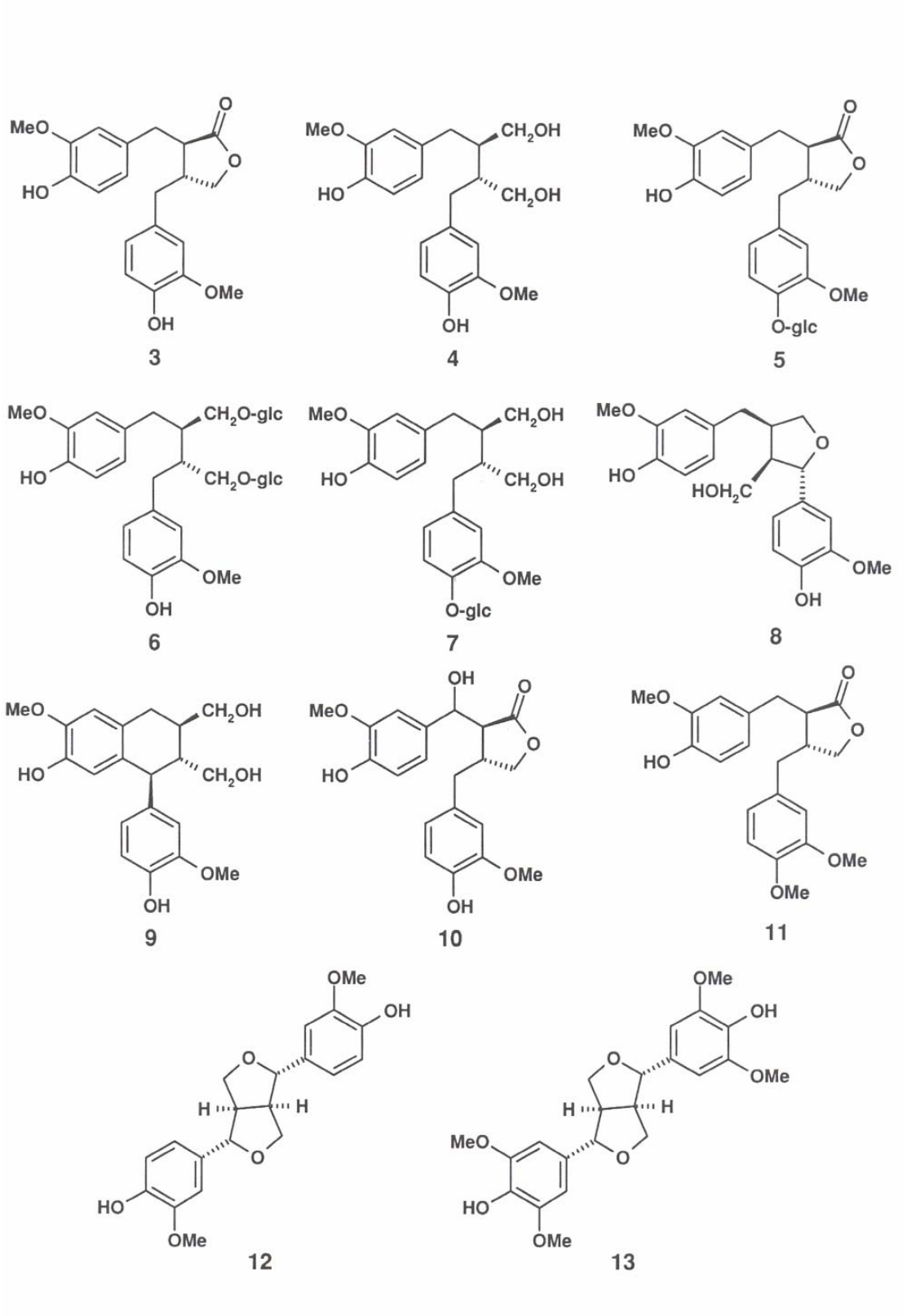
Πίνακας 1.2.7: Συγκέντρωση λιγνανών σε κοινά Ευρωπαϊκά τρόφιμα (Thompson et al. 1991, cited in Fletcher 2003).

Τρόφιμο	**Συνολικές λιγνάνες (mg/kg)**
Αλεύρι λιναρόσπορου	675
Φακές	179
Σόγια	8,6
Πίτουρο βρώμης	6,5
Πίτουρο σίτου	5,7
Κόκκινα φασόλια	5,6
Σκόρδο	4,1
Σπαράγγια	3,7
Καρότα	3,5
Βρώμη	3,4
Μπρόκολο	2,3
Πράσο	2,0
Αχλάδι	1,8
Δαμάσκηνο	1,5
Γλυκοπατάτα	0,3

1.8 In vitro: εντός υάλου, παρατηρούμενος εντός δοκιμαστικού σωλήνα, σε τεχνητό περιβάλλον (Θ.Κ. Θεοχαράκης 1997).

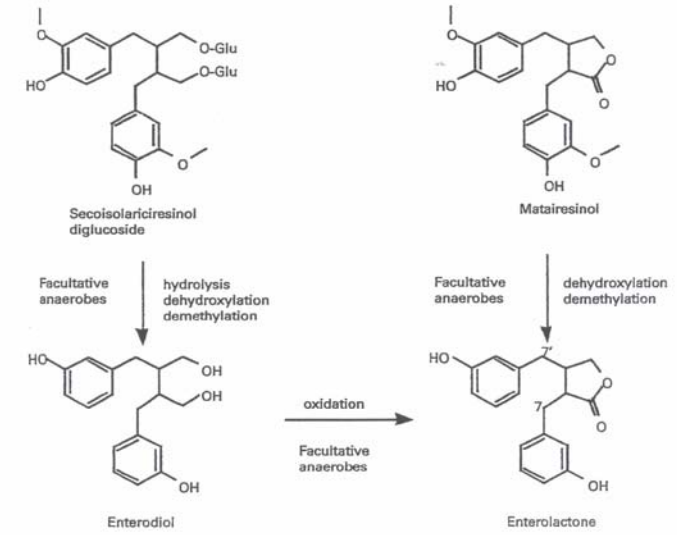
1.9 In vivo: εντός ζώντος οργανισμού, σε ζωντανό περιβάλλον (Θ.Κ. Θεοχαράκης 1997).

Σχήμα 1.2.6: Χημικές δομές των πρόδρομων φυτικών ενώσεων της εντερολακτόνης και της εντεροδιόλης (Li-Quan Wang 2002).



Μέρος 2ο

Βιοδιαθεσιμότητα Φυτοοιστρογόνων



ΒΙΟΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΦΥΤΟΟΙΣΤΡΟΓΟΝΩΝ

Ο όρος βιοδιαθεσιμότητα έχει υπάρξει αντικείμενο μεγάλης διαμάχης, ιδιαίτερα σε σχέση με τα μικροθρεπτικά συστατικά. Οι αρχικοί ορισμοί είχαν επικεντρωθεί στην πρόσληψη από το έντερο, ιδιαίτερα στην έκταση και τον βαθμό της απορρόφησης. Συνεπώς, αναγνωρίστηκε η σημασία των μεταπορροφητικών διαδικασιών, κυρίως της κατανομής, του μεταβολισμού και της απέκκρισης (Rowland et al. 2003). Σε συνδυασμό με την απορρόφηση, τα τέσσερα αυτά στοιχεία μπορούν να χαρακτηριστούν με μία λέξη ως «βιοδιανομή» (“biodelivery”). Παρόλα αυτά, πιο πρόσφατοι ορισμοί της βιοδιαθεσιμότητας έχουν επεκταθεί προκειμένου να συμπεριλάβουν και την έννοια της «βιοδραστικότητας» (“bioefficacy”), δηλαδή του κλάσματος του θρεπτικού συστατικού που ανταποκρίνεται στις ιστικές λειτουργικές απαιτήσεις. Έτσι, ο Jackson (1997) όρισε ως βιοδιαθεσιμότητα το κλάσμα του προσλαμβανόμενου θρεπτικού συστατικού που χρησιμοποιείται για τη φυσιολογική λειτουργία. Επεκτείνοντας τον όρο σε μη θρεπτικά συστατικά (non-nutrients), όπως είναι τα φυτοοιστρογόνα, η βιοδιαθεσιμότητα αναφέρεται στην αποτελεσματικότητα μιας χημικής ένωσης στο να επιφέρει μια ανταπόκριση σε έναν «ιστό-στόχο».

Για την πραγματική όμως εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας απαιτείται ένας ευαίσθητος λειτουργικός δείκτης (για παράδειγμα, η ομοκυστεΐνη για το φυλλικό οξύ). Στην περίπτωση των φυτοοιστρογόνων δεν είναι διαθέσιμος τέτοιος δείκτης, και στην πραγματικότητα, αν λάβουμε υπόψη την ποικιλομορφία των βιολογικών δράσεων των ενώσεων αυτών, είναι πιθανόν να υπάρχουν διαφορετικοί δείκτες για διαφορετικούς ιστούς. Πάντως, η βιοδιαθεσιμότητα των φυτοοιστρογόνων είναι ένας κρίσιμος παράγοντας, ο οποίος επηρεάζει τη βιολογική δραστικότητα των ενώσεων αυτών.

Συνεπώς, οι εκτιμήσεις της βιοδιαθεσιμότητας πρέπει να βασίζονται σε δεδομένα για την απορρόφηση (absorption), τον μεταβολισμό (metabolism), την κατανομή (distribution) και την απέκκριση (excretion) (AMKA, ADME), ερευνών σε ανθρώπους και ζώα. Ακόμη όμως και σε αυτή την πιο

περιορισμένη ερμηνεία του όρου «βιοδιαθεσιμότητα», είναι φανερό ότι η ΑΜΚΑ[2.1] των φυτοοιστρογόνων στους ανθρώπους δεν είναι πλήρως καθορισμένη. Τα περισσότερα από τα διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με τη φαρμακοκινητική[2.2] των φυτοοιστρογόνων, αναφέρονται σε συγκεκριμένες ισοφλαβόνες και τους μεταβολίτες τους, πχ στη δαϊζδεΐνη και τη γενιστεΐνη, με λιγότερες πληροφορίες για τις λιγνάνες και ελάχιστα ή και καθόλου δεδομένα για την κουμεστρόλη και τη γλυκιτεΐνη (Rowland et al. 2003).

2.1 ΑΜΚΑ: αρχικά των λέξεων Απορρόφηση, Μεταβολισμός, Κατανομή και Απέκκριση.

2.2 Η δράση των φαρμάκων στο σώμα κατά τη διάρκεια μιας χρονικής περιόδου, συμπεριλαμβανομένων των διαδικασιών της απορρόφησης, της κατανομής, της εντοπίσεως σε ιστούς, του βιοσχηματισμού και της απέκκρισης (Θ.Κ. Θεοχαρίδης 1997).

Κεφάλαιο 1

ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΦΥΤΟΟΙΣΤΡΟΓΟΝΩΝ

1.1 Ρυθμός και έκταση απορρόφησης

Έρευνες σε ανθρώπους υποδηλώνουν ταχεία απορρόφηση των φυτοοιστρογόνων με μέγιστες συγκεντρώσεις μεταξύ 2 και 12 ώρες μετά την πρόσληψη (Rowland 2003). Αυξημένα επίπεδα ισοφλαβονών έχουν παρατηρηθεί μέσα σε λεπτά από την πρόσληψη προϊόντων σόγιας (Morton et al. 1997, Rowland et al. 1999). Οι Rowland et al. (1999) ανέφεραν μια σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση πλάσματος ισοφλαβονών, μόλις 15 λεπτά μετά την πρόσληψη πρωτεΐνης σόγιας. Οι Morton et al. (1997) παρουσίασαν αυξημένα επίπεδα αίματος δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης σε τέσσερις άντρες μέσα σε 30 λεπτά από την πρόσληψη ενός κέικ που περιείχε 15 g πρωτεΐνης σόγιας και 15 g λιναρόσπορου. Από την άλλη πλευρά, οι μεταβολίτες των λιγνανών δεν εμφανίστηκαν στο πλάσμα παρά μόνο 8,5 ώρες μετά την πρόσληψη, υποδηλώνοντας έναν χαμηλότερο ρυθμό απορρόφησης σε αυτή την τάξη των φυτοοιστρογόνων.

Σε έρευνες όπου καταναλώθηκαν γραμμομοριακά κατά όγκον ισοδύναμα της γενιστεΐνης και της δαϊζδεΐνης, η πρώτη παρουσίασε υψηλότερα επίπεδα πλάσματος από ότι η τελευταία. Αυτό οφείλεται στον μεγαλύτερο όγκο κατανομής (volume of distribution, Vd) και ρυθμό κάθαρσης (clearance rate) της δαϊζδεΐνης, παρά στον υψηλότερο ρυθμό απορρόφησης της γενιστεΐνης (Setchell et al. 2001, 2003). Η ανάκτηση εκ των ούρων της προσλαμβανόμενης δόσης παρέχει έναν καλό δείκτη της φαινομενικής κλασματικής απορρόφησης. Τα διαθέσιμα δεδομένα δείχνουν σαφώς ότι η κλασματική απορρόφηση της προσλαμβανόμενης δαϊζδεΐνης είναι μεγαλύτερη από της γενιστεΐνης. Τα περιορισμένα δεδομένα σχετικά με τη γλυκιτεΐνη υποδεικνύουν έναν υψηλότερο ρυθμό απορρόφησης της προσλαμβανόμενης

δόσης από τις υπόλοιπες ισοφλαβόνες που απαντώνται στα τρόφιμα (Zhang et al. 1999).

Μία δοσοεξαρτώμενη επίδραση παρατηρήθηκε στην κλασματική απορρόφηση σε δύο έρευνες, που χρησιμοποίησαν δόσεις μεταξύ 0,4 και 1 mg ισοφλαβονών/kg σωματικού βάρους (Setchell et al. 2003, M Faugnan et al. 2003). Σε μεγαλύτερη δόση των 2 mg ισοφλαβονών/kg σωματικού βάρους, οι συγκεντρώσεις ισοφλαβονών και στο πλάσμα και τα ούρα δεν αυξήθηκαν με δοσοεξαρτώμενο τρόπο, υποδεικνύοντας ότι η απορρόφηση των μητρικών ενώσεων μπορεί να είναι δοσοπεριοριζόμενη (M Faugnan et al. 2003). Μία δοσοεξαρτώμενη επίδραση παρατηρήθηκε επίσης στην ουρική απέκκριση λιγνανών μετά από μία περίοδο 7 ημερών σε εννιά υγιείς προ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, με τις ατομικές δόσεις να ποικίλουν από 5 έως 25 mg (Nesbitt et al. 1999). Σήμερα, παρόλα αυτά, ο αριθμός των ανέπαφων ισοφλαβονών που μετρώνται στο πλάσμα και τα ούρα αντιστοιχεί σε μόλις περίπου 30% της προσλαμβανόμενης δόσης (Rowland 2003). Η απέκκριση στα κόπρανα των ενώσεων αυτών είναι χαμηλή (Watanabe 1998, Zhang et al. 1999, Busby 2002, Rowland 2003), υποδηλώνοντας ότι η πλειοψηφία της προσλαμβανόμενης ισοφλαβόνης μεταβολίζεται στο έντερο. Ο ρυθμός και η έκταση της απορρόφησης των μεταβολιτών αυτών έχει χαρακτηριστεί λιγότερο από εκείνον των μητρικών ενώσεων, καθώς η κατανόησή μας για τον μεταβολισμό των ενώσεων αυτών κατά μήκος του εντερικού σωλήνα είναι περιορισμένη.

Οι King & Bursill (1998) έδειξαν ότι τα επίπεδα των ισοφλαβονών στο πλάσμα και τα ούρα επιστρέφουν στα βασικά (baseline), 24 ώρες μετά από την πρόσληψη σογιάλευρου. Παρόλα αυτά, έρευνες οι οποίες χρησιμοποίησαν ποικιλία δειγμάτων, απέδειξαν ότι δεν επιστρέφουν στα βασικά επίπεδα, παρά μόνο 48 ώρες περίπου μετά από την πρόσληψη (Setchell et al. 2001, 2003, M Faughnan et al. 2003). Ο Setchel et al. (2001) τόνισε τη σημασία της ύπαρξης ευαίσθητων μεθόδων για την ποσοτικοποίηση χαμηλών επιπέδων ισοφλαβονών, ιδιαίτερα στο αίμα, όταν καθορίζεται η φαρμακοκινητική συμπεριφορά των ενώσεων αυτών.

1.2 Υδρόλυση γλυκοζιτών

Οι ισοφλαβόνες είναι παρούσες στα περισσότερα εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα σόγιας κυρίως με την μορφή γλυκοζιτών, με την εξαίρεση των προϊόντων σόγιας που έχουν υποστεί ζύμωση. Παρόλο που έχει αποδειχτεί ότι τα φλαβονοειδή (όπως η ρουτίνη και η κερκετίνη) απορροφώνται στη φυσική μορφή των γλυκοζιτών τους (Ανδρικόπουλος 2003), αυτό δεν φαίνεται να ισχύει για τις ισοφλαβόνες, αφού δεν έχουν αναγνωριστεί γλυκοζίτες τους στο πλάσμα. Πράγματι, πρόσφατα δεδομένα (Doerge et al. 1999, Kulling et al. 2001, Duncan et al. 2002, Setchell et al. 2002) αποκαλύπτουν σαφώς πως οι γλυκοζίτες των φυτοοιστρογόνων δεν απορροφώνται ανέπαφα κατά μήκος του εντεροκυττάρου υγιών ενηλίκων, και ότι η βιοδιαθεσιμότητά τους απαιτεί την αρχική υδρόλυση του σακχαρικού τμήματος από τις εντερικές β-γλυκοζιδάσες, προκειμένου να μπορούν να εισέλθουν στην περιφερική κυκλοφορία. Έχει πλέον ήδη καθιερωθεί ότι η υδρόλυση είναι απαραίτητη για την απορρόφηση των φλαβονοειδών αυτών κατά μήκος του εντερικού τείχους (Day et al. 1998, Liu et al. 1998, Rowland 2003). Σε μία μελέτη, η γενιστίνη βρέθηκε να μην διαπερνά το εντεροκύτταρο ανέπαφη, σε σύγκριση με την αγλυκόνη γενιστεΐνη, η οποία βρέθηκε να το διαπερνά αμέσως (Steensma et al. 1999). Σε υποστήριξη των δεδομένων αυτών έρχεται και μια άλλη έρευνα (Andlauer et al. 2000). Στην έρευνα αυτή επιβεβαιώθηκε η επαρκής πρόσληψη γενιστεΐνης από το απομονωμένο λεπτό έντερο ποντικού. Μόλις 1,3% της γενιστίνης διαπέρασε το απομονωμένο εντερικό τείχος, γεγονός που υποδηλώνει ότι η απορρόφηση του ανέπαφου γλυκοζίτη είναι απίθανο να είναι σημαντική *in vitro*. Επίσης, οι Setchell et al. (2002) διεξάγοντας μια έρευνα σε υγιείς ενήλικες (12 προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ηλικίας >18 ετών) διαπίστωσαν ότι οι γλυκοζίτες ισοφλαβονών είτε ως καθαρές ενώσεις, είτε μέσω κάποιας τροφής, δεν απορροφώνται ανέπαφοι κατά μήκος του εντεροκυττάρου. Μάλιστα, η βιοδιαθεσιμότητά τους απαιτεί την αρχική υδρόλυση του σακχαρικού τμήματος από τις εντερικές β-γλυκοζιδάσες, προκειμένου να μπορούν να προσληφθούν από την περιφερική κυκλοφορία.

Προηγούμενες έρευνες, επισήμαιναν ότι ένζυμα της μικροχλωρίδας του εντέρου (β-γλυκοζιδάσες), τα οποία είναι παρόντα σε ποικίλες ομάδες

βακτηρίων, όπως λακτοβάκιλλοι και βακτηριοειδή (Xu et al. 1995) είναι υπεύθυνα για την υδρόλυση. Ωστόσο, πρόσφατες έρευνες αντικρούουν την αποκλειστική ενασχόληση της εντερικής μικροχλωρίδας. Ο κύριος τόπος μικροβιακής δραστηριότητας είναι το απομακρυσμένο ειλεό και κόλον και επιπλέον είναι γνωστό ότι η υδρόλυση λαμβάνει χώρα πολύ γρήγορα αμέσως μετά την πρόσληψη. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι η απορρόφηση λαμβάνει χώρα ταχέως στο ανώτερο γαστρεντερικό σωλήνα. Επιπρόσθετα, ποντίκια τα οποία δεν έχουν εντερική μικροχλωρίδα (germ-free), εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης στα ούρα μετά την κατανάλωση πρωτεΐνης σόγιας, η οποία περιέχει ανέπαφους γλυκοζίτες ισοφλαβονών (Rowland et al. 1999).

Οι King & Bursill (1998) πρότειναν ότι η ταχεία αύξηση της συγκέντρωσης ισοφλαβονών στο πλάσμα αμέσως μετά την κατανάλωση σόγιας μπορεί να είναι το αποτέλεσμα της απορρόφησης του κλάσματος αγλυκονών, που είναι παρόν στο γεύμα σόγιας. Αυτό επίσης υποστηρίχτηκε από τους Lu et al. (1996), οι οποίοι ανέφεραν ότι οι ισοφλαβόνες ήταν ανιχνεύσιμες στα ούρα γυναικών 1-2 ώρες μετά από την πρόσληψη γάλακτος σόγιας. Ωστόσο, οι αγλυκόνες συνιστούν έναν μικρό μόνο κλάσμα των περισσότερων προϊόντων σόγιας. Οι Xu et al (1995) και οι Piskula et al. (1999) υποστήριξαν ότι το γαστρικό υγρό του στομάχου μπορεί να είναι σχετίζεται με την απελευθέρωση των αγλυκονών. Παρόλα αυτά, τα συμπεράσματα αυτά βασίστηκαν σε έρευνες που πραγματοποιήθηκαν σε ποντίκια, τα οποία σε αντίθεση με τους υγιείς ανθρώπους έχουν βακτήρια στο στομάχι, και συνεπώς η βακτηριακή υδρόλυση μπορεί να ήταν υπεύθυνη. Ένας πιο πιθανός τόπος υδρόλυσης στους ανθρώπους είναι το λεπτό έντερο. Υπάρχουν αποδείξεις (Day et al. 1998, Kulling 2001, Setchell 2002) ότι η δραστηριότητα των β-γλυκοζιδασών που είναι παρούσες στην ψυκτροειδή παρυφή του εντερικού βλεννογόνου, είναι υπεύθυνη για την υδρόλυση μερικών, αλλά όχι όλων των ισοφλαβονοειδών και των φλαβονοειδών των τροφίμων. Μέχρι πρόσφατα, η β-γλυκοζιδική δραστηριότητα της εντερικής μικροχλωρίδας θεωρείτο υπεύθυνη για την υδρόλυση, αλλά ένας αριθμός μεβρανοδεσμευμένων β-γλυκοζιδασών έχει πλέον αναγνωριστεί στο λεπτό έντερο (McMahon et al. 1997, Loku et al. 1998, Setchell 2002). Η δραστηριότητα των ενζύμων αυτών

εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στη νήστιδα, ιδιαίτερα για τις ενώσεις φλαβονών που περιέχουν την ομάδα σακχάρου στη θέση 7 του μορίου, όπως συμβαίνει στην περίπτωση των ισοφλαβονών (Day et al. 1998). Επομένως, φαίνεται πως ο κύριος τόπος υδρόλυσης στους ανθρώπους είναι το λεπτό έντερο.

Τα ευρήματα αυτά για την υδρόλυση των γλυκοζιτών των ισοφλαβονών ισχύουν και για τους γλυκοζίτες των φυτικών λιγνανών, όπως είναι ματαϊρεσινοζίτης (matairesinoside) και ο διγλυκοζίτης της σεκοϊσολαρικιρεσινόλης (secoisolariciresinol diglucoside SDG), οι οποίοι υδρολύονται επίσης από τις εντερικές β-γλυκοζιδάσες (Li-Quan Wang 2002, Duncan et al. 2002). Ωστόσο, ο μηχανισμός με τον οποίο τα φυτοοιστρογόνα διαπερνούν το εντερικό τείχος δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί. Οι Setchell et al. (2003) πρότειναν ότι η απορρόφηση των φυτοοιστρογόνων λαμβάνει χώρα με παθητική διάχυση, ακολουθώντας την υδρόλυση οποιονδήποτε γλυκοζιτών.

Κεφάλαιο 2

ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΣΤΟΝ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΩΛΗΝΑ

Έχει αποδειχτεί πως οι αγλυκόνες των φυτοοιστρογόνων υπόκεινται στη συνέχεια ζύμωση από την μικροβιακή χλωρίδα του κόλον, προκειμένου να παράγουν έναν αριθμό μεταβολιτών, προγενέστερα από την απορρόφηση τους (Axelson et al. 1984, Setchell 1998, Mazur et al. 1996, Wiseman 1999, Duncan 2002).

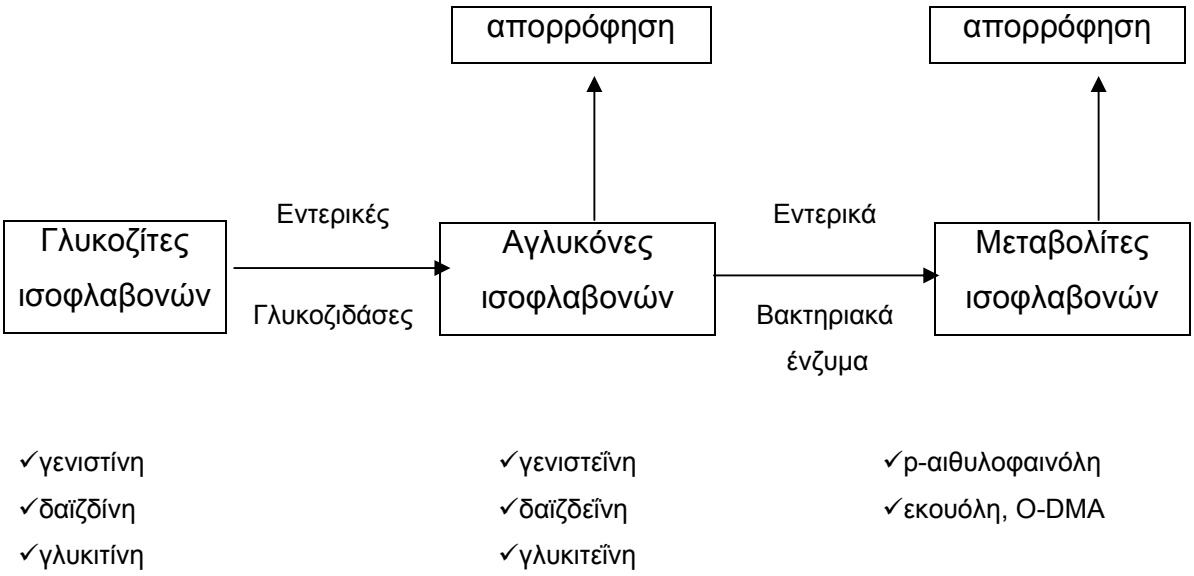
Η παρουσία των μεταβολιτών αυτών στο πλάσμα εξαρτάται χρονικά από την παραγωγή τους στο κόλον. Οι μεταβολίτες αυτοί εμφανίζονται στο πλάσμα αρκετές ώρες μετά την κατανάλωση προϊόντων σόγιας, πιθανώς αντανακλώντας το χρόνο που χρειάζεται η μη απορροφημένη δαϊζδεΐνη, ή η δαϊζδεΐνη στην εντεροηπατική κυκλοφορία να φτάσει στο κόλον. Είναι χαρακτηριστικό ότι ένας σημαντικός μεταβολίτης της δαϊζδεΐνης, η εκουόλη (equol), αποκτά μέγιστη συγκέντρωση στον ορό 36 ώρες μετά την πρόσληψη (Fletcher 2003).

Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη ενότητα, οι λιγνάνες MAT και SECO μεταβολίζονται σε εντερολακτόνη και εντεροδιόλη, αντίστοιχα. Επιπρόσθετα, η εντεροδιόλη μπορεί να μετατραπεί σε εντερολακτόνη (σχήμα 2.2.5, Li-Quan Wang 2002). Ο μεταβολισμός αυτός φαίνεται ότι είναι απαραίτητος για την απορρόφηση των ενώσεων αυτών, γεγονός που οφείλεται στο ότι αμελητέες συγκεντρώσεις των μητρικών ενώσεων παρατηρούνται στο αίμα (Lampe et al. 2001, Duncan et al. 2001).

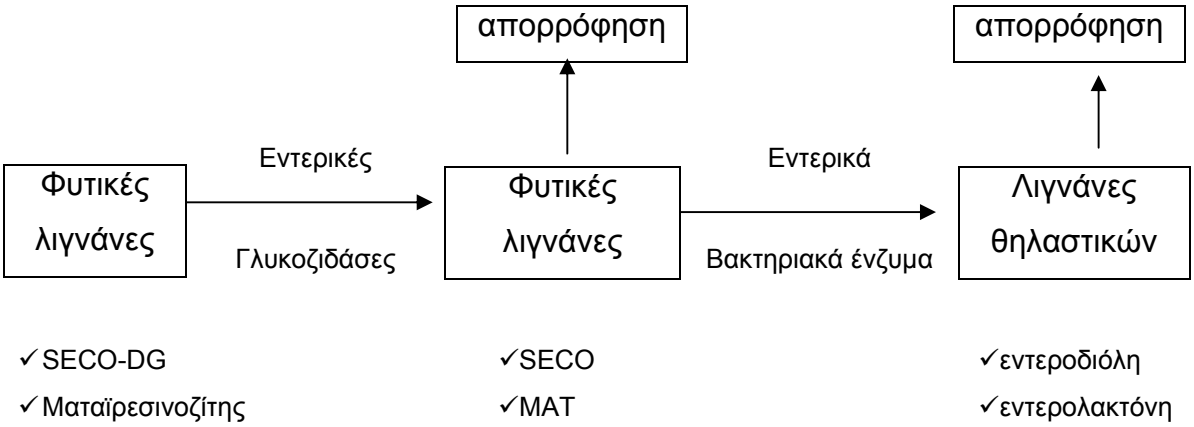
Ο μεταβολισμός ενδέχεται να είναι σημαντικός σε σχέση με τη βιολογική δραστικότητα των φυτοοιστρογόνων. Είναι χαρακτηριστικό ότι η εκουόλη, ένας μεταβολίτης της δαϊζδεΐνης, έχει μεγαλύτερη οιστρογονική δράση από

την μητρική του ένωση (Kuiper et al. 1998, Slavin et al. 1998, Setchell et al. 2001).

Σχήμα 2.2.1: Περίληψη της απορρόφησης και του μεταβολισμού των ισοφλαβονών. O-DMA = O-desmethylangolensin, O-διμεθυλοανγκολενσίνη.



Σχήμα 2.2.2: Περίληψη της απορρόφησης και του μεταβολισμού των λιγνανών.



2.1 Αποδείξεις για τον ρόλο της μικροχλωρίδας στον μεταβολισμό των φυτοοιστρογόνων

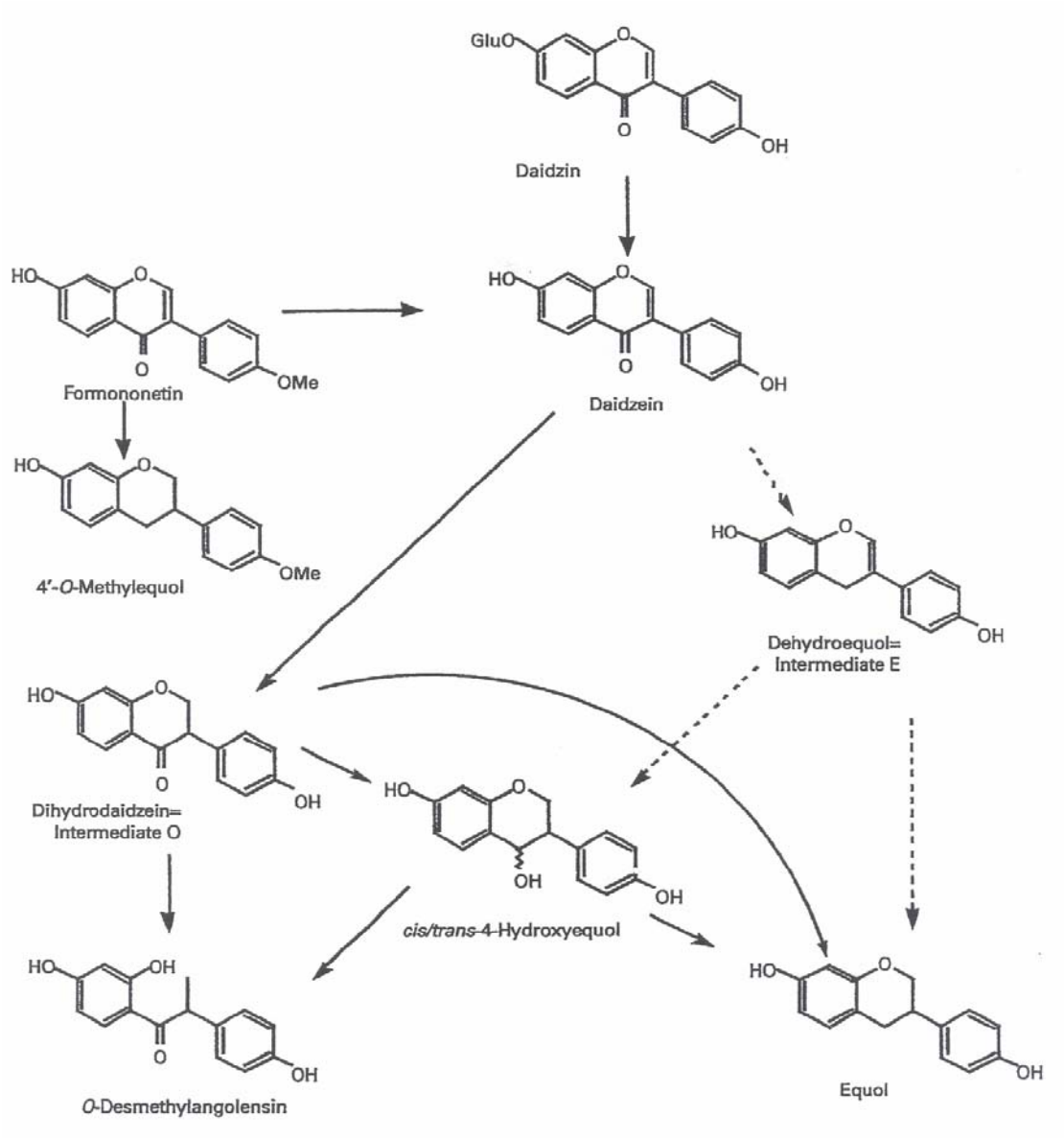
Η κρίσιμη σημασία της μικροχλωρίδας του εντέρου για τον μεταβολισμό των φυτοοιστρογόνων έχει αποδειχτεί *in vitro* και *in vivo*. Επώαση πρωτεΐνης σόγιας με μικροοργανισμούς που ανευρίσκονται στα ανθρώπινα κόπρανα, είχε ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό εκουόλης (Setchell et al. 1984, Rowland et al. 2003). Ομοίως, οι Chang & Nair (1995) έδειξαν την μετατροπή της δαϊζδεΐνης στους μεταβολίτες διυδροδαϊζδεΐνη (dihydrodaidzein), O-διμεθυλοανγκολενσίνη (O-DMA) και εκουόλη, με την επίδραση βακτηρίων ανθρώπινων κοπράνων, καθώς και την μετατροπή της γενιστεΐνης σε διυδρογενιστίνη (dihydrogenistin). Οι Michelle P. Waren (2002) ανέφεραν μειωμένη έκκριση μεταβολιτών ισοφλαβονών σε ανθρώπους που ακολουθούσαν θεραπεία με αντιβιοτικά. Η απουσία εκουόλης και O-DMA στα ούρα germ-free ποντικών, στους οποίους δόθηκε σόγια, παρέχει επιπρόσθετη επιβεβαίωση για τον ρόλο της μικροχλωρίδας στον μεταβολισμό της δαϊζδεΐνης. Όταν τα ποντίκια αποικήθηκαν από μικροοργανισμούς ανθρώπινων κοπράνων, τότε η εκουόλη ανιχνεύτηκε στα ούρα (αρκεί ο άνθρωπος από τον οποίο προέρχονταν να παρήγαγε εκουόλη) (Bowey et al. 2003). Στην περίπτωση των λιγνανών, η εντεροδιόλη και η εντερολακτόνη εκκρίθηκαν μόνο από ποντικούς που διέθεταν εντερική μικροχλωρίδα. Η απουσία μεταβολιτών των λιγνανών στα ούρα των germ-free ποντικών επιβεβαιώνει τον κρίσιμο ρόλο της εντερικής μικροχλωρίδας στον σχηματισμό τους (Bowey et al. 2003). Επομένως, είναι εύκολο να συναχθεί ότι εφόσον ο μεταβολισμός των λιγνανών και των ισοφλαβονών καθορίζεται κύρια από την εντερική μικροχλωρίδα, η χρήση αντιβιοτικών, η παρουσία πάθησης στο έντερο και το φύλο μπορούν ενδεχομένως να τροποποιήσουν τον μεταβολισμό τους (Michelle P. Waren 2002).

2.2 Μεταβολίτες φυτοοιστρογόνων

Οι ισοφλαβόνες και οι μεταβολίτες τους έχουν αναγνωριστεί στην πλειοψηφία των βιολογικών υγρών των ανθρώπων και των ζώων (Morton et al. 1994, 1997, Xu et al. 1994, 1995, Joanne L. Slavin 1998, King & Bursill 1998, Lampe et al. 1998, Rowland et al. 2000). Οι περισσότερες έρευνες επικεντρώνονται στην απέκκριση στα ούρα, όπου οι ισοφλαβόνες απαντώνται σε μεγάλες συγκεντρώσεις και επομένως, είναι πρόσφορες για επιπρόσθετη ανάλυση.

Οι ισοφλαβόνες που αναγνωρίστηκαν στα ούρα, τα κόπρανα και το πλάσμα ενήλικων ανθρώπων παρουσιάζονται στα σχήματα 2.2.3 και 2.2.4 (Adlercreutz et al. 1987, Kulling et al. 1998, Wahala et al. 1998, Heinonen et al. 1999, Liggins et al. 1998, 2000, Twadle 2002). Οι μεταβολίτες αυτοί αποτελούνται από τις μητρικές ενώσεις, οι οποίες δεν υπέστησαν επιπρόσθετο μεταβολισμό στο έντερο, τους κύριους μεταβολίτες και έναν αριθμό από ενδιάμεσες ενώσεις και ηπατικούς μεταβολίτες (κυρίως προϊόντα υδροξυλίωσης). Στα ούρα, οι ενώσεις αυτές απαντώνται κυρίως ως γλυκουρονίδια (glucuronides), όπως και στην περίπτωση του πλάσματος.

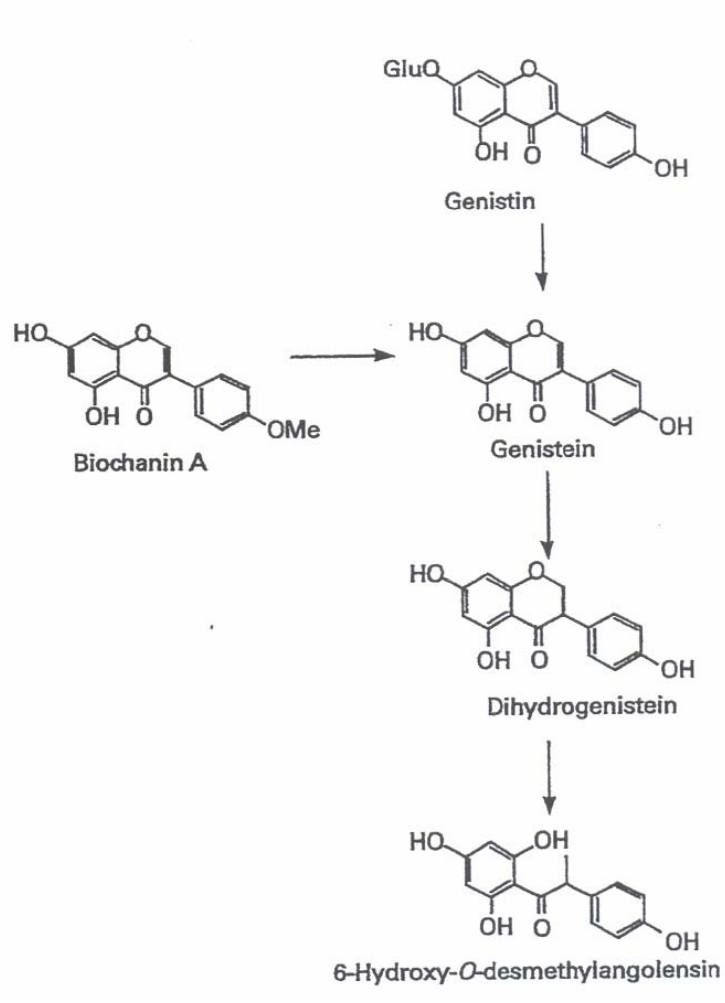
Συγκεκριμένα, η <u>δαϊζδεΐνη</u> μεταβολίζεται σε διυδροδαϊζδεΐνη, η οποία στη συνέχεια μεταβολίζεται τόσο σε εκουόλη (κατά ~70%), όσο και σε O-διμεθυλοανγκολενσίνη (O-DMA) (κατά ~5-10%). Ο μεταβολίτης που απαντάται πιο συχνά στη βιβλιογραφία είναι η εκουόλη, ο οποίος οδήγησε στην ανακάλυψη της μητρικής ένωσης στις αρχές του 1980 (Axelson et al. 1982). Η ουρική απέκκριση των μεταβολιτών αυτών ποικίλει, και μόνο περίπου το 30-40% των ανθρώπων εκκρίνουν σημαντικές ποσότητες εκουόλης μετά την κατανάλωση ισοφλαβονών. Πρόσφατα, λιγότερο σημαντικοί μεταβολίτες, όπως η διυδροδαϊζδεΐνη, η τετραϋδροδαϊζδεΐνη (tetrahydrodaidzein) και η διυδροεκουόλη (dehydroequol) έχουν αναγνωριστεί ως ενδιάμεσα στον σχηματισμό εκουόλης και O-DMA (Adlercreutz et al. 1987, Joannou et al. 1995, Kulling 1998, Heinonen et al. 1999).



Σχήμα 2.2.3: Μεταβολικά μονοπάτια της φορμονονετίνης και της δαϊζδεΐνης στον άνθρωπο (Rowland et al. 2003).

Η γενιστεΐνη μετατρέπεται σε διυδρογενιστεΐνη (dihydrogenistein) και ακολούθως μεταβολίζεται σε 6΄-υδροξυ-O-DMA (6΄-hydroxy-O-DMA) (σχήμα 2.2.4, Setchell & Adlercreutz 1988, Kelly et al. 1993, Joannou et al. 1995, Wahala et al. 1998, Heinonen et al. 1999). Έχουν αναγνωριστεί και άλλοι μεταβολίτες από έρευνες που βασίστηκαν σε ποντικούς, όπως για παράδειγμα το 4-υδροξυφαινυλ-2-προπιονικό οξύ (4-hydroxyphenyl-2-propionic acid) (Coldham et al. 1999, Coldham & Sauer 2000). Παρόλα αυτά, τα δεδομένα που βασίζονται σε έρευνες σε ζώα, πρέπει να ερμηνεύονται με

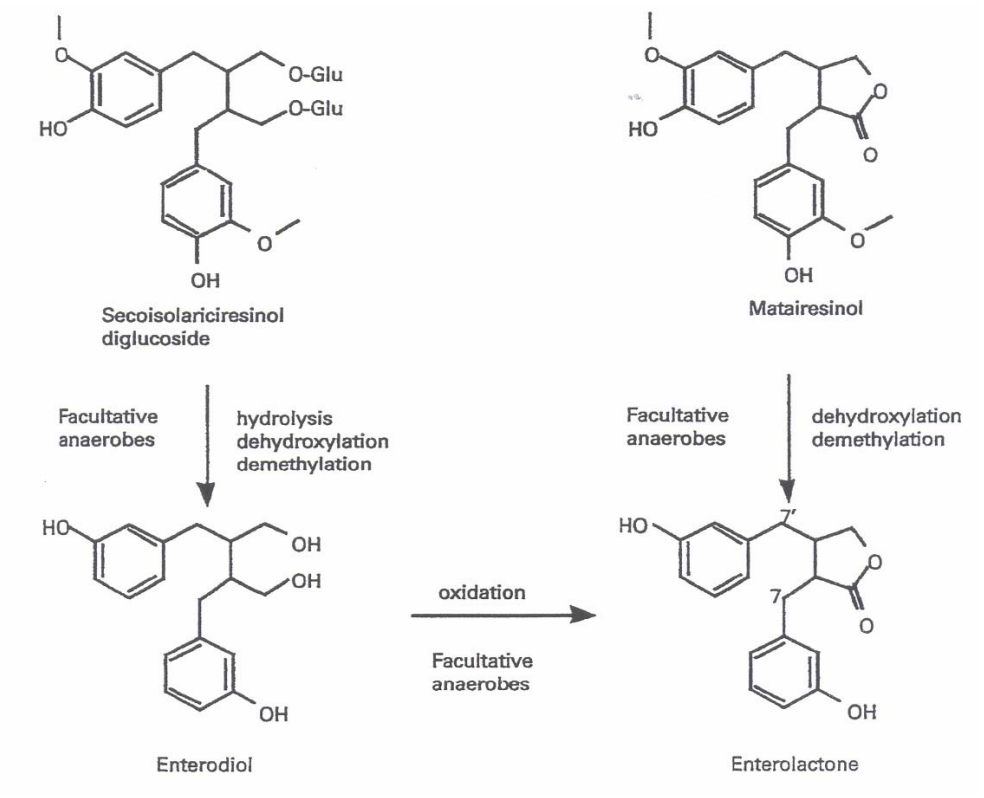
προσοχή, δεδομένου ότι έχει παρατηρηθεί διαφορά στον μεταβολισμό της γενιστεΐνης ανάλογα με την ποικιλομορφία της μικροχλωρίδας του κάθε ζώου. Για παράδειγμα, σε πολλά τρωκτικά (σε αντίθεση με τους ανθρώπους) έχει δειχτεί ότι μπορούν να μεταβολίζουν πολύ αποτελεσματικά τη δαϊζδεΐνη σε εκουόλη, και επομένως η χρήση μοντέλων σε ποντικούς για τη διερεύνηση του μεταβολισμού των ισοφλαβονών στους ανθρώπους έχει αμφισβητηθεί (Rowland 2003).



Σχήμα 2.2.4: Μεταβολισμός βιοχανίνης Α και γενιστεΐνης στον άνθρωπο (Rowland et. al. 2003).

Πρόσφατα δεδομένα (Setchell et al. 2001) δείχνουν ότι η φορμονονετίνη και η βιοχανίνη Α μετατρέπονται αποτελεσματικά σε δαϊζδεΐνη και γενιστεΐνη, αντίστοιχα. Όσον αφορά τον μεταβολισμό της γλυκιτεΐνης, οι Zhang et al. (1999) παρατήρησαν υψηλά επίπεδα της γλυκιτεΐνης στο πλάσμα μετά την πρόσληψη γλυκιτεΐνης, φανερώνοντας με αυτόν τον τρόπο χαμηλή βιομετατροπή της ένωσης αυτής. Οι Heinonen et al (1999) έδειξαν, με τη χρήση GC-MS για ουρική ανάλυση, πως η 5΄-υδροξυ-O-DMA (5΄-hydroxy-O-DMA) και η cis-4-υδροξυ-εκουόλη (cis-4-hydroxy-equol) είναι μεταβολίτες της γλυκιτεΐνης.

Ο μεταβολισμός των λιγνανών είναι ελάχιστα κατανοητός. Η εντερολακτόνη και η εντεροδιόλη θεωρούνται ως οι κύριοι μεταβολίτες των φυτικών λιγνανών MAT και SECO, αντίστοιχα (Heinonen et al. 2001). Πρόσφατα, δείχθηκε πως η επώαση του SECO-DG με μικροοργανισμούς των ανθρώπινων κοπράνων, παράγει μια μεγάλη ποικιλία μεταβολιτών (Wang et al. 2000, Owen et al. 2001). Συγκεκριμένα, το SECO-DG μετατρέπεται σε εντεροδιόλη μέσα από διεργασίες, οι οποίες περιλαμβάνουν την υδρόλυση του σακχαρικού τμήματος, αποϋδροξυλίωση (dehydroxylation) και απομεθυλίωση (demethylation). Η εντεροδιόλη μπορεί να οξειδωθεί επιπλέον σε εντερολακτόνη. Τέλος, η MAT μετατρέπεται σε εντερολακτόνη από τα βακτήρια του εντέρου με αποϋδροξυλίωση και απομεθυλίωση (σχήμα 2.2.5).



Σχήμα 2.2.5: Μεταβολισμός SECO-DG και MAT στον άνθρωπο (Rowland et al. 2003).

2.3 Σύζευξη

Τα φυτοοιστρογόνα ανευρίσκονται στο πλάσμα και τα ούρα συζευγμένα κύρια με το γλυκουρονικό οξύ, και σε μικρότερο βαθμό με το θειικό οξύ (Rowland 2003). Μόλις ένα μικρό ποσοστό των ελεύθερων αγλυκονών έχει αναγνωριστεί στο αίμα, υποδηλώνοντας με αυτόν τον τρόπο ότι το ποσοστό της σύζευξης είναι υψηλό (Setchell 1998). Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι το ποσοστό των κυκλοφορούντων αγλυκονών της δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης ήταν 8,42% και 3,71% αντίστοιχα, μέσα σε 2 ώρες από την πρόσληψη 50 mg των ενώσεων αυτών, και μειώθηκε ακολούθως σε 2,74% και 1,59% (Setchell et al. 2002α). Η σύζευξη με το γλυκουρονικό και το θειικό οξύ, θεωρείται ως ο κύριος δρόμος για την απενεργοποίηση (deactivation) των ενώσεων αυτών.

Η σύζευξη πραγματοποιείται μέσω της UDP- γλυκουρονυλοτρανσφεράσης και θειοτρανσφεράσης στο ήπαρ, καθώς και στο εντερικό επιθήλιο (Sfakianos et al. 1997). Συνεπώς, οι ελεύθερες ισοφλαβόνες είναι παρούσες σε χαμηλές συγκεντρώσεις στο πλάσμα. Η σύζευξη των φυτοοιστρογόνων με πολικές ομάδες, όπως είναι το γλυκουρονικό οξύ, αυξάνει τη διαλυτότητά τους. Όπως τα ενδογενή οιστρογόνα, οι συζευγμένες ενώσεις που εκκρίνονται στη χολή εισέρχονται στην εντεροηπατική κυκλοφορία (Messina et al. 1994; Lee et al. 1995), ως αποτέλεσμα της υδρόλυσής τους από τις εντερικές β-γλυκουρονιδάσες (β-glucuronidases) και σουλφατάσες (sulphatases) και την επακόλουθη επαναπορρόφησή τους. Οι συζευγμένες ενώσεις απομακρύνονται επίσης από τους νεφρούς και εκκρίνονται στα ούρα (Messina et al. 1994, Slavin et al. 1998).

Η σύζευξη θεωρήθηκε αρχικά ότι πραγματοποιείται αποκλειστικά στο ήπαρ. Παρόλα αυτά, είναι σήμερα αποδεκτό ότι ο κύριος τόπος σύζευξης είναι το εντεροκύτταρο του εντερικού τείχους κατά τη διάρκεια του μεταβολισμού 1^{ης} φάσης (Sfakionos et al. 1997).

Κεφάλαιο 3

ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΚΑΙ ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ

3.1 Κατανομή

Είναι σαφές από τα υπάρχοντα δεδομένα ότι οι ισοφλαβόνες εισέρχονται στην κυκλοφορία του αίματος μέσα σε 15-30 λεπτά από την πρόσληψή τους (Rowland et al. 1999, Kulling 2001). Μετά την ημερήσια κατανάλωση περίπου 50 mg ισοφλαβονών οι συγκεντρώσεις πλάσματος μπορεί να ποικίλουν από 0,2 έως 3,2 nmol/ml (50-800 ng/ml) σε έναν ενήλικα (Setchell & Cassidy 1999). Τα επίπεδα αυτά υπερβαίνουν κατά πολύ τα επίπεδα πλάσματος της κυκλοφορούσας οιστραδιόλης, τα οποία κυμαίνονται από 0,14-0,28 pmol/ml (40-80 pg/ml, Adlercreutz et al. 1993). Τα οιστρογόνα παρουσιάζουν μια ισχυρή συγγένεια δέσμευσης για τις πρωτεΐνες ορού, όπως είναι η αλβουμίνη και η σφαιρίνη σύνδεσης ορμονών φύλου. Αντιθέτως, τα φυτοοιστρογόνα έχουν ασθενέστερη συγγένεια δέσμευσης για τέτοιες πρωτεΐνες, γεγονός που σημαίνει ότι θεωρητικώς, υπάρχει ένα μεγαλύτερο ποσοστό ελεύθερων ισοφλαβονών διαθέσιμων για βιολογική δραστηριότητα, σε σύγκριση με τα ενδογενή οιστρογόνα (Setchell & Cassidy 1999).

Η έκταση στην οποία οι ενώσεις αυτές φτάνουν στους ιστούς και τα κύτταρα δεν είναι πλήρως κατανοητή. Παρόλα αυτά, υπάρχουν πρόσφατα δεδομένα, τα οποία δείχνουν ότι υψηλά επίπεδα των ενώσεων αυτών απαντώνται σε μαστικά κύτταρα προεμμηνοπαυσιακών γυναικών (Hargreaves et al. 1999) και σε κύτταρα του προστάτη (Morton et al. 1997). Επίσης, σε ζώα έχει δειχτεί ότι οι ισοφλαβόνες περνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (Setchell & Cassidy 1999). Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι υψηλά επίπεδα των ενώσεων αυτών είναι εφικτά σε κυτταρικό επίπεδο, όπου και μπορούν να εκδηλώσουν βιολογική δραστηριότητα.

Πρόσφατα φαρμακοκινητικά δεδομένα δείχνουν ότι η δαϊζδεΐνη και η γενιστεΐνη έχουν ευρύ όγκο κατανομής (V_d) στους ανθρώπους, το οποίο παρέχει επιπρόσθετη απόδειξη ότι τα φυτοοιστρογόνα έχουν ένα μεγάλο εύρος ιστικής κατανομής (Setchell et al. 2001). Οι Setchell et al. (2001) έδειξαν πως ο V_d της δαϊζδεΐνης και της γενιστεΐνης είναι αρκετά μεγάλος, στα 236 lt και 161 lt αντίστοιχα. Ο υψηλότερος V_d και ο γρηγορότερος ρυθμός κάθαρσης της δαϊζδεΐνης (χρόνος ημίσειας ζωής[2.3], $t_{1/2}$), εξηγούν γιατί τα επίπεδα της γενιστεΐνης στο πλάσμα/ ορό είναι υψηλότερα από εκείνα της δαϊζδεΐνης, όταν προσλαμβάνονται αντίστοιχα ποσά των δυο ενώσεων και όταν καταναλώνονται προϊόντα με πρωτεΐνη σόγιας (Setchell et al. 2001).

Κλινικές δοκιμές έχουν δείξει ότι ο $t_{1/2}$ της δαϊζδεΐνης και της γενιστεΐνης είναι μεταξύ 6 και 8 ωρών (Setchell & Cassidy 1999, Watanabe et al. 1998, M Faughnan & A Cassidy 2003). Ορισμένα δεδομένα δείχνουν έναν σημαντικά χαμηλότερο χρόνο ημίσειας ζωής τόσο για τη δαϊζδεΐνη όσο και για τη γενιστεΐνη (King & Bursill 1998, Busby et al. 2002), αλλά αυτό ενδεχομένως οφείλεται σε περιορισμένη δειγματοληψία (Setchell et al. 2001).

2.3 Ο χρόνος υποδιπλασιασμού ή χρόνος ημίσειας ζωής ορίζεται ως ο χρόνος που απαιτείται ώστε η συγκέντρωση ενός φαρμάκου ή ουσίας στο πλάσμα να μειωθεί κατά 50% (Θ.Κ Θεοχαρίδης 1997).

3.2 Απέκκριση

Η κύρια οδός απέκκρισης των φυτοοιστρογόνων είναι μέσω των νεφρών. Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν πως η ουρική απέκκριση αντιστοιχεί σε περίπου 30% της προσλαμβανόμενη δόσης, παρόλο που παρατηρείται εύρος ατομικής απόκλισης. Το υπόλοιπο της δόσης που δεν ανιχνεύεται στα ούρα, πιθανότατα καταναλώνεται για την μετατροπή των μητρικών ενώσεων στους μεταβολίτες τους, η οποία πραγματοποιείται στο έντερο (Duncan et al. 2002, Rowland 2003).

Οι Adlercreutz et al. (1982, 1991) και Setchell (1998) διαπίστωσαν ότι ο βαθμός της ουρικής απέκκρισης των φυτοοιστρογόνων ακολουθεί εκείνον της διαιτητικής πρόσληψης (είδος τροφίμων), κατά τέτοιον τρόπο ώστε η ουρική απέκκριση να είναι σημαντικά υψηλή μόνο στους ασιατικούς πληθυσμούς (Ιαπωνία) που καταναλώνουν σόγια. Για να επιτευχθούν, επομένως, αντίστοιχα επίπεδα στους δυτικούς πληθυσμούς, θα πρέπει να υιοθετηθεί μία ανάλογη δίαιτα. Επιπλέον, η ουρική απέκκριση λιγνανών έχει δειχτεί ότι είναι υψηλότερη από εκείνη των ισοφλαβονών, σε άτομα που ακολουθούν δυτικές δίαιτες (Boler et al. 2001, Miriam J & de Kleijn et al. 2001). Η παρατήρηση αυτή είναι αντανάκλαση του γεγονότος ότι οι λιγνάνες είναι περισσότερο διαδεδομένες στα τρόφιμα από ότι οι ισοφλαβόνες.

Η απέκκριση μέσω κοπράνων εμφανίζεται να είναι μηδαμινή, αν και πολύ λίγες έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί στους ανθρώπους. Έρευνες σε ανθρώπους έχουν δείξει ότι η απέκκριση μέσω κοπράνων της δαϊζδεΐνης και της γενιστεΐνης κυμαίνεται μεταξύ 1% και 4% της προσλαμβανόμενης δόσης (Xu et al. 1995, Watanabe et al. 1998). Έρευνες σε τρωκτικά έχουν δείξει υψηλότερο ποσοστό απέκκρισης μέσω κοπράνων, περίπου στο 20%, γεγονός το οποίο μπορεί να αποδοθεί στο ότι τα τρωκτικά γενικότερα απεκκρίνουν μέσω των κοπράνων τους μεγάλο ποσοστό στεροειδών (King 1998).

Κεφάλαιο 4

Παράγοντες που ενδέχεται να επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητα των φυτοοιστρογόνων

Πληθώρα ερευνών έχουν αναφέρει μεγάλο εύρος εξατομικευμένης ποικιλομορφίας στα επίπεδα πλάσματος και την ουρική απέκκριση τόσο των μητρικών ισοφλαβονών, όσο και των μεταβολιτών τους, ακόμη και όταν δόθηκαν συγκεκριμένες ποσότητες τροφίμων που περιέχουν φυτοοιστρογόνα.

Συγκεκριμένα, οι M Faughnan & A Cassidy (2003) παρατήρησαν ότι η ουρική απέκκριση ισοφλαβονών κυμαίνεται από 15-60% σε ένα εύρος πρόσληψης από 0,45 έως 1,80 mg/kg σωματικού βάρους. Αυτό επίσης έχει παρατηρηθεί και σε άλλες χρόνιες έρευνες, όπως εκείνη των Karr et al. (1997), οι οποίοι παρατήρησαν μια εξατομικευμένη ποικιλομορφία για τη δαϊζδεΐνη και τη γενιστεΐνη κατά 12 και 15 φορές αντίστοιχα, μετά την πρόσληψη σόγιας. Παρόμοια ευρήματα παρουσίασαν και οι Rowland et al. (2000), οι οποίοι ανέφεραν μια απόκλιση κατά 16 φορές στην ουρική απέκκριση των ολικών ισοφλαβονών, μετά την κατανάλωση σόγιας από 22 ανθρώπους.

Όσον αφορά τον μεταβολισμό των λιγνανών, έχουν επίσης αναφερθεί αποκλίσεις. Οι Nesbitt et al. (1999) έδειξαν ότι δυο από τα εννιά υπό μελέτη υποκείμενα παρήγαγαν μόνο μικρές ποσότητες εντερολακτόνης μετά την κατανάλωση λιναρόσπορου. Ομοίως, οι Lampe et al. (1998) και οι Rowland et al. (2000) ανέφεραν ένα μεγάλο εύρος στην απέκκριση εντερολακτόνης και εντεροδιόλης στους ανθρώπους.

Οι Kelly et al. (1993) πρότειναν ότι η ποικιλομορφία στην ουρική απέκκριση μπορεί να οφείλεται σε ενδογενείς παρά σε διατροφικούς παράγοντες, καθώς σταθερές συγκεντρώσεις των ποικίλων μεταβολιτών εμφανίζονται στα ούρα ανθρώπων, οι οποίοι παρακολουθούνται συνεχώς για αρκετά χρόνια. Έτσι, έχει προταθεί ένας αριθμός παραγόντων, οι οποίοι φαίνεται να επιδρούν στη

βιοδιαθεσιμότητα των φυτοοιστρογόνων και οι οποίοι περιλαμβάνουν την εντερική μικροχλωρίδα, το φύλο, την ηλικία, τη χημική σύσταση, το τροφικό υπόστρωμα, τις διατροφικές συνήθειες, τη χρόνια έκθεση και την πρώιμη έκθεση (Kelly et al. 1993, Slavin et al. 1998, Lampe et al. 1999, Zhang et al. 1999, Kulling 2001). Από τους παράγοντες αυτούς εκείνος με την πλέον αποδεδειγμένη και σημαντική δράση φαίνεται πως είναι η εντερική μικροχλωρίδα, καθώς μεγάλο μέρος της ατομικής απόκλισης μπορεί να αποδοθεί στις διαφορές στον μεταβολισμό των φυτοοιστρογόνων μεταξύ των ανθρώπων (Slavin et al. 1998, Setchell et al. 2001). Ωστόσο, απαιτούνται επιπρόσθετες έρευνες προκειμένου να διερευνηθεί σε βάθος ο ακριβής ρόλος καθενός από τους παράγοντες αυτούς στη βιοδιαθεσιμότητα των φυτοοιστρογόνων και να εξαχθούν σαφή συμπεράσματα, αλλά και να εντοπιστούν ενδεχομένως και άλλοι πιθανοί παράγοντες. Καθένας από τους παραπάνω παράγοντες παρουσιάζεται συνοπτικά στη συνέχεια.

Μικροχλωρίδα

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η μικροχλωρίδα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον μεταβολισμό των ισοφλαβονών και των λιγνανών. Επομένως, προκύπτει ότι διαφορές στη σύσταση της μικροχλωρίδας μπορεί να είναι υπεύθυνες για τις ατομικές αποκλίσεις στην απορρόφηση και τον μεταβολισμό των φυτοοιστρογόνων. Συνοπτικά, τα υπάρχοντα δεδομένα δείχνουν ότι περίπου μόλις το 33-35% των ατόμων στους δυτικούς πληθυσμούς, όπου η σόγια δεν αποτελεί ένα συνηθισμένο συστατικό της διατροφής τους, έχουν τη δυνατότητα να παράγουν εκουόλη. Έχει προταθεί ότι η αδυναμία ορισμένων ατόμων να μεταβολίζουν τη δαϊζδεΐνη σε εκουόλη οφείλεται στην απουσία ορισμένων ειδών βακτηρίων στο έντερο, αλλά η θεωρία αυτή δεν έχει ερευνηθεί συστηματικά (Rowland et al. 1999, Setchell & Cassidy 1999). Άλλοι παράγοντες που μπορεί να επηρεάζουν τον μεταβολισμό είναι ποικίλα διατροφικά υποστρώματα (dietary substrates), τα οποία διαφοροποιούν το περιβάλλον της μικροχλωρίδας, όπως το pH, τη διαθεσιμότητα του υποστρώματος και το δυναμικό οξειδοαναγωγής (Rowland 2003).

Η αντίστροφη σχέση που παρατηρείται σε ορισμένες έρευνες μεταξύ της παραγωγής εκουόλης και O-DMA από τη δαϊζδεΐνη, προτείνει ότι η ατομική απόκλιση οφείλεται στα προτιμούμενα μεταβολικά μονοπάτια των προσλαμβανόμενων ισοφλαβονών και την επακόλουθη απέκκριση (Slavin et al. 1998, Lampe et al. 1999, Zhang et al. 1999, Kulling 2001). Το γεγονός αυτό έχει σημαντικές επιπτώσεις, καθώς η εκουόλη είναι γνωστό ότι είναι περισσότερο οιστρογονική από την O-DMA ή τη δαϊζδεΐνη σε in vitro μοντέλα, έχει μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα (Rowland et al. 1999) και παραμένει μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στην κυκλοφορία (Lampe et al. 1998).

Φύλο

Οι Setchell et al. (1984) παρατήρησαν ότι η έκκριση εκουόλης και άλλων ισοφλαβονών μετά από την πρόσληψη σόγιας είναι ανεξάρτητη φύλου, καθώς τόσο οι άντρες όσο και οι γυναίκες εκκρίνουν αντίστοιχα ποσά, ένα εύρημα το οποίο επιβεβαιώθηκε στη συνέχεια και από άλλες έρευνες (Kelly et al. 1993, Kirkman et al. 1995, Lampe et al. 1998). Παρόλα αυτά, υπάρχουν ορισμένες ενδείξεις ότι οι άντρες και οι γυναίκες αντιδρούν διαφορετικά στη χρόνια έκθεση σε ισοφλαβόνες, αν και υπάρχουν αρκετές διαφοροποιήσεις στα υπάρχοντα δεδομένα. Οι Lu et al. (1998) βρήκαν ότι μετά την καθημερινή πρόσληψη γάλακτος σόγιας για έναν μήνα από γυναίκες, η απέκκριση δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης μειώθηκε και της εκουόλης αυξήθηκε. Αντίθετα, στους άντρες η απέκκριση δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης αυξήθηκε. Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι μπορεί να υπάρχει διαφοροποίηση ανάλογα με το φύλο στην απόκριση στη χρόνια πρόσληψη, αλλά απαιτείται επιπρόσθετη έρευνα. Τέλος, στην έρευνα των Kirkman et al. (1995) παρατηρήθηκε ότι οι άντρες έκκριναν περισσότερη εντερολακτόνη και λιγότερη εντεροδιόλη σε σύγκριση με τις γυναίκες, υποδηλώνοντας ότι μπορεί να υπάρχει διαφορά ανάλογα με το φύλο στον βακτηριακό μεταβολισμό των λιγνανών στο κόλον.

Ηλικία

Κατά τη διάρκεια των πρώτων μηνών ζωής έχει παρατηρηθεί αδυναμία στη μετατροπή της δαϊζδεΐνης σε εκουόλη (Setchell et al. 1997). Το γεγονός αυτό μπορεί να αποδοθεί στην ανώριμη εντερική μικροχλωρίδα. Η επίδραση της ηλικίας, μετέπειτα στη ζωή, στη βιοδιαθεσιμότητα των φυτοοιστρογόνων παραμένει άγνωστη.

Χημική σύσταση φυτοοιστρογόνων

Η χημική σύσταση των ισοφλαβονών ενδέχεται να είναι σημαντική για τον μεταβολισμό των ενώσεων αυτών. Οι Hutchins et al. (1995) παρατήρησαν ότι η χρόνια πρόσληψη τεπέ, το οποίο είναι ένα προϊόν σόγιας που έχει υποστεί ζύμωση και το οποίο περιέχει κυρίως αγλυκόνες, οδήγησε σε μεγαλύτερη ουρική απέκκριση δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης, σε σχέση με ένα προϊόν που δεν έχει υποστεί ζύμωση (καρποί σόγιας). Η έρευνα αυτή υποδηλώνει ότι η οι αγλυκόνες από προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση είναι περισσότερο βιοδιαθέσιμες (Slavin et al. 1998). Παρόλα αυτά, πρόσφατα δεδομένα, τα οποία βασίζονται στην εκτίμηση της συγκέντρωσης πλάσματος ισοφλαβονών κατά τη διάρκεια μιας περιόδου 24 ωρών, δείχνουν ότι οι ανέπαφοι συζευγμένοι γλυκοζίτες είναι περισσότερο βιοδιαθέσιμοι από τις αγλυκόνες (Setchell et al. 2001). Η έρευνα αυτή είναι σύμφωνη με έρευνες σχετικές με τη βιοδιαθεσιμότητα φλαβονοειδών (Hollman & Katan, 1998). Επίσης, οι Setchell et al. (2001) παρατήρησαν ότι τα άτομα τα οποία κατανάλωσαν αγλυκόνες, δεν παρήγαγαν εκουόλη, σε σχέση με εκείνους οι οποίοι κατανάλωσαν συζευγμένους γλυκοζίτες και από τους οποίους τελικά το 30% παρήγαγε εκουόλη.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η ανάκτηση εκ των ούρων της προσλαμβανόμενης δόσης είναι γενικά μεγαλύτερη για τη δαϊζδεΐνη από ότι για τη γενιστεΐνη, και ένας αριθμός ερευνητών έχει προτείνει ότι η δαϊζδεΐνη είναι περισσότερο βιοδιαθέσιμη από τη γενιστεΐνη (Xu et al. 1994, King & Bursill 1998). Είναι εμφανές από τα δεδομένα αυτά ότι η γενιστεΐνη μπορεί να υπόκειται σε

μεγαλύτερο βαθμό τον μικροβιακής φύσης μεταβολισμό από ότι η δαϊζδεΐνη. Μάλιστα, πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι η απέκκριση της γλυκιτεΐνης είναι μεγαλύτερη από της δαϊζδεΐνης, η οποία με τη σειρά της έχει μεγαλύτερη απέκκριση από τη γενιστεΐνη (Zhang et al. 1999). Παρόλα αυτά, δεν υπάρχουν ισχυρά δεδομένα που να υποστηρίζουν ότι οι ενώσεις αυτές μεταβολίζονται σε διαφορετική έκταση. Επίσης, άλλη έρευνα δείχνει με ακρίβεια ότι οι μεθοξυλιωμένες ισοφλαβόνες βιοχανίνη Α και φορμονονετίνη, μετατρέπονται πλήρως σε γενιστεΐνη και δαϊζδεΐνη, αντίστοιχα (Setchell et al. 2001).

Τροφικό υπόστρωμα

Η επίδραση του τροφικού υποστρώματος παραμένει ακόμη αδιευκρίνιστη, αλλά είναι πιθανόν ότι έχει σημαντική επίδραση στη φαρμακοκινητική των φυτοοιστρογόνων. Τα συμπληρώματα ενδεχομένως απορροφώνται με γρηγορότερο ρυθμό, σε σύγκριση με τις ισοφλαβόνες που προσλαμβάνονται μέσω κάποιας τροφής (Izumi et al. 2000).

Διατροφικές συνήθειες

Οι Adlercreutz et al. (1991) παρατήρησαν ότι τα άτομα, τα οποία έχουν αυξημένη πρόσληψη λίπους και κρέατος έχουν την απαραίτητη μικροχλωρίδα για την μετατροπή της δαϊζδεΐνης σε εκουόλη. Το συμπέρασμα αυτό προέκυψε από την παρατήρηση ότι η απέκκριση της εκουόλης, σε αντίθεση με τις άλλες ισοφλαβόνες, συσχετίζεται θετικά με την ολική πρόσληψη λίπους ($P<0,01$), καθώς και του κρέατος ($P<0,05$) και της αναλογίας λίπους/ διαιτητικές ίνες ($P<0,05$). Υπάρχουν μάλιστα έρευνες, οι οποίες υποστηρίζουν πως η πρόσληψη ινών έχει αρνητική επίδραση στην απορρόφηση των ισοφλαβονών (Tew et al. 1996). Αντιθέτως, άλλες έρευνες διαφωνούν με τα ευρήματα αυτά και υποστηρίζουν ότι ο σχηματισμός εκουόλης παρατηρείται περισσότερο σε άτομα, τα οποία καταναλώνουν υδατάνθρακες σε υψηλό ποσοστό, έχουν αυξημένη πρόσληψη διαιτητικών ινών και χαμηλή αναλογία λίπους/ ίνες (Lampe et al. 1999, Rowland et al. 1999). Ο συνδυασμός αυτός

προωθεί τη ζύμωση στο κόλον και κατά συνέπεια τη μεγαλύτερη αποικοδόμηση της δαϊζδεΐνης σε εκουόλη. Επίσης, έχει δειχτεί *in vitro* ότι δίαιτα υψηλή σε υδατάνθρακες προωθεί την μετατροπή της δαϊζδεΐνης σε εκουόλη (Cassidy 1991, Slavin et al. 1998). Επιπλέον, οι Lampe et al. (1999) έδειξαν ότι η ουρική απέκκριση φυτοοιστρογόνων (λιγνανών και ισοφλαβονών) είναι υψηλότερη σε άτομα, τα οποία έχουν υψηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, σε σχέση με εκείνα που έχουν χαμηλότερη πρόσληψη. Η διαφορά των δυο ομάδων ήταν ότι η πρώτη ομάδα κατανάλωνε τρόφιμα, τα οποία ήταν κατά μέσο όρο πλουσιότερα σε υδατάνθρακες, διαιτητικές ίνες και σόγια, και φτωχότερα σε λίπος. Από το εύρημα αυτό προκύπτει ότι η ουρική απέκκριση φυτοοιστρογόνων μπορεί να είναι ένας χρήσιμος δείκτης για την εκτίμηση υγιεινότερων διαιτητικών προτύπων.

Τα αντικρουόμενα αυτά αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται σε διαφορές στην ηλικία, τη διατροφή και την εντερική μικροχλωρίδα των υπό μελέτη ατόμων (Lampe et al. 1998). Το μόνο βέβαιο πάντως είναι ότι απαιτούνται επιπρόσθετες έρευνες προκειμένου να διευκρινιστεί επακριβώς ο ρόλος των διατροφικών συνηθειών στη βιοδιαθεσιμότητα των φυτοοιστρογόνων.

Χρόνια έκθεση

Οι πληροφορίες σχετικά με την επίδραση της χρόνιας έκθεσης στη βιοδιαθεσιμότητα των φυτοοιστρογόνων είναι πενιχρές. Η πρόσληψη 50 mg ισοφλαβονών για εφτά ημέρες δεν είχε σημαντική επίδραση στη φαρμακοκινητική συμπεριφορά μίας μόνο δόσης «εφόδου»[2.4] είτε για τη [^{13}C] δαϊζδεΐνη, είτε για τη [^{13}C] γενιστεΐνη (Cassidy 2003). Στην έρευνα των Lu et al. (1995b, 1996) τρεις από τις δώδεκα γυναίκες που μελετήθηκαν, ανέπτυξαν την ικανότητα να παράγουν εκουόλη μετά από την πρόσληψη σόγιας για 2 εβδομάδες, υποδηλώνοντας με αυτόν τον τρόπο ότι η χρόνια πρόσληψη σόγιας μπορεί να αλλάξει τα μεταβολικά μονοπάτια της δαϊζδεΐνης και να συμβάλει στην ατομική ποικιλομορφία. Ωστόσο, το φαινόμενο αυτό δεν παρατηρήθηκε στους άντρες. Χρόνια πρόσληψη ισοφλαβονών (36 oz γάλακτος σόγιας/ ημέρα, τρεις φορές την ημέρα) για έναν μήνα είχε ως

αποτέλεσμα αυξημένη ουρική απέκκριση εκουόλης σε γυναίκες (n=3, Lu et al. 1995b). Τα παραπάνω δεδομένα δείχνουν πως στις γυναίκες η χρόνια πρόσληψη μπορεί να αλλάξει τον μεταβολισμό των ισοφλαβονών. Παρόλα αυτά, οι έρευνες αυτές έχουν βασιστεί σε μικρά δείγματα και επομένως, είναι δύσκολο να γενικευτούν τα αποτελέσματα και να προκύψουν σαφή συμπεράσματα.

Πρώιμη έκθεση

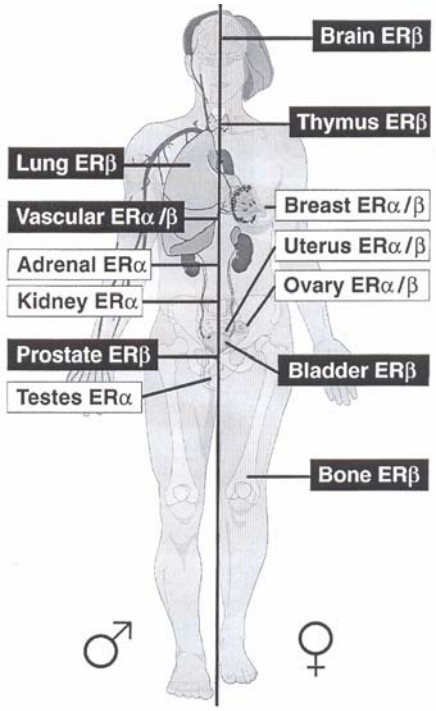
Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι τα φυτοοιστρογόνα διαπερνούν τον πλακούντα (Adlercreutz et al. 1999). Οι βρεφικές φόρμουλες σόγιας περιέχουν σημαντικά επίπεδα ισοφλαβονών, με συγκεντρώσεις μεταξύ 32 και 77 mg/l, σε σχέση με τα 5-6 μg/l που απαντώνται στο μητρικό γάλα (Setchell et al. 1997).

Οι βρεφικές φόρμουλες μπορούν να παρέχουν δόσεις έξι με εφτά φορές μεγαλύτερες σε επίπεδο σωματικού βάρους, σε σχέση με τους ενήλικες. Τα επίπεδα πλάσματος ισοφλαβονών σε βρέφη ηλικίας τεσσάρων μηνών αντανακλούν την αυξημένη αυτή πρόσληψη, και κυμαίνονται από 654 έως 1.775 μg/l (Setchell et al. 1997). Τα βρέφη είναι ανίκανα να μεταβολίσουν τη δαϊζδεΐνη και τη γενιστεΐνη, γεγονός που οφείλεται στην αδυναμία του ανώριμου εντέρου να βιομετατρέψει τις ενώσεις αυτές. Παρόλα αυτά, το γεγονός ότι οι ισοφλαβόνες στις φόρμουλες αυτές απορροφώνται εύκολα και εκκρίνονται από τα βρέφη, έχει οδηγήσει σε ερωτήματα σε ό,τι αφορά τις μακροχρόνιες επιδράσεις των βιοενεργών αυτών ενώσεων (Lu et al. 1995, Rowland et al. 2003).

2.4 Σε μερικές επείγουσες κλινικές καταστάσεις μπορεί να είναι απαραίτητο η συγκέντρωση ενός φαρμάκου στον ορό να φτάσει σε συγκεκριμένο επίπεδο πιο γρήγορα από όσο χρειάζεται να πραγματοποιηθεί με τον ρυθμό συσσώρευσης. Σε αυτές τις περιπτώσεις εφαρμόζεται μία δόση «εφόδου» (bolus), η οποία είναι πολύ μεγαλύτερη από τη δόση συντήρησης. Αυτή η δόση εφόδου είναι μεγαλύτερη από την ποσότητα του φαρμάκου που απομακρύνεται κατά τη χορήγηση. Με αυτόν τον τρόπο μπορεί να φτάσει άμεσα η συγκέντρωση πλάσματος στο επιθυμητό επίπεδο (Θ.Κ. Θεοχαρίδης 1997).

Μέρος 3ο

Δράσεις των Φυτοοιστρογόνων



Κεφάλαιο 1

ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ

1.1 Ορμονικές δράσεις

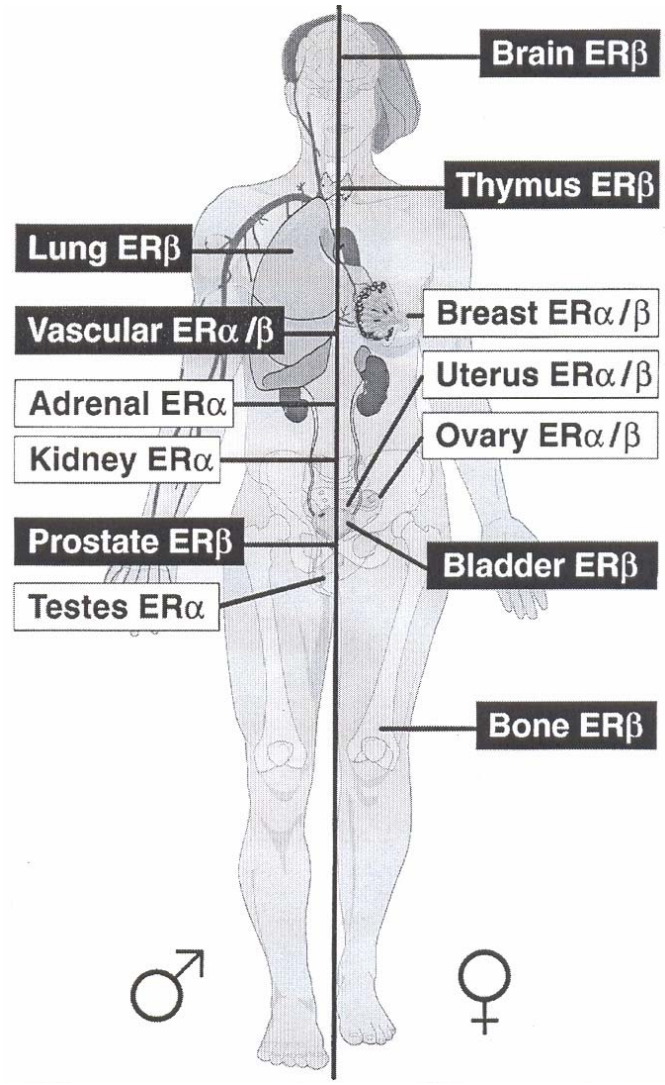
Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα φυτοοιστρογόνα είναι σε εντυπωσιακό βαθμό δομικά όμοια με τα ενδογενή οιστρογόνα. Ο φαινολικός δακτύλιος είναι βασικό δομικό χαρακτηριστικό των περισσότερων ενώσεων, που προσδένονται στους υποδοχείς οιστρογόνων (Setchell & Cassidy 1999). Επομένως, από άποψη δομής και μόνο, δεν προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι τα φυτοοιστρογόνα προσδένονται στους υποδοχείς οιστρογόνων (estrogen receptor, ER). Παρόλα αυτά, φαίνεται πως δρουν περισσότερο ως μερικοί οιστρογονικοί αγωνιστές και ανταγωνιστές, ιδιότητες που είναι δύσκολο να κατανοηθούν πλήρως, αλλά που εξακολουθούν να συναρπάζουν βιοχημικούς και ενδοκρινολόγους (Russel et al. 2002).

Οι οιστρογονικές και αντι-οιστρογονικές δράσεις των φυτοοιστρογόνων στον μεταβολισμό, εξαρτώνται από ποικίλους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων της συγκέντρωσής τους, της συγκέντρωσης των ενδογενών οιστρογόνων, της δόσης, της οδού χορήγησης, του ιστού-στόχου, καθώς και από ατομικά χαρακτηριστικά, όπως το φύλο και η κατάσταση εμμηνόπαυσης (menopausal status). Οι παράγοντες αυτοί αλληλεπιδρούν μεταξύ τους κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να καθίσταται εξαιρετικά δύσκολη η πρόβλεψη της αναμενόμενης ορμονικής δράσης των φυτοοιστρογόνων. Τα φυτοοιστρογόνα εμφανίζουν <u>ασθενή οιστρογονική δράση</u> της τάξης του 10^{-2} – 10^{-3} εκείνης της 17-β οιστραδιόλης, αλλά μπορεί να είναι παρόντα στο σώμα σε συγκεντρώσεις 10.000 – 20.000 φορές υψηλότερες από εκείνες των ενδογενών οιστρογόνων (Setchell 2001). Επομένως, αναμένεται να εμφανίσουν βιολογικές δράσεις σε μοριακό ή κυτταρικό επίπεδο, καθώς και σε επίπεδο οργανισμού. Η <u>αντι-οιστρογονική δραστηριότητα</u> των φυτοοιστρογόνων μπορεί να εξηγηθεί

μερικώς από τον ανταγωνισμό τους με την 17-β οιστραδιόλη για τους υποδοχείς οιστρογόνων, και η δράση τους αυτή αυξάνει την πιθανότητα να δρουν προστατευτικά σε οιστρογονοεξαρτώμενες παθήσεις, όπως ο καρκίνος του στήθους (Bingham et al. 1998). Αντιθέτως, οι οιστρογονικές τους ιδιότητες είναι πιο δύσκολο να εξηγηθούν, δεδομένου ότι μπορεί να περιλαμβάνουν και μεταβολικά μονοπάτια στα οποία δεν εμπλέκονται ERs, καθώς και μη κλασσικές ορμονικές αποκρίσεις (Setchell 2001).

Πάντως, η βασική υπόθεση ήταν ότι τα φυτοοιστρογόνα εμφανίζουν αντι-οιστρογονικές δράσεις όταν τοποθετούνται σε υψηλό οιστρογονικό περιβάλλον, όπως εκείνο στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, και οιστρογονικές δράσεις σε χαμηλό οιστρογονικό περιβάλλον, όπως στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Προς υποστήριξη αυτής της υπόθεσης, παρατηρήθηκε ότι σε ωοθηκεκτομένα ποντίκια στα οποία δεν δόθηκε το συνθετικό οιστρογόνο διαιθυλοστιλβεστρόλη (DES), το βάρος της μήτρας αυξήθηκε σημαντικά σε εκείνα που κατανάλωσαν σόγια. Αντίθετα, σε φυσιολογικά ποντίκια στα οποία δόθηκε DES, το βάρος της μήτρας μειώθηκε σημαντικά σε εκείνα που κατανάλωσαν σόγια, σε σχέση με εκείνα που δεν κατανάλωσαν (Makela et al. 1995, cited in Messina 1999).

Η αναγνώριση των δύο οιστρογονικών υποδοχέων ERα και ERβ (Kuiper et al. 1998) βοηθάει σημαντικά στην κατανόηση του μηχανισμού ορμονικής δράσης[3.1] των φυτοοιστρογόνων (Branham et al. 2002, Beck et al. 2003). Οι δύο αυτοί οιστρογονικοί υποδοχείς μπορεί να διαδραματίζουν διαφορετικό ρόλο στην γονιδιακή ρύθμιση. Η ιστική κατανομή και οι σχετικές συγγένειες πρόσδεσης στον ERα και ERβ ποικίλουν, και το εύρημα αυτό μπορεί να συμβάλλει στην εξήγηση της επιλεκτικής δράσης των φυτοοιστρογόνων σε διαφορετικούς ιστούς (σχήμα 3.1.1). Η διαφορετική συγγένεια πρόσδεσης μπορεί να οδηγήσει σε διαφορές στην ενεργοποίηση των υποδοχέων, στην μεταγραφή των γονιδίων, και κατά συνέπεια στις βιολογικές δράσεις. Ο ERα έχει ένα ευρύ φάσμα έκφρασης, ενώ ο ERβ πιο συγκεκριμένο. Είναι εντυπωσιακό ότι ο ERβ απαντάται στον εγκέφαλο, τα οστά, την ουροδόχο κύστη και στα αγγειακά επιθήλια, σε ιστούς δηλαδή οι οποίοι ανταποκρίνονται στην κλασσική ορμονική θεραπεία (Setchell & Cassidy, 1999).



Σχήμα 3.1.1: Ανατομική κατανομή των οιστρογονικών υποδοχέων ERα και ERβ (Setchell & Cassidy 1999).

3.1 Είναι σημαντικό να γνωρίζουμε τη <u>δράση των ενδογενών οιστρογόνων</u>, τα οποία από άποψη μηχανισμού δράσης ανήκουν στις πυρηνικές ορμόνες. Συγκεκριμένα, οι πυρηνικές ορμόνες σε αντίθεση με τις μεμβρανικές είναι λιπόφιλα μόρια, τα οποία μπορούν να περάσουν εύκολα την πλασματική μεμβράνη των κυττάρων στόχων. Έτσι, όταν η ορμόνη φτάσει με το αίμα στο κύτταρο-στόχο, αποσυνδέεται από την πρωτεΐνη του πλάσματος που την μετέφερε εκεί και εισέρχεται στο κυτόπλασμα. Στη συνέχεια, η σύνδεσή της ορμόνης στον πυρηνικό υποδοχέα της (τέτοιοι υποδοχείς βρίσκονται μόνο στην πυρηνική μεμβράνη και μέσα στον πυρήνα του κυττάρου), προκαλεί την έναρξη της αντιγραφής τμημάτων του DNA σε mRNA, το οποίο μεταφέρει το μήνυμα έξω από τον πυρήνα στα ριβοσώματα. Εκεί γίνεται η μετάφραση και η σύνθεση ειδικών πρωτεϊνών με τις οποίες επιτελούνται οι διάφορες βιολογικές δράσεις της ορμόνης στο κύτταρο-στόχο (Γελαδάς, Τσακόπουλος 2000).

Πρόσφατα, οι Morito et al. (2001 I, II) πραγματοποίησαν μια εκτεταμένη έρευνα για τη διερεύνηση της αλληλεπίδρασης των φυτοοιστρογόνων με τους ERα και ERβ. Συγκεκριμένα, εξέτασαν τις οιστρογονικές δραστηριότητες των ισοφλαβονών (μετά την πέψη τους από εντερικά βακτήρια) με βάση (α) την πρόσδεσή τους στους ERα και ERβ (που είχαν απομονωθεί από ανθρώπινα κύτταρα), (β) την επίδρασή τους σε μεταγραφικά μονοπάτια των οποίων η ρύθμιση εξαρτάται από τα οιστρογόνα και (γ) την ανάπτυξη των καρκινικών MCF-7 κυττάρων, τα οποία χρειάζονται οιστρογόνα για την ανάπτυξή τους.

Τα αποτελέσματα της έρευνας δείχνουν πως οι γλυκοζίτες προσδένονται ασθενώς τόσο στον ERα όσο και στον ERβ, καθώς και ότι η επίδρασή τους στην μεταγραφή είναι ασθενής. Οι αγλυκόνες γενικά προσδένονται και προωθούν καλύτερα την μεταγραφή στον ERβ παρά στον ERα, και μάλιστα η γενιστεΐνη είναι εκείνη, η οποία προσδένεται ισχυρότερα. Παρόλο που η γενιστεΐνη προσδένεται τόσο ισχυρά στον ERβ όσο και η 17-οιστραδιόλη, απαιτείται για την πρόκληση της μεταγραφής συγκέντρωση γενιστεΐνης περίπου 10^4 φορές μεγαλύτερη από ότι για την οιστραδιόλη. Η διυδρογενιστεΐνη, ένας μεταβολίτης της γενιστεΐνης, προσδένεται και επιδρά στην μεταγραφή το ίδιο αποτελεσματικά με τη γενιστεΐνη. Η πρόσδεση της εκουόλης είναι παρόμοια με της γενιστεΐνης, αλλά έχει την ισχυρότερη επίδραση από όλες τις ενώσεις στην μεταγραφή, ιδιαίτερα σε σχέση με τον ERα. Η δραστηριότητα της δαϊζδεΐνης είναι χαμηλή. Η γλυκιτεΐνη επίσης προσδένεται και υποκινεί την μεταγραφή, αλλά η πρόσδεσή της είναι πολύ ασθενέστερη από εκείνη της γενιστεΐνης. Ωστόσο, *in vivo* η γλυκιτεΐνη φαίνεται να είναι περισσότερο βιοδιαθέσιμη από τη γενιστεΐνη (Song et al. 1999, Zhang et al. 1999). Είναι πιθανόν ότι η γλυκιτεΐνη μεταβολίζεται σε ενώσεις με ισχυρότερη οιστρογονική δράση από τη δική της. Έτσι, παρόλο που η γλυκιτεΐνη αντιστοιχεί σε μόλις 10% των ολικών ισοφλαβονών στα προϊόντα σόγιας, φαίνεται πως η βιολογική της δραστικότητα είναι συγκρίσιμη με των υπολοίπων ισοφλαβονών.

Γενικά, οι ενώσεις οι οποίες προωθούν την μεταγραφή, υποκινούν την αύξηση των MCF-κυττάρων. Εξαίρεση σε αυτό αποτελεί η γενιστίνη, ένας γλυκοζίτης της γενιστεΐνης, η οποία προώθησε την αύξηση των MCF-κυττάρων καλύτερα

από τη γενιστεΐνη, παρόλο που προσδένεται λιγότερο ισχυρά στους υποδοχείς και είναι λιγότερο αποτελεσματική στην έναρξη της μεταγραφής σε σχέση με τη γενιστεΐνη. Οι ίδιοι ερευνητές (Morito et al. 2001) απέδειξαν ότι η μεθυλίωση ή η γλυκοζιλίωση των ισοφλαβονών γενικά περιορίζει τις φυτοοιστρογονικές τους δράσεις. Επίσης, έδειξαν πως η κουμεστρόλη προσδένεται τόσο ισχυρά στους δύο υποδοχείς όσο και η 17-β οιστραδιόλη. Η παρατήρηση αυτή είναι σύμφωνη με το μοντέλο πρόσδεσης στους υποδοχείς (receptor binding model), το οποίο φαίνεται ότι εξαρτάται από την παρουσία μιας φαινολικής ομάδας στην 4΄ θέση των ισοφλαβονών και την 12΄ θέση των κουμεστανών (Brandi ML 1997).

Συμπερασματικά, τα υπάρχοντα δεδομένα δείχνουν πως τα φυτοοιστρογόνα λόγω της παρουσίας φαινολικών δακτυλίων έχουν τη δυνατότητα να προσδένονται στους οιστρογονικούς υποδοχείς (ERα και ERβ) και επομένως, να εμφανίζουν ορμονικές δράσεις, οιστρογονικές ή/ και αντι-οιστρογονικές. Εκ των δυο μάλιστα οιστρογονικών υποδοχέων τα φυτοοιστρογόνα εμφανίζουν μεγαλύτερη συγγένεια πρόσδεσης για τον ERβ. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό όσον αφορά την πιθανή θετική τους δράση στην οστεοπόρωση, μιας και η οστική παραγωγή επάγεται από τα οιστρογόνα μέσω του ERβ (Kuiper et al. 1998). Η εκδήλωση των οιστρογονικών και/ ή αντι-οιστρογονικών δράσεων φαίνεται ότι εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων της συγκέντρωσης των ενδογενών οιστρογόνων, της δόσης, της χημικής μορφής, βιοδιαθεσιμότητας και χρόνου ημίσειας ζωής του φυτοοιστρογόνου, της σχετικής συγγένειας πρόσδεσης στους ERs και του ιστού-στόχου. Οι παράγοντες αυτοί αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, γεγονός το οποίο καθιστά ακόμα πιο δύσκολη την κατανόηση του μηχανισμού ορμονικής δράσης των φυτοοιστρογόνων. Τα πρόσφατα πάντως δεδομένα δείχνουν πως, αντίθετα με την αρχική βασική υπόθεση, ο ισχυρότερος καθοριστικός παράγοντας της ορμονικής δράσης των φυτοοιστρογόνων είναι ο ιστός-στόχος, καθώς σε ορισμένους ιστούς (πχ οστά) μπορούν να δρουν ως οιστρογόνα, ενώ σε άλλους (στήθος, ενδομήτριο) ως αντι-οιστρογόνα (Cummings et al. 1999, Russell 2002).

1.2 Μη ορμονικές δράσεις

Πολλές από τις θετικές επιδράσεις των φυτοοιστρογόνων στην υγεία του ανθρώπου μπορούν να αποδοθούν σε μεταβολικές ιδιότητες, στις οποίες δεν εμπλέκονται υποδοχείς οιστρογόνων, δηλαδή σε μη ορμονικές δράσεις (Kurzer et al. 2003). Τις περισσότερες φορές μάλιστα είναι δύσκολο να αποδοθούν οι παρατηρούμενες επιδράσεις στην υγεία αποκλειστικά σε ορμονικές ή μη ορμονικές δράσεις, αφού υπάρχει σημαντική αλληλοκάλυψη μεταξύ τους. Οι σημαντικότερες από αυτές παρουσιάζονται συνοπτικά στη συνέχεια.

1.2.1 Διαφοροποίηση και διαίρεση καρκινικών κυττάρων (Tumor Cell Differentiation and Mitogenesis)

Είναι γενικά παραδεκτό ότι οι παράγοντες, οι οποίοι προωθούν την τελική διαφοροποίηση (terminal differentiation) των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων, εμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Σε αυτόν ακριβώς τον μηχανισμό βασίζεται η χρήση των *trans* μορφών του ρετινοϊκού οξέος για τη θεραπεία της οξείας προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας (acute promyelocytic leukemia). Η προσέγγιση αυτή είναι σημαντική όχι μόνο στη χημειοθεραπεία, αλλά και στη χημειοπροφύλαξη του καρκίνου.

Παράγοντες οι οποίοι επάγουν την κυτταρική διαφοροποίηση ανήκουν σε ποικίλες χημικές τάξεις και διαμορφώνουν/ ρυθμίζουν πολυάριθμες κυτταρικές διαδικασίες. Πολλοί από αυτούς τους παράγοντες είναι αναστολείς των ενζύμων που προωθούν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Οι πρωτεϊνικές τυροσικινάσες (PTKs) και οι DNA τοποϊσομεράσες ανήκουν σε αυτή την κατηγορία ενζύμων.

1.2.1.α Πρωτεϊνικές τυροσινοκινάσες (protein tyrosine kinases PTKs).

Οι πρωτεϊνικές τυροσικινάσες είναι προϊόντα ογκογονιδίων[3.2], τα οποία αυτοφωσφορυλιώνονται, καθώς και φωσφορυλιώνουν τα υπολείμματα τυροσίνης (tyrosine residues) σε άλλες πρωτεΐνες, όπως είναι οι αυξητικοί παράγοντες, οι οποίες εμπλέκονται στην μεταγωγή του σήματος (signal transduction) και τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Πιστεύεται ότι προάγουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό εν μέρει, λόγω των επιδράσεών τους στην μεταγωγή του σήματος που υποκινείται από αυξητικούς παράγοντες (growth factor stimulated signal transduction).

Οι ισοφλαβόνες, και ιδιαίτερα η γενιστεΐνη, έχει δειχτεί ότι αναστέλλουν τη δράση των κυτταρικών PTKs (Kurzer & Xu 1997, Davis et al. 1999, Messina et al. 2002, Duncan et al. 2003). *In vitro* πειράματα στον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (epidermal growth factor, EGF), ο οποίος είχε απομονωθεί από την πλασματική μεμβράνη ανθρώπινων επιδερμικών καρκινικών κυττάρων A-431, έδειξαν ότι η γενιστεΐνη αναστέλλει την αυτοφωσφορυλίωση του υποδοχέα της τυροσίνης και την φωσφορυλίωση της τυροσίνης, τόσο φυσικών όσο και συνθετικών ενώσεων, με τιμές IC_{50}[3.3] να κυμαίνονται από 2,6-37 μM.

3.2 Τα ογκογονίδια (δηλαδή γονίδια που συμμετέχουν στην ανάπτυξη του καρκίνου) φέρουν τον κώδικα για κάποιες πρωτεΐνες που είναι πανομοιότυπες ή πολύ παρόμοιες με κάποιους αυξητικούς παράγοντες ή με κάποιους μηνυματοϋποδοχείς των αυξητικών παραγόντων ή με κάποια συστατικά της οδού μεταγωγής σήματος, η οποία εκκινεί ύστερα από την πρόσδεση ενός αυξητικού παράγοντα στους αντίστοιχους μηνυματοϋποδοχείς. Αποτελεί πρόβλημα το γεγονός ότι η δράση αυτών των πρωτεϊνών δεν αποκρίνεται σε βασικές περιοριστικές ρυθμιστικές παραμέτρους (Γελαδάς και Τσακόπουλος 2002).

3.3 IC_{50} – Inhibitory Concentration: Δόση που απαιτείται για να αναστείλει το 50% της δράσης ορισμένου κυτταρικού παράγοντα, στην συγκεκριμένη περίπτωση των PTKs (Θ.Κ. Θεοχαρίδης 1997).

Η αναστολή των PTKs έχει προταθεί ως ο μηχανισμός για την εξήγηση της ανασταλτικής στην αύξηση (growth-inhibiting) επίδρασης της γενιστεΐνης σε έναν αριθμό διαφορετικών ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων. Έχει παρατηρηθεί ότι η γενιστεΐνη επάγει την τελική διαφοροποίηση και αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό ανθρώπινων κυττάρων προσβεβλημένων με μελάνωμα και λευχαιμία, με έναν δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Συγκεκριμένα, ελάττωσε την κυτταρική αύξηση και επέφερε τη διαφοροποίηση των κυττάρων με μελάνωμα σε συγκεντρώσεις των 45 μM (Kurzer & Xu 1997). Η γενιστεΐνη επίσης έχει δειχτεί να αναστέλλει την αύξηση και να επάγει τη διαφοροποίηση σε ανθρώπινα κύτταρα με λευχαιμία σε συγκεντρώσεις των 37 και 74 μM (Constantinou A et al. 1995). Τόσο η βιοχανίνη Α όσο και η γενιστεΐνη έχουν εμφανίσει τέτοιου είδους κυτταροτοξικές επιδράσεις στην αύξηση των καρκινικών κυττάρων του στομάχου, του οισοφάγου, του προστάτη και του κόλον και μάλιστα σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 148 και 74 μM, αντίστοιχα για τις δυο ενώσεις (Adlercreutz 2002). Δεν έχουν αναφερθεί δεδομένα σχετικά με τις επιδράσεις των λιγνανών και των κουμεστανών στη διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων ή την αναστολή των PTKs.

1.2.1.β DNA τοποϊσομεράσες (DNA topoisomerases)

Οι DNA τοποϊσομεράσες είναι ένζυμα, τα οποία καταλύουν τοπολογικές αλλαγές στην αλληλουχία του DNA και απαιτούνται για την αντιγραφή του DNA (DNA replication). Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η γενιστεΐνη, αλλά και η κουμεστρόλη αναστέλλουν τη δραστηριότητα τόσο της τοποϊσομεράσης I όσο και της II[3.4] (Kurzer & Xu 1997, Davis et al. 1999, Messina et al. 2002, Duncan et al. 2003). Μάλιστα, η αναστολή της τοποϊσομεράσης II μπορεί να αποτελεί τον μηχανισμό μέσω του οποίου οι ενώσεις αυτές αναστέλλουν την

3.4 Όταν στο DNA δεν υπάρχει η δυνατότητα για περιστροφή του ενός άκρου σε σχέση με το άλλο, δρα η τοποϊσομεράση I, η οποία αλλάζει τον αριθμό των συνδέσεων κατά μία μονάδα. Η τοποϊσομεράση II, γνωστή και σαν γυράση του DNA, αλλάζει τον αριθμό των συνδέσεων κατά δύο μονάδες. Διατηρεί το DNA σε σταθερό τέντωμα (constant tension) χωρίς το πρόβλημα του μπερδέματος του DNA (tangling problem) (Δημόπουλος 2000).

πρόοδο του κυτταρικού κύκλου (συγκεκριμένα στη φάση G2, πριν από την επόμενη μίτωση) και επομένως, τον επερχόμενο πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Παρόλα αυτά όμως, κάτι τέτοιο υποδηλώνει ότι η γενιστεΐνη και η κουμεστρόλη, με το να αναστέλλουν την τοποϊσομεράση ΙΙ μπορεί ενδεχομένως να έχουν αρνητικές επιδράσεις στα φυσιολογικά κύτταρα των θηλαστικών.

1.2.2 Άλλες αναφερόμενες μη ορμονικές δράσεις

Έρευνες έχουν δείξει ότι τα φυτοοιστρογόνα καταστέλλουν την αγγειογένεση, τον σχηματισμό δηλαδή νέων τριχοειδών (αιμοφόρων αγγείων) από προϋπάρχοντα μικρά αγγεία (Davis et al. 1999, Messina et al. 2002, Duncan et al. 2003), δράση η οποία ενδέχεται να είναι σημαντική στην προστασία και/ή τη θεραπεία διαφόρων μορφών καρκίνου. Οι ισοφλαβόνες μπορεί επίσης να έχουν ανασταλτικές επιδράσεις στη σύνθεση των ενδογενών οιστρογόνων, ως αποτέλεσμα της αναστολής της αρωματάσης και της 5-α ρεδουκτάσης (Duncan et al. 2002). Επιπλέον, οι ισοφλαβόνες έχει δειχτεί ότι επάγουν τη σύνθεση της δεσμευτικής γλοβουλίνης των ορμονών φύλου (sex hormone-binding globulin, SHBG) (Adlercreutz 1993, 1995, 2002), καθώς και ότι κατέχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Mitchell et al. 1998, Adlercreutz et al. 2001, Birt et al. 2001, Clarkson 2002), ενώ οι λιγνάνες εμφανίζουν δακτυλιτιδική δράση (Li-Quan Wang 2002).

Τα φυτοοιστρογόνα έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες παρόμοιες σε μεγάλο βαθμό με εκείνες των υπόλοιπων πολυφαινολών. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες τους εξαρτώνται από τη δομή τους και σχετίζονται στενά με την παρουσία υδροξυλικών ομάδων στις θέσεις 4΄ και 5΄ και στη θέση του αρωματικού δακτυλίου. Συγχρόνως, η αντιοξειδωτική δράση των φυτοοιστρογόνων, όπως και των υπόλοιπων πολυφαινολών, εντείνεται με την αύξηση του βαθμού υδροξυλίωσης και μειώνεται με την αύξηση του βαθμού γλυκοζυλίωσης (Ανδρικόπουλος 2003). Σε ορισμένες μάλιστα περιπτώσεις, η αντιοξειδωτική επίδραση εμφανίζεται και σε συγκεντρώσεις των nM. Επιπλέον, εμφανίζεται να υπάρχει μια θετική συνέργια μεταξύ των φυτοοιστρογόνων και άλλων

αντιοξειδωτικών (Mitchell et al. 1998, Hwang et al. 2000, Patel et al. 2001α). Η ιδιότητα αυτή μπορεί να είναι σημαντική σε παθήσεις που σχετίζονται με οξειδωτικό στρες, όπως για παράδειγμα στη ρύθμιση της οξείδωσης της LDL στην αθηροσκλήρωση. Εκτός από την προστασία των λιποπρωτεϊνών, τα φυτοοιστρογόνα μπορεί επίσης να αποτρέπουν την οξείδωση σημαντικών ενζύμων που εμπλέκονται στα μονοπάτια της μεταγωγής του σήματος, με το να προστατεύουν τις ομάδες κυστεΐνης τους.

Άλλες σημαντικές δράσεις των φυτοοιστρογόνων συμπεριλαμβάνουν την απόπτωση (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος) και την κυτταρική προσκόλληση (cell adhesion) (Patel et al. 2001b). Παρόλα αυτά, στις περισσότερες περιπτώσεις απαιτούνται συγκεντρώσεις υψηλότερες από 20 μM (περίπου τρεις φορές υψηλότερες από τα επίπεδα των ελεύθερων φυτοοιστρογόνων σε άτομα που καταναλώνουν δίαιτες πλούσιες σε φυτοοιστρογόνα). Οι επιδράσεις της κυτταρικής προσκόλλησης μπορεί να είναι σημαντικές για τη σύνδεση των κυκλοφορούντων φαγοκυττάρων στο ενδοθηλιακό κυτταρικό τοίχωμα (Patel et al. 2001b) και τη συνεπακόλουθη εισβολή στον ιστικό χώρο, καθώς και για τη διαδικασία της μετάστασης. Η αναστολή συγκεκριμένων μεταλλοπρωτεϊνασών από τις ισοφλαβόνες, (Mitchell et al. 1998) ενδέχεται επίσης να συμβάλλει στην τελευταία αυτή επίδραση.

Κεφάλαιο 2

Εκτίμηση της πρόσληψης φυτοοιστρογόνων

Η συνήθης πρόσληψη ισοφλαβονών, ιδιαίτερα στους ασιατικούς πληθυσμούς όπου τα τρόφιμα σόγιας είναι ευρέως διαδεδομένα, αποτελεί ένα αμφιλεγόμενο θέμα. Αρχικά, οι ερευνητές βασιζόμενοι στην ουρική απέκκριση ισοφλαβονών, υπέθεσαν ότι η τυπική ημερήσια πρόσληψη ισοφλαβονών ποίκιλε από 50-150 mg σε ενήλικες Ιάπωνες (Setchell et al. 1984). Το εύρημα αυτό στη συνέχεια αμφισβητήθηκε, και μια πιο συντηρητική εκτίμηση προτάθηκε ως πιο πιθανή, εκείνη των 50 mg/ημέρα για τους **Ασιατικούς πληθυσμούς** (Messina 1995, Barnes 2003). Δεν έχουν υπάρξει άμεσες προσπάθειες για την εκτίμηση της ημερήσιας πρόσληψης φυτοοιστρογόνων σε ενήλικες Ασιάτες, παρόλο που αρκετοί ερευνητές χρησιμοποίησαν την ανάκληση 24ώρου (daily recall), προκειμένου να παρέχουν εκτιμήσεις για την πρόσληψη τροφίμων σόγιας από ανθρώπους που ζουν στην Ιαπωνία (Wilcox et al. 1995, Nagata et al. 1998, Wakai et al. 1999), την Κίνα (Chen Z et al. 1999) και την Ινδονησία (Purba 1999). Οι Nagata et al. (1998) ανέφεραν ότι η μέση ημερήσια πρόσληψη τροφίμων σόγιας που καταναλώνονταν από τους ενήλικες Ιάπωνες ήταν 54,4 g και 63,6 g για τους άντρες και τις γυναίκες, αντίστοιχα. Παρόλα αυτά, πρέπει να σημειωθεί ότι υπήρχε τεράστια ατομική ποικιλομορφία. Η πρόσληψη αυτή τροφίμων σόγιας αντιστοιχεί σε 8,00 g και 6,88 g συνολικής πρωτεΐνης σόγιας για τις γυναίκες και τους άντρες, αντίστοιχα. Από τα νούμερα αυτά μπορεί να γίνει μια λογική εκτίμηση της πρόσληψης ισοφλαβονών, υποθέτοντας ότι 2-5 mg ισοφλαβονών περιέχονται ανά γραμμάριο πρωτεΐνης σόγιας (Setchell & Cole 2003). Βασιζόμενοι σε αυτήν την υπόθεση, οι ενήλικες Ιάπωνες πιθανώς προσλαμβάνουν 14-45 mg ισοφλαβονών/ ημέρα κατά μέσο όρο. Οι εκτιμήσεις για την πρόσληψη ισοφλαβονών από ενήλικες Κινέζους είναι παρόμοιες (Chen Z et a. 1999), ενώ είναι εμφανές ότι οι Ινδονήσιοι πρέπει να καταναλώνουν πολύ υψηλότερα επίπεδα, λόγω των σχετικά υψηλών ποσοτήτων τοφού και τεπέ που

καταναλώνουν (Purba et al. 1999). Πρόσφατα δημοσιευμένα δεδομένα δείχνουν ότι η μέση τιμή της πρόσληψης ισοφλαβονών από τέτοια τρόφιμα είναι 125 mg/ημέρα για τους ηλικιωμένους που ζουν στην Jakarta, με το εύρος να είναι 62 και 250 mg/ημέρα για το 25° και το 75° τεταρτημόριο της πρόσληψης (Setchell 2001). Το εύρημα αυτό είναι αρκετά σημαντικό και παρόλο που υπάρχει σημαντική ποικιλομορφία στο περιεχόμενο του τεπέ και του τοφού σε ισοφλαβόνες, η έρευνα αυτή προτείνει ότι προσλήψεις μεγαλύτερες από 150 mg/ημέρα είναι δυνατόν να επιτευχθούν. Μάλιστα, είναι αρκετά αξιοσημείωτο το γεγονός ότι η συχνότητα καρκίνου του στήθους και του προστάτη στην Ινδονησία είναι σημαντικά χαμηλότερη από ότι στην Ιαπωνία και την Κίνα, και εμφανίζεται να σχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με την πρόσληψη ισοφλαβονών από τους πληθυσμούς των τριών αυτών χωρών. Η πρόσληψη ισοφλαβονών από τους Ασιάτες είναι πολύ μεγαλύτερη από την αντίστοιχη των Δυτικών, η οποία είναι αμελητέα, όπως φαίνεται από τις εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις των ισοφλαβονών στα ούρα και το πλάσμα (Setchell 2001). Σύμφωνα μάλιστα με μία παλαιότερη αναφορά, η συνήθης πρόσληψη φυτοοιστρογόνων στη Βρετανική δίαιτα είναι <1 mg/ημέρα (Jones 1989).

Πάντως, η ακριβής εκτίμηση της συνήθους πρόσληψης φυτοοιστρογόνων είναι δύσκολη. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα δεδομένα σχετικά με το περιεχόμενο των τροφίμων σε φυτοοιστρογόνα είναι περιορισμένα. Η πρόσληψη σόγιας μπορεί να αποτελέσει μία καλή εκτίμηση της πρόσληψης ισοφλαβονών και κατά επέκταση φυτοοιστρογόνων σε ασιατικούς πληθυσμούς, οι οποίοι καταναλώνουν σόγια (πλουσιότερη πηγή ισοφλαβονών) ως μέρος της παραδοσιακής τους διατροφής (Wakai et al. 1999). Παρόλα αυτά, οι **Δυτικοί πληθυσμοί** δεν καταναλώνουν σόγια συχνά, ενώ οι πηγές λιγνανών όπως οι ελαιώδεις καρποί, τα δημητριακά, τα λαχανικά και οι ξηροί καρποί είναι πιο δημοφιλείς (Huttchins et al. 1995, Bingham et al. 1998, Lee et al. 2000). Η εκτίμηση της πρόσληψης ισοφλαβονών έχει βασιστεί κυρίως σε ερωτηματολόγια, ημερολόγια ή συνεντεύξεις (Severson 1989, Lee 1991 – Key 1999, Le Marchend 1997), στα οποία η πρόσληψη τροφίμων σόγιας χρησιμοποιείται ως μέτρο για την εκτίμηση της πρόσληψης ισοφλαβονών. Τα επίπεδα της ουρικής απέκκρισης ισοφλαβονών επίσης

έχουν χρησιμοποιηθεί (Lampe et al. 1999). Έχει δειχτεί ότι η ακρίβεια των διαφορετικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της πρόσληψης των ισοφλαβονών είναι συγκρίσιμη (Arai et al. 2000). Για τις λιγνάνες η εκτίμηση της πρόσληψης έχει γίνει από τα επίπεδά τους είτε στο αίμα (Adlercreutz et al. 1993, Kilkkinen et al. 2001), είτε στα ούρα (Adlercreutz 1982, Hutchins 1995, Slavin 1998, Lampe 1999, Tonkelaar 2001). Και για τις δύο τάξεις των φυτοοιστρογόνων, μία μοναδική μέτρηση στον ορό μπορεί να αντανακλά, ίσως όχι τέλεια, την μακροχρόνια πρόσληψη ενός ατόμου, αλλά αυτό ισχύει κυρίως για τις λιγνάνες (Zeleniuch-Jacquotte et al. 1998).

Πρόσφατα χρησιμοποιήθηκε από τους Boker et al. (2002) μια νέα μέθοδος για την εκτίμηση της ημερήσιας πρόσληψης φυτοοιστρογόνων, η οποία βασίστηκε στην ημερήσια πρόσληψη συγκεκριμένων τροφίμων για τα οποία το περιεχόμενό τους σε φυτοοιστρογόνα είναι διαθέσιμο (από δημοσιεύσεις οι οποίες βασίστηκαν σε άμεσες μετρήσεις σε εργαστήρια, πίνακας Δ - παράρτημα). Οι ερευνητές αυτοί πραγματοποίησαν μια καλά ελεγχόμενη έρευνα για την εκτίμηση της διαιτητικής πρόσληψης φυτοοιστρογόνων από Ολλανδές μεσήλικες και ηλικιωμένες γυναίκες και την περιγραφή των κύριων πηγών τους. Οι γυναίκες αυτές συμμετείχαν στη Prospect/ European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) προοπτική έρευνα. Ο μέσος όρος ηλικίας ήταν τα 57 έτη και περίπου το 75% των γυναικών ήταν μετεμμηνοπαυσιακές.

Η μέση ημερήσια πρόσληψη φυτοοιστρογόνων εκτιμήθηκε να είναι ~0,9 mg, η οποία είναι σύμφωνη με προηγούμενα δημοσιευμένα στοιχεία. Συγκεκριμένα, η συνολική πρόσληψη φυτοοιστρογόνων μεταξύ των γυναικών από την Καλιφόρνια (λευκές, Λατινο-Αμερικάνες, Άφρο-Αμερικάνες) εκτιμήθηκε στα ~2,9 mg/ημέρα (Horn-Ross 2000) και μεταξύ μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών στην Framingham study στα ~0,8 mg/ημέρα (De Kleijn et al. 2001). Αντίθετα, οι ημερήσιες προσλήψεις στις ανατολικές δίαιτες είναι 10-40 φορές μεγαλύτερες. Η ημερήσια πρόσληψη ισοφλαβονών σε άτομα από την Κορέα εκτιμήθηκε ότι είναι 14,9 mg ισοφλαβονών (Kim 2001), ενώ στις Κινέζες από την Σαγκάη ~40 mg (Chen et al. 1999).

Οι κύριες πηγές της ημερήσιας πρόσληψης φυτοοιστρογόνων σύμφωνα με τους Boker et al. (2002) μελετήθηκαν ανά ομάδες τροφίμων και παρουσιάζονται στον πίνακα 3.2.1. Περισσότερο από το 80% της ημερήσιας

πρόσληψης ισοφλαβονών ήταν από λαχανικά, δημητριακά πρωινού, προϊόντα δημητριακών, καφέ/ τσάι, παραδοσιακά τρόφιμα σόγιας και ξηρούς καρπούς. Ο αρακάς και τα φασόλια αποτέλεσαν την κύρια πηγή σχεδόν όλων των ισοφλαβονών. Οι ξηροί καρποί ήταν μια σημαντική πηγή βιοχανίνης Α. Η κατανάλωση παραδοσιακών τροφίμων σόγιας δεν ήταν συχνή σε αυτόν τον πληθυσμό, καθώς ήταν υπεύθυνα μόλις για το 6,5% της συνολικής ημερήσιας πρόσληψης δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης.

Τα λαχανικά ήταν σχεδόν εξολοκλήρου υπεύθυνα για την πρόσληψη κουμεστρόλης, το μεγαλύτερο μέρος της οποίας προερχόταν από αρακά και φασόλια, ενώ ~30% προερχόταν από άλλα (όχι πατάτες και μη-φυλλώδη) λαχανικά. Επίσης, το μπρόκολο ήταν μια εξαιρετικά σημαντική πηγή.

Τα προϊόντα δημητριακών, τα λαχανικά, τα φρούτα, το τσάι/ καφές και τα ποτά με αλκοόλ, αποτέλεσαν περισσότερο από το 85% της συνολικής ημερήσιας πρόσληψης των λιγνανών MAT και SECO. Τα προϊόντα δημητριακών ήταν η πλουσιότερη πηγή και των δυο λιγνανών, ενώ η αμέσως πλουσιότερη πηγή ήταν το τσάι και ο καφές.

Παρόμοια ήταν τα ευρήματα, όσον αφορά τις κύριες πηγές πρόσληψης φυτοοιστρογόνων στους Δυτικούς πληθυσμούς και στην Framingham έρευνα (πίνακας Ε – παράρτημα) (de Kleijn et al. 2001).

Πίνακας 3.2.1: Πρόσληψη φυτοοιστρογόνων ανά ομάδα τροφίμων από Ολλανδές γυναίκες (Boker et al. 2002).

Πρόσληψη φυτοοιστρογόνων ανά ομάδα τροφίμων από Ολλανδές γυναίκες							
Ομάδα τροφίμων	Δαϊζδεΐνη	Γενιστεΐνη	Φορμονο-νετίνη	Βιοχανίνη Α	Κουμε-στρόλη	MAT	SECO
	% ημερήσια πρόσληψη						
Λαχανικά	31,81[1]	31,0[1]	49,8[1]	35,2	97,2[1]	6,4	8,2
• μπιζέλια/φασόλια	28,6	25,7	49,8	35,2	62,2	<0,1	0,3
• πατάτες	2,1	4,1				4,8	5,6
• φυλλώδη λαχανικά[2]	0,6	0,4				1,1	1,9
• άλλα	0,5	0,8	<0,1		35,0	0,5	0,4
Φρούτα	4,3	2,1				3,6	1,0
• μούρα	0,1	0,8				2,8	4,1
• άλλα (εκτός από μούρα)	4,2	1,3				0,8	9,9
Χυμοί φρούτων/ λαχανικών	1,5	<0,1				0,3	1,6
• χυμοί φρούτων	1,0	<0,1				0,2	1,5
• χυμοί λαχανικών	0,5	<0,1				0,1	0,1
Καφές/ τσάι	16,3	4,8	24,3			12,2	22,8
• καφές	14,5	4,8	24,3				15,8
• τσάι	1,8					12,2	7,0
Παραδοσιακά τρόφιμα σόγιας	6,5	6,5					
Δημητριακά πρωινού	17,2	14,4	0,1	0,1	0,2	7,0	0,1
Προϊόντα δημητριακών	15,5	11,9	6,2	0,1	2,3	62,9[1]	40,8[1]
• ψωμί	15,4	1,8	6,2	0,1	2,3	54,2	40,7
• κέικ/ μπισκότα	0,1	0,1				5,5	<0,1
• ζυμαρικά/ρύζι						3,2	0,1
Ξηροί καρποί (κυρίως φιστίκια)	3,8	16,2	2,1	45,0[1]		0,1	4,8
Αλκοόλ	<0,1	<0,1	<0,1			6,4	1,3
Άλλα	3.1	13,1	17,5	19,6	0,3	1,1	6,4
Σύνολο	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

[1] κύριες πηγές (ανά ομάδα τροφίμων) για την πρόσληψη ισοφλαβονών, κουμεστανών και λιγνανών

[2] φυλλώδη λαχανικά (λάχανο μαρούλι, σπανάκι, ραδίκι, αντίδιο)

Αυτό το οποίο παρατηρήθηκε και στις δύο έρευνες (Boker et al. 2002, Framingham study 2001) ήταν ότι όχι μόνο οι προσλήψεις φυτοοιστρογόνων στους Δυτικούς πληθυσμούς ήταν σημαντικά χαμηλότερες από τις αντίστοιχες Ασιατικών πληθυσμών, αλλά και ότι το είδος και οι πηγές φυτοοιστρογόνων που καταναλώνονταν διέφεραν σημαντικά. Στην έρευνα των Boker et al. (2002), η πρόσληψη φυτοοιστρογόνων αποτελούνταν κατά το μεγαλύτερο μέρος από λιγνάνες (~70% της συνολικής πρόσληψης φυτοοιστρογόνων), προερχόμενες κυρίως από προϊόντα δημητριακών, τσάι και καφέ. Ομοίως, οι de Kleijn et al. (2001) παρατήρησαν πως η διαιτητική πρόσληψη λιγνανών ήταν υψηλή (μέσος όρος 578 μg) σε σχέση με την πρόσληψη ισοφλαβονών (μέσος όρος 154 μg), ενώ η πρόσληψη κουμεστανών ήταν εξαιρετικά χαμηλή (μέσος όρος 0,6 μg). Τα τρόφιμα αυτά, τα οποία συνεισφέρουν στην πρόσληψη λιγνανών συνήθως περιέχουν σχετικά χαμηλά με μέτρια ποσά φυτοοιστρογόνων ανά γραμμάριο τροφίμου, αλλά καταναλώνονται συχνά. Οι κύριες πηγές πρόσληψης ισοφλαβονών ήταν αρακάς και φασόλια, τσάι/ καφές, ξηροί καρποί, προϊόντα δημητριακών, και σε μικρότερο βαθμό τρόφιμα σόγιας. Παρόμοια ευρήματα παρατηρήθηκαν και μεταξύ Αμερικανών γυναικών (Horn-Ross 2000, De Kleijn 2001), παρόλο που τα παραδοσιακά τρόφιμα σόγιας είχαν μια ελαφρώς μεγαλύτερη επίδραση στην πρόσληψη ισοφλαβονών μεταξύ των γυναικών από την Καλιφόρνια (Horn-Ross 2000), συμβάλλοντας έτσι στην υψηλότερη ημερήσια πρόσληψη φυτοοιστρογόνων. Αντιθέτως, μεταξύ Ιαπώνων, Κινέζων και Κορεατών, τα παραδοσιακά τρόφιμα σόγιας, όπως το τοφού σε ποικίλες μορφές, συνιστούν τις κύριες, και μερικές φορές αποκλειστικές πηγές ισοφλαβονών, και είναι αυτά τα οποία κύρια διαμορφώνουν την τελική πρόσληψη φυτοοιστρογόνων (Chen et al. 1999, Wakai et al. 1999, Kim et al. 2001, Shu et al. 2001). Επομένως, προκύπτει πως η σχετική συνεισφορά των ποικίλων τροφίμων στην ολική πρόσληψη φυτοοιστρογόνων εξαρτάται από τα συνήθη διαιτητικά πρότυπα του υπό μελέτη πληθυσμού.

Ωστόσο, οι διαφορές αυτές μπορεί να οφείλονται σε διάφορες παραμέτρους. Καταρχάς, κρυφές πηγές σόγιας μπορεί να μην έχουν εκτιμηθεί (προσθήκη πρωτεΐνης σόγιας σε σνακ, αναψυκτικά και επεξεργασμένα προϊόντα κλπ), οδηγώντας με αυτόν τον τρόπο σε υποεκτίμηση της πρόσληψης

ισοφλαβονών. Επιπλέον, έλλειψη δεδομένων σχετικά με την παρουσία και το περιεχόμενο των λιγνανών στα τρόφιμα, μπορεί να οδηγήσει σε επιπρόσθετες ανακρίβειες σε ό,τι αφορά την εκτίμηση της πρόσληψης φυτοοιστρογόνων σε Δυτικούς πληθυσμούς, οι οποίοι τείνουν να καταναλώνουν περισσότερες λιγνάνες από ότι οι Ασιατικοί πληθυσμοί. Πάντως, σε γενικές γραμμές η πρόσληψη φυτοοιστρογόνων στους Δυτικούς πληθυσμούς είναι σημαντικά χαμηλότερη από την αντίστοιχη στους Ασιατικούς πληθυσμούς.

Οι επιδράσεις των φυτοοιστρογόνων στις διάφορες ορμονοεξαρτώμενες παθήσεις έχουν παρατηρηθεί κυρίως σε Ασιατικούς πληθυσμούς, οι οποίοι καταναλώνουν ~20-50 g σόγιας/ ημέρα, ή σε έρευνες όπου συμπληρώματα σόγιας δίνονται σε ανθρώπους που καταναλώνουν δυτική δίαιτα (Barnes 2003). Για την προηγούμενη ομάδα, τα υψηλά επίπεδα φυτοοιστρογόνων που περιέχονται στη σόγια είναι συγκρίσιμα με μία πρόσληψη 20-100 mg φυτοοιστρογόνων και συγκεκριμένα ισοφλαβονών. Έχοντας ως βάση την πρόσληψη αυτή ισοφλαβονών έχει καθοριστεί από κλινικές δοκιμασίες ότι τα επίπεδα ισοφλαβονών που απαιτούνται για να εκδηλωθούν φυσιολογικές δράσεις στον οργανισμό του ανθρώπου είναι περίπου 60-100 mg/ημέρα, ενώ οι επιδράσεις της χαμηλής πρόσληψης ισοφλαβονών δεν έχουν ακόμη μελετηθεί. Για τον λόγο άλλωστε αυτό, η πλειοψηφία των ερευνών που μελετούν τις πιθανές θετικές επιδράσεις των φυτοοιστρογόνων στην υγεία του ανθρώπου, χρησιμοποιούν ισοφλαβόνες και όχι λιγνάνες ή κουμεστάνες. Επομένως, είναι λογικό να μην αναμένονται φυσιολογικές δράσεις των ισοφλαβονών σε Δυτικούς πληθυσμούς, οι οποίοι ακόμη και σε πιο πρόσφατες και αναλυτικές εκτιμήσεις καταναλώνουν <1 mg/ημέρα (Van Erp-Baart et al. 2003). Στην έρευνα αυτή, οι εκτιμήσεις για την πρόσληψη ισοφλαβονών από όλες τις διατροφικές πηγές έγιναν από δεδομένα που βασίστηκαν στην εθνική κατανάλωση σε τέσσερις ευρωπαϊκές χώρες (Ιρλανδία, Ιταλία, Ολλανδία, Ηνωμένο Βασίλειο).

Για να είναι σε θέση οι ερευνητές να μελετήσουν με ακρίβεια τη συσχέτιση της πρόσληψης φυτοοιστρογόνων με τον κίνδυνο και τη συχνότητα εμφάνισης παθήσεων, μια πιο αναλυτική και πλήρης βάση δεδομένων της περιεκτικότητας των ισοφλαβονών, των λιγνανών και των κουμεστανών σε

συνήθη τρόφιμα της δυτικής διατροφής θα πρέπει να αναπτυχθεί, συμπεριλαμβανομένων των γαλακτοκομικών προϊόντων και του «γρήγορου φαγητού» (“fast food”) (πιθανώς περιέχουν γάλα ή αλεύρι σόγιας). Τα ευρήματα των υπαρχόντων ερευνών μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βάση για την επέκταση της βάσης δεδομένων. Πάντως, παρά τις χαμηλές προσλήψεις, συστάσεις για αύξηση στη διατροφή των δυτικών πληθυσμών της πρόσληψης φυτοοιστρογόνων και συγκεκριμένα ισοφλαβονών μπορεί να είναι πρόωρες, προτού οι θετικές επιδράσεις των φυτοοιστρογόνων στη υγεία δειχτούν σαφώς.

Κεφάλαιο 3

Παραγωγή εκουόλης

Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη ενότητα (Μέρος 2), η εκουόλη (εκουόλη) είναι ένας μεταβολίτης της δαϊζδεΐνης, ο οποίος έχει μεγαλύτερη οιστρογονική δράση από την μητρική του ένωση. Αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά στα ανθρώπινα ούρα το 1982 (Adlercreutz et al. 1982, Axelson et al. 1982). Τα δεδομένα, τα οποία προκύπτουν από πολλές κλινικές μελέτες, τώρα δείχνουν πως αυτός ο μεταβολίτης ισοφλαβονών μπορεί να αποτελεί το «κλειδί» για τον μηχανισμό δράσης και την αποτελεσματικότητα της σόγιας σε μελέτες οιστρογονοεξαρτώμενων παθήσεων (Setchell et al. 2001).

Η εκουόλη δεν εμφανίζεται φυσιολογικά στα ούρα των περισσότερων υγιών ενηλίκων (ίσως μόνο σε ίχνη), παρά μόνο εάν καταναλώνεται σόγια. Ο σχηματισμός της βασίζεται αποκλειστικά στην εντερική μικροχλωρίδα. Πράγματι, η αδυναμία έκκρισης εκουόλης σε “germ-free” ζώα (χωρίς εντερική μικροχλωρίδα) (Axelson et al. 1982, Boewy 2003) και η έλλειψη παρουσίας της στο πλάσμα βρεφών, επισημαίνει αυτήν ακριβώς την ανάγκη ύπαρξης ενεργής μικροχλωρίδας για τον σχηματισμό της (Setchell et al. 1997, 1998).

Πολλοί ερευνητές κατατάσσουν την εκουόλη στην κατηγορία των φυτοοιστρογόνων, αν και κάτι τέτοιο δεν ισχύει, αφού η ένωση αυτή δεν αποτελεί φυσικό (ενδογενές) συστατικό των φυτών. Αντί αυτού, η εκουόλη είναι ένα μη στεροειδές οιστρογόνο της τάξης των ισοφλαβονών, το οποίο αποτελεί αποκλειστικό μεταβολικό προϊόν του εντερικού βακτηριακού μεταβολισμού (Setchell et al. 2001).

Περίπου το 30-50% του ενήλικου πληθυσμού δεν εκκρίνει εκουόλη στα ούρα όταν καταναλώνει τρόφιμα σόγιας σε ημερήσια βάση, και οι λόγοι για αυτό παραμένουν άγνωστοι (Setchell et al. 1984, Kelly et al. 1995, Karr et al. 1997,

Lampe et al. 1998, Rowland et al. 2000). Επιπλέον, ακόμη και όταν χορηγούνται οι καθαρές ενώσεις – εξαλείφοντας με αυτόν τον τρόπο την όποια επίδραση του τροφικού υποστρώματος (food matrix) – πολλοί άνθρωποι δεν μετατρέπουν τη δαϊζδεΐνη σε εκουόλη (Setchell et al. 2001, 2003). Το φαινόμενο αυτό έχει οδηγήσει στη χρησιμοποίηση διαφορετικής ορολογίας για τη διάκριση του πληθυσμού σε αυτούς που «παράγουν εκουόλη» ("equol producer") και σε αυτούς που «δεν παράγουν εκουόλη» ("non equol producer"). Σε γενικές γραμμές, άνθρωποι οι οποίοι έχουν συγκεντρώσεις πλάσματος εκουόλης <40 nmol/L (10 μg/L) μπορούν να ταξινομηθούν σε αυτούς που «δεν παράγουν εκουόλη». Συγκεντρώσεις >83 nmol/L (20 μg/L) καθορίζουν αυτούς που «παράγουν εκουόλη» (Setchell et al. 2001). Η διάκριση αυτή μπορεί να προκύψει και από τα ούρα, διακρίνοντας αυτούς που «παράγουν εκουόλη» όταν απεκκρίνουν >1000 nmol/L εκουόλης (Lampe et al. 1998, Rowland et al. 2000). Παρόλο που η απέκκριση εκουόλης ποικίλει σημαντικά μεταξύ των ατόμων, υπάρχει ένας σαφής διαχωρισμός ανάμεσα σε αυτούς που μπορούν και σε αυτούς που δεν μπορούν να παράγουν εκουόλη. Υπάρχει, συνεπώς, μία αντίστροφη σχέση μεταξύ των επιπέδων δαϊζδεΐνης και εκουόλης στα ούρα, και επιπλέον δεν έχουν παρατηρηθεί σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο φύλων (Lampe et al. 1998).

Οι Cassidy et al. (1991, 1999) χρησιμοποιώντας ένα *in vitro* μοντέλο που προσομοίαζε τη ζύμωση στο ανθρώπινο κόλον, παρατήρησαν ότι η μετατροπή της δαϊζδεΐνης σε εκουόλη από την καλλιεργημένη ανθρώπινη εντερική μικροχλωρίδα μπορεί να ελεγχθεί. Συγκεκριμένα, ένα μίγμα πλούσιο σε μη αμυλούχους πολυσακχαρίτες, το οποίο ενεργοποιεί τη βακτηριακή ζύμωση, οδήγησε σε ταχεία και πλήρη μετατροπή της δαϊζδεΐνης σε εκουόλη. Ωστόσο, κάτω από συνθήκες που μιμήθηκαν μία πρόσληψη χαμηλή σε υδατάνθρακες, η εκουόλη δεν σχηματίστηκε.

Σε μία μελέτη από τους Rowland et al. (2000) σε 24 υγιείς ενήλικες παρατηρήθηκε ότι αυτοί που «παρήγαγαν εκουόλη», κατανάλωναν λιγότερο ποσοστό ενέργειας προερχόμενο από λίπος, σε σχέση με αυτούς που «δεν παρήγαγαν εκουόλη» (26% ± 2,3% έναντι 35% ± 1,6%), καθώς και

περισσότερους υδατάνθρακες (55% ± 2,9% έναντι 47% ± 1,7%). Ομοίως, οι Lampe et al. (1998) έδειξαν ότι οι γυναίκες, και όχι οι άντρες, «που παρήγαγαν εκουόλη» κατανάλωναν υψηλότερο ποσοστό ενέργειας από υδατάνθρακες, σε σύγκριση με αυτές που δεν «παρήγαγαν εκουόλη», καθώς και μεγαλύτερα ποσά φυτικής πρωτεΐνης και διαιτητικών ινών. Προτάθηκε λοιπόν ότι μεταξύ των γυναικών, οι διαιτητικές ίνες ή άλλα συστατικά μίας δίαιτας πλούσιας σε ίνες προάγουν την ανάπτυξη και/ ή τη δραστηριότητα των βακτηριακών πληθυσμών, που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή εκουόλης στο κόλον.

Παρόλα αυτά, μία μετέπειτα έρευνα δεν βρήκε καμία επίδραση στην ουρική απέκκριση εκουόλης, όταν η πρόσληψη διαιτητικών ινών διπλασιάστηκε με τη συμπλήρωση 16 g/ημέρα πίτουρου ολικής άλεσης (Lampe et al. 2001). Το εάν η συμπλήρωση αυτή είναι επαρκής για να επιφέρει μία σημαντική αλλαγή στη δυναμική του εντέρου, παραμένει αβέβαιο. Μάλιστα, είναι αρκετά ενδιαφέρον το γεγονός ότι το πίτουρο ολικής άλεσης δεν μεταβάλλει την ουρική απέκκριση εντερολακτόνης και εντεροδιόλης (Setchell et al. 1983, Lampe et al. 2001), οι οποίες σχηματίζονται από τις ίδιες μεταβολικές αντιδράσεις που εμπλέκονται στον σχηματισμό εκουόλης.

Το εάν υπάρχουν συγκεκριμένα συστατικά της διατροφής που μπορούν να επηρεάσουν τη βακτηριακή μετατροπή της δαϊζδεΐνης σε εκουόλη παραμένει ακόμη αδιευκρίνιστο, καθώς τα υπάρχοντα δεδομένα είναι αντικρουόμενα. Πάντως, μια σταθερή παρατήρηση από τους Setchell et al. (2003) είναι ότι αυτοί που «παράγουν εκουόλη» φαίνεται να συνεχίζουν να παράγουν εκουόλη με το πέρασμα του χρόνου. Ομοίως, οι Lampe et al. (2001) παρατήρησαν πως η δυνατότητα μετατροπής εκουόλης είναι ένα σχετικά σταθερό φαινόμενο.

Επομένως, προκύπτει το σημαντικό ερώτημα: «μπορεί κάποιος που δεν παράγει εκουόλη να μετατραπεί σε κάποιον που μπορεί να παράγει εκουόλη;». Σίγουρα, είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί το αντίστροφο: η εκτεταμένη χρήση αντιβιοτικών, που εξαλείφει την εντερική μικροχλωρίδα είναι

δυνατόν να κάνει κάτι τέτοιο, όπως και εμποδίζει τον σχηματισμό λιγνανών, εντεροδιόλης και εντερολακτόνης, οι οποίες ομοίως σχηματίζονται από την εντερική μικροχλωρίδα. Είναι κατανοητό πως η χρήση προβιοτικών[3.5] ή πρεβιοτικών[3.6] θα μπορούσε να επάγει την παραγωγή εκουόλης, αλλά κάτι τέτοιο παραμένει ακόμη αδιευκρίνιστο. Οι Uehara et al. (2001) έδειξαν ότι οι διαιτητικοί φρουκτοπολυσακχαρίτες μεταβάλλουν τη βιοδιαθεσιμότητα της δαϊζδεΐνης και της γενιστεΐνης σε αρουραίους, αλλά δεν έγινε καμία αναφορά στην εκουόλη. Το γεγονός αυτό προκαλεί έκπληξη, δεδομένου ότι η εκουόλη είναι η κύρια ισοφλαβόνη που απαντάται στο πλάσμα των αρουραίων (Brown et al. 2001).

Συνεπώς, η αναγνώριση των βακτηριακών ειδών που είναι υπεύθυνα για τη μετατροπή της δαϊζδεΐνης σε εκουόλη, αποτελεί μεγάλη πρόκληση, λόγω του μεγάλου αριθμού των βακτηρίων που κατοικούν στο κόλον και το λεπτό έντερο. Οι Ueno et al. (2001) αναγνώρισαν αυτούς που «παρήγαγαν εκουόλη» από υγιείς ενήλικες Ιάπωνες, μετά την κατανάλωση τοφού και την καλλιέργεια της περιττωματικής μικροχλωρίδας. Τα τρία είδη βακτηρίων που αναφέρθηκαν να μετατρέπουν την ανέπαφη δαϊζδεΐνη σε εκουόλη *in vitro*, ήταν τα gram^{+} είδη των *Streptococcus intermedius spp.* και *Ruminococcus productus spp.* και τα gram^{-} *Bacteroides ovatus spp*.

Οι Nagel et al. (1998) έδειξαν πως το 49,7% της εκουόλης κυκλοφορεί στο αίμα στην ελεύθερη ή μη δεσμευμένη μορφή. Το ποσοστό αυτό είναι σημαντικά υψηλότερο από το αντίστοιχο της ελεύθερης δαϊζδεΐνης (18,7%) ή της οιστραδιόλης (4,6%). Μάλιστα, επειδή το αδέσμευτο κλάσμα είναι εκείνο το οποίο είναι διαθέσιμο για την πρόσδεση στους οιστρογονικούς υποδοχείς, προκύπτει ότι το αυξημένο ποσοστό ελεύθερης εκουόλης αυξάνει αποτελεσματικά τη συνολική δραστικότητά της. Επομένως, φαίνεται πως οι ορμονικές δράσεις της εκουόλης είναι ισχυρότερες από οποιοδήποτε άλλο διαθέσιμο φυτοοιστρογόνο (Setchell et al. 2001).

Βέβαια, η εκουόλη διαθέτει και άλλες δράσεις σε κυτταρικό επίπεδο. Ως πολυφαινόλη έχει τη δυνατότητα να αντιδρά με τις ελεύθερες ρίζες που παράγονται στον οργανισμό και να τις εξουδετερώνει. Μάλιστα, όπως έχει ήδη

αναφερθεί, εμφανίζει την ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση από όλες τις ισοφλαβόνες. Έτσι, προκύπτει ότι η υπόθεση για διάκριση του πληθυσμού σε αυτούς που «παράγουν εκουόλη» και σε αυτούς που «δεν παράγουν εκουόλη» ευσταθεί, αφού όσοι ανήκουν στην πρώτη ομάδα μπορεί να εμφανίζουν μεγαλύτερη αναστολή της υπεροξείδωσης των λιπιδίων και συνεπώς, μεγαλύτερη μείωση του κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις.

Συνολικά, λαμβάνοντας υπόψη τις ισχυρές βιολογικές δράσεις της εκουόλης και τις υπάρχουσες κλινικές έρευνες, φαίνεται πως ανακύπτει ένα εξαιρετικά ενδιαφέρον εύρημα. Η κλινική αποτελεσματικότητα της πρωτεΐνης σόγιας στην καρδιαγγειακή, οστική και μετεμμηνοπαυσιακή υγεία μπορεί να είναι αποτέλεσμα της δυνατότητας των ισοφλαβονών σόγιας να βιομετατραπούν στην πιο δραστική οιστρογονική ισοφλαβόνη, την εκουόλη. Μάλιστα, η αδυναμία για διαχωρισμό των ατόμων σε αυτούς που «παράγουν εκουόλη» και σε αυτούς που «δεν παράγουν εκουόλη», σε προηγούμενες κλινικές έρευνες, μπορεί να εξηγήσει την ποικιλομορφία των διαθέσιμων δεδομένων σχετικά με τις θετικές επιδράσεις της σόγιας στην υγεία.

3.5 Ο όρος προβιοτικά (σε ελεύθερη μετάφραση υπέρ της ζωής) εμφανίστηκε στα τέλη της δεκαετίας του 1980 (Fuller 1989). Σήμερα ως προβιοτικά ορίζονται ζωντανοί οργανισμοί, οι οποίοι όταν καταναλώνονται ασκούν ευεργετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου πέραν της εγγενούς επίδρασης της γενικής διατροφής. Μέχρι σήμερα, η χρήση των προβιοτικών στοχεύει το πεπτικό σύστημα του ανθρώπου και τη μικροχλωρίδα του. Θεωρητικά, κάθε μέρος του ανθρώπινου σώματος που διαθέτει χλωρίδα θα μπορούσε να αποτελέσει πεδίο δράσης για τα προβιοτικά. Ως προβιοτικά χρησιμοποιούνται σήμερα διάφορα είδη και γένη μικροοργανισμών. Μεταξύ αυτών κυριαρχούν τα οξυγαλακτικά βακτήρια (lactic acid bacteria) και ειδικότερα οι γαλακτοβάκιλλοι και οι εντερόκοκκοι, καθώς επίσης και τα bifidobacteria. Δεν είναι τυχαίο ότι οι ίδιες ομάδες βακτηρίων αποτελούν ταυτόχρονα σημαντικό τμήμα της εντερικής χλωρίδας του ανθρώπου (Ανδρέας Θ. Τσουρουκτσόγλου 2003, Internet).

3.6 Τα πρεβιοτικά είναι συστατικά της διατροφής που ευνοούν τη δράση των προβιοτικών, πχ οι φυτικές ίνες. Το είδος των τροφών που ενισχύει τα προβιοτικά είναι κυρίως οι σύμπλοκοι υδατάνθρακες που βρίσκονται στα λαχανικά, τα πλήρη δημητριακά και τα όσπρια, ενώ αντίθετα τα ζωικά λίπη, οι ζωικές πρωτεΐνες και η ζάχαρη αναστέλλουν τη δράση τους. Τα προβιοτικά ενισχύονται επίσης με το γιαούρτι («ζωντανό»), τα φρέσκα τυριά, αλλά και άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα που αποτελούν προϊόντα ζύμωσης (κεφίρ, ξινόγαλα). Σήμερα είναι δυνατή η προσθήκη προβιοτικών σε ειδικές τροφές για βρέφη, αλλά και η διάθεσή τους σε μορφή συμπληρωμάτων διατροφής (Έφη Τσακαλίδου 2002, Internet).

Μέρος 4ο

Ο Ρόλος των Φυτοοιστρογόνων στην Οστεοπόρωση

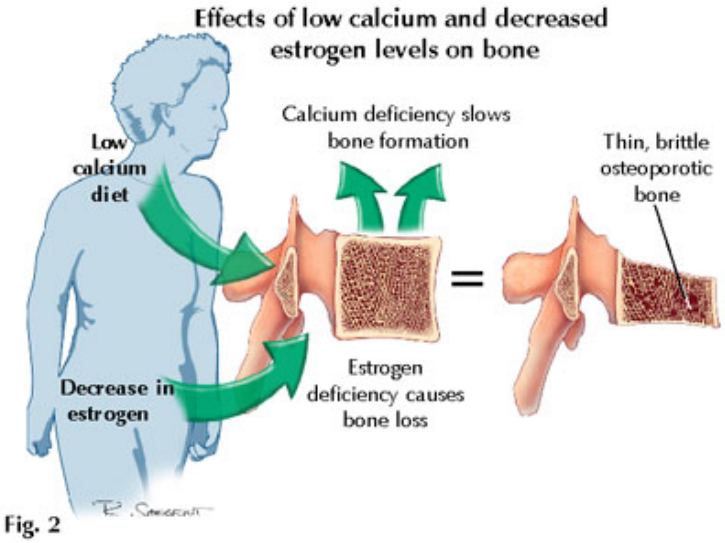


Fig. 2

Κεφάλαιο 1

ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ

1.1 Ορισμός

Η οστεοπόρωση είναι η πιο συχνή μεταβολική διαταραχή των οστών, αλλά και η λιγότερο κατανοητή όσον αφορά την παθογένεια. Η οστεοπόρωση μπορεί να οριστεί ως η μείωση της οστικής πυκνότητας σε τόσο σημαντικό βαθμό, ώστε λόγω της συνεπαγόμενης ελάττωσης της μηχανικής αντοχής του οστού να προκαλούνται αναίτια κατάγματα. Η οστεοπόρωση είναι, επομένως, εξ ορισμού συνδεδεμένη με την καταγματική νόσο.

Ορισμένοι συγγραφείς διακρίνουν το κλινικό σύνδρομο της οστεοπόρωσης που συνοδεύεται από κατάγματα, από την οστεοπενία που είναι η ασυμπτωματική κατάσταση, δηλαδή εκείνη στην οποία δεν υπάρχουν κατάγματα.

Η οστεοπόρωση είναι καταρχήν μια ποσοτική μεταβολή του οστίτη ιστού, ενώ η ποιοτική του κατάσταση (η κανονική του σύσταση) δεν αλλάζει, δηλαδή η αναλογία κολλαγόνου προς υδροξυαπατίτη δεν μεταβάλλεται (τα οστά εμφανίζουν διαταραχή της αρχιτεκτονικής, αλλά έχουν πλήρη ασβέστωση). Η διάκριση αυτή γίνεται βασικά για να διακρίνει την οστεοπόρωση από άλλα μεταβολικά νοσήματα των οστών, κυρίως τη ραχίτιδα και την οστεομαλακία, όπου υπάρχει σαφής διαταραχή της σχέσης οργανικού προς ανόργανο τμήμα του οστού (Λυρίτης 1996, Cecil 2000).

1.2 Αιτιολογία και παθογένεια

Σε κάθε χρονική στιγμή, η οστική μάζα εξαρτάται από την μέγιστη οστική μάζα που έχει επιτύχει ο οργανισμός στη διάρκεια της ανάπτυξης και από την μεταγενέστερη απώλεια οστίτη ιστού. Έτσι, η οστεοπενία μπορεί να είναι αποτέλεσμα ελλιπούς οστικής αύξησης κατά την εφηβεία, γρήγορης απώλειας οστού κατά την ενήλικη ζωή ή και των δύο. Η οστική ανακατασκευή προϋποθέτει, στην ώριμη ζωή, ισόποση παραγωγή οστού με εκείνη της οστικής απορρόφησης. Επομένως, βασική αιτία για την πρόκληση οστεοπόρωσης είναι η δημιουργία ενός μακρόχρονου αρνητικού ισοζυγίου οστού. Το αρνητικό αυτό ισοζύγιο οστού μπορεί να οφείλεται είτε σε αυξημένη οστεοκλαστική δραστηριότητα και σύγχρονη φυσιολογική οστεοβλαστική δράση (πράγμα που συμβαίνει κυρίως στην οστεοπόρωση τύπου Ι) ή σε φυσιολογική οστεοκλαστική δράση, αλλά συγχρόνως σε μειωμένη οστεοβλαστική δραστηριότητα (πράγμα που συμβαίνει κυρίως στην οστεοπόρωση τύπου ΙΙ) (Λυρίτης 1996, Cecil 2000).

1.3 Ορισμός μέγιστης οστικής μάζας

Καταρχάς, ως μέγιστη οστική μάζα ορίζεται η μέγιστη κατά τη διάρκεια της ζωής επιτυγχανόμενη οστική μάζα (peak bone mass). Η έννοια της οστικής μάζας συγχέεται από πολλούς με την ολοκλήρωση της σκελετικής ανάπτυξης ή αλλιώς τη σκελετική ωρίμανση. Στην πραγματικότητα όμως πρόκειται για διαφορετικές λειτουργίες, αφού η μεν σκελετική ανάπτυξη σχετίζεται βασικά με τη λειτουργία των συζευκτικών χόνδρων, ενώ η μέγιστη οστική μάζα εξαρτάται αποκλειστικά από τον οστικό μεταβολισμό.

Η έννοια της μέγιστης οστικής μάζας είναι θεμελιώδης για την κατανόηση της παθογένειας της οστεοπόρωσης. Η επίτευξη πολύ υψηλής μέγιστης οστικής μάζας καθιστά ελάχιστη την πιθανότητα εμφάνισης οστεοπόρωσης στην μετέπειτα ζωή, ενώ αντίθετα, η επίτευξη χαμηλής μέγιστης οστικής μάζας οδηγεί κατά πάσα πιθανότητα, μετά την τέταρτη δεκαετία της ζωής σε οστεοπόρωση. Με τη γνώση αυτή, η οστεοπόρωση παίρνει διαστάσεις

νεανικού νοσήματος και πράγματι, φαίνεται πως όσο καλύτερα κατανοούμε και αντιμετωπίζουμε με επιτυχία τη χαμηλή κορυφαία οστική πυκνότητα, τόσο ουσιαστικά βοηθούμε στην πρόληψη του νοσήματος αυτού.

Η οστική μάζα αυξάνεται εντυπωσιακά στη διάρκεια της ενήβωσης υπό την επίδραση των ορμονών φύλου και τελικά οι τιμές της στους νέους ενήλικους είναι σχεδόν διπλάσιες από τις τιμές της στα παιδιά. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την μέγιστη οστική μάζα είναι το φύλο (οι άνδρες έχουν μεγαλύτερη οστική μάζα από τις γυναίκες), η φυλή (οι μαύροι έχουν μεγαλύτερη οστική μάζα από τους λευκούς), γενετικοί παράγοντες, τα στεροειδή των γονάδων, η αυξητική ορμόνη, ο χρόνος έναρξης της ενήβωσης, η πρόσληψη ασβεστίου και η άσκηση. Στην Ελλάδα, η κορυφαία οστική πυκνότητα βρέθηκε ότι επιτυγχάνεται περίπου στο 30^{ο} έτος στους άντρες, ενώ στις γυναίκες στο 25^{ο} (Λυρίτης 1996, Cecil 2000).

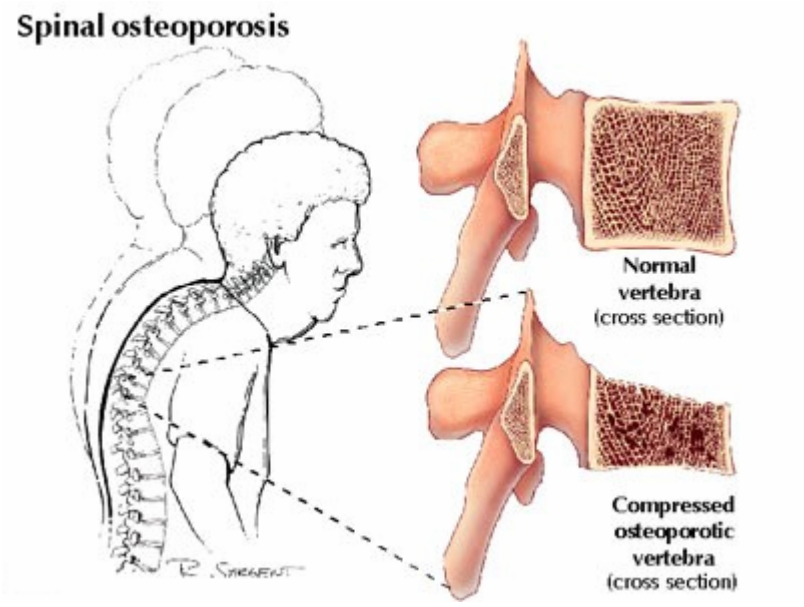
1.4 Απώλεια οστού κατά την ενήλικη ζωή

Μετά την επίτευξη της μέγιστης τιμής της, η οστική μάζα παραμένει σταθερή για χρόνια και ακολούθως ελαττώνεται σε όλη τη διάρκεια της ζωής. Σημαντικές ενδείξεις υποδηλώνουν ότι χάνεται οστό μετά το 40^{ο} έτος στους άντρες με βραδύ ρυθμό και μετά το 50^{ο} έτος στις γυναίκες με σχετικά γρήγορα ρυθμό (Cecil 2000).

Με βάση την απώλεια οστού στην ενήλικη ζωή η ιδιοπαθής οστεοπόρωση εμφανίζεται με δυο κλινικούς τύπους που διαφέρουν τόσο στην κλινική εικόνα, όσο και στην παθογένειά τους. Στις μέρες μας όμως έχει δειχτεί πως η διάκριση αυτή δεν είναι απλώς ηλικιοεξαρτώμενη. Έτσι, ενώ παλαιότερα οι τύποι αυτοί χαρακτηρίζονταν ως μετεμμηνοπαυσιακή και ως γεροντική οστεοπόρωση, σήμερα προτιμάται η ονομασία οστεοπόρωση τύπου I και τύπου II, αντίστοιχα.

1.4.α Οστεοπόρωση τύπου Ι

Η οστεοπόρωση τύπου Ι ή σύνδρομο συμπιεστικών καταγμάτων των σπονδύλων, συνήθως αναπτύσσεται στα πρώτα 10-15 χρόνια μετά την εμμηνόπαυση και αγγίζει την υψηλότερη επίπτωση στις ηλικίες των 60 ετών και των αρχών των 70. Το σύνδρομο καλείται και μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση διότι τα συμπιεστικά κατάγματα των σπονδύλων που προκαλούνται από την πρωτοπαθή οστεοπόρωση είναι πολύ σπάνια στις άλλες ομάδες εκτός από τις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ανευρίσκεται όμως σε νεότερες γυναίκες με αμηνόρροια ή οιστρογονική ανεπάρκεια από άλλα αίτια και σε ηλικιωμένους (Παθολογία Stein).



Όταν εγκατασταθεί η εμμηνόπαυση, ο ρυθμός απώλειας του οστού επιταχύνεται κατά μερικές φορές, ο οποίος όμως δεν είναι σταθερός. Έτσι, η οστική απώλεια παρουσιάζεται συνήθως πολύ αυξημένη τα πρώτα μετεμμηνοπαυσιακά χρόνια (τα πρώτα πέντε), μετά όμως από τα οποία επανέρχεται συνήθως σε χαμηλούς ρυθμούς. Η ταχεία οστική απώλεια αποκαθίσταται στις περισσότερες γυναίκες στο πέμπτο μετεμμηνοπαυσιακό έτος. Στην διάρκεια των πρώτων 5-10 ετών της εμμηνόπαυσης, η απώλεια σπογγώδους οστού[4.1] είναι πιο γρήγορη από την απώλεια φλοιώδους[4.1]. Οι αντίστοιχες ταχύτητες είναι περίπου 2-4% και 1-2% τον χρόνο. Στο διάστημα

αυτό η γυναίκα μπορεί να χάσει το 10-15% του φλοιώδους και το 25-30% του σπογγώδους οστίτη ιστού της, μια απώλεια που μπορεί να προληφθεί με θεραπεία αναπλήρωσης των οιστρογόνων. Ωστόσο, πρέπει να έχουμε πάντα υπόψη ότι οι ταχύτητες της οστικής απώλειας ποικίλουν σημαντικά μεταξύ των γυναικών (Cecil 2000).

Από κλινική άποψη η οστεοπόρωση τύπου Ι πολλές φορές εκδηλώνεται με «συνθλιπτικά» κατάγματα των σπονδύλων που οδηγούν σε παραμόρφωση της σπονδυλικής στήλης και σε σημαντική απώλεια του αναστήματος ή με κατάγματα Colles, των οποίων παθογενετικό αίτιο είναι η απώλεια της φλοιώδους οστικής ουσίας στον καρπό (Cecil 2000).

Στην οστεοπόρωση τύπου Ι η αυξημένη οστική απώλεια έχει αποδοθεί κυρίως στην <u>έλλειψη οιστρογόνων</u>, τα οποία δρουν άμεσα στον οστικό μεταβολισμό. Σύμφωνα με πρόσφατες ενδείξεις, η έλλειψη οιστρογόνων μπορεί **(1)** να αυξάνει την τοπική παραγωγή κυτταροκινών[4.2] που προκαλούν απορρόφηση οστού, όπως ιντερλευκινών (IL) 1 και 6 και του παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF). Στην περίπτωση μάλιστα ωοθηκεκτομής οι προαναφερθέντες ιντερλευκίνες που προάγουν ιδιαίτερα την οστεοκλαστογένεση, υπερεκκρίνονται.

Εκτός όμως από την οστεοκλαστική επίδραση των απελευθερούμενων ιντερλευκινών που παρατηρείται σε έλλειψη οιστρογόνων, η οποία είναι και η σημαντικότερη, παρατηρείται επίσης μια αλληλουχία γεγονότων που τελικά οδηγεί σε οστική απώλεια. Συγκεκριμένα, **(2)** η πτώση των οιστρογόνων προκαλεί αύξηση της ευαισθησίας του σκελετού στη δράση της παραθορμόνης (PTH) και μείωση της έκκρισής της. Αυτό οδηγεί σε μειωμένη παραγωγή της 1,25 διυδροξυ-βιταμίνης D_3 και επομένως, σε μείωση της απορρόφησης του ασβεστίου από το έντερο, καθώς επίσης και σε αύξηση της

4.1 Τα οστά αποτελούνται από δύο τμήματα. Το εξωτερικό τμήμα είναι το συμπαγές ή φλοιώδες οστό, που συνιστά το 80% της μάζας του σκελετού. Στο εσωτερικό του συμπαγούς οστού βρίσκεται το δεύτερο τμήμα, γνωστό ως δοκιδώδες ή σπογγώδες οστό, που αποτελεί το 20% της μάζας του σκελετού (Ιατρικό λεξικό 1997).

απέκκρισης του ασβεστίου από τους νεφρούς. Η δράση αυτή των οιστρογόνων οδηγεί σε μείωση του ασβεστίου του ορού (σχήμα 4.1.1). Για τον λόγο αυτόν οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες πρέπει να προσλαμβάνουν περισσότερο ασβέστιο, περίπου 1500 mg/ημέρα.

Ένας άλλος **(3)** παράλληλος μηχανισμός δράσης των οιστρογόνων στους οστεοκλάστες γίνεται μέσω της έκκρισης καλσιτονίνης. Η αυξημένη οστεοκλαστική δραστηριότητα που ακολουθεί την έλλειψη οιστρογόνων οφείλεται συμπληρωματικά σε δευτεροπαθή μείωση της καλσιτονίνης (η δράση της καλσιτονίνης είναι να αναστέλλει τη δράση των οστεοκλαστών).

Τέλος, **(4)** η ανακάλυψη υποδοχέων των οιστρογόνων στους οστεοβλάστες δίνει μια άλλη διάσταση στην αιτιοπαθογένεια της οστεοπόρωσης τύπου Ι. Συγκεκριμένα, επειδή τα οιστρογόνα αυξάνουν την τοπική παραγωγή αυξητικών παραγόντων, όπως του ινσουλινοειδούς αυξητικού παράγοντα Ι (IGF-I)[4.2] και του μετασχηματιστικού αυξητικού παράγοντα β (TGF-β)[4.2], οι οποίοι διεγείρουν τον σχηματισμό οστού, η έλλειψη οιστρογόνων θα μπορούσε να προκαλέσει ελάττωση του σχηματισμού οστού. Φαίνεται λοιπόν πως η έγκαιρη προληπτική θεραπεία της οστικής απώλειας με συνδυασμό οιστρογόνων και προγεστινών είναι ουσιώδης για την ελάττωση της συχνότητας των καταγμάτων στην οστεοπόρωση τύπου Ι (Cecil 2000).

4.2 Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού και αιμοποιητικού συστήματος βρίσκονται σε διαρκή επικοινωνία και συνεργασία, κυρίως μέσω διαμεσολαβητικών πρωτεϊνικών μορίων που ρυθμίζουν την κυτταρική ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό. Οι ουσίες αυτές χαρακτηρίζονται γενικά ως κυτοκίνες. Η σύγχρονη κατάταξη περιλαμβάνει τις ιντερλευκίνες 1-14, τους αυξητικούς παράγοντες, τις ιντερφερόνες και άλλες κυτοκίνες (Λυρίτης 1996).

Δράση στο οστό ⇒ IL-1 (α και β): ισχυρή οστική απορρόφηση

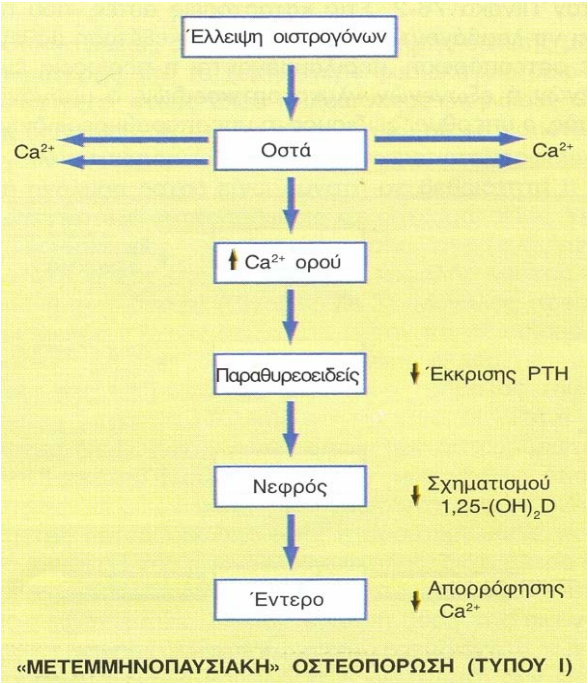
⇒ IL-6: διέγερση οστεοκλαστών – οστική απορρόφηση

⇒ TNF: οστική απορρόφηση

⇒ IGF-I: ενεργοποίηση οστεοβλαστών

⇒ TGF-β: αναστολή οστικής απορρόφησης

Σχήμα 4.1.1: Δράση των οιστρογόνων στην οστεοπόρωση τύπου Ι (Cecil 2000).

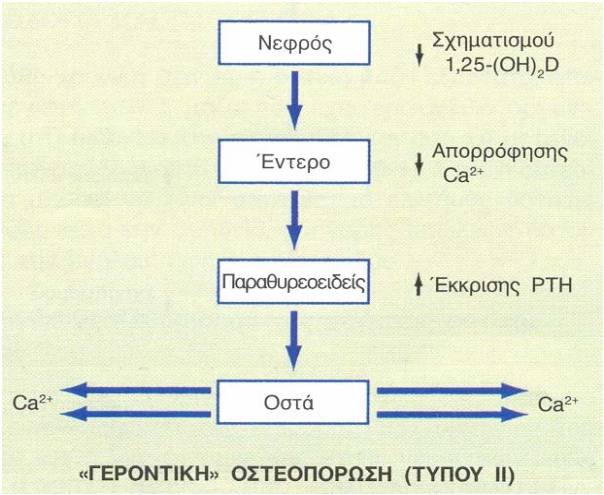


1.4.β Οστεοπόρωση τύπου ΙΙ

Μετά την παρέλευση της γρήγορης μετεμμηνοπαυσιακής απώλειας η απώλεια οστού συνεχίζεται σταδιακά με βραδύτερο ρυθμό για όλη τη διάρκεια της ζωής. Αυτός ο τύπος της οστεοπόρωσης που παρατηρείται και στα δύο φύλα, έχει ονομαστεί τύπου ΙΙ ή «γεροντική» οστεοπόρωση. Παρουσιάζεται σε ηλικιωμένους (μετά το 70ό έτος) και των δύο φύλων, με υπεροχή όμως των γυναικών 3 προς 1 σε σχέση με τους άντρες. Επειδή στην οστεοπόρωση τύπου ΙΙ οι απώλειες φλοιώδους και σπογγώδους οστού είναι περισσότερο ισορροπημένες, τα συχνά παρατηρούμενα κατάγματα αφορούν το ισχίο, την πύελο, τα ανώτερα τμήματα του βραχιόνιου οστού και της κνήμης και τα σπονδυλικά σώματα. Τα κατάγματα αυτά αποτελούν μία βασική αιτία νοσηρότητας και αυξημένης θνησιμότητας της τρίτης ηλικίας (Λυρίτης 1996).

Παράγοντες που είναι πιθανόν να παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της οστεοπόρωσης τύπου ΙΙ είναι **(1)** η πρωτοπαθής ελάττωση της ικανότητας του νεφρού να συνθέτει βιταμίνη D [1,25-$(OH)_2D_3$] λόγω της ανεπαρκούς παραγωγής 1-α υδροξυλάσης και/ ή η ελάττωση της εντερικής ευαισθησίας στην 1,25-$(OH)_2D_3$ που έχουν ως αποτέλεσμα την ελάττωση της απορρόφησης του ασβεστίου και την ανάπτυξη ελαφρού δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού (σχήμα 4.1.2), και **(2)** η ελάττωση του οστεοβλαστικού σχηματισμού του οστού με την αύξηση της ηλικίας. Η χορήγηση ασβεστίου και βιταμίνης D μειώνει στα άτομα αυτά την πιθανότητα εμφάνισης καταγμάτων.

Σχήμα 4.1.2: Μηχανισμός δράσης στην οστεοπόρωση τύπου ΙΙ (Cecil 2000).



1.5. Διάγνωση της οστεοπόρωσης

Η οστεοπόρωση αποτελεί από την πλευρά της κλινικής συμπτωματολογίας, συνήθως ένα σιωπηλό νόσημα, ιδίως στα αρχικά στάδια της οστικής απώλειας. Αυτό έχει σαν συνέπεια την καθυστερημένη διάγνωση του νοσήματος, στις περισσότερες περιπτώσεις σε περίοδο που η αποτροπή της εμφάνισης νέων καταγμάτων γίνεται προβληματική. Παρόλα αυτά, προσεκτική μελέτη των ατόμων και κυρίως των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών μπορεί να βοηθήσει στην έγκαιρη διάγνωση της νόσου και την ευκολότερη αντιμετώπισή της. Το γεγονός αυτό ισχύει περισσότερο για άτομα που παρουσιάζουν περισσότερους παράγοντες κινδύνου.

Η σωστή πρόληψη της οστεοπόρωσης απαιτεί ως προϋπόθεση την έγκαιρη εντόπιση του ατόμου που διατρέχει κίνδυνο για την εμφάνιση του νοσήματος. Για τον σκοπό αυτόν απαιτείται η προληπτική εξέταση, ορισμένων ειδικά πληθυσμιακών ομάδων (π.χ. των περιεμμηνοπαυσιακών γυναικών). Η εξέταση αυτή πρέπει να συνδυάζει την κλινική εκτίμηση των παραγόντων κινδύνου, την μέτρηση της οστικής πυκνότητας (body mass density, BMD) και ειδικών βιοχημικών οστικών δεικτών (Λυρίτης 1996, Cecil 2000).

1.5.α Παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση οστεοπόρωσης

Μετά την ολοκλήρωση της κορυφαίας οστικής πυκνότητας δημιουργείται το ερώτημα με ποιους τρόπους θα διατηρηθεί η υψηλότερη αυτή πυκνότητα στη μετέπειτα ζωή. Δυστυχώς, αυτό δεν μπορεί να γίνει απόλυτα.

Μετά το 40° έτος στους άνδρες με βραδύ ρυθμό και μετά το 50° έτος στις γυναίκες με σχετικά γρήγορο ρυθμό χάνεται οστό. Η αιτιολογία του οστεοπορωτικού συνδρόμου είναι πολυπαραγοντική και για τον λόγο αυτό πρέπει να αναλυθούν οι παράγοντες εκείνοι που εκθέτουν τους υποψήφιους οστεοπορωτικούς σε αυξημένο κίνδυνο οστικής απώλειας. Οι σπουδαιότεροι από αυτούς επιδρούν στην περίοδο επίτευξης της μέγιστης οστικής μάζας και κατά την ενήλικη ζωή συμβάλλουν βασικά στην απώλεια οστικής μάζας. Σε

περίπτωση ύπαρξης πολλών συγχρόνως παραγόντων κινδύνου για οστεοπόρωση, ο ρυθμός αυτός της οστικής απώλειας γίνεται ταχύτερος ή αρχίζει σε νεαρότερη ηλικία (Λυρίτης 1996).

Οι σπουδαιότεροι παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση οστεοπόρωσης είναι η πρόωρη εμμηνόπαυση, η πτωχή διατροφή σε ασβέστιο, η πλούσια διατροφή σε πρωτεΐνες, η κατάχρηση καφέ, τσαγιού και οινοπνευματωδών ποτών, το κάπνισμα και τέλος η λήψη διαφόρων φαρμάκων, όπως κορτιζόνης, θυροξίνης κλπ (πίνακας 4.1.1).

Πίνακας 4.1.1: Παράγοντες κινδύνου για οστεοπόρωση (Λυρίτης 1996).

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ	
1. Φύλο	12. Καυκάσια φυλή
2. Προεμμηνοπαυσιακή ανεπάρκεια οιστρογόνων, π.χ. ανωορρηξία που οφείλεται σε νευρογενή ανορεξία, υπερβολική άσκηση, ψυχικό stress	13. Φάρμακα • Κορτικοστεροειδή • Θυροξίνη • Ηπαρίνη
3. Πρόωρη εμμηνόπαυση	
4. Χαμηλό σωματικό βάρος σε σχέση με το ύψος	14. Νοσήματα • Ρευματοειδής αρθρίτιδα • Υπερθυρεοειδισμός • Νεοπλάσματα (μυέλωμα) • Ηπατική ανεπάρκεια • Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια • Ατελής οστεογένεση • Σύνδρομο Turner • Υπερπρολακτιναιμία
5. Γήρας	
6. Κάπνισμα	
7. Καφεΐνη	
8. Οινόπνευμα	
9. Δίαιτα χαμηλή σε ασβέστιο	
10. Δίαιτα υψηλή σε πρωτεΐνες	
11. Καθιστική ζωή	

1.5.β Αρχές που διέπουν τη μέτρηση της οστικής πυκνότητας

Ο κύριος σκοπός της οστικής πυκνομετρίας είναι η εντόπιση των ατόμων που κινδυνεύουν να πάθουν οστεοπορωτικά κατάγματα. Με τη λογική αυτή απαιτείται η μέτρηση της οστικής πυκνότητας της συγκεκριμένης περιοχής που κινδυνεύει να πάθει κάταγμα. Μέτρηση πάντως και σε άλλες περιοχές του σκελετού μπορεί να δώσει χρήσιμες πληροφορίες για τον κίνδυνο κατάγματος. Για παράδειγμα, οι πλέον ενδεικτικές περιοχές μέτρησης της οστικής πυκνότητας για την εμφάνιση μελλοντικού κατάγματος του άνω άκρου του μηριαίου οστού είναι το εγγύς και το περιφερικό άκρο της κερκίδας και ο αυχένας του μηριαίου οστού. Η διαγνωστική της οστεοπόρωσης με οστική πυκνομετρία είναι βασικό τμήμα, τόσο της πρόληψης, όσο και της θεραπείας του νοσήματος (Λυρίτης 1996).

Η μέτρηση της οστικής πυκνότητας δίνει βασικά μία εικόνα του βαθμού οστεοπενίας που υπάρχει σε μία δεδομένη στιγμή και σε μία ή περισσότερες περιοχές του σκελετού. Επίσης, με τη μέθοδο της οστικής πυκνομετρίας δεν είναι δυνατόν να προσδιοριστεί η παθογένεια της οστεοπενίας, καθώς επίσης και το εάν υπάρχει άλλο μεταβολικό νόσημα των οστών, το οποίο να συνοδεύεται από οστεοπενία.

Ο ρυθμός της οστικής απώλειας που παρατηρείται σε ένα μεταβολικό νόσημα των οστών μπορεί επίσης να καθοριστεί με επαναληπτικές μετρήσεις της οστικής πυκνότητας, η αξιοπιστία των οποίων καθορίζεται από την επαναληψιμότητα του οστικού πυκνόμετρου. Πάντως, ακόμη και σε ιδανικές περιπτώσεις λειτουργίας του πυκνόμετρου, δεν είναι δυνατόν να επανελεγχτεί η μέτρηση της οστικής πυκνότητας πριν παρέλθει ένα εξάμηνο(Λυρίτης 1996).

1.5.γ Βιοχημικοί οστικοί δείκτες

Στην προσπάθεια να γίνεται σωστή διαφοροδιάγνωση της οστεοπόρωσης και ανεύρεση του ρυθμού οστικής απώλειας, έχουν αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια ειδικοί ή σχεδόν ειδικοί βιοχημικοί οστικοί δείκτες, οι οποίοι εξυπηρετούν τους προαναφερόμενους σκοπούς.

Ο οστικός μεταβολισμός χαρακτηρίζεται από δύο αντίθετες δραστηριότητες, την οστική παραγωγή (bone formation) από τους οστεοβλάστες και την οστική απορρόφηση (bone resorption) από τους οστεοκλάστες. Φυσιολογικά, υπάρχει μια ισορροπία μεταξύ των δύο αυτών λειτουργιών, η οποία διαταράσσεται στα περισσότερα μεταβολικά νοσήματα των οστών, ειδικότερα δε στην οστεοπόρωση.

Η διαταραχή αυτή του οστικού μεταβολισμού δεν είναι δυνατόν να ελεγχθεί με τους βιοχημικούς οστικούς δείκτες. Όπως φαίνεται στον πίνακα 4.1.2 υπάρχουν βιοχημικοί οστικοί δείκτες που σχετίζονται με την οστεοβλαστική λειτουργία και άλλοι οι οποίοι σχετίζονται με την οστεοκλαστική δραστηριότητα. Η ειδικότητα των βιοχημικών οστικών δεικτών στη συγκεκριμένη οστική λειτουργία διαφέρει τόσο στο κατά πόσο αντανακλά μόνο τη λειτουργία των οστεβλαστών ή των οστεοκλαστών, όσο και στο αν χαρακτηρίζει ένα συγκεκριμένο μεταβολικό νόσημα των οστών. Στην πράξη, κανένας βιοχημικός δείκτης δεν συνδέεται αποκλειστικά με ένα νόσημα, υπάρχουν όμως διαφορές μεταξύ των νοσημάτων ως προς την ευαισθησία των βιοχημικών δεικτών.

Πίνακας 4.1.2: Βιοχημικοί οστικοί δείκτες (Λυρίτης 1996).

ΟΣΤΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ (BONE FORMATION)	**ΟΣΤΙΚΗ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ (BONE RESORPTION)**
Αίμα: **+Αλκαλική φωσφατάση** (ολική και οστικό κλάσμα) **+Οστεοκαλσίνη** Προκολλαγόνο Ι Οστεονεκτίνη **Ούρα:** Μη διαχεόμενη ΟΗ-Ρ (Non-Dialyzable OH-P)	**Αίμα:** Ανθεκτικό στο τρυγικό άλας κλάσμα όξινης φωσφατάσης (Tartrate-resistant Acid Phosphatase) ελεύθερο γ-καρβοξυγλουταμινικό οξύ • **Ούρα:** **+Ολική και διαχεόμενη ΟΗ-Ρ/ Κρεατινίνη** (Total and Dialyzable OH-P/Cr) **+Ασβέστιο/ Κρεατινίνη** Παράγωγα πυριδινίου: Υδροξυλυσυλπυριδολίνη Λυσυλπυριδολίνη Γλυκοσίδες της υδροξυλυσίνης -γαλακτοσυλυδροξυλυσίνη -γλυκοσυλγαλακτοσυλυδροξυλυσίνη
ΟΗ-Ρ = υδροξυπρολίνη + Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι στην κλινική πράξη. • Κατά προτίμηση σε πρωινό δείγμα ούρων 2ώρου μετά από ολονύχτια νηστεία.	

1.6 Πρόληψη και θεραπεία οστεοπόρωσης τύπου Ι

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα φυτοοιστρογόνα είναι σε εντυπωσιακό βαθμό δομικά όμοια με τα ενδογενή οιστρογόνα (Setchell & Adlercreutz 1988). Μάλιστα, η παρουσία της φαινολικής ομάδας φαίνεται να διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στον καθορισμό των οιστρογονικών αγωνιστικών/ ανταγωνιστικών ιδιοτήτων των ενώσεων αυτών. Για τον λόγο αυτό, όσον αφορά τις επιδράσεις τους στην υγεία, θα μπορούσαν να διαδραματίσουν ρόλο στην πρόληψη και θεραπεία της οστεοπόρωσης τύπου Ι, της οποίας κύρια αιτία είναι η έλλειψη ενδογενών οιστρογόνων λόγω εμμηνόπαυσης. Προτού όμως αναφερθούμε στον πιθανό ρόλο των φυτοοιστρογόνων είναι σκόπιμο να αναφέρουμε δύο από τις σπουδαιότερες θεραπευτικές μεθόδους, που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της οστεοπόρωσης τύπου Ι. Αυτές είναι η ορμονική θεραπεία και πιο πρόσφατα οι εκλεκτικοί τροποποιητές των υποδοχέων των οιστρογόνων (selective estrogen receptor-modulators, SERMs), οι οποίες και δρουν κατά κύριο λόγω στους οστεοκλάστες (αντιοστεοκλαστικά ή αντιστεολυτικά φάρμακα) (Cecil 2000).

1.6.α Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης (Hormone replacement therapy, HRT)

Η θεραπεία αναπλήρωσης των οιστρογόνων είτε από το στόμα είτε με διαδερματική απορρόφηση προλαμβάνει την απώλεια οστού στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Ωστόσο, η δράση αυτή είναι ασθενέστερη σε όψιμη χορήγηση οιστρογόνων, επειδή κατά τα πρώτα χρόνια της εμμηνόπαυσης παρατηρείται ταχύτερη απώλεια οστού.

Το ευεργετικό αποτέλεσμα της φαρμακευτικής χορήγησης οιστρογόνων σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες γίνεται εμφανές με την πάροδο της ηλικίας, οπότε μειώνεται η πιθανότητα εμφάνισης καταγμάτων. Οι υπάρχουσες εργασίες για τη μείωση των μελλοντικών οστεοπορωτικών καταγμάτων μετά τη συστηματική και μακροχρόνια χορήγηση οιστρογόνων είναι απόλυτα τεκμηριωμένες.

Τα καλά αποτελέσματα της προληπτικής αγωγής για την αναστολή της οστικής απώλειας με οιστρογόνα, προϋποθέτουν γρήγορη έναρξη της θεραπευτικής αγωγής άμεσα μετά την εμμηνόπαυση και κατά προτίμηση όχι μετά τον 5^{ο} μετεμμηνοπαυσιακό χρόνο. Επίσης, η θεραπεία με οιστρογόνα συνιστάται να υπερβαίνει τα 7 τουλάχιστον συνεχή χρόνια, αν και η διάρκεια της θεραπείας δεν έχει καθοριστεί.

Η θεραπεία της εγκατεστημένης οστεοπόρωσης με χορήγηση οιστρογόνων και προγεστινών δεν έχει ξεκαθαριστεί αν είναι εξίσου αποτελεσματική, όπως συμβαίνει με την πρόληψη, από πολλούς όμως συγγραφείς συνιστάται σε σχετικά ηλικιωμένες γυναίκες π.χ. 65 ετών, κυρίως στη φάση της έναρξης των οστεοπορωτικών καταγμάτων. Η αγωγή αυτή επί ένα έτος οδηγεί σε ελάττωση κατά 2% του ρυθμού της οστικής απώλειας. Η χορήγηση οιστρογόνων σε άτομα μεγαλύτερα των 75 ετών βασικά δεν συνιστάται, αν και ορισμένοι ερευνητές τα χορηγούν κυρίως για την αντιμετώπισης της συνυπάρχουσας ουρογεννητικής ατροφίας. Κατά τους ερευνητές αυτούς, η αγωγή αυτή ελαττώνει την επίπτωση των σπονδυλικών καταγμάτων, ενώ αυξάνει την οστική πυκνότητα της σπονδυλικής στήλης.

Η προστατευτική δράση των οιστρογόνων έναντι της εμφάνισης καταγμάτων στην τρίτη ηλικία σε γυναίκες που έλαβαν την ορμόνη για διάστημα μεγαλύτερο των 10 ετών, αλλά μετά διέκοψαν τη θεραπεία, δεν συνεχίζεται μετά τη διακοπή της θεραπείας (Λυρίτης 1996).

Η εμφάνιση των καρδιαγγειακών νοσημάτων αυξάνεται απότομα στις γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση. Έρευνες έχουν δείξει ότι η παραδοσιακή ορμονική θεραπεία μειώνει τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης πλάσματος και αυξάνει τα επίπεδα της HDL. Αν χρησιμοποιηθεί για πρωτογενή πρόληψη σχετίζεται με μία μείωση της τάξης του 35-40% στη θνησιμότητα από καρδιαγγειακά νοσήματα (Glazier et al. 2001). Αξιόλογη επομένως, είναι η καρδιοπροστατευτική δράση των οιστρογόνων, καθώς επίσης και η δράση τους στη μετεμμηνοπαυσιακή κατάθλιψη και τη νοητική λειτουργία.

Σύμφωνα με τα ευρήματα των περισσότερων ερευνητών, η ευεργετική επίδραση των οιστρογόνων στα οστά των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών είναι ανάλογη προς τη χορηγούμενη δόση τους, πράγμα που σημαίνει ότι ημερήσιες δόσεις συνεζευγμένων οιστρογόνων μικρότερες των 0,625 mg ή 50 μg για τα οιστρογόνα διαδερματικής απορρόφησης δεν είναι σε θέση να αναστείλουν την οστική απώλεια.

Τα κάπνισμα ελαττώνει την αντιοστεοκλαστική δράση των οιστρογόνων, καθώς επίσης η μη επαρκής πρόσληψη ασβεστίου και η μειωμένη κινητική δραστηριότητα.

Οι παρατηρούμενες παρενέργειες μετά από μακροχρόνια χορήγηση οιστρογόνων είναι καταρχήν η υπερπλασία του ενδομητρίου και ο αυξημένος κίνδυνος για ανάπτυξη καρκίνου του ενδομητρίου, αν και φαίνεται πως ο κίνδυνος αυτός μειώνεται με την ταυτόχρονη χορήγηση προγεστινών. Ο κίνδυνος καρκίνου της μήτρας είναι αυξημένος σε όλες τις γυναίκες, οι οποίες έχουν υψηλά επίπεδα οιστρογόνων επί πολλά χρόνια, δηλαδή όχι μόνο σε εκείνες τις γυναίκες που λαμβάνουν εξωγενώς οιστρογόνα, αλλά και σε περιπτώσεις φυσιολογικής μακρόχρονης έκθεσης σε οιστρογόνα, είτε λόγω πρόωρης εμμηναρχής, είτε λόγω καθυστερημένης εμμηνόπαυσης. Το ποσοστό εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου σε γυναίκες που παίρνουν μόνο οιστρογόνα είναι 3,5%, ενώ σε εκείνες που δεν κάνουν καμία θεραπεία με οιστρογόνα είναι 2,4%.

Λήψη οιστρογόνων για διάστημα μεγαλύτερο των 5 ετών επταπλασιάζει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου της μήτρας. Η λήψη οιστρογόνων επί ένα έτος εκθέτει τη γυναίκα σε υψηλό κίνδυνο καρκίνου της μήτρας για τα επόμενα 10 έτη της ζωής της. Για τον λόγο αυτό συνίσταται ο έλεγχος του ενδομητρίου ένα χρόνο μετά την έναρξη της θεραπείας με οιστρογόνα. Η κυκλική χορήγηση οιστρογόνων και προγεστερόνης μειώνει το ποσοστό καρκίνου της μήτρας κατά 0,5%.

Η αυξημένη πιθανότητα καρκίνου του μαστού σε οστεοπορωτικές γυναίκες είναι γενικά αμφιλεγόμενη. Συνολικά, η ανάλυση της υπάρχουσας βιβλιογραφίας σχετικά με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού σε γυναίκες που λαμβάνουν οιστρογόνα οδηγεί στα ακόλουθα συμπεράσματα: (α) η χορήγηση οιστρογόνων δεν αυξάνει τον κίνδυνο για καρκίνο του μαστού τα πρώτα 5 χρόνια θεραπείας. (β) Η συνεχής χορήγηση οιστρογόνων αυξάνει κατά 30% τον κίνδυνο για καρκίνο του μαστού μετά από 15 χρόνια. (γ) Τα άτομα με βεβαρημένο οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού δεν πρέπει να λαμβάνουν οιστρογόνα, έστω και για μικρά χρονικά διαστήματα. (δ) Ο κίνδυνος υπάρχει κυρίως κατά το χρονικό διάστημα που οι γυναίκες παίρνουν οιστρογόνα. (ε) Ο κίνδυνος είναι παρόμοιος για όλα τα χορηγούμενα οιστρογονικά σκευάσματα.

Στις παρενέργειες των οιστρογόνων έχει προστεθεί ο αυξημένος κίνδυνος θρομβοεμβολικής νόσου, καθώς και η επιδείνωση της υπάρχουσας ινοκυστικής μαστοπάθειας.

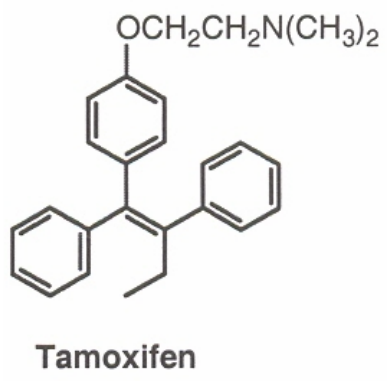
Συμπερασματικά, πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι η θεραπεία αναπλήρωσης των ορμονών τελικά μειώνει τη θνησιμότητα στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, βασικά μέσω της προστατευτικής επίδρασης των οιστρογόνων στις καρδιαγγειακές ασθένειες. Δηλαδή, για τη μέση μετεμμηνοπαυσιακή γυναίκα η θετική προστασία ενάντια στις καρδιαγγειακές ασθένειες και την οστεοπόρωση υπολείπεται καθαρά της αρνητικής επίδρασης στην αύξηση της επικινδυνότητας ανάπτυξης καρκίνου. Τούτο όμως μπορεί να μην είναι αληθές για ατομικές περιπτώσεις γυναικών που έχουν οικογενειακό ιστορικό καρκίνων του μαστού ή του ενδομητρίου ή οι όποιες έχουν άλλους γνωστούς παράγοντες επικινδυνότητας για τέτοιες ασθένειες (Γελαδάς και Τσακόπουλος 2001).

1.6.β Εκλεκτικοί τροποποιητές των υποδοχέων των οιστρογόνων (selective estrogen receptor modulators, SERMs)

Πρόσφατα έχει δοθεί έμφαση στην αντιοστεοκλαστική δράση των εκλεκτικών τροποποιητών των υποδοχέων των οιστρογόνων. Οι ουσίες αυτές μελετώνται σαν εναλλακτικές λύσεις στη χορήγηση οιστρογόνων για την αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης. Τα φάρμακα αυτά ονομάστηκαν έτσι, επειδή ενεργοποιούν τους υποδοχείς οιστρογόνων σε κάποιους ιστούς, αλλά όχι σε κάποιους άλλους. Τα οιστρογονικά αυτά ανάλογα θεωρείται ότι έχουν προστατευτική δράση στα οστά, ενώ αποφεύγεται η επικινδυνότητα καρκίνου της μήτρας και του μαστού. Προφανώς, το ιδανικό φάρμακο SERM θα πρέπει να έχει οιστρογονική επίδραση για να προφυλάσσει το άτομο από την οστεοπόρωση, τα καρδιακά επεισόδια και την ασθένεια Alzheimer, αλλά ταυτόχρονα το ίδιο φάρμακο να εμποδίζει την ανάπτυξη καρκίνων της μήτρας και του μαστού. Η λογική βάση που επιτρέπει τη ανάπτυξη ενός τέτοιου φαρμάκου είναι ότι υπάρχουν δύο εξειδικευμένοι τύποι οιστρογονοϋποδοχέων, οι οποίοι επηρεάζονται διαφορετικά από τα διάφορα φάρμακα SERM. Αυτό, σημαίνει ότι μπορούν να δρουν «εκλεκτικώς» άλλοτε ως οιστρογόνα, και άλλοτε ως αντι-οιστρογόνα. Από τους διάφορους εκλεκτικούς τροποποιητές των υποδοχέων των οιστρογόνων γνωστότερες ενώσεις είναι η ταμοξιφένη και η ραλοξιφένη (Λυρίτης 1996, Γελαδάς και Τσακόπουλος 2001).

Η <u>ταμοξιφένη</u> (σχήμα 4.1.3) χρησιμοποιείται εδώ και πολλά χρόνια ευρέως για την αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού, όπου θεωρείται ότι ελαττώνει τον κίνδυνο υποτροπής κατά 30% στις ορμονοεξαρτώμενες μορφές καρκίνου του μαστού. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην πρόληψη της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης των μαστεκτομημένων γυναικών. Εκτός όμως από την πρόληψη σε γυναίκες με μαστεκτομή, η ταμοξιφένη συνιστάται και για την πρόληψη της οστεοπόρωσης σε φυσιολογικές μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Lorraine et al. 1999). Η σπουδαιότερη παρενέργεια της ταμοξιφένης είναι η υπερπλασία του ενδομητρίου και επομένως, ο αυξημένος κίνδυνος καρκίνου της μήτρας (Loraine et al. 1999). Επίσης, αναφέρεται ο δυνητικός κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του ήπατος.

Για τους λόγους αυτούς, συνίσταται η χορήγηση της ταμοξιφένης να μην υπερβαίνει τα 5 έτη.



Σχήμα 4.1.3: Χημική δομή ταμοξιφένης.

Η ραλοξιφένη αναφέρεται ότι δεν διεγείρει το ενδομήτριο και επομένως, δεν προκαλεί καρκίνο της μήτρας. Από την άλλη μεριά, έχει δειχτεί τόσο πειραματικά όσο και κλινικά ότι προστατεύει από την μετεμμηνοπαυσιακή οστική απώλεια. Εάν πράγματι υπάρχει ασφάλεια για τον μαστό και το ενδομήτριο μετά τη χορήγηση ραλοξιφένης, φαίνεται ότι η ορμόνη αυτή θα είναι ιδιαίτερα ωφέλιμη στην πρόληψη της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης.

1.6.γ Ο πιθανός ρόλος των φυτοοιστρογόνων στην οστεοπόρωση τύπου Ι

Οι καρκινογόνες παρενέργειες των οιστρογόνων, κυρίως στον μαστό, έχουν δημιουργήσει μια επιφυλακτικότητα και έναν προβληματισμό στις γυναίκες, με αποτέλεσμα πολλές από αυτές να μην αποδέχονται τη συνιστώμενη θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης. Ακόμη και σε χώρες όπως οι ΗΠΑ, με διαδεδομένη τη θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογόνα, η συμμόρφωση των γυναικών σε μακρόχρονη θεραπεία είναι πολύ μικρή.

Έτσι, παρατηρείται μια στροφή προς φυτικές ενώσεις, οι οποίες θα μπορούσαν να δράσουν προστατευτικά στην μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση. Μάλιστα, πολλές μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, οι οποίες έχουν επιλέξει να μην λάβουν ορμονική θεραπεία, χρησιμοποιούν συμπληρωματικές και εναλλακτικές θεραπείες μεταξύ των οποίων και συμπληρώματα φυτοοιστρογόνων. Τα φυτοοιστρογόνα έχουν προταθεί ως εναλλακτικά της ορμονικής θεραπείας (HRT) για την πρόληψη της οστεοπόρωσης (Schreiber & Rebar 1999, Wuttke et al. 2003). Συγκεκριμένα, οι ισοφλαβόνες αποτελούν την τάξη εκείνη των φυτοοιστρογόνων, με την οποία έχουν ασχοληθεί οι περισσότερες έρευνες όσον αφορά την επίδρασή τους στην μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση.

Πιθανώς, η μεγαλύτερη πλάνη όσον αφορά τα φυτοοιστρογόνα έχει υπάρξει η κατάταξή τους ως «οιστρογόνα». Από τη μία πλευρά έχει υπάρξει κριτική αναφορικά με τη σχετική αναποτελεσματικότητα των ισοφλαβονών της σόγιας όταν συγκρίνονται με τις δράσεις της κλασσικής ορμονικής θεραπείας. Από την άλλη, έχουν υπάρξει ανησυχίες ότι οι ισοφλαβόνες μπορεί να είναι επικίνδυνες, επειδή είναι «οιστρογόνα», αν και είναι φυσικές ενώσεις.

Τα φυτοοιστρογόνα όμως είναι στην ουσία μη στεροειδικά στη χημική τους δομή. Παρόλα αυτά, όπως έχουμε δει σε προηγούμενη ενότητα, εξαιτίας της παρουσίας των φαινολικών δακτυλίων έχουν τη δυνατότητα να προσδένονται

στους υποδοχείς οιστρογόνων, καθώς και άλλες ενώσεις, όπως το αντι-οιστρογόνο ταμοξιφένη, η οποία χρησιμοποιείται αποτελεσματικά για τη θεραπεία του καρκίνου του στήθους. Τα αντι-οιστρογόνα θεωρείται ότι εμφανίζουν τις επιδράσεις τους με το να μειώνουν τη συγκέντρωση του κυτταροπλασματικού ER και σχηματίζοντας σύμπλοκο με τον υποδοχέα, και επομένως αποτρέπουν τις βιοσυνθετικές διαδικασίες που εμπλέκονται στην ιστική ανάπτυξη. Τα φυτοοιστρογόνα προσδένονται με μεγαλύτερη συγγένεια (περίπου 6-8 φορές) στον ERβ και εμφανίζονται να μιμούνται τους SERMs όσον αφορά την πρόσδεσή τους στους ERs (Jordan et al. 1999, Nicholls et al. 2002, Russel et al. 2002). Σύμφωνα με αυτήν την άποψη έχει δειχτεί ότι η γενιστεΐνη επικάθεται στο σύμπλεγμα ER (ER complex) με έναν τρόπο, ο οποίος είναι σχεδόν παρόμοιος με εκείνον της ραλοξιφένης και όχι της οιστραδιόλης (Pike et al. 1999).

Επομένως, αντί να ταξινομούνται τα φυτοοιστρογόνα ως «οιστρογόνα», θα πρέπει πιο σωστά να κρίνονται ότι δρουν ορμονικώς ως φυσικοί SERMs, όπως μάλιστα προτάθηκε και πρόσφατα (Brzezinski & Debi 1999, Russel et al. 2002). Έτσι, προκύπτει ένας νέος ορισμός σύμφωνα με τον οποίο τα φυτοοιστρογόνα είναι φυσικοί SERMs, οι οποίοι είναι παρόμοιοι στη δομή, αλλά ασθενέστεροι σε όρους βιολογικής δραστικότητας σε σχέση με τα ενδογενή οιστρογόνα. Όπως και οι συνθετικοί SERMs, τα φυτοοιστρογόνα εμφανίζουν τόσο οιστρογονικές, όσο και αντι-οιστρογονικές ιδιότητες ανάλογα με τον «ιστό-στόχο». Ως τέτοιες ενώσεις, τα φυτοοιστρογόνα είναι πιθανόν να έχουν τις θετικές επιδράσεις των οιστρογόνων χωρίς τις αρνητικές, ιδιαίτερα σε ιστούς όπως το ενδομήτριο και το στήθος (Cummings et al. 1999, Jordan et al. 1999, Russel et al. 2002).

Κεφάλαιο 2

Φυτοοιστρογόνα και οστεοπόρωση: Έρευνες σε Ζώα

Τα τελευταία χρόνια έχει πραγματοποιηθεί ένας σημαντικός αριθμός ερευνών σε ζωικά μοντέλα, ο οποίος παρέχει αποδείξεις για σημαντικές βελτιώσεις στην οστική μάζα και σε άλλους βιοχημικούς οστικούς δείκτες μετά τη χορήγηση σόγιας. Οι έρευνες αυτές υποδεικνύουν με ισχυρό τρόπο την οστεοπροστατευτική επίδραση (bone-sparing effect) της σόγιας, η οποία αποδίδεται στο περιεχόμενό της σε ισοφλαβόνες. Παρόλα αυτά, επειδή υπάρχουν περιορισμοί όσον αφορά τα συστήματα με τα οποία μελετάται ο γηράσκων σκελετός (ageing skeleton), τα δεδομένα που προκύπτουν θα πρέπει να εκτιμώνται με ιδιαίτερη προσοχή (Rubin et al. 1999).

Πράγματι, εφόσον το καλύτερο μοντέλο για την μελέτη του ανθρώπου είναι ο άνθρωπος, δεν υπάρχει ιδιαίτερη πίεση όσον αφορά την εύρεση του καταλληλότερου ζωικού μοντέλου για την συγκεκριμένη πάθηση. Ωστόσο, είναι σαφές πως λόγω ηθικών και άλλων περιορισμών, αν οι έρευνες βασίζονταν μόνο σε ανθρώπους, τότε δεν θα υπήρχε η δυνατότητα να ελεγχθούν νέες υποθέσεις και να εκτιμηθούν νέες πιθανές θεραπείες. Η ανάπτυξη και εφαρμογή κατάλληλων ζωικών μοντέλων για την μελέτη της οστικής απώλειας στους ανθρώπους αποτελούν επομένως, νόμιμα εργαλεία στην προσπάθεια των ερευνητών να κατανοήσουν, να διαχειριστούν και πιθανώς να αποτρέψουν την εμφάνιση της οστεοπόρωσης στο μέλλον. Λαμβάνοντας υπόψη τον υψηλό βαθμό γενετικής ομολογίας μεταξύ των θηλαστικών, φαίνεται λογικό ότι τα ζωικά μοντέλα μπορούν να παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες για την αιτιολογία και την παθογένεια του γηράσκοντος σκελετού (Kalu 1999, Coxam 2003).

Παρόλα αυτά, είναι απαραίτητο τα μοντέλα αυτά να προσεγγιστούν προσεχτικά, λαμβάνοντας υπόψη τους ενδεχόμενους περιορισμούς τους

(Rubin et al. 1999). Καταρχήν, στην εξέταση μιας προληπτικής στρατηγικής για την οστεοπενία, οι περιπλοκές έμφυτες διαδικασίες που εμπλέκονται στη γήρανση του σκελετού του ανθρώπου, μπορεί να είναι δύσκολο να μελετηθούν μέσω μιας πειραματικής διαταραχής στα ζώα. Δεύτερον, τα ζώα, ακόμη και αν η χρονική διάρκεια της ζωής τους είναι φυσιολογική, δεν εμφανίζουν αυθόρμητα κατάγματα, τα οποία αποτελούν σφραγίδα για την οστεοπόρωση στους ανθρώπους, παρόλο που η ωοθηκεκτομή είναι μια διαδικασία ρουτίνας που πραγματοποιείται στους σκύλους, τις γάτες, τους χοίρους, τις αγελάδες κλπ. Επιπρόσθετες διαφορές περιλαμβάνουν το απόλυτο μέγεθος και την αρχιτεκτονική του οστού. Επιπλέον, τα περισσότερα ζώα, τα οποία χρησιμοποιούνται ως μοντέλα είναι τετράποδα και επομένως έχουν διαφορετικές διαδικασίες οστικής φόρτισης (loading patterns) –δέχονται διαφορετικές μηχανικές πιέσεις, με αποτέλεσμα να ενδέχεται ο οστικός τους μεταβολισμός να μην είναι ίδιος με εκείνον του ανθρώπου (Coxam 2003).

Έχοντας υπόψη αυτές τις δυσκολίες, ένα ζωικό μοντέλο για τη μελέτη της επίδρασης της γήρανσης στον ανθρώπινο σκελετό, μπορεί να οριστεί ως ένα ζωντανό ζώο, του οποίου τα χαρακτηριστικά της οστικής απώλειας και των διαδικασιών που εμπλέκονται σε αυτή, μοιάζουν με εκείνες του ανθρώπου από μία ή περισσότερες πλευρές. Συνεπώς, τα καλά ζωικά μοντέλα θα πρέπει να διαθέτουν τουλάχιστον τέσσερα χαρακτηριστικά: ευκολία στη χρήση, επαναληψιμότητα (αναπαραγωγή των αποτελεσμάτων κάτω από τις ίδιες συνθήκες), ικανότητα πρόβλεψης του πιθανολογούμενου αποτελέσματος και καταλληλότητα (διαθεσιμότητα, απαιτούμενες εγκαταστάσεις, περιβαλλοντικές συνθήκες κλπ).

Λαμβάνοντας υπόψη τις συνθήκες αυτές ο Αμερικανικός Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) εξέδωσε οδηγίες, σύμφωνα με τις οποίες ο έλεγχος των αντι-οστεοπορωτικών φαρμάκων θα πρέπει να γίνεται χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο με τρωκτικά (rodent model) και ένα μεγάλο ζωικό μοντέλο, με τα πλέον κατάλληλα είδη να είναι οι προβατίνες, οι χοίροι ή τα πρωτεύοντα θηλαστικά (εκτός του ανθρώπου) (FDA, 1994).

2.1 Επιδράσεις των φυτοοιστρογόνων στα οστά των ζώων

Το ζωικό μοντέλο, το οποίο χρησιμοποιείται πιο συχνά για την μελέτη των πιθανών αντι-οστεοπορωτικών ιδιοτήτων των φυσικών οιστρογόνων είναι ο ωοθηκεκτομένος αρουραίος (ovariectomized rat, OVX) (Fanti et al. 1998, Ishida et al. 1998, Arjmandi et al. 2000, 2002, Horcajada-Molteni et al. 2000a, Picherit et al. 2000). Η γενιστεΐνη έχει αναφερθεί ότι εμφανίζει οστεοπροστατευτική δράση σε OVX θηλάζοντες αρουραίους (Anderson et al. 1998), σε ηλικιωμένους θηλυκούς αρουραίους (Gao & Yamaguchi, 1998) και στο OVX ποντίκι (Ishimi et al. 1999), ενώ μια δίαιτα βασισμένη σε πρωτεΐνες σόγιας (14%) δεν φαίνεται να βελτιώνει την ποιότητα του οστού (όπως εκτιμήθηκε από ιστομορφομετρία) σε ανέπαφους θηλυκούς αρουραίους (Hegsted et al. 1999).

Σε αντίθεση με το μοντέλο σε τρωκτικά (rodent model), οι χειρουργικά μετεμμηνοπαυσιακές πιθηκίνες, στις οποίες δόθηκαν περίπου 112 nmol ισοφλαβονών/ ημέρα (28 mg/ημέρα*)* για δύο χρόνια, απέτυχαν να εμφανίσουν οποιαδήποτε θετική επίδραση στις οστικές παραμέτρους (Jayo et al. 1996). Ομοίως, οι Lees & Ginn (1998) βρήκαν ότι η κατανάλωση πρωτεΐνης σόγιας από OVX *cynomolgus* πιθήκους [παρέχοντας μια δόση ισοφλαβονών ισοδύναμη με 592 nmol/ημέρα (148 mg/ημέρα) για μία γυναίκα] για 7 μήνες, δεν απέτρεψε την μεγαλύτερη οστική απορρόφηση λόγω ωοθηκεκτομής, με μοναδική σημαντική επίδραση *(P*< 0.01) να είναι μια πολύ μικρή αύξηση στο σχηματισμό φλοιώδους οστού. Συνεπώς, τα πρωτεύοντα θηλαστικά φαίνεται να συμπεριφέρονται διαφορετικά και επομένως, μπορεί να μην είναι ένα καλό μοντέλο για την μελέτη της οστικής απώλειας σε ανθρώπους.

Όπως είδαμε στο προηγούμενο κεφάλαιο, οι παράγοντες για την μετέπειτα εμφάνιση της οστεοπόρωσης μπορούν να κάνουν την εμφάνισή τους ήδη από τη νεαρή ηλικία, ως αποτέλεσμα ανεπαρκούς επίτευξης μέγιστης οστικής μάζας. Πράγματι, μεταξύ δύο ατόμων τα οποία χάνουν οστική πυκνότητα με τον ίδιο ετήσιο ρυθμό, το άτομο με τη χαμηλότερη μέγιστη οστική μάζα θα περάσει το κατώφλι της οστεοπόρωσης σε μικρότερη ηλικία. Παρόλο που η κληρονομικότητα είναι ο ισχυρότερος καθοριστικός παράγοντας, η μέγιστη

οστική μάζα μπορεί να βελτιωθεί με την παροχή επαρκούς και κατάλληλης διατροφής. Στα ζώα, η ανάπτυξη είναι ένα πολυπαραγοντικό φαινόμενο, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται πολλά προβλήματα στην ανάλυση. Παρόλα αυτά, η χρησιμοποίηση αναπτυσσόμενων ζώων μπορεί να αποδειχτεί χρήσιμη και πράγματι επιλέχθηκε από τους Coxam et al. (2003) προκειμένου να μελετήσουν την επίδραση των ισοφλαβονών σόγιας [8 nmol (2 mg)/kg σωματικού βάρους για 42 ημέρες, *per os*) σε θηλυκά χοιρίδια 15 ημερών. Κάτω από αυτές τις συνθήκες, η κατανάλωση φυτοοιστρογόνων δεν επέφερε καμία επίδραση στον σκελετό, και επομένως φαίνεται να μην μπορεί να συμβάλει στην αύξηση της οστικής μάζας σε αναπτυσσόμενους οργανισμούς. Ωστόσο, η χρονική διάρκεια της έρευνας ήταν σχετικά σύντομη και επομένως, η μακροχρόνια επίδραση των ισοφλαβονών σόγιας στην επίτευξη μέγιστης οστικής μάζας παραμένει ακόμη αδιευκρίνιστη.

2.2 Επιδράσεις των φυτοοιστρογόνων: από τα τρόφιμα στις χημικές ενώσεις

Οι ισοφλαβόνες είναι από τις πιο συχνά απαντώμενες φυτικές ενώσεις. Εμφανίζονται ευρέως στα φρούτα, τα λαχανικά και τα ποτά της διατροφής του ανθρώπου, καθώς επίσης και σε ποικίλα σημαντικά φαρμακευτικά φυτά. Η χρήση τέτοιων ενώσεων στην πρακτική ιατρική βασίζεται σε μεγάλο βαθμό στην εμπειρία, μιας και η πρακτική εφαρμογή τους εμφανίζεται να είναι πολύ παλιά (Coxam 2003).

Οι Hidaka et al. (1997) έδειξαν μια προστατευτική επίδραση παραδοσιακών κινέζικων (Kampo) φαρμάκων σε πειραματική οστεοπόρωση, η οποία προκλήθηκε από ωοθηκεκτομή σε αρουραίους. Συγκεκριμένα, η χορήγηση *Unkei-to*, *Hachimi-jio-gan* και *Juzen-taiho* σε OVX αρουραίους, σαφέστατα αποκατέστησε την οστική πυκνότητα (bone mineral density, BMD) στο επίπεδο της ομάδας ελέγχου. Το εύρημα αυτό ενισχύθηκε από τα αποτελέσματα με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, όπου και παρατηρήθηκε ότι η πορώδης ή διαβρωμένη εμφάνιση οστού στους OVX αρουραίους, διορθώθηκε από τη χορήγηση τέτοιου είδους θεραπειών. Οι θεραπείες αυτές υποτίθεται ότι βασίζονται στα φυτοοιστρογόνα και έχουν χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της απώλειας της λειτουργικότητας των ωοθηκών και των πόνων στη μέση κατά τη διάρκεια της εμμηνόπαυσης, καθώς επίσης και μετά την ωοθηκεκτομή (Tsumura & Company 1990, Koyama 1991). Οι Cui et al. (1999) έδειξαν ότι ένα μίγμα από βότανα (το οποίο περιείχε *Epinedium sagitanum maxim*, *Astragalus mimbranaecus* και *Rhizoma atractylodis macrocephalac*) απέτρεψε πλήρως την προκαλούμενη από κορτικοειδή απώλεια σπογγώδους οστού σε αρσενικούς νεαρούς αρουραίους, με την υποκίνηση του οστικού σχηματισμού και την καταστολή της οστικής απορρόφησης. Ομοίως, σε OVX αρουραίους, η ημερήσια δόση 1 g/kg σωματικού βάρους για 30 ημέρες, σχεδόν απέτρεψε εντελώς την προκαλούμενη οστική απώλεια (BMD: +22 % σε OVX και - 3% στα ζώα ελέγχου).

Ισοφλαβόνες

Οι Kalu et al. (1988) υπέθεσαν ότι η αυξημένη εντερική απορρόφηση ασβεστίου (Ca), σε συνδυασμό με τη ρύθμιση της παραθορμόνης (PTH), μπορεί να παρέχει μερική εξήγηση για τις θετικές επιδράσεις της κατανάλωσης τροφίμων σόγιας στην υγεία των οστών. Αργότερα, οι Omi et al. (1992) παρατήρησαν ότι το γάλα σόγιας είναι εξαιρετική πηγή για την BMD και για την μηχανική αντοχή του οστού σε OVX αρουραίους. Παρόλα αυτά, επειδή ο μηχανισμός ήταν άγνωστος και το συστατικό στη σόγια που επέφερε το αποτέλεσμα επίσης άγνωστο, πραγματοποίησαν ένα καινούριο πείραμα (χρησιμοποιώντας το ίδιο ζωικό μοντέλο) με δύο κλάσματα γάλακτος σόγιας, τα οποία παρασκευάστηκαν σύμφωνα με το μοριακό τους βάρος (μία μεγάλου και μία μικρού μοριακού βάρους σκόνη, που περιλάμβανε πεπτίδια γάλακτος σόγιας). Η οστική μάζα στην οσφυϊκή σπονδυλική στήλη και στην εγγύς μετάφυση[4.3] και διάφυση[4.3] της κνήμης αυξήθηκε και από τις δυο δίαιτες, όπως και η μηχανική αντοχή του μηρού. Ομοίως, το αποτέλεσμα αυτό μπορούσε πράγματι να εξηγηθεί από τον υψηλότερο ρυθμό εντερικής απορρόφησης Ca, αλλά παρέμεινε ακόμη ασαφές τι είδους χημική ένωση επιδρούσε στον οστικό μεταβολισμό (Omi et al. 1994).

Οι Arjmandi et al. (1996) ανέφεραν πρόληψη της οστικής απώλειας σε OVX αρουραίους 90 ημερών, οι οποίοι κατανάλωσαν υπερσυμπύκνωμα πρωτεΐνης σόγιας (22,7%) αντί για καζεΐνη, για 30 ημέρες. Τα ζώα παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερη μέση BMD του δεξιού μηριαίου και του τέταρτου οσφυϊκού σπονδύλου, και μάλιστα η επίδραση αυτή ήταν πιο σημαντική στο σπογγώδες, παρά στο φλοιώδες οστό. Παρόλα αυτά, η προστατευτική επίδραση της δίαιτας με σόγια, δεν μπορούσε να εξηγηθεί από μία αναστολή στον οστικό μεταβολισμό, επειδή οι συγκεντρώσεις στον ορό τόσο της

4.3 Διάφυση: το τμήμα ενός μακρού οστού που περιλαμβάνεται μεταξύ των επιφύσεών του. Μετάφυση: το ευρύτερο τμήμα στο πέρας της διάφυσης ενός μακρού οστού, το οποίο συνέχεται με την επίφυση. Επίφυση: το άκρο ενός μακρού οστού, συνήθως πλατύτερο από τη διάφυση, το οποίο είτε είναι τελείως χόνδρινο ή διαχωρίζεται από τη διάφυση με χόνδρινο δίσκο (Cecil 2002).

αλκαλικής φωσφατάσης (alkaline phosphatase[4.4]), όσο και του ανθεκτικού στο τρυγικό άλας κλάσματος της όξινης φωσφατάσης (tartrate-resistant acid phosphatase[4.5]) ήταν σημαντικά υψηλότερες στις OVX ομάδες σόγιας, από ότι στα ζώα ελέγχου. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι η οστική παραγωγή ξεπέρασε την απορρόφηση, επειδή η BMD ήταν υψηλότερη στους αρουραίους που τρέφονταν με σόγια, παρά το υψηλό επίπεδο ανακατασκευής (high remodelling level). Σε ένα παρόμοιο πείραμα, το οποίο πραγματοποιήθηκε για 1 μήνα σε OVX αρουραίους, οι οποίοι κατανάλωσαν μια δίαιτα με 22% πρωτεΐνη σόγιας, οι Harrison et al. (1998) απέτυχαν να δείξουν οποιαδήποτε μείωση στους βιοχημικούς δείκτες οστικής απορρόφησης, ενώ το περιεχόμενο του μηριαίου και της κνήμης σε ασβέστιο αυξήθηκε.

Τα ενεργά συστατικά στην πρωτεΐνη σόγιας, όσον αφορά την οστεοπροστατευτική επίδραση, είναι οι ισοφλαβόνες. Σε μια πειραματική μελέτη, δόθηκε σε OVX αρουραίους ηλικίας 95 ημερών, πρωτεΐνη σόγιας (22,7%) με είτε φυσιολογικό (mg ισοφλαβονών/kg υπερσυμπυκνώματος πρωτεΐνης σόγιας: γενιστίνη 1.462, γενιστεΐνη 25,1, δαϊζδίνη 590, δαϊζδεΐνη 11,3), είτε μειωμένο περιεχόμενο σε ισοφλαβόνες (μόλις 10% των παραπάνω τιμών) για ένα μήνα. Η OVX ομάδα, η οποία κατανάλωσε ισοφλαβόνες σόγιας είχε σημαντικά υψηλότερη μηριαία οστική πυκνότητα από ότι η ομάδα OVX ελέγχου, ενώ εκείνα τα OVX ζώα, στα οποία δόθηκε σόγια με χαμηλό περιεχόμενο σε ισοφλαβόνες δεν διέφεραν από την ομάδα ελέγχου. Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζονται από την πρόσφατη έρευνα των Jeffery et al.

4.4 Η αλκαλική φωσφατάση είναι μια υδρολάση του ορθοφωσφορικού εστέρος με δράση κυρίως στο αλκαλικό pH. Η ολική αλκαλική φωσφατάση προέρχεται από διάφορες πηγές (ήπαρ, οστά, έντερο, πλακούντας), βασικά όμως το ήπαρ και τα οστά είναι οι σπουδαιότερες πηγές προέλευσής της. Η δραστηριότητα της ολικής αλκαλικής φωσφατάσης του ορού είναι ο συνηθέστερα χρησιμοποιούμενος δείκτης της οστικής παραγωγής. Η ερμηνεία μιας αυξημένης ολικής αλκαλικής φωσφατάσης είναι δύσκολη, επειδή εκτός από την εξήγηση της αυξημένης οστεοβλαστικής λειτουργίας, μπορεί να οφείλεται σε διαταραχή της ηπατικής λειτουργίας. Εκτός από το έμμεσο στοιχείο φυσιολογικών ηπατικών λειτουργιών, η σύγχυση αυτή επιλύεται με τη μέτρηση των ισοενζύμων της αλκαλικής φωσφατάσης με τη μέθοδο της ηλεκτροφόρησης (Λυρίτης 1996).

(2000), στην οποία OVX αρουραίοι ακολούθησαν θεραπεία για 3 μήνες με σόγια^{+} (αυξημένη περιεκτικότητα σε ισοφλαβόνες) ή σόγια^{-} (χαμηλή περιεκτικότητα σε ισοφλαβόνες). Μάλιστα, οι Arjmandi et al. (2002) παρατήρησαν επιπλέον, ότι οι OVX αρουραίοι που έλαβαν σόγια^{+} παρουσίασαν αυξημένη εντερική απορρόφηση ασβεστίου, σε σχέση με τους OVX αρουραίους που έλαβαν σόγια^{-}.

Συμπύκνωμα ισοφλαβονών σόγιας (348 mg ισοφλαβονών/g: γενιστίνη 159 mg, δαϊζδίνη 156 mg, γλυκιτίνη 33 mg) δόθηκε σε δόσεις των 80, 160 και 320 nmol (20, 40 και 80 mg)/kg σωματικού βάρους/ ημέρα για 3 μήνες σε OVX αρουραίους 195 ημερών (Picherit et al. 2001α). Τέτοιου είδους δίαιτα απέτρεψε την προκαλούμενη από την OVX οστεοπενία, επειδή η οστική πυκνότητα του μηριαίου, καθώς και της διάφυσης και της μετάφυσής του, ήταν όμοια με την αντίστοιχη των ανέπαφων ζώων ελέγχου (χωρίς OVX), αλλά υψηλότερη από εκείνη των OVX ζώων που δεν έλαβαν την ειδική δίαιτα. Το εύρημα αυτό σχετίστηκε με τη διατήρηση των μηχανικών ιδιοτήτων του οστού, καθώς το σημείο στο οποίο επήλθε κάταγμα στο μηριαίο στα OVX ζώα που έλαβαν τις ισοφλαβόνες, δεν ήταν διαφορετικό από το αντίστοιχο της ομάδας ελέγχου. Η οστεοπροστατευτική αυτή επίδραση μπορεί να αποδοθεί στην ενεργοποιημένη οστεοβλαστική δραστηριότητα, όπως φαίνεται από τα αυξημένα επίπεδα πλάσματος της οστεοκαλσίνης (Picherit et al. 2000). Αντίθετα, τα ευρήματα των Arjmandi et al. (1998a,b) υποδηλώνουν ότι κάτι τέτοιο μπορεί να αποδοθεί στη μείωση της αυξημένης οστεοκλαστικής δραστηριότητας.

4.5 Η όξινη φωσφατάση υπάρχει στα οστά, όπως και σε πολλούς μαλακούς ιστούς (πχ προστάτη, ερυθρά αιμοσφαίρια). Όπως και στην αλκαλική φωσφατάση χρειάζεται διαχωρισμός των ισοενζύμων της, σε τρόπο ώστε να προσδιοριστεί το οστικό κλάσμα. Αυτό επιτυγχάνεται όταν εκμεταλλευτούμε το γεγονός ότι το οστικό κλάσμα της όξινης φωσφατάσης εκκρίνεται από τους οστεοκλάστες και επομένως, χρησιμοποιείται ως δείκτης της οστικής απορρόφησης. Σήμερα, η κλινική σημασία του ισοενζύμου αυτού είναι περιορισμένη, επειδή υστερεί της μέτρησης της υδροξυλυσίνης (Λυρίτης 1996).

Οι προστατευτικές επιδράσεις που παρατηρούνται, μπορεί να εξαρτώνται όχι μόνο από το περιεχόμενο των ισοφλαβονών, αλλά και από τη σύστασή τους. Από δύο συμπυκνώματα ισοφλαβονών, τα οποία περιείχαν περίπου το ίδιο ποσό δαϊζδεΐνης, αλλά διαφορετική αναλογία γενιστίνης/ γλυκιτίνη, εκείνο το οποίο είχε περισσότερη γενιστίνη, ήταν πιο αποτελεσματικό στην πρόληψη της προκαλούμενης από την ωοθηκεκτομή οστικής απώλειας, σε όρους οστικής πυκνότητας και οστικής δύναμης (C Picherit & V Coxam, 2003). Οι Draper et al. (1997) δεν παρατήρησαν καμία οστεοπροστατευτική επίδραση με ισοφλαβόνες, οι οποίες απομονώθηκαν από τριφύλλι [100 mmol (25 g) ισοφλαβονών που ενσωματώθηκαν σε μία δίαιτα συνολικού βάρους 10 kg] και δόθηκαν για 6 εβδομάδες σε OVX αρουραίους 6 μηνών. Ωστόσο, η παρατήρηση αυτή μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι η βιοχανίνη Α και η φορμονονετίνη (οι κύριες ισοφλαβόνες στο τριφύλλι) είναι πολύ ασθενείς ενώσεις, εμφανίζοντας αντίστοιχα <0,006 και 0,0006 φορές τη δραστικότητα της οιστραδιόλης, σε σύγκριση με τις δραστικότητες της τάξης του 0,084 για τη γενιστεΐνη, 0,061 για τη δαϊζδεΐνη και 0,202 για την κουμεστρόλη (Burdette et al. 2002, Coxam 2003). Σε μία παρόμοια έρευνα, για την απόδειξη της επίδρασης στα οστά, μια δίαιτα με 14% πρωτεΐνη σόγιας που περιείχε 1,2 mg γενιστεΐνης/g πρωτεΐνης, δόθηκε για 3 μήνες σε OVX ή σε αρουραίους της ομάδας ελέγχου, ηλικίας 11 μηνών (Hegsted et al. 1999). Η δίαιτα αυτή αύξησε την οστική παραγωγή στο φλοιώδες οστό της κνήμης, αλλά μόνο στα ωοθηκεκτομένα ζώα.

Ωοθηκεκτομένοι θηλάζοντες αρουραίοι, οι οποίοι ανατράφηκαν με μία διατροφή χαμηλή σε ασβέστιο, ακολούθησαν θεραπεία με ένα σκεύασμα ισοφλαβονών σόγιας πλούσιο σε γενιστεΐνη [2, 6,4 ή 20 nmol (0,5, 1,6 ή 5 mg)/ημέρα] για μια περίοδο μεγαλύτερη των 14 ημερών. Παρατηρήθηκε ότι τα ζώα αυτά διατήρησαν σε μεγαλύτερο βαθμό την οστική τους μάζα, από ότι τα ζώα της ομάδας ελέγχου, και μάλιστα περισσότερο και από όταν δόθηκε φυσιολογική δόση (5 μg/ημέρα) συνεζευγμένων οιστρογόνων (Anderson et al. 1998).

Οι επιδράσεις των καθαρών ενώσεων (χωρίς προσμίξεις) έχουν μελετηθεί. Σε OVX αρουραίους που ζύγιζαν 200 g, η καθαρή γενιστεΐνη (44 μmol/ημέρα για

30 ημέρες) επέφερε μία αύξηση κατά 12% στο βάρος του μηριαίου οστού, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, γεγονός το οποίο αποδόθηκε σε αναστολή της οστεοκλαστικής δραστηριότητας (Blair et al. 1996). Σε ένα ακόμη πείραμα, σε OVX αρουραίους 2 μηνών έγινε καθημερινή έγχυση γενιστεΐνης [4, 18 ή 92 pmol (1, 5 ή 25 μg)/g σωματικού βάρους, υποδόρια] για 21 ημέρες. Παρατηρήθηκε μια δοσοεξαρτώμενη βελτίωση στη μείωση της οστικής απώλειας τόσο στο σπογγώδες, όσο και στο φλοιώδες οστό, καθώς και μία τάση για αύξηση του αριθμού των οστεοβλαστών. Οι παράμετροι της οστικής απορρόφησης δεν επηρεάστηκαν (Fanti et al. 1998). Σε OVX ποντίκια, στα οποία δόθηκαν υποδόρια 0,37 ή 2,59 μmol γενιστεΐνης (0,1 ή 0,7 mg) ανά ημέρα, για 2-4 εβδομάδες, αποκαταστήθηκε η μάζα του σπογγώδους οστού στην μετάφυση του μηριαίου οστού, όπως φάνηκε από την ιστολογική ανάλυση (Ishimi et al. 1999).

Η ικανότητα της δαϊζδεΐνης να αποτρέπει την οστική απώλεια, μελετήθηκε σε σύγκριση με τη γενιστεΐνη (Desir et al. 1998, Picherit et al. 2000). Ωοθηκεκτομένοι αρουραίοι 12 μηνών έλαβαν δίαιτες, οι οποίες περιείχαν καθαρή γενιστεΐνη ή δαϊζδεΐνη στη δόση των 38 nmol/g σωματικού βάρους/ ημέρα για 3 μήνες. Στην ομάδα με τη δαϊζδεΐνη, η BMD (μετρημένη στη σπονδυλική στήλη, το μηριαίο οστό και την μετάφυση και τη διάφυσή του) δεν διέφερε σημαντικά από εκείνη των ζώων ελέγχου, ενώ στους αρουραίους που έλαβαν γενιστεΐνη, μόνο η οστική μάζα στη διάφυση ήταν όμοια με εκείνη της ομάδας ελέγχου. Ανάλυση με αξονική τομογραφία αποκάλυψε ότι η περιοχή του σπογγώδους οστού στη μετάφυση του μηριαίου ήταν όμοια στα ζώα που έλαβαν δαϊζδεΐνη και στην ομάδα ελέγχου. Επομένως, η δαϊζδεΐνη ήταν πιο αποτελεσματική από τη γενιστεΐνη, όσον αφορά την πρόληψη της οστεοπενίας. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώθηκαν από τους Ishida et al. (1998), οι οποίοι χρησιμοποίησαν τις γλυκοζυλιωμένες μορφές των δύο αυτών ισοφλαβονών. Επιπλέον, σε μία πρόσφατη έρευνα οι Ishida et al. (2000) έδειξαν ότι η πυκνότητα του κατώτερου μηριαίου και μηχανική του αντοχή σε OVX αρουραίους ηλικίας 11 εβδομάδων, διατηρήθηκε κατά μεγάλο βαθμό από τη δαϊζδεΐνη ή τη γλυκιτεΐνη (190 nmol/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα), αλλά όχι από την ίδια δόση γενιστεΐνης.

Κουμεστάνες

Οι Dodge et al. (1996) έδειξαν ότι η από του στόματος χορήγηση κουμεστρόλης για 5 εβδομάδες (ξεκινώντας 1 μήνα μετά την ωοθηκεκτομή) με δόσεις των 0,37, 3,7, 37 και 112 μmol (0,1, 1, 10 και 30 mg)/kg σωματικού βάρους, μείωσε αποτελεσματικά την οστική απώλεια που σχετίζεται με την ωοθηκεκτομή σε αρουραίους 6 μηνών, έχοντας ως αποτέλεσμα παρόμοια BMD (μετρημένη με ποσοτική αξονική τομογραφία) με εκείνη των ανέπαφων ζώων, αλλά υψηλότερη από εκείνη των OVX ζώων. Σε παρόμοιες έρευνες, (Draper et al. 1997), 1,5 mmol κουμεστρόλης δόθηκαν ενδομυϊκά δύο φορές την εβδομάδα για 6 εβδομάδες σε OVX αρουραίους ηλικίας 6 μηνών. Η θεραπεία αυτή μείωσε την προκαλούμενη από την ωοθηκεκτομή οστική απώλεια στους σκελετικά ώριμους αρουραίους. Η μείωση στην οστική μάζα μέσα στο χρονικό διάστημα των 6 εβδομάδων ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στα OVX ζώα ελέγχου, από ότι στα OVX ζώα που έλαβαν κουμεστρόλη. Αυτό σχετίστηκε με μειωμένη ουρική απέκκριση δεοξυπυριδολίνης[4.6] και χαμηλότερη ουρική απέκκριση ασβεστίου/ κρεατινίνη[4.7]. Συνεπώς, η πρόληψη αυτή της οστικής απώλειας οφειλόταν εν μέρει σε μείωση της οστικής απορρόφησης (Draper et al. 1997).

4.6 Η πυριδολίνη (HP, Pyr) και η δεοξυπυριδολίνη (LP ή D-Pyr) είναι τμήματα του διασπώμενου κολλαγόνου, και συγκεκριμένα διασταυρούμενοι σταθεροποιητικοί δεσμοί των αλυσίδων του κολλαγόνου. Τόσο η πυριδολίνη όσο και η δεοξυπυριδολίνη αφθονούν στη θεμέλια ουσία του οστού και του χόνδρου. Η σχέση Pyr/ D-Pyr στη θεμέλια ουσία του ανθρώπινου οστού είναι 2 προς 3. Μετά τη διάλυση της θεμέλιας ουσίας από τους οστεοκλάστες, η Pyr και η D-Pyr αποβάλλονται χωρίς μεταβολή από τα ούρα. Επομένως, και οι δύο αυτές ουσίες είναι σχεδόν αποκλειστικοί δείκτες της οστικής απορρόφησης. Μετά την εμμηνόπαυση η πυριδολίνη βρέθηκε να αυξάνεται κατά 50-100%, ενώ επανέρχεται σε φυσιολογικά επίπεδα μετά την έναρξη της θεραπείας με οιστρογόνα (Λυρίτης 1996).

Λιγνάνες

Σε μία μελέτη, η οποία πραγματοποιήθηκε σε OVX αρουραίους 3 μηνών (Horcajada-Molteni et al. 2000b), δόθηκε δίαιτα, η οποία περιείχε 10% λιναρόσπορο, για 3 μήνες. Η δίαιτα αυτή βελτίωσε τη μηχανική αντοχή του μηριαίου οστού, αλλά δεν επέφερε καμία επίδραση στην οστική πυκνότητα. Η διαδικασία αυτή προέκυψε από μία μειωμένη οστική απορρόφηση (μειωμένη δεοξυπυριδολίνη[4.6] και χαμηλότερη ασβεστιουρία[4.7]). Καθώς η οστική πυκνότητα παρέμεινε ανεπηρέαστη, οι υψηλότερες βιομηχανικές παράμετροι (biomechanical parameters) μπορεί να προέκυψαν από την επίδραση στην μικροαρχιτεκτονική, παρά στην επιμετάλλωση.

4.7 Το ασβέστιο ούρων είναι σημαντικό για τη μελέτη της διακίνησης του ασβεστίου στον οργανισμό. Η πρόσληψη ασβεστίου με τις τροφές επηρεάζει σημαντικά το ασβέστιο των ούρων. Για τον λόγο αυτό η απέκκριση του ασβεστίου διαφέρει σημαντικά αν ληφθεί το βράδυ ή το πρωί σε νηστικό άτομο. Τα πρωινά ούρα αντανακλούν καλύτερα τον οστικό μεταβολισμό και για αυτό ξεχωρίζουν μεταξύ φυσιολογικών προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Το ασβέστιο των ούρων νηστείας, διορθωμένο προς τη σύγχρονη αποβολή κρεατίνης, λαμβάνεται δύο ώρες μετά την πρωινή ούρηση και ύστερα από πλήρη νηστεία από την 7^{η} μμ της προηγούμενης μέρας. Η μέθοδος είναι φθηνή και απλή, αλλά απαιτείται σημαντική αύξηση της οστική απορρόφησης για να δώσει μεταβολές. Παρά ταύτα, χρησιμοποιείται ευρέως σαν βιοχημικός δείκτης οστικής απορρόφησης, ιδίως σε συνδυασμό με τους λοιπούς οστικούς δείκτες. Πρέπει να τονιστεί ότι το ασβέστιο ούρων νηστείας δίνει διαφορετικές πληροφορίες από το ασβέστιο ούρων 24ώρου, το οποίο μας πληροφορεί κυρίως για την εντερική απορρόφηση του ασβεστίου και για τον λόγο αυτόν απαιτείται να γίνονται και οι δύο εξετάσεις, ειδικότερα αν θέλουμε να προσδιορίσουμε το ισοζύγιο πρόσληψης-αποβολής ασβεστίου. Συγκεκριμένα, ο λόγος ασβεστίου/ κρεατινίνης ούρων διώρου, αφαιρούμενος από τον λόγο ασβεστίου/ κρεατινίνης ούρων 24ώρου αντιστοιχεί προς το από το απορροφούμενο από το έντερο ασβέστιο (Λυρίτης 1996).

2.3 Θεραπευτική επίδραση έναντι προληπτικής επίδρασης

Στον τομέα της προκλινικής δοκιμασίας πιθανών φαρμάκων για τη θεραπεία της οστεοπόρωσης, η οστική απώλεια στους (OVX) αρουραίους έχει λάβει τη μεγαλύτερη προσοχή. Χρησιμοποιώντας το πειραματικό αυτό μοντέλο, δύο κύριοι τύποι ερευνών μπορούν να πραγματοποιηθούν: προληπτική θεραπεία για να σταματήσει η πρόοδος της οστικής απώλειας και θεραπεία αποκατάστασης για την επαναδόμηση του οστού στην εγκατεστημένη οστεοπόρωση. Οι Arjmandi et al. (1998a,b) διερεύνησαν την οστεοπροστατευτική επίδραση των πρωτεϊνών σόγιας με ένα θεραπευτικό τρόπο. Έδειξαν μία μικρή αναστολή της απώλειας του φλοιώδους οστού, που αποδόθηκε σε αυξημένη οστεοβλαστική δραστηριότητα (↑ IGF-I[4.8]), όταν σε OVX αρουραίους δόθηκε τόσο σόγια με κανονική περιεκτικότητα σε ισοφλαβόνες, όσο και σόγια με χαμηλή περιεκτικότητα σε ισοφλαβόνες. Τριάντα πέντε ημέρες μετά το χειρουργείο, οι OVX αρουραίοι, οι οποίοι ξεκίνησαν μια δίαιτα με σόγια για συνολικά 65 ημέρες, έτειναν να έχουν υψηλότερη (ωστόσο όχι σημαντική) BMD στο μηριαίο οστό, σε σύγκριση με την OVX ομάδα ελέγχου. Σε ενήλικους OVX αρουραίους, καθημερινή πρόσληψη ισοφλαβονών για 3 μήνες δεν ανέστρεψε την εγκατεστημένη οστεοπενία, παρόλο που ελάττωσε την οστική απορρόφηση (όπως φαίνεται από την ουρική απέκκριση της δεοξυπυριδολίνης, Picherit et al. 2001a). Η δίαιτα αυτή ήταν ικανή να αποτρέψει την οστική απώλεια (εκτιμώμενη από την BMD), εάν δινόταν αμέσως μετά την ωοθηκεκτομή (Picherit et al. 2001b). Επομένως, φαίνεται πως τα φυτοοιστρογόνα είναι ικανά να αποτρέπουν την προκαλούμενη από OVX οστεοπενία όταν δίνονται αμέσως μετά την ωοθηκεκτομή, ενώ η όψιμη χορήγησή τους σε εγκατεστημένη οστεοπενία δεν έχει τα ίδια ευεργετικά αποτελέσματα.

4.8 Οι ινσουλινοειδείς αυξητικοί παράγοντες (IGF's: IGF-I και IGF-II) θεωρούνται σημαντικοί στην πώρωση του κατάγματος, επειδή προάγουν τον σχηματισμό τόσο των χονδροκυττάρων, όσο και των οστεοβλαστών. Στον άνθρωπο αφθονότερος είναι ο IGF-II, ενώ αντίθετα στους επίμυς ο IGF-I. Φαίνεται ότι στον άνθρωπο τόσο ο IGF-I όσο και ο IGF-II παίζουν ρόλο στον σχηματισμό του οστικού πώρου, αλλά και στην ανακατασκευή του. Επομένως, η κύρια δράση τους στο οστό είναι η διέγερση των οστεοβλαστών (Λυρίτης 1996).

2.4 Συμπέρασμα

Το εμφανές σημαντικό συμπέρασμα είναι ότι όταν τα φυτοοιστρογόνα χορηγούνται σε βέλτιστες δόσεις, έχουν μέτρια θετικά αποτελέσματα στον οστικό ιστό, είτε μέσω της αυξημένης οστεοβλαστικής δραστηριότητας, είτε μέσω της μειωμένης οστεοκλαστικής δράσης, είτε λόγω αυξημένης εντερικής απορρόφησης Ca, είτε με συνδυασμό των παραπάνω.

Καθώς οι ανθρώπινες έρευνες, οι οποίες εξετάζουν την επίδραση στην BMD είναι πολύ λίγες (Dalais et al. 1998; Potter et al. 1998, Alekel et al. 2000), όπως και εκείνες που ερευνούν τον οστικό μεταβολισμό (Bonacorsi et al. 1997, Wangen et al. 2000), τέτοιες πειραματικές έρευνες σε ζώα παρέχουν πολύ χρήσιμες πληροφορίες. Επομένως, τα φυτοοιστρογόνα φαίνεται να αποτελούν μια εν δυνάμει υποσχόμενη κατηγορία χημικών ενώσεων για τη διατήρηση ή τη μέτρια βελτίωση της οστικής μάζας σε ανθρώπους, όταν καταναλώνονται σε βέλτιστες δόσεις, όπως προηγούμενα είχε προταθεί από τους Anderson & Garner (1997). Παρόλα αυτά, επειδή υπάρχουν περιορισμοί στο σύστημα με το οποίο μελετάται ο γηράσκων σκελετός, θα πρέπει να εκτιμώνται σε βάθος οι πληροφορίες που προκύπτουν, προτού επεκταθούν στους ανθρώπους, και θα πρέπει να συγκεντρωθούν επιπρόσθετα δεδομένα προτού οι επιστήμονες υγείας μπορούν ενεργά να συστήσουν την αυξημένη κατανάλωση σόγιας.

Είναι επίσης σημαντικό να χαρακτηριστούν στη συνέχεια οι φυσιολογικές επιδράσεις των φυτοοιστρογόνων και τα όρια της ασφαλούς χορήγησής τους. Δεν είναι πάντα σαφές εάν οι χημικές αυτές ενώσεις, οι οποίες δίνονται συχνά μόνες τους και σε υψηλά επίπεδα και οι οποίες εμφανίζονται να επηρεάζουν τον κίνδυνο για πάθηση σε ζώα, μπορούν να είναι λειτουργικές στον ίδιο βαθμό ή με τον ίδιο τρόπο σε ανθρώπους, που καταναλώνουν ρεαλιστικές δόσεις, ως μέρος της συνηθισμένης τους διατροφής (Lampe 1999).

Ερωτήματα τα οποία παραμένουν ακόμη αδιευκρίνιστα περιλαμβάνουν τις βέλτιστες δόσεις, πιθανές διαφορές στην ανταπόκριση στα φυτοοιστρογόνα λόγω φύλου, απόδειξη ότι οι παρατηρούμενες θετικές επιδράσεις στην υγεία μπορούν να αποδοθούν απευθείας στα φυτοοιστρογόνα παρά σε άλλα συστατικά της σόγιας και των τροφίμων πλούσιων σε φυτοοιστρογόνα, καθώς και τη σχετική επίδραση των ποικίλων ενώσεων της οικογένειας των φυτοοιστρογόνων, οι οποίες εμπίπτουν στις ευρύτερες κατηγορίες των ισοφλαβονοειδών και των λιγνανών (Tham et al. 1998). Παρά την έμφυτη δυνατότητα των φυτοοιστρογόνων να προστατεύουν τον οστικό ιστό, πρέπει να διερευνηθεί πλήρως το εύρος των πιθανών δράσεών τους, προκειμένου να αποκλειστούν άγνωστες μεταβολικές επιδράσεις με τις ανεπιθύμητες συνέπειές τους.

Κεφάλαιο 3

Φυτοοιστρογόνα και Οστεοπόρωση: Έρευνες σε ανθρώπους

Μέχρι σήμερα έχουν αναφερθεί λίγες κλινικές έρευνες (clinical controlled trials) όσον αφορά τη διερεύνηση της πιθανής χρήσης των φυτοοιστρογόνων ως εναλλακτικών της ορμονικής θεραπείας για την αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης στους ανθρώπους. Αυτές ποικίλουν σημαντικά, μερικώς επειδή ορισμένες από αυτές βασίζονται στην επιδημιολογία (epidemiology based) και μπορεί να έχουν διαφορετικά αποτελέσματα σε σύγκριση με τις προοπτικές, τυχαιοποιημένες έρευνες (prospective, randomized trials). Επίσης, μερικές έρευνες χρησιμοποιούν τη διαιτητική μέθοδο της ανάκλησης, ενώ άλλες την καταγραφή ενός ενεργού διαιτητικού ημερολογίου. Ένα άλλο σημαντικό θέμα είναι η οιστρογονική κατάσταση των ατόμων, τα οποία λαμβάνουν μέρος στην έρευνα. Το θέμα αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό καθώς σημαντικές διαφορές έχουν παρατηρηθεί μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών[4.9] και μετεμμηνοπαυσιακών[4.9] γυναικών. Η ηλικία επίσης των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών μπορεί να παρέχει ανόμοια δεδομένα, καθώς ο οστικός μεταβολισμός είναι συνήθως πιο γρήγορος στην περι-εμμηνοπαυσιακή[4.9] και την άμεση μετεμμηνοπαυσιακή περίοδο, σε σχέση με τον ηλικιωμένο πληθυσμό. Επιπλέον, ο τύπος σόγιας των προϊόντων (απομονωμένες ισοφλαβόνες έναντι ανέπαφης πρωτεΐνης σόγιας), ενδέχεται να επηρεάσει τα αποτελέσματα. Για τις μελέτες μάλιστα που ασχολούνται με το οστό, η χρονική διάρκεια της έρευνας είναι κριτικής σημασίας, καθώς διαφορές στους οστικούς

4.9 Προεμμηνοπαυσική περίοδος: τα αναπαραγωγικά χρόνια πριν την εμμηνόπαυση.

Εμμηνόπαυση: ο μόνιμος τερματισμός της έμμηνου ρύσης.

Περι-εμμηνόπαυση: η περίοδος, η οποία άρχεται με σημάδια της επικείμενης εμμηνόπαυσης, όπως ακανόνιστοι κύκλοι και εξάψεις, και η οποία τελειώνει περίπου 12 μήνες μετά την εμμηνόπαυση.

Μετεμμηνόπαυση: η περίοδος, η οποία ξεκινάει 12 μήνες μετά την τελευταία έμμηνο ρύση.

(Ιατρικό λεξικό 1997)

δείκτες μπορούν να φανούν νωρίς, ενώ προκειμένου να διαπιστωθούν σημαντικές διαφορές στην οστική πυκνότητα απαιτείται πολύ περισσότερος χρόνος (Fitzpatric 2003).

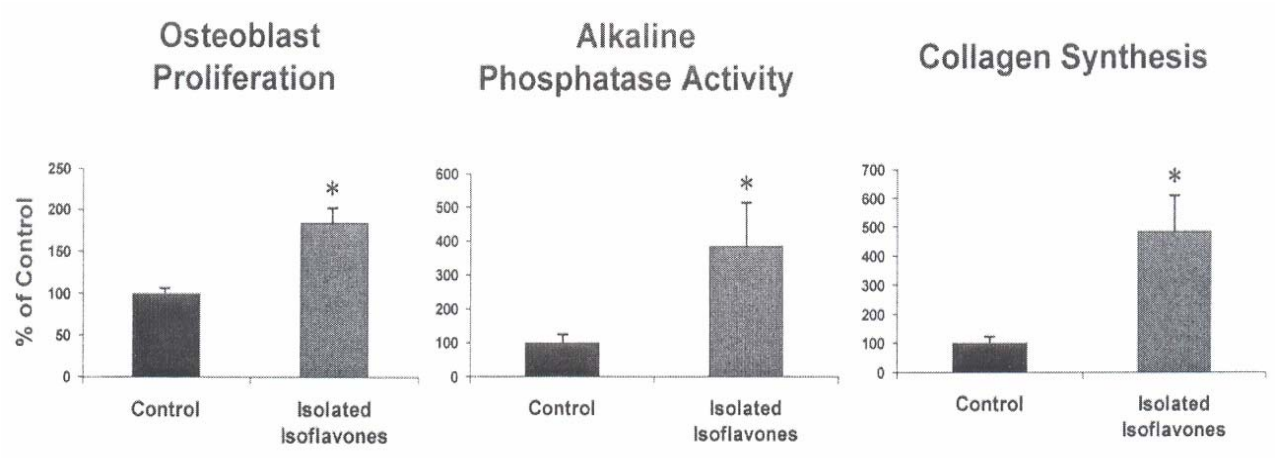
Ωστόσο, αν και έχουν πραγματοποιηθεί περιορισμένες κλινικές έρευνες, προκαταρκτικά δεδομένα προτείνουν ότι οι επιδράσεις που έχουν παρατηρηθεί στα ζώα, παρατηρούνται ομοίως και στους ανθρώπους.

Όσον αφορά τον **μηχανισμό δράσης** των φυτοοιστρογόνων, υπάρχουν ορισμένες αποδείξεις (Horiuchi et al. 2000, Wangen et al. 2000, Scheiber et al. 1999, Arjmandi et al. 2000, Picherit et al. 2001, Fanti et al. 1998), οι οποίες υποδηλώνουν ότι η σόγια ή οι ισοφλαβόνες της καταστέλλουν τον ρυθμό της οστικής απορρόφησης, ενώ ταυτοχρόνως ενισχύουν τον ρυθμό της οστικής παραγωγής. Μία από αυτές, ήταν μια περιγραφική (cross-sectional) έρευνα από τους Horiuchi et al. (2000), στην οποία η πρόσληψη πρωτεΐνης σόγιας από μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες στην Ιαπωνία, σχετίστηκε με χαμηλότερη ουρική απέκκριση δεοξυπυριδολίνης. Σε μία άλλη έρευνα από τους Scheiber et al. (1999), σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες στις οποίες δόθηκε θεραπευτική αγωγή με γάλα σόγιας, το οποίο παρείχε 60-70 mg ισοφλαβονών, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στην ουρική απέκκριση του N-αμινοτελικού πεπτιδίου (N-terminal cross linked peptide), το οποίο αποτελεί ένα ακόμη ειδικό δείκτη της οστικής απορρόφησης. Επίσης, πρόσφατα έχει αναφερθεί ότι η ημερήσια κατανάλωση 40 g πρωτεΐνης σόγιας, και όχι πρωτεΐνης γάλακτος, για τρεις μήνες από μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, οι οποίες δεν λάμβαναν HRT, μείωσε σημαντικά την ουρική απέκκριση δεοξυπυριδολίνης (Arjmandi et al. 2000).

Είναι λογικό να υποθέσουμε ότι η σόγια ή οι ισοφλαβόνες της προάγουν την οστική παραγωγή, βασιζόμενοι σε δύο τουλάχιστον γραμμές αποδείξεων: 1) οι ισοφλαβόνες της σόγιας ενεργοποιούν την οστεοβλαστική δραστηριότητα, μέσω της ενεργοποίησης των υποδοχέων οιστρογόνων (Choi et al. 2001), και 2) η σόγια ή οι ισοφλαβόνες της προάγουν την παραγωγή του ινσουλινομιμητικού αυξητικού παράγοντα I (IGF-I) (Picherit 2001). Τα ευρήματα αυτά δείχνουν πως οι ισοφλαβόνες μπορεί να έχουν έναν ρόλο

στην προαγωγή της σύνθεσης του IGF-I, και πιο σημαντικά σε οστικό επίπεδο. Ομοίως, παρατηρήθηκε (Arjmandi et al. 2000) ότι συμπλήρωση με πρωτεΐνη σόγιας, επίσης σημαντικά αύξησε τα επίπεδα ορού του IGF-I, επιβεβαιώνοντας τα ευρήματα στα ζώα. Είναι πλέον σαφώς αναγνωρισμένο ότι ο IGF-I προάγει την οστεοβλαστική δραστηριότητα στους ανθρώπους (Sugimoto et al. 1997), και οι συγκεντρώσεις του IGF-I έχουν αναφερθεί ότι σχετίζονται θετικά με την οστική μάζα στις προ- (Ramagnoli et al. 1993), περι- (Nasu et al. 1997) και μετα-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Boonen et al. 1996). Επομένως, οι έμμεσες αυτές παρατηρήσεις θα μπορούσαν να επιβεβαιωθούν χρησιμοποιώντας *in vitro* και *in vivo* μοντέλα, συμπεριλαμβάνοντας μακροπρόθεσμες ανθρώπινες έρευνες στις οποίες περισσότερο καθορισμένες τεχνικές αξιολογούνται, όπως η οστική ιστολογία και η οστική ιστομορφομετρία (η μέτρηση της ποσότητας και η εκτίμηση της ποιότητας των οστών μετά από βιοψία).

Επιπλέον, έχει δειχτεί ότι οι απομονωμένες ισοφλαβόνες από πρωτεΐνη σόγιας (εκχύλιση με αλκοόλη) έχει ενδιαφέρουσες επιδράσεις σε καλλιέργειες κυττάρων όμοιων με τους οστεοβλάστες (Choi et al. 2001) (σχήμα 4.3.1). Για παράδειγμα, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου οι απομονωμένες ισοφλαβόνες αύξησαν τον πολλαπλασιασμό των όμοιων με τους οστεοβλάστες κυττάρων, και η επίδραση αυτή μειώνεται με την προσθήκη ταμοξιφένης, ενός αντι-οιστρογόνου. Οι ισοφλαβόνες σόγιας σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ή τη σόγια σε συνδυασμό με την ταμοξιφένη, επίσης εντυπωσιακά αυξάνουν τη σύνθεση κολλαγόνου. Ένας δείκτης της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης, η δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης, αυξάνεται με την παρουσία των ισοφλαβονών. Επομένως, οι ισοφλαβόνες της σόγιας μπορούν να προάγουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των όμοιων με τους οστεοβλάστες κυττάρων, καθώς και τη σύνθεση του κολλαγόνου.



Σχήμα 4.3.1: Η επίδραση της σόγιας στους οστεοβλάστες (Choi et al. 2001). Τα τρία αυτά σχήματα παρουσιάζουν την επίδραση των ισοφλαβονών σόγιας στα MC3T3-E1 κύτταρα, τα οποία είναι μια κατηγορία κυττάρων όμοιων με τους οστεοβλάστες. Οι απομονωμένες ισοφλαβόνες προήγαγαν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη σύνθεση του κολλαγόνου και τη δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης. Και οι τρεις παράμετροι αναστάλθηκαν με τη χρήση ταμοξιφένης, ενός SERM.

Όσον αφορά την επίδραση των ισοφλαβονών σόγιας στους οστεοκλάστες - σχετικά με την οστική απορρόφηση - έχουν υπάρξει έρευνες, οι οποίες υποδηλώνουν ότι η γενιστεΐνη μπορεί να έχει άμεση επίδραση (Fitzpatrick 2003). Παρουσία γενιστεΐνης, έχει παρατηρηθεί σημαντική αύξηση στην ενδοκυτταρική συγκέντρωση ασβεστίου στους οστεοκλάστες (Kajiya et al. 2000), καθώς και μείωση στη φωσφορυλίωση (Gao et al. 2000). Επομένως, εμφανίζεται να υπάρχει αναστολή της δράσης των οστεοκλαστών (έρευνες σε καλλιέργειες κυττάρων).

3.1 Ισοφλαβόνες ή πρωτεΐνη σόγιας

Η περιοχή της οστικής έρευνας είναι ένα καλό παράδειγμα της ανάγκης για την άμεση σύγκριση των συμπληρωμάτων ισοφλαβονών με την πρωτεΐνη σόγιας ή τα τρόφιμα σόγιας, προκειμένου να διερευνηθεί ποια μορφή ασκεί την οστεοπροστατευτική επίδραση (Messina et al. 2002). Σε μία έρευνα διάρκειας δύο ετών, η οποία παρουσιάστηκε από την Eva Lydeking-Olsen του Institute for Optimum Nutrition στην Δανία (2002), 23 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες στις οποίες δόθηκε σόγια^{+} (100 mg ισοφλαβονών/ ημέρα), εμφάνισαν μια στατιστικά σημαντική αύξηση στην οστική πυκνότητα της σπονδυλικής στήλης, σε σύγκριση με 22 γυναίκες στις οποίες δόθηκε σόγια^{-}. Ωστόσο, ο συνδυασμός σόγιας^{+} και προγεστερόνης (σε 22 γυναίκες) επέφερε τη μεγαλύτερη οστική απώλεια στην σπονδυλική στήλη, αν και η χορήγηση προγεστερόνης από μόνη της αύξησε την οστική πυκνότητα σε αυτή την έρευνα. Τα ευρήματα αυτά, τα οποία δείχνουν ότι η σόγια^{+} ευνοεί θετικά την οστική υγεία σε σύγκριση με τη σόγια^{-}, είναι σύμφωνα με ορισμένα άλλα (Poter et al. 1998, Alekel et al. 2000), αλλά όχι με όλα (Wangen et al. 2000). Παρόλα αυτά, μια παρόμοια σχεδιασμένη έρευνα, επίσης διάρκειας 2 ετών, η οποία παρουσιάστηκε από την Mara Z. Vilitonis (Wake Forest School of Medicine, 2002), δεν βρήκε διαφορές στην οστική πυκνότητα μεταξύ 241 περι- και μετα-εμμηνοπαυσιακών γυναικών, οι οποίες έλαβαν πρωτεΐνη σόγιας (25 g/ημέρα) που παρείχε <5, 42 ή 58 mg ισοφλαβονών. Μια σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο προαναφερθέντων ερευνών είναι ότι η υψηλότερη δόση ισοφλαβονών που χρησιμοποιήθηκε στην τελευταία έρευνα ήταν μόλις 58 mg/ημέρα, η οποία ήταν σημαντικά χαμηλότερη από τα 100 mg που χρησιμοποιήθηκαν στην πρώτη έρευνα, αλλά ακόμη και η χαμηλότερη αυτή δόση υπερβαίνει εκείνη που τυπικά καταναλώνεται στην Ιαπωνία (Nagata 1998).

Σύμφωνα με την έλλειψη επίδρασης των ισοφλαβονών είναι και τα ευρήματα από μία βραχυπρόθεσμη έρευνα, στην οποία οι επιδράσεις των συμπληρωμάτων πρωτεΐνης σόγιας (40 g/ημέρα) στον μεταβολισμό του ασβεστίου, μελετήθηκαν για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο του 1 μηνός σε 15

μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Messina et al. 2002). Οι θεραπείες δεν είχαν καμία επίδραση στην απορρόφηση ασβεστίου, αλλά η πρωτεΐνη σόγιας ελάττωσε την ουρική απέκκριση ασβεστίου σε σύγκριση με ένα μίγμα καζεΐνης - ορρού γάλακτος. Παρόλα αυτά, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ της σόγιας^{+} και της σόγιας^{-}. Επιπλέον, προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει επίσης ότι η ουρική απέκκριση ασβεστίου ελαττώνεται όταν η πρωτεΐνη σόγιας αντικαθιστά τη ζωική πρωτεΐνη, όπως του κρέατος (Breslau et al. 1988) και του ορού γάλακτος (Anderson et al. 1987). Με εξισορρόπηση όλων των υπόλοιπων παραγόντων, τα δεδομένα αυτά προτείνουν, και σε καμία περίπτωση δεν αποδεικνύουν, ότι η μερική αντικατάσταση ζωικής πρωτεΐνης από πρωτεΐνη σόγιας, μπορεί να έχει μια επιθυμητή επίδραση στα οστά. Παρόλα αυτά, δεν είναι δυνατόν να βγει το συμπέρασμα ότι είναι η πρωτεΐνη σόγιας ή οι ισοφλαβόνες που ασκούν τις οστεοπροστατευτικές δράσεις. Αυτή αδιαμφισβήτητα θα παραμείνει η κατάσταση, μέχρι τα αποτελέσματα αρκετών μακροπρόθεσμων ερευνών που εξελίσσονται ή εκείνων που ετοιμάζονται να λάβουν χώρα είναι γνωστά.

3.2 Επιδημιολογικές έρευνες

Ο αριθμός των οστεοπορωτικών καταγμάτων είναι χαμηλότερος στις γυναίκες από την Ασία, των οποίων οι τυπικές δίαιτες είναι πλούσιες σε τρόφιμα σόγιας (Anderson et al. 2003). Επομένως, έχει γίνει η υπόθεση ότι μία δίαιτα πλούσια σε ισοφλαβόνες μπορεί να έχει προστατευτικές επιδράσεις στα οστά (Potter et al. 1998, Anderson et al. 1999, Scheiber et al. 1999, Kass-Annese 2000).

Μία από τις καλύτερες επιδημιολογικές έρευνες, η οποία μόλις πρόσφατα ολοκληρώθηκε είναι the Study of Women's Health Across the Nation (SWAN) (Greendale et al. 2002). Αυτή ήταν μια διαχρονική προοπτική μελέτη στις ΗΠΑ, η οποία περιλάμβανε πολλαπλά κέντρα και παρακολούθησε γυναίκες ηλικίας 42-45 ετών κατά τη διάρκεια της εμμηνόπαυσης. Τα κριτήρια επιλογής για την SWAN μελέτη ήταν ότι οι γυναίκες έπρεπε να είχαν έμμηνο ρύση τους τελευταίους τρεις μήνες και ότι δεν χρησιμοποιούσαν οποιαδήποτε ορμονική θεραπεία. Υπήρξαν σημαντικές διαφορές στην εθνική σύσταση (Αφρικανές-Αμερικάνες: n=497, Καυκάσιες: n=1003, Κινέζες: n=200, Γιαπωνέζες: n=227).

Ως βασική γραμμή, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της διαιτητικής πρόσληψης γενιστεΐνης. Για την εκτίμηση της συνεχιζόμενης πρόσληψης γενιστεΐνης χρησιμοποιήθηκε ένα ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (Block Food Frequency questionnaire). Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της οστικής πυκνότητας στην σπονδυλική στήλη, στον αυχένα του μηριαίου και στο ισχίο.

Δεν προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι η πρόσληψη γενιστεΐνης ήταν πολύ χαμηλή για να αναλυθεί μεταξύ των Αφρικανών-Αμερικανών και των Καυκάσιων γυναικών, καθώς δεν αποτελεί μέρος της συνηθισμένης διατροφής των εθνικών αυτών ομάδων. Οι μέσες τιμές ήταν αντίστοιχα, 4 και 14 μg. Για την ομάδα των Γιαπωνέζων και των Κινέζων γυναικών, η οστική πυκνότητα συγκρίθηκε με την πρόσληψη γενιστεΐνης, με τη χρήση ανάλυσης με μεταβλητές. Τα αποτελέσματα προσαρμόστηκαν για την ηλικία, το παρών κάπνισμα, τη φυσική δραστηριότητα, τη διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου, αλκοόλ και πρωτεΐνης, το ύψος, το βάρος και την κατάσταση εμμηνόπαυσης.

Κατά τρόπο ενδιαφέροντα, οι μέσες τιμές της πρόσληψης γενιστεΐνης ήταν υψηλότερες για τις Γιαπωνέζες παρά για τις Κινέζες. Παρατηρήθηκε μια ουσιαστική, θετική, δοσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ της οστικής πυκνότητας και της πρόσληψης γενιστεΐνης για τις μετεμμηνοπαυσιακές Γιαπωνέζες. Δεν παρατηρήθηκε καμία σχέση μεταξύ της οστικής πυκνότητας και της πρόσληψης γενιστεΐνης για τις γυναίκες από την Κίνα ή για τις προ-εμμηνοπαυσιακές Γιαπωνέζες.

Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής υποδεικνύουν ένα πολύ ενδιαφέρον φαινόμενο στη χρήση της γενιστεΐνης. Μπορεί να υπάρχει μία κατώφλια δόση (threshold dose) απαραίτητη για να δράσει η γενιστεΐνη στο οστό. Μιας και οι γυναίκες από την Ιαπωνία είχαν πολύ υψηλότερη πρόσληψη γενιστεΐνης, αυτό μπορεί να αποτελεί μια πιθανή εξήγηση για τις διαφορές μεταξύ των γυναικών από την Ιαπωνία και των γυναικών από την Κίνα. Επίσης, μπορεί να υπάρχουν εθνικές γενετικές διαφορές στους υποδοχείς οιστρογόνων στο οστό, τέτοιες ώστε οι Γιαπωνέζες να είναι σε θέση να ανταποκρίνονται στις οιστρογονικές δράσεις της γενιστεΐνης. Αυτό είναι καθαρά θεωρητικό, αλλά παραμένει μια ισχυρή υπόθεση. Επιπλέον, η γιαπωνέζικη δίαιτα μπορεί να περιέχει πηγές γενιστεΐνης, οι οποίες απορροφώνται πιο εύκολα, όπως τα προϊόντα σόγιας που έχουν υποστεί ζύμωση. Πιθανώς, τα προϊόντα αυτά μεταβολίζονται πιο αποτελεσματικά. Όλες αυτές οι προτάσεις αποτελούν άγνωστες υποθέσεις και πρέπει να αποτελέσουν τη βάση μελλοντικών ερευνών. Τέλος, μιας και η έρευνα αυτή βασίζεται σε ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων, μπορεί να υπάρχουν διαφορές στη χρήση απομονωμένων ισοφλαβονών έναντι ανέπαφης πρωτεΐνης σόγιας στην ερμηνεία της έρευνας αυτής.

Έχουν πραγματοποιηθεί και άλλες επιδημιολογικές έρευνες, οι οποίες φανερώνουν τις θετικές επιδράσεις της σόγιας σε μετεμμηνοπαυσιακούς ασιατικούς πληθυσμούς. Μια πρόσφατη αναφορά από τους Ho et al. (2001) παρέχει προοπτικά δεδομένα, τα οποία επιβεβαιώνουν την υπόθεση του προστατευτικού ρόλου της γενιστεΐνης στη διατήρηση της οστικής πυκνότητας μετεμμηνοπαυσιακών Κινέζων γυναικών, που ζουν στο Χονγκ-Κονγκ. Δύο ακόμη έρευνες που βασίστηκαν σε παρατηρήσεις (observations) σε

μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, έχουν αναφέρει θετικές επιδράσεις της πρόσληψης σόγιας στην οστική πυκνότητα, είτε ως πρωτεΐνη σόγιας, είτε ως ισοφλαβόνες σόγιας (Horiuchi et al. 2000, Geedale et al. 2002).

Σε μια συγχρονική/ περιγραφική έρευνα σε προ- και μετα-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες από την Κίνα, όπου η κατανάλωση τροφίμων σόγιας είναι πολύ υψηλότερη από τη Βόρεια Αμερική και τη Δυτική Ευρώπη, παρατηρήθηκε ότι η οστική πυκνότητα των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών μπορεί να επωφεληθεί από την καθημερινή κατανάλωση τέτοιων τροφίμων σόγιας, αλλά κάτι τέτοιο δεν φαίνεται να ισχύει για την οστική πυκνότητα των προ-εμμηνοπαυσιακών γυναικών (Mei et al. 2001). Αρκετές άλλες περιγραφικές έρευνες οι οποίες φανερώνουν τα σκελετικά οφέλη μιας δίαιτας πλούσιας σε σόγια έχουν επίσης δημοσιευτεί, αλλά έχουν πολύ μικρή σχέση με την κλινική πράξη.

Βλέπουμε λοιπόν, πως οι επιδημιολογικές έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί έως σήμερα και οι οποίες αποδίδουν στη σόγια οστεοπροστατευτικές επιδράσεις, έχουν πραγματοποιηθεί σε ασιατικούς πληθυσμούς. Κάτι τέτοιο είναι απόλυτα λογικό, αφού όπως έχουμε δει σε προηγούμενη ενότητα, τα προϊόντα σόγιας συνεισφέρουν ελάχιστα στην καθημερινή διαιτητική πρόσληψη δυτικών πληθυσμών.

3.3 Κλινικές έρευνες

Μέχρι σήμερα έχει πραγματοποιηθεί ένας περιορισμένος αριθμός μικρών, βραχυπρόθεσμων κλινικών ερευνών, οι οποίες έχουν εξετάσει τις επιδράσεις της πρωτεΐνης σόγιας με φυσιολογικά ή μειωμένα επίπεδα ισοφλαβονών, στην οστική πυκνότητα και τους βιοχημικούς οστικούς δείκτες μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Οι έρευνες αυτές έχουν παράγει αντικρουόμενα αποτελέσματα (Arjmandi 2001).

Επίδραση στην οστική πυκνότητα (BMD)

Προηγούμενες έρευνες (Potter et al. 1998, Alekel et al. 2000) έδειξαν ότι σε μία δοκιμασία διάρκειας έξι μηνών, μια δίαιτα πλούσια σε ισοφλαβόνες (40 g πρωτεΐνης σόγιας που περιέχει 2,25 mg ισοφλαβονών/g πρωτεΐνης) είχε ως αποτέλεσμα μια μικρή αύξηση ή σχετική βελτίωση στην οστική πυκνότητα σε σχέση με την ομάδα που έλαβε το εικονικό σκεύασμα (placebo), αλλά οι έρευνες αυτές ήταν σύντομες και αναφέρονταν σε μικρό αριθμό γυναικών.

Οι Potter et al. (1998) έδειξαν ότι η πρόσληψη 90 mg ισοφλαβονών ανά ημέρα ήταν εκείνη η οποία επέφερε την αύξηση στην οστική πυκνότητα της σπονδυλικής στήλης (vertebral BMD). Από την άλλη πλευρά, η BMD παρέμεινε ανεπηρέαστη ή ακόμη μειώθηκε ελαφρώς στις γυναίκες που κατανάλωσαν χαμηλότερη δόση (1,39 mg ισοφλαβονών/g πρωτεΐνης ή ~56 mg ισοφλαβονών), δείχνοντας με αυτόν τον τρόπο ότι η ποσότητα των ισοφλαβονών που καταναλώνονται πρέπει να υπερβαίνει ένα κρίσιμο επίπεδο για την επιτυχία αυτού του είδους παρέμβασης.

Οι Alekel et al. (2000) εκτίμησαν τις επιδράσεις της πρόσληψης πρωτεΐνης σόγιας σε περι-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Χορήγηση συμπληρώματος πρωτεΐνης σόγιας, το οποίο περιείχε ισοφλαβόνες (84,4 mg/ημέρα) μείωσε την οστική απώλεια στην οσφυϊκή σπονδυλική στήλη σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με έλλειψη ενδογενών οιστρογόνων, στις οποίες διαφορετικά θα περιμέναμε να χάνουν 2-3% οστού ανά χρόνο.

Παρόλα αυτά, η πολύ σύντομη χρονικά εφαρμογή της έρευνας (24 εβδομάδες) καθιστά αδύνατη την απάντηση του ερωτήματος, για το αν οι οστεοπροστατευτικές επιδράσεις που παρατηρήθηκαν μπορούν να διατηρηθούν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Μιας και ένας κύκλος ανακατασκευής[4.10] (bone remodeling cycle) κυμαίνεται από 30 έως 80 εβδομάδες, είναι σημαντικό στο μέλλον να πραγματοποιούνται έρευνες οι οποίες καλύπτουν το λιγότερο έναν τέτοιο κύκλο. Επομένως, τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών γενικά φαίνονται μόνο στην οσφυϊκή σπονδυλική στήλη, επειδή οι έρευνες αυτές είναι σχετικά σύντομες και η οστική ανακατασκευή στο σπογγώδες οστό είναι πιο γρήγορη από την αντίστοιχη του φλοιώδους οστού του ισχίου (Wagner et al. 2001).

Μία ακόμη έρευνα από τους Clifton-Bligh et al. (2001), επίσης ανέφερε θετικές επιδράσεις των ισοφλαβονών σόγιας σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η έρευνα είχε διάρκεια 6 μήνες, και οι δύο δόσεις ισοφλαβονών που είχαν απομονωθεί από τριφύλλι – 57 και 85 mg – καθόρισαν μια μη δοσοεξαρτώμενη αύξηση στην οστική πυκνότητα της τάξης του 3-4% στην εγγύς κερκίδα και την ωλένη. Τα αποτελέσματα των τριών αυτών ερευνών, οι οποίες αποτελούν και από τις πιο σημαντικές τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες έρευνες που έχουν μελετήσει την επίδραση των ισοφλαβονών στην BMD σε μη Ασιατικούς πληθυσμούς παρουσιάζονται στον πίνακα 4.3.1.

4.10 Η οστική ανακατασκευή είναι η διαδικασία ανανέωσης των μικρομονάδων των οστών, με διαδοχική ενεργοποίηση και λειτουργία των οστεοκλαστών και των οστεοβλαστών και με σκοπό την επιδιόρθωση των μικροφθορών των μικρομονάδων αυτών, καθώς επίσης τη σταθερότητα (ομοιοστασία) στις τιμές του ιονισμένου ασβεστίου του εξωκυττάριου χώρου. Στο φλοιώδες οστό η οστική ανακατασκευή διαρκεί πολύ μεγαλύτερο διάστημα (συνολικά 7 μήνες), ενώ στο σπογγώδες οστό η διαδικασία αυτή είναι συντομότερη (περίπου 3-4 μήνες) (Λυρίτης 1996).

Πίνακας 4.3.1: Φυτοοιστρογόνα και τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες κλινικές έρευνες σε μη ασιατικούς πληθυσμούς.

	Σχεδιασμός	Συμπλήρωμα που χρησιμο-ποιήθηκε	Δόση Ισοφλαβονών	Αριθμός ασθενών	Ηλικία (εύρος)	Διάρκεια μελέτης	Μέσος όρος μηνών αμηνόρροιας	BMD Σ.Σ (%) διαφορά από τα αρχικά επίπεδα	BMD εγγύς κερδίδας και ωλένης (%) διαφορά από τα αρχικά επίπεδα
Potter et al. 1998	Διπλά-τυφλή ελεγχόμενη μελέτη	Απομονωμένη πρωτεΐνη σόγιας	56mg, 90mg, placebo καζεΐνης	22, 22, 22	59 (49-73), 61 (39-83), 61 (51-74)	6 μήνες	12	↓0,2, ↑2,2* ↓0,6	
Alekel et al. 2000	Διπλά-τυφλή ελεγχόμενη μελέτη	Απομονωμένη πρωτεΐνη σόγιας	4,4mg, 80mg, placebo ορού γάλακτος	24, 24, 21	50 (41-61), 50 (44-59) 49 (44-55)	6 μήνες	9	↓0,66, ↓0,20, ↓1,28*	
Clifton-Bligh et al. 2001	Μονά-τυφλή όχι placebo	Ισοφλαβόνες από τριφύλλι	25mg, 57mg, 85mg	15, 16, 15	56	6 μήνες	6		↑2,6, ↑4,2*, ↑2,9*

* αποτέλεσμα στατιστικά σημαντικό

Μία από τις πιο σημαντικές μελέτες για την επίδραση των ισοφλαβονών σόγιας στην οστική πυκνότητα μετεμμηνοπαυσιακού ασιατικού πληθυσμού, είναι εκείνη των Somekawa et al. (2001). Οι Somekawa et al. εκτίμησαν τις επιδράσεις των διαιτητικών ισοφλαβονών που περιέχονται στα προϊόντα σόγιας, στις οστικές πυκνότητες μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών από την Ιαπωνία. Για τον σκοπό αυτό υπολόγισαν τις διαιτητικές προσλήψεις ισοφλαβονών σε 478 Γιαπωνέζες, οι οποίες ανέφεραν κατανάλωση σόγιας. Η οστική πυκνότητα μετρήθηκε στην οσφυϊκή σπονδυλική στήλη με DEXA (διπλή απορρόφηση ακτίνων Χ). Οι γυναίκες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, ανάλογα με τα χρόνια μετά την εμμηνόπαυση, σε αρχώμενη (early) (<5 χρόνια μετά την εμμηνόπαυση) και εγκατεστημένη (late) (>5 χρόνια) μετεμμηνοπαυσιακή ομάδα (PMG), και κάθε ομάδα διαιρέθηκε σε τέσσερις υποομάδες, ανάλογα με την διαιτητική πρόσλήψη ισοφλαβονών. Η συσχέτιση μεταξύ της πρόσληψης ισοφλαβονών και της οστικής πυκνότητας εξετάστηκε σε κάθε υποομάδα.

Η μέση εκτίμηση της πρόσληψης ισοφλαβονών ήταν 54,3 ± 1,0 mg/ημέρα στο σύνολο των 478 γυναικών, 53,5 ± 1,3 mg/ημέρα στην αρχώμενη μετεμμηνοπαυσιακή ομάδα, και 55,5 ± 1,6 mg/ημέρα στην εγκατεστημένη μετεμμηνοπαυσιακή ομάδα. Οι κύριες πηγές ισοφλαβονών, οι οποίες αποτέλεσαν και το 88% της συνολικής πρόσληψης ήταν τα εξής προϊόντα σόγιας: τυρόπηγμα σόγιας (47%), σόγια που έχει υποστεί ζύμωση (30%) και πολτός σόγιας (11%).

Τα ευρήματα της έρευνας αυτής ήταν ότι οι οστικές πυκνότητες, προσαρμοσμένες για τα χρόνια μετά την εμμηνόπαυση και την ηλικία ήταν σημαντικά διαφορετικές στην υποομάδα με την υψηλότερη πρόσληψη ισοφλαβονών σε σύγκριση με την υποομάδα με την χαμηλότερη πρόσληψη, και για τις δύο ομάδες (πίνακας 4.3.2). Μεταξύ των δύο ομάδων, οι διαφορές στην οστική πυκνότητα ήταν μικρές, αλλά ωστόσο ήταν ελαφρώς υψηλότερες στην αρχώμενη μετεμμηνοπαυσιακή ομάδα και στατιστικώς σημαντικές. Πάντως, το συμπέρασμα το οποίο προκύπτει από την έρευνα αυτή είναι ότι η

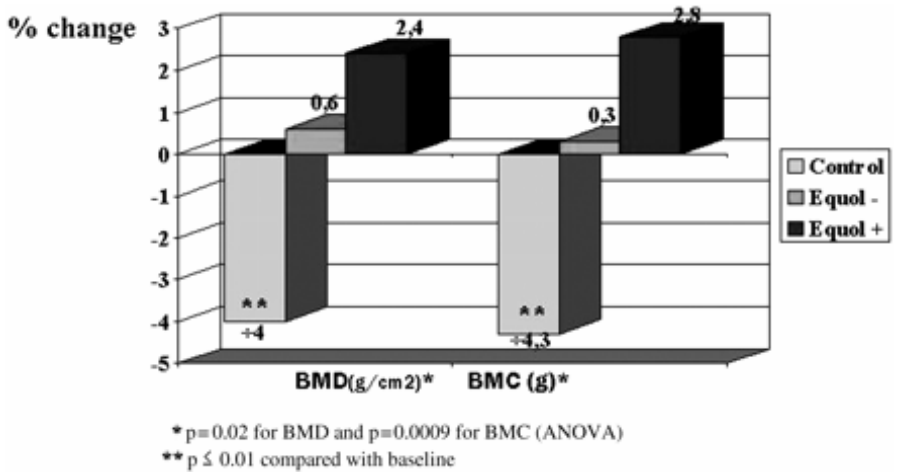
υψηλή κατανάλωση προϊόντων σόγιας σχετίζεται με αύξηση της οστικής πυκνότητας στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

Πίνακας 4.3.2: Οστική πυκνότητα προσαρμοσμένη για το βάρος και τα χρόνια μετά την εμμηνόπαυση (Somekawa et al. 2001).

	Πρόσληψη ισοφλαβονών				
Μεταβλητή	35 mg/d (n = 116)	35-50 mg/d (n = 125)	50-65 mg/d (n = 125)	65 mg/d (n = 132)	P
Προσαρμοσμένη BMD (g/cm^2)					
Αρχώμενη PMG	0,865±0,014	0,897±0,014	0,931±0,013	0,933±0,015	<,001
Εγκατεστημένη PMG	0,806±0,017	0,810±0,019	0,873±0,023	0,877±0,021	,01

Οι Lydeking-Olsen et al. (2002) μελέτησαν την επίδραση των ισοφλαβονών στην οστική μάζα, διακρίνοντας τον υπό μελέτη πληθυσμό σε αυτούς «που παράγουν» και σε αυτούς «που δεν παράγουν εκούλη». Στη μελέτη τους, που ήταν η πρώτη έρευνα διάρκειας δύο ετών που ολοκληρώθηκε, δόθηκαν με τυχαίο τρόπο σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες δύο ποτήρια γάλακτος σόγιας των 250 ml καθημερινά, είτε με είτε χωρίς ισοφλαβόνες. Η οστική απώλεια, όπως μετρήθηκε από την αλλαγή στην BMD της οσφυϊκής σπονδυλικής στήλης, αποτράπηκε από το πλούσιο σε ισοφλαβόνες γάλα σόγιας. Η οσφυϊκή BMD και το περιεχόμενο σε μέταλλα (BMC) ελαττώθηκε κατά 4,0 και 4,3%, αντίστοιχα (P<0,01) κατά τη διάρκεια των δύο ετών στην ομάδα που έλαβε το γάλα σόγιας με τις αμελητέες ποσότητες ισοφλαβονών. Τα ποσοστά αυτά είναι κοντά στην απώλεια της οστικής μάζας της τάξης του 5-7%, που αναμένεται φυσιολογικά στη διάρκεια των δύο πρώτων ετών της εμμηνόπαυσης. Αντιθέτως, η ομάδα η οποία κατανάλωσε το γάλα σόγιας που περιείχε 50 mg ισοφλαβονών, παρουσίασε αύξηση της τάξης του 1,1 και 2% στην οσφυϊκή BMD και BMC, αντίστοιχα. Επομένως, η πρωτεΐνη σόγιας με τις ισοφλαβόνες, σε αντίθεση με εκείνη χωρίς ισοφλαβόνες, διατήρησε σταθερή την οστική μάζα κατά τη διάρκεια της περιόδου των δύο ετών. Πρέπει να επισημανθεί ότι η διαφορά αυτή παρατηρήθηκε μετά τον πρώτο χρόνο. Λαμβάνοντας υπόψη τον αργό ρυθμό του οστικού μεταβολισμού, φαίνεται

πως οι διαφορές στα ευρήματα των υπαρχόντων ερευνών μπορεί να οφείλονται στη σύντομη χρονική διάρκεια των διαιτητικών παρεμβάσεων με τρόφιμα σόγιας. Ωστόσο, η πιο σημαντική παρατήρηση της μελέτης αυτής ήταν ότι οι γυναίκες που «παρήγαγαν εκουόλη» (45% επί συνόλου), παρουσίασαν σημαντικές μέσες αυξήσεις στην BMD και τη BMC της οσφυϊκής σπονδυλικής στήλης της τάξης του 2,4 και 2,8%, αντίστοιχα, σε σύγκριση με τις αυξήσεις του μόλις 0,6 και 0,3% σε εκείνες τις γυναίκες που «δεν παρήγαγαν εκουόλη» (σχήμα 4.3.3). Τα ευρήματα υποδηλώνουν τη σημασία του να λαμβάνεται υπόψη η παραγωγή ή όχι εκουόλης σε κλινικές μελέτες που ερευνούν τις επιδράσεις της σόγιας στον οστικό μεταβολισμό, επειδή υπάρχουν σαφείς διαφορές στις αποκρίσεις.



Σχήμα 4.3.2: Αλλαγές στην BMD και τη BMC μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών που έλαβαν γάλα σόγιας για μία περίοδο 2 ετών, κατηγοριοποιημένων σύμφωνα με την παραγωγή ή όχι εκουόλης (Lydeking-Olsen et al. 2002).

Επίδραση στους οστικούς δείκτες

Μία διπλά-τυφλή, *placebo*-ελεγχόμενη μελέτη διάρκειας ενός χρόνου, έδειξε ότι η χορήγηση περίπου 90 mg ισοφλαβονών σε ένα μικρό δείγμα νεαρών ενηλίκων γυναικών (αρχές 20τίας) στις ΗΠΑ, δεν είχε καμία θετική επίδραση στον σκελετό (Anderson et al. 2002). Όσον αφορά την επίδραση των ισοφλαβονών σόγιας στους βιοχημικούς οστικούς δείκτες, μια πρόσφατη έρευνα από τους Wangen et al. (2000), εκτίμησε τις επιδράσεις των υπερσυμπυκνωμάτων πρωτεΐνης σόγιας με τρία επίπεδα ισοφλαβονών σε 14 προ- και 17 μετα- εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, σε μία έρευνα αυτοσύγκρισης για περισσότερο από 3 μήνες για το κάθε επίπεδο. Ο μέσος όρος ηλικίας των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών ήταν τα 26 έτη, ενώ των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών τα 57 έτη. Στην ομάδα ελέγχουν δόθηκαν κατά μέσο όρο 8 mg πρωτεΐνης σόγιας (0,13 mg ισοφλαβονών/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα). Στην ομάδα με την χαμηλή πρόσληψη ισοφλαβονών (low-iso) δόθηκαν κατά μέσο όρο 65 mg (1,00 mg/kg Σ.Β. ανά ημέρα), και στην ομάδα με την υψηλή πρόσληψη ισοφλαβονών (high-iso) 130 mg (2,01 mg/kg Σ.Β. ανά ημέρα). Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι επιδράσεις των ισοφλαβονών σόγιας στους βιοχημικούς δείκτες ήταν μικρού μεγέθους και απίθανο να είναι κλινικά σημαντικές. Στο ίδιο συμπέρασμα είχαν καταλήξει παλιότερα, οι Baird et al. (1995), οι οποίοι δεν παρατήρησαν αλλαγές στους βιοχημικούς οστικούς δείκτες μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, οι οποίες κατανάλωσαν δίαιτα υψηλή σε πρωτεΐνη σόγιας.

Παρόλα αυτά, σε μία έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Scheiber et al. (1997), και η οποία περιλάμβανε 50 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που έλαβαν 60-70 mg ισοφλαβονών με τη μορφή γάλακτος σόγιας για 12 εβδομάδες, παρουσίασαν μια σημαντική μείωση στην ουρική απέκκριση του Ν-αμινοτελικού πεπτιδίου και μία αύξηση στην οστεοκαλσίνη[4.11] ορού. Τα ευρήματα αυτά δείχνουν ότι ενώ η κατανάλωση γάλακτος σόγιας ελαττώνει τον ρυθμό της οστικής απορρόφησης, ταυτόχρονα προάγει τον ρυθμό της οστικής παραγωγής. Τα πρόσφατα δημοσιευμένα αποτελέσματα από τον Arjmandi (2001) υποστηρίζουν τα ευρήματα αυτά. Συγκεκριμένα, πρόσληψη 40 g πρωτεΐνης σόγιας που δίνουν 90 mg ισοφλαβονών, καθημερινά για μια

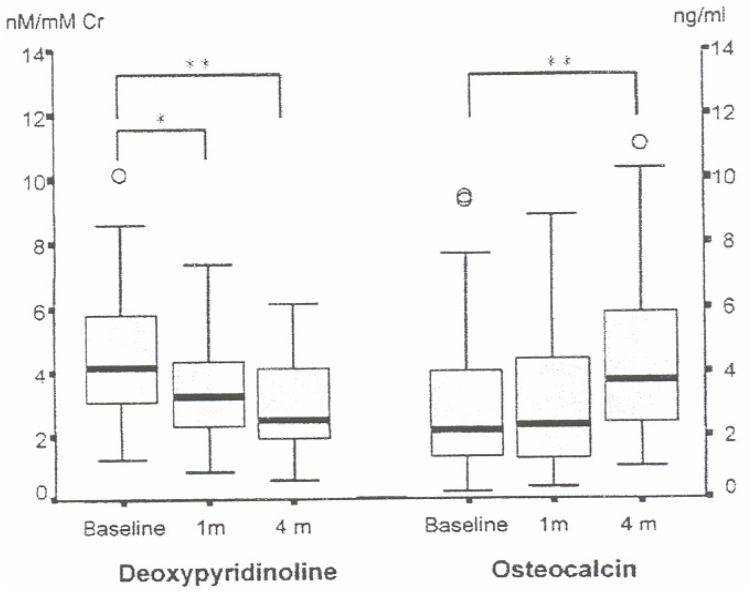
περίοδο τριών μηνών, μείωσε σημαντικά την ουρική απέκκριση δεοξυπυριδολίνης. Την ίδια στιγμή, η πρωτεΐνη σόγιας σημαντικά αύξησε τις συγκεντρώσεις του IGF-I στον ορό, σε γυναίκες ηλικίας μικρότερης ή μεγαλύτερης των 65 ετών, ανεξάρτητα από την οιστρογονική τους κατάσταση.

Σε μία άλλη παλαιότερη μικρή, τυχαιοποιημένη, *placebo*-ελεγχόμενη μελέτη, 30 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες κατανάλωσαν 60 mg ισοφλαβονών/ ημέρα για 6 μήνες. Παρατηρήθηκε μια μείωση σε δύο βιοχημικούς δείκτες οστικής απορρόφησης, στην ουρική πυριδολίνη και το N-αμινοτελικό πεπτίδιο, υποδηλώνοντας μία μείωση στον ρυθμό του οστικού μεταβολισμού (Bonaccorsi et al. 1997).

Οι Kuiper et al. (1998) βρήκαν ότι η γενιστεΐνη και η δαϊζδεΐνη προσδένονται πιο ισχυρά στον ERβ παρά στον ERα. Επομένως, μπορεί να έχουν θετική επίδραση στην οστεοπόρωση, μιας και η οστική παραγωγή επάγεται από τα οιστρογόνα μέσω του ERβ. Οι ερευνητές Watanabe et al. (2002) μελέτησαν τις επιδράσεις των ισοφλαβονών στον οστικό μεταβολισμό, μέσω μιας διπλά-τυφλής έρευνας αυτοσύγκρισης. Ογδόντα πέντε γυναίκες ηλικίας 50-70 ετών έλαβαν μέρος στην έρευνα. Κάθε άτομο έλαβε περίπου 40 mg ισοφλαβονών σε ταμπλέτα ή εικονικό σκεύασμα για 4 εβδομάδες και έγινε προτροπή να συνεχιστούν για ακόμη 4 εβδομάδες. Η πρόσληψη ισοφλαβονών από τη διατροφή περιορίστηκε σε περίπου 20 mg/ημέρα. Αρχικά, η μέση τιμή της οστεοκαλσίνης και της δεοξυπυριδολίνης ήταν 1,54 ng/ml και 4,05 nM/mM Cr, αντίστοιχα. Μετά την παρέμβαση, τα επίπεδα της δεοξυπυριδολίνης

4.11 Η οστεοκαλσίνη ή οστική Gla πρωτεΐνη (BGP) είναι μια μικρή, μη κολλαγονική πρωτεΐνη (5.8 KDa), ειδική για τον οστίτη ιστό και την οδοντίνη, με αδιευκρίνιστη λειτουργική σημασία. Συντίθεται κυρίως από τους οστεοβλάστες και σε μεγάλο ποσοστό δεσμεύεται στην παραγόμενη θεμέλια ουσία, ενώ ένα μικρό ποσοστό κυκλοφορεί στο αίμα. Η οστεοκαλσίνη απαιτεί για τη σύνθεσή της βιταμίνη K, έλλειψη της οποίας μπορεί να επηρεάσει την οστεοβλαστική λειτουργία. Με τον τρόπο αυτό, η οστεοκαλσίνη είναι ένας καλός δείκτης της οστεοβλαστικής λειτουργίας. Επίσης, σε περιπτώσεις έντονης οστικής εναλλαγής η οστεοκαλσίνη ορού αντανακλά την οστική απορρόφηση (Λυρίτης 1996).

ελαττώθηκαν από 4,14 σε 3,05 nM/mM Cr, αλλά δεν παρατηρήθηκε αλλαγή στα επίπεδα της οστεοκαλσίνης. Αύξηση στα επίπεδα της οστεοκαλσίνης παρατηρήθηκε μετά από 4 μήνες (σχήμα 4.3.2).



Σχήμα 4.3.3: Επίδραση στους βιοχημικούς οστικούς δείκτες (Watanabe et al. 2002).

Ο σκοπός των Chiechi et al. (2002) ήταν να συγκρίνουν την επίδραση μιας δίαιτας πλούσιας σε σόγια με την HRT, όσον αφορά την επίδρασή τους στους οστικούς βιοχημικούς δείκτες και την οστική πυκνότητα (BMD) στην μετεμμηνοπαυσιακή ηλικία. Για τον σκοπό αυτόν, χρησιμοποίησαν 187 υγιείς ασυμπτωματικές μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ηλικίας από 39-60 ετών, οι οποίες τυχαιοποιήθηκαν σε μία ομάδα υψηλής κατανάλωσης σόγιας, σε μία ομάδα που λάμβανε HRT και σε μία ομάδα ελέγχου. Στις γυναίκες που έλαβαν την ειδική δίαιτα, ζητήθηκε να συνεχίσουν τη συνηθισμένη τους διατροφή, με την προσθήκη μόνο μιας μερίδας σόγιας ανά ημέρα (πχ γάλα σόγιας, σούπα από μίσο, τεπέ) και την αντικατάσταση δύο κύριων γευμάτων δύο φορές την εβδομάδα από δύο γεύματα, τα οποία βασίζονταν σε τρόφιμα πλούσια σε φυτοοιστρογόνα.

Οι βιοχημικοί οστικοί δείκτες και η BMD εκτιμήθηκαν πριν την παρέμβαση και μετά (από 6 μήνες). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η δίαιτα δεν είναι τόσο αποτελεσματική όσο η HRT στη μείωση της μετεμμηνοπαυσιακής οστικής απώλειας. Παρόλα αυτά, η δίαιτα ενεργοποίησε την οστεοβλαστική δραστηριότητα, όπως φαίνεται από τη σημαντική αύξηση των συγκεντρώσεων οστεοκαλσίνης. Η BMD μειώθηκε σημαντικά μόνο στην ομάδα ελέγχου, αλλά όχι στις ομάδες παρέμβασης (πίνακας 4.3.3).

Τα δεδομένα αυτά προτείνουν ότι τα προϊόντα σόγιας μπορούν να είναι αποτελεσματικά στη μείωση του κινδύνου της οστεοπόρωσης σε ασυμπτωματικές μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Ωστόσο, τα ευρήματα αυτά πρέπει να επιβεβαιωθούν και από άλλες καλά ελεγχόμενες μακροπρόθεσμες έρευνες, προτού γίνει η σύσταση ότι η δίαιτα αυτή είναι μία έγκυρη εναλλακτική θεραπεία της HRT.

Πίνακας 4.3.3: Μέσες διαφορές στις τιμές των βιοχημικών οστικών δεικτών και της BMD στις ομάδες με τη δίαιτα, την HRT και του ελέγχου, μετά από 6 μήνες (Chiechi et al. 2002).

	Ομάδα ελέγχου	Δίαιτα	HRT	F	P
	n = 43	n = 43	n = 43		
Οστεοκαλσίνη	1,7	**5,45**	-1,10	2,05	0,13
N-αμινοτελικό πεπτίδιο	1,34	4,92	-10,1	0,76	0,47
OHP/Cr	-4,6	-6,12	**-16,2**	1,26	0,29
BMD φλοιώδους οστού	-0,10	0,01	-0,001	0,86	0,43
BMD σπογγώδους οστού	**-0,03**	-0,02	-0,01	0,24	0,79

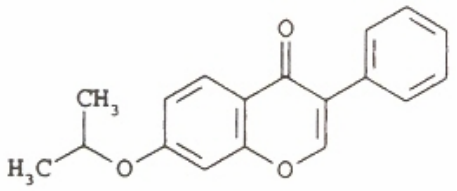
Οι τιμές με την έντονη γραφή δείχνουν μία $P<0.05$ για τις μέσες διαφορές στην αρχή και μετά από 6 μήνες. F και P εκφράζουν τη σημαντικότητα από την ανάλυση των μεταβλητών στις διαφορετικές ομάδες.

Οι έρευνες για την επίδραση των λιγνανών στον σκελετό του ανθρώπου είναι ακόμη πιο περιορισμένες. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, μεταξύ των εδώδιμων φυτικών τροφίμων ο λιναρόσπορος είναι η πλουσιότερη πηγή λιγνανών, οι οποίες όπως και όλα τα φυτοοιστρογόνα διαθέτουν οιστρογονικές και αντι-οιστρογονικές ιδιότητες. Ο λιναρόσπορος είναι επίσης μια σημαντική πηγή πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA), ιδιαίτερα α-λινολενικού οξέος (18:3 n-3) (Jeffery et al. 1996). Το λινολενικό οξύ μπορεί να μειώνει τον ρυθμό της οστικής απορρόφησης με το αναστέλλει τη βιοσύνθεση των προσταγλαδινών (Fitzpatric 2003). Επίσης, οι λιγνάνες που είναι παρούσες στον λιναρόσπορο μπορεί να έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, οι οποίες σχηματίζονται από έναν αριθμό κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των μονοκυττάρων, των μακροφάγων και των ουδετερόφιλων, έχουν αναφερθεί να αυξάνονται σε χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις, στη γήρανση και στην οστεοπόρωση. *In vitro* και *in vivo* ευρήματα υποδεικνύουν ότι οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται στο οστικό περιβάλλον, προάγουν τον σχηματισμό οστεοκλαστών και κατά συνέπεια την οστική απορρόφηση. Επομένως, ο λιναρόσπορος μπορεί να ελαττώνει τον ταχύ ρυθμό οστικής απώλειας που παρατηρείται στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, εν μέρει και λόγω της βελτίωσης της αντιοξειδωτικής κατάστασης.

Οι Arjmandi et al. (1998) ανέφεραν ότι ο λιναρόσπορος μπορεί να έχει θετικές επιδράσεις στα οστά των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Σε μία προοπτική έρευνα (follow-up study), ανέθεσαν σε 60 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που δεν λάμβαναν HRT, να προσλάβουν είτε 40 g λιναρόσπορου ή 40 g ενός συγκριτικού σκευάσματος ελέγχου που βασίστηκε στον σίτο, για 3 μήνες. Πρώιμη εκτίμηση των αποτελεσμάτων από την έρευνα αυτή δεν υποδεικνύει καμία βελτίωση των βιοχημικών οστικών δεικτών ορού και ούρων. Το ερώτημα εάν μία μακροπρόθεσμη έρευνα που θα χρησιμοποιήσει τα βιοενεργά συστατικά του λιναρόσπορου, όπως τις λιγνάνες ή το έλαιό του, μπορεί να εμφανίσει μια θετική επίδραση στην BMD και BMC, παραμένει ακόμη αδιευκρίνιστο.

3.4 Ιπριφλαβόνη (ipriflavone, IP)

Μεγάλο μέρος του ερευνητικού ενδιαφέροντος για τις πιθανές οστεοπροστατευτικές επιδράσεις των φυτοοιστρογόνων, αλλά και πιθανή απόδειξη της δράσης τους (ιδιαίτερα των ισοφλαβονών), έχει προκύψει από τις δράσεις της χημικής ένωσης ιπριφλαβόνης (σχήμα 4.3.4). Η χημική της δομή σχετίζεται με εκείνη των φυσικά προερχόμενων φυτοοιστρογόνων.



IPRIFLAVONE
(7-Isopropoxy-isoflavone)

Σχήμα 4.3.4: Χημική δομή ιπριφλαβόνης.

Η ιπριφλαβόνη είναι ένα συνθετικό φλαβονοειδές παράγωγο, το οποίο προέρχεται από την ισοφλαβόνη δαϊζδεΐνη, και το οποίο εμφανίζεται αρκετά ελπιδοφόρο όσον αφορά την πρόληψη και τη θεραπεία της οστεοπόρωσης (Kathleen A. 1999). Το 1969 ξεκίνησε ένα ερευνητικό πρόγραμμα, το οποίο είχε ως στόχο τη σύνθεση παραγώγων των ισοφλαβονών, τα οποία θα μπορούσαν να εμφανίσουν αναβολική, αλλά όχι οιστρογονική δραστηριότητα. Περίπου 200 νέες χημικές ενώσεις ετοιμάστηκαν και δοκιμάστηκαν (Nogradi M. 1993). Μεταξύ αυτών, επιλέχτηκε το 1970 μετά από τα αποτελέσματα πολυάριθμων διαφορετικών πειραματικών διαδικασιών, η 7-ισοπροποξυ-ισοφλαβόνη (7-isopropoxy-isoflavone) ή ιπριφλαβόνη.

Συγκεκριμένα, το ενδιαφέρον των ερευνητών επικεντρώθηκε στη δυνατότητα διατήρησης/ συντήρησης του ασβεστίου, που παρουσίασε η ιπριφλαβόνη σε *in vitro* μελέτες. Το εύρημα αυτό γέννησε την ιδέα για τον πειραματισμό με την ιπριφλαβόνη στη θεραπεία οστικών παθήσεων, που σχετίζονται με οστική απώλεια. Τέτοια πειράματα ξεκίνησαν από το 1974 σε ζώα, και από το 1981 σε ανθρώπους, τα περισσότερα από τα οποία πραγματοποιήθηκαν στην Ιταλία, την Ιαπωνία και την Κίνα. Τα ευρήματα από τις πολυάριθμες έρευνες

που έχουν πραγματοποιηθεί είναι τέτοια, ώστε η ιπριφλαβόνη να είναι διαθέσιμη για τη θεραπεία της οστεοπόρωσης σε 21 χώρες από το 1989. Το φάρμακο αυτό, επομένως, έχει εγκριθεί ως εναλλακτικό της HRT για την πρόληψη της οστικής απώλειας σε περιπτώσεις έλλειψης οιστρογόνων. Η δράση της ασκείται κυρίως στον οστεοκλάστη, όπου έχει δειχτεί πειραματικά αναστολή της διαφοροποίησης των οστεοκλαστών. Με τη λογική αυτή, η ιπριφλαβόνη κατατάσσεται στα αντιοστεοκλαστικά φάρμακα, όπως η HRT και οι SERMs. Πρόσφατα όμως, έχει δειχτεί ότι υπάρχει και διεγερτική επίδραση της ιπριφλαβόνης στους οστεοβλάστες (Λυρίτης 1996, Γελαδάς και Τσακόπουλος 2001).

Η ιπριφλαβόνη δεν φαίνεται να δρα άμεσα μέσω των οιστρογονικών υποδοχέων, και έχει δειχτεί ότι δεν έχει καμία επίδραση στον μεταβολισμό των ενδογενών στεροειδών (Kathleen A. 1999). Παρόλα αυτά, περίπου το 10% της προσλαμβανόμενης δόσης μετατρέπεται σε δαϊζδεΐνη μέσα στο σώμα. Έτσι, σε ορισμένες χώρες έχει προωθηθεί ως μη ορμονική θεραπεία για εκείνες τις γυναίκες που δεν μπορούν να λάβουν HRT (Zsuzsanna 1995). Η χρήση της έχει επίσης αναφερθεί για την πρόληψη της ταχείας οστικής απώλειας που εμφανίζεται μετά την εγκατάσταση του υπογοναδισμού σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, η οποίες ακολουθούν θεραπεία με GnRH αγωνιστές (Gambacciani et al. 1994, 1997, 1999).

Η εντερική απορρόφηση της ιπριφλαβόνης είναι πολύ χαμηλή, για τον λόγο δε αυτό χρειάζονται υψηλές δόσεις του φαρμάκου, οι οποίες βέβαια πρέπει να εξατομικεύονται ανάλογα με την κλινική ανταπόκριση του ασθενούς (Λυρίτης, 1996). Η κλινική εφαρμογή της ιπριφλαβόνης, που χορηγείται από το στόμα σε ημερήσια δόση 600 mg, έχει δοκιμαστεί τόσο για την αντιμετώπιση της άμεσης μετεμμηνοπαυσιακής απώλειας, όσο επίσης και για περιπτώσεις ασθενών με εγκατεστημένη οστεοπόρωση (Kathleen 1999, Anderson 2003).

Έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές διπλά-τυφλές έρευνες σε ανθρώπους, οι οποίες έχουν δείξει θετική επίδραση της ιπριφλαβόνης στο να μειώνει την οστική απώλεια. Το 1997 οι Gambacciani et al. μελέτησαν την επίδραση της ιπριφλαβόνης σε σύγκριση με την HRT σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η

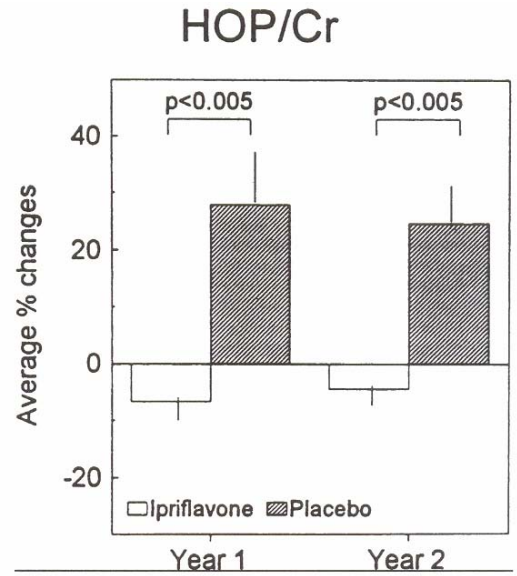
έρευνα αποτελούνταν από 4 ομάδες μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, οι οποίες ακολούθησαν θεραπεία για δύο χρόνια με ένα από τα ακόλουθα: (1) μόνο συμπλήρωμα ασβεστίου (500 mg/ημέρα), (2) ιπριφλαβόνη (600 mg/ημέρα) συν την ίδια δόση ασβεστίου, (3) χαμηλή δόση συνεζευγμένων οιστρογόνων (0,3 mg/ημέρα) συν ασβέστιο, (4) χαμηλή δόση ιπριφλαβόνης (400 mg/ημέρα) συν χαμηλή δόση συνεζευγμένων οιστρογόνων συν ασβέστιο. Οι πιο θετικές επιδράσεις όσον αφορά την μείωση της οστικής απώλειας παρατηρήθηκαν στους ασθενείς που έλαβαν την θεραπεία (2) και την θεραπεία (3), με μία μάλιστα σημαντικά στατιστικά αύξηση στην οστική πυκνότητα της σπονδυλικής στήλης.

Οι Gennari et al. (1997, 1999) πραγματοποίησαν μία από τις μεγαλύτερες έρευνες για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας και της ανεκτικότητας της ιπριφλαβόνης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με χαμηλή οστική μάζα. Μεταξύ του Φεβρουαρίου 1990 και του Δεκεμβρίου 1991, 453 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες εγγράφηκαν σε 13 ιταλικά κέντρα, που ειδικεύονταν στην οστεοπόρωση. Η οστική πυκνότητα μετρήθηκε είτε στην οσφυϊκή σπονδυλική στήλη (Έρευνα Α) είτε στο άνω τμήμα της κερκίδας (Έρευνα Β). Μετά από μία αρχική εκτίμηση, ολόκληρος ο πληθυσμός έλαβε τυχαία δύο διαφορετικές από του στόματος θεραπείες: (1) ταμπλέτες ιπριφλαβόνης των 200 mg τρεις φορές/ ημέρα με το γεύμα, (2) ένα αντίστοιχο εικονικό σκεύασμα, σύμφωνα με ένα διπλά-τυφλό, *placebo*-ελεγχόμενο, παράλληλο σχεδιασμό έρευνας. Κατά τη διάρκεια της διεξαγωγής της έρευνας (2 έτη), όλες οι ασθενείς έλαβαν από του στόματος συμπλήρωμα ασβεστίου του 1 g/ημέρα. Τα κριτήρια εισαγωγής ήταν η ηλικία (από 50-65 ετών) και η οστική πυκνότητα, η οποία έπρεπε να είναι χαμηλότερη από την αντίστοιχη υγιών γυναικών της ίδιας ηλικίας.

Και στις δύο έρευνες παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση της οστικής πυκνότητας με τη χορήγηση ιπριφλαβόνης και στον πρώτο αλλά και στον δεύτερο χρόνο της θεραπείας, σε σχέση με την ομάδα που έλαβε το εικονικό σκεύασμα. Τα ευρήματα αυτά είναι σύμφωνα με τα αποτελέσματα από προηγούμενες έρευνες, που πραγματοποιήθηκαν σε νεαρότερες μετεμμηνοπαυσιακές (Agnusdei et al. 1995, Valente et al. 1994, Melis 1996) ή

ηλικιωμένες οστεοπορωτικές γυναίκες (Agnusdei et al. 1992, Passeri et al. 1995).

Όσον αφορά την επίδραση της ιπριφλαβόνης στους βιοχημικούς οστικούς δείκτες, η ουρική απέκκριση υδροξυπρολίνης/ κρεατινίνη (OHP/Cr) μειώθηκε στην ομάδα που έλαβε τη θεραπεία με την ιπριφλαβόνη, ενώ στην ομάδα που έλαβε το εικονικό σκεύασμα αυξήθηκε, με μία μάλιστα σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων, τόσο στον πρώτο χρόνο, όσο και στον δεύτερο (σχήμα 4.3.5).



Σχήμα 4.3.5: Μέσες ποσοστιαίες αλλαγές στην ουρική απέκκριση υδροξυπρολίνης/ κρεατινίνη στον πρώτο και δεύτερο χρόνο, σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με χαμηλή οστική μάζα που ακολούθησαν θεραπεία είτε με 200 mg ιπριφλαβόνης είτε με εικονικό σκεύασμα (συγκεντρωτικά στοιχεία από την έρευνα Α και την έρευνα Β).

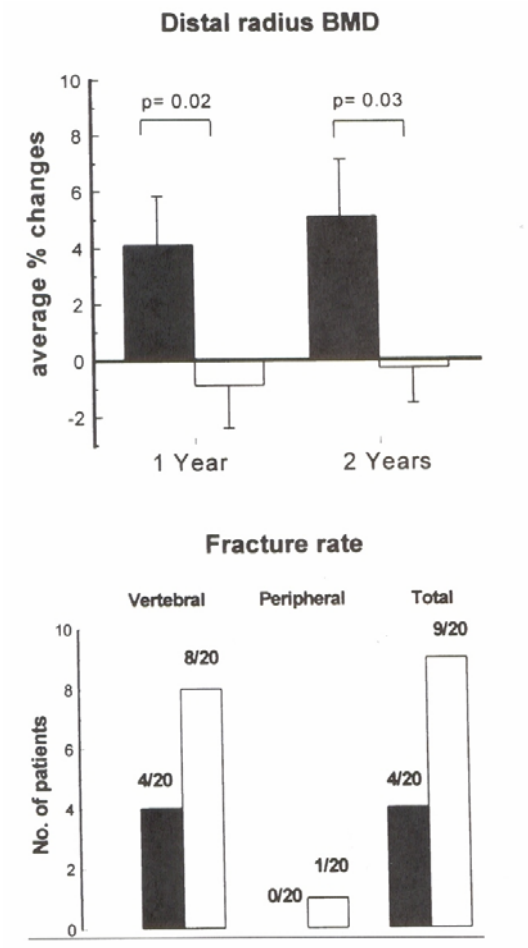
Οι αλλαγές στην ουρική απέκκριση της (OHP/Cr) στις γυναίκες που ακολούθησαν τη θεραπεία με την ιπριφλαβόνη, φανερώνουν μια τάση για έναν χαμηλότερο ρυθμό οστικού μεταβολισμού, ο οποίος πραγματοποιείται μέσω αναστολής της οστικής απορρόφησης. Η χορήγηση συμπληρώματος ασβεστίου στην ομάδα ελέγχου φαίνεται ανίκανη να επιφέρει μία μείωση στην ομάδα ελέγχου, όπως φαίνεται εξάλλου από την αύξηση στην ουρική απέκκριση της (OHP/Cr) και τη μείωση στην οστική πυκνότητα. Τα ευρήματα

αυτά είναι σύμφωνα με έναν αριθμό προοπτικών ερευνών σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, οι οποίες δείχνουν ότι το συμπλήρωμα ασβεστίου έχει περιορισμένη μόνο επίδραση στο να αποτρέπει την οστική απώλεια (Kathleen A. 1999, Anderson 2003).

Οι Agnusdei et al. 1997 μελέτησαν τις επιδράσεις της ιπριφλαβόνης στην εγκατεστημένη οστεοπόρωση. Για τον σκοπό της έρευνας αυτής συμμετείχαν 149 οστεοπορωτικές γυναίκες, ηλικίας από 65-79 ετών με τουλάχιστον ένα επιβεβαιωμένο επικρατών κάταγμα σπονδυλικής στήλης, από τις οποίες οι 111 συμπλήρωσαν τη διετή περίοδο θεραπείας.

Ο σχεδιασμός των δύο παράλληλων ερευνών ήταν ακριβώς ίδιος με εκείνο των Gennari et al. (1997), ο οποίος αναφέρθηκε προηγουμένως.

Το βασικό εύρημα των ερευνών αυτών ήταν ότι στις ομάδες των γυναικών που ακολούθησαν τη θεραπεία με την ιπριφλαβόνη, παρατηρήθηκε αύξηση στην οστική πυκνότητα του αντιβράχιου. Μάλιστα, η αύξηση αυτή ήταν ταχύτερη μέσα στους πρώτους μήνες της θεραπείας, και πιο αργή στη συνέχεια (σχήμα 4.3.6).



Σχήμα 4.3.6: (Πάνω) Μέση ποσοστιαία αλλαγή στην BMD του αντιβράχιου στον 1^{ο} και 2^{ο} χρόνο, σε ηλικιωμένες γυναίκες, που ακολούθησαν θεραπεία με ιπριφλαβόνη (μαύρες στήλες) ή με εικονικό σκεύασμα (άσπρες στήλες). (Κάτω) Αριθμός ασθενών με νέα σπονδυλικά ή περιφερικά κατάγματα (Agnusdei et al. 1997).

Το σχέδιο αυτό που ακολουθούν οι αλλαγές στην οστική πυκνότητα είναι ένα κοινό γνώρισμα των φαρμάκων, τα οποία αναστέλλουν την οστική απορρόφηση, όπως είναι τα οιστρογόνα και η καλσιτονίνη. Οι γυναίκες που έλαβαν το εικονικό σκεύασμα παρουσίασαν μία μικρή μόνο οστική απώλεια, πιθανώς λόγω της λήψης συμπληρώματος ασβεστίου. Ωστόσο, η διαφορά στην οστική πυκνότητα μεταξύ των ομάδων που έλαβαν διαφορετική θεραπεία ήταν σημαντική.

Επίσης, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στην ουρική απέκκριση υδροξυπυριδολίνης στις γυναίκες που έλαβαν τη θεραπεία με ιπριφλαβόνη, σε σύγκριση με τη ομάδα ελέγχου. Ένα ακόμη σημαντικό εύρημα ήταν η μείωση της εμφάνισης σπονδυλικών καταγμάτων (σχήμα 4.3.6), καθώς και η βελτίωση της κινητικότητας και του οστικού πόνου στην ομάδα που έλαβε τη θεραπεία με ιπριφλαβόνη. Τα αποτελέσματα των δύο αυτών παράλληλων ερευνών δείχνουν ότι η θεραπεία με ιπριφλαβόνη μπορεί να αυξήσει την οστική πυκνότητα και πιθανώς να αποτρέψει την εμφάνιση καταγμάτων σε ηλικιωμένους ασθενείς με εγκατεστημένη οστεοπόρωση, το οποίο είναι ένα αδιαμφισβήτητο πλεονέκτημα της ορμονικής θεραπείας.

Συμπερασματικά, τα θεραπευτικά οφέλη της χορήγησης ιπριφλαβόνης στην πρόληψη και τη θεραπεία της οστεοπόρωσης έχουν μελετηθεί επαρκώς. Η ιπριφλαβόνη εμφανίζεται να περιορίζει την οστική απώλεια σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, και σε ορισμένες μάλιστα περιπτώσεις, ιδιαίτερα στους ηλικιωμένους, να επάγει τον σχηματισμό νέου οστού και να μειώνει τα ποσοστά καταγμάτων. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι ενισχύει την επίδραση της χαμηλής δόσης οιστρογόνων στη διατήρηση της οστικής πυκνότητας (Glazier 2001).

Σε γενικές γραμμές, η ιπριφλαβόνη φαίνεται ασφαλής, και εμφανίζεται να έχει μια ευνοϊκή αναλογία κινδύνου προς όφελος. Τα υπάρχοντα πάντως δεδομένα δείχνουν ότι η μακροπρόθεσμη θεραπεία με ιπριφλαβόνη, θεωρείται ως μία από τις διαθέσιμες φαρμακευτικές επιλογές για την αύξηση της οστικής πυκνότητας και πιθανώς για τη μείωση του κινδύνου για κατάγματα στους ηλικιωμένους με εγκατεστημένη οστεοπόρωση. Επιπλέον, η ιπριφλαβόνη

φαίνεται ότι δεν έχει οιστρογονικές δράσεις και επομένως, ενώ μπορεί να είναι λιγότερο πιθανή η αύξηση του κινδύνου για οιστρογονοεξαρτώμενους καρκίνους από τη χρήση της, ωστόσο δεν φαίνεται να παρέχει προστασία έναντι των καρδιαγγειακών παθήσεων (Glazier et al. 2001). Πάντως, χρειάζεται προσοχή στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων αυτών, καθώς η ιπριφλαβόνη είναι συνθετική και όχι φυσική ουσία, και το ποσό της ιπριφλαβόνης ανά ταμπλέτα είναι πολύ μεγαλύτερο από το ποσό που θα μπορούσε να αποκτηθεί από τα διαιτητικά φυτοοιστρογόνα. Το αν τα φυτοοιστρογόνα έχουν τις ίδιες ή παρόμοιες επιδράσεις είναι ένα ζήτημα το οποίο δεν έχει ακόνη διευκρινιστεί (Bowman et al. 2001).

3.5 Ασφάλεια

Τα δεδομένα σχετικά με την ασφαλή μακροπρόθεσμη πρόσληψη της ιπριφλαβόνης (IP) από 60 έρευνες που πραγματοποιήθηκαν στην Ιταλία, την Ιαπωνία και την Κίνα αναθεωρήθηκαν από τους Agnusdei & Bufalino (1997, 1999). Από την δεκαετία του 1980 μέχρι σήμερα, 2.769 συνολικά ασθενείς έχουν λάβει θεραπεία με ιπριφλαβόνη για 6-96 μήνες. Η εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών σε αυτόν τον πληθυσμό (14,5%) δεν ήταν στατιστικά διαφορετική από εκείνη που παρατηρήθηκε στην ομάδα ελέγχου, των ασθενών δηλαδή που έλαβαν το εικονικό σκεύασμα (16,1%) (πίνακας 4.3.4). Οι περισσότερες ενοχλήσεις που αναφέρθηκαν ήταν γαστρεντερικής φύσης (καύσος, έμετος, γαστρικός ή κοιλιακός πόνος, δυσκοιλιότητα, διάρροια), αλλά επίσης παρατηρήθηκαν δερματικές αντιδράσεις (φαγούρα, εξάνθημα, ερύθημα) και σε μικρότερο βαθμό νευρολογικά (πονοκέφαλος, κατάθλιψη, ζαλάδα), μυοσκελετικά (κόπωση, αδυναμία) ή καρδιαγγειακά (ταχυκαρδία) συμπτώματα (πίνακας 4.3.5). Εργαστηριακές ανωμαλίες κατά τη διάρκεια της μακροπρόθεσμης θεραπείας με ιπριφλαβόνη, συμπεριέλαβαν αλλαγές στα λειτουργικά τεστ του ήπατος και των νεφρών, στον μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων και στις αιματολογικές παραμέτρους. Η επανεξέταση έδειξε την εξισορρόπηση των εκτός των ορίων παραμέτρων, μετά τη διακοπή της ιπριφλαβόνης.

Πίνακας 4.3.4: Αριθμός ασθενών που εμφάνισαν ανεπιθύμητες ενέργειες, καθώς και εκείνων που αποχώρησαν λόγω ανεπιθύμητων ενεργειών, κατά τη διάρκεια μακροχρόνιας θεραπείας με ιπριφλαβόνη ή εικονικό σκεύασμα, από το 1985 έως σήμερα.

	Ιπριφλαβόνη		**Εικονικό σκεύασμα**	
	Αρ.	%	Αρ.	%
Συνολικός αριθμός ασθενών που ακολούθησαν θεραπεία	2.769	—	759	—
Ασθενείς με ανεπιθύμητες ενέργειες	401	14,5	122	16,1
Ασθενείς που αποχώρησαν λόγω ανεπιθύμητων ενεργειών	165	5,9	38	5,0

Πίνακας 4.3.5: Ανεπιθύμητες ενέργειες και σχετικό ποσοστό εμφάνισης, ανάλογα με το σύστημα που επηρεάζεται, στους ασθενείς που έλαβαν ιπριφλαβόνη ή εικονικό σκεύασμα, από το 1985 έως σήμερα.

Ανεπιθύμητες ενέργειες και το σύστημα που επηρεάζεται	**Ιπριφλαβόνη**		**Εικονικό σκεύασμα**	
	Αρ.	%	Αρ.	%
Γαστρεντερικό (καύσος, έμετος, γαστρικός ή κοιλιακός πόνος, δυσκοιλιότητα, διάρροια)	432	77,9	144	81,8
Δέρμα (φαγούρα, εξάνθημα, ερύθημα)	50	9,1	13	7,4
Κεντρικό και περιφερικό σύστημα (πονοκέφαλος, κατάθλιψη, ζαλάδα)	52	9,5	7	4,0
Μυϊκό, καρδιαγγειακό (κόπωση, αδυναμία, ταχυκαρδία)	20	3,7	12	6,8
Σύνολο	554	100	176	100

Μετά τη μακροχρόνια χορήγηση αντιοστεοπορωτικών παραγόντων, όπως είναι η υψηλή δόση διφωσφονικών πρώτης γενιάς, έχει αναφερθεί ελλιπής επιμετάλλωση του νεοσχηματισμένου οστού, οδηγώντας με αυτόν τον τρόπο σε αύξηση της ευθραυστότητας του οστού, παρά την αύξηση της οστικής μάζας (Kathleen A. 1999, Γελαδάς και Τσακόπουλος 2001, Anderson 2003). Επομένως, η ποιότητα του νεοσχηματισμένου οστού θα πρέπει να συνεκτιμάται με την αύξηση της οστικής μάζας, όταν αξιολογείται ένα νέο αντιοστεοπορωτικό φάρμακο. Δεν παρατηρήθηκε καμία αλλαγή στη δομή του κρυσταλλικού υδροξυαπατίτη των μακρών οστών σε ποντίκια, στα οποία χορηγήθηκε ιπριφλαβόνη σε δόσεις μέχρι και 400 mg/kg σωματικού βάρους/ ημέρα για 3 μήνες (Ghezzo et al. 1998). Επιπρόσθετα, η οστική πυκνότητα και η οστική δύναμη βελτιώθηκαν με τη θεραπεία με ιπριφλαβόνη, τόσο σε φυσιολογικούς όσο και σε οστεοπενικούς αρουραίους (Yamazaki I. et al. 1986, Civitelli et al. 1995). Φαρμακοκινητικές έρευνες σε ανθρώπους δείχνουν ότι τόσο η ιπριφλαβόνη όσο και οι μεταβολίτες της απομακρύνονται πλήρως από το σώμα μέσα σε 120 ώρες, και ότι δεν συσσωρεύονται σε κανένα όργανο ή ιστό, συμπεριλαμβανομένου και του οστού, έτσι ώστε μια βλάβη στην οστική επιμετάλλωση και δομή λόγω φυσικής επίδρασης της ιπριφλαβόνης στους κρυστάλλους και τη μεσοκυττάρια ουσία του οστού να φαίνεται απίθανη (Gennari et al. 1997, Fitzpatrick 2003).

Τα επίπεδα πλάσματος της ιπριφλαβόνης και των μεταβολιτών της αυξάνονται ελαφρώς στους ηλικιωμένους (>65 ετών) ασθενείς, πιθανώς λόγω της ηλικιοεξαρτώμενης μείωσης των ηπατικών και νεφρικών λειτουργιών (Monici 1995), και στους ασθενείς με νεφρική βλάβη (Rondelli et al. 1998). Σύμφωνα με τα ευρήματα αυτά, μια προσαρμοσμένη δόση απαιτείται για τους ασθενείς με ήπια έως και μέτρια νεφρική βλάβη (ρυθμός κάθαρσης της κρεατινίνης 80-40 ml/ λεπτό: 400 mg IP) και για εκείνους με σοβαρή νεφρική βλάβη (ρυθμός κάθαρσης της κρεατινίνης <40ml/ λεπτό: 200 mg IP) (Kathleen A. 1999).

Όσον αφορά τις πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες των φυσικών φυτοοιστρογόνων, οι Busby et al. (2002) διεξήγαγαν για πρώτη φορά μία αντίστοιχη έρευνα. Συγκεκριμένα, 30 υγιείς άντρες χωρίστηκαν τυχαία σε 5 διαφορετικές ομάδες ανάλογα με την προσλαμβανόμενη δόση γενιστεΐνης, κάθε μία από τις οποίες αποτελείτο από 5 άτομα. Οι δόσεις γενιστεΐνης που δόθηκαν ήταν 1, 2, 4, 8 ή 16 mg/kg σωματικού βάρους, ποσότητες που είναι αρκετά υψηλότερες από αντίστοιχες που έχουν δοθεί μέχρι σήμερα σε ανθρώπους. Μέσα σε κάθε ομάδα, δόθηκε στα τρία άτομα το σκεύασμα Α, και στα υπόλοιπα τρία το σκεύασμα Β. Το σκεύασμα Α περιείχε 90 ± 5% γενιστεΐνη, 10% δαϊζδεΐνη και 1% γλυκιτεΐνη. Το σκεύασμα Β περιείχε 43% γενιστεΐνη, 21% δαϊζδεΐνη και 2% γλυκιτεΐνη. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες που παρατηρήθηκαν παρουσιάζονται στον πίνακα 4.3.6 που ακολουθεί.

Πίνακας 4.3.6: Ανεπιθύμητες ενέργειες που πιθανώς σχετίζονται με τη χορήγηση σκευασμάτων ισοφλαβονών (Busby et al. 2002).

Δόση γενιστεΐνης, σκεύασμα, και αριθμός ατόμων που εμφάνισαν την ανεπιθύμητη ενέργεια	Ανεπιθύμητη ενέργεια	Χρόνος εμφάνισης
2 mg/kg		
Σκεύασμα Α		
1	Αυξημένη λιπάση	24 ώρες μετά τη λήψη
1	Αυξημένη αμυλάση	24 ώρες μετά τη λήψη
4 mg/kg		
Σκεύασμα Α		
1	Απώλεια όρεξης	24 ώρες μετά τη λήψη
Σκεύασμα Β		
1	Υποφωσφαταιμία	24 ώρες μετά τη λήψη
1	Οίδημα κάτω άκρων	~3 εβδομάδες μετά τη λήψη*
8 mg/kg		
Σκεύασμα Α		
1	Υποφωσφαταιμία	24 ώρες μετά τη λήψη
1	Αυξημένη λιπάση	3 ημέρες μετά τη λήψη
Σκεύασμα Β		
1	Απώλεια όρεξης	3-4 ώρες μετά τη λήψη
1	Κοιλιακός πόνος	~20 ώρες μετά τη λήψη
2	Υποφωσφαταιμία	24 ώρες μετά τη λήψη
16 mg/kg		
Σκεύασμα Β		
1	Λευκοπενία	24 ώρες μετά τη λήψη

* Η αναφορά έγινε από τον ασθενή και δεν παρατηρήθηκε από τους ερευνητές στο εργαστήριο.

Αξίζει να αναφερθεί ότι οι παρατηρούμενες τοξικές κλινικές επιδράσεις ήταν μηδαμινές, ακόμη και σε δόσεις που υπερβαίνουν κατά πολύ τις συνηθισμένες διαιτητικές προσλήψεις. Οι περισσότερες από αυτές εξαφανίστηκαν μέσα σε 5 ημέρες μετά τη λήψη των αντίστοιχων σκευασμάτων. Εξάλλου, η γενιστεΐνη και η δαϊζδεΐνη έχουν υψηλό ρυθμό κάθαρσης ($t_{1/2}$: 3,2 ώρες και 4,2 ώρες αντίστοιχα), με αποτέλεσμα να αναμένεται να μην συσσωρεύονται ακόμη και όταν λαμβάνονται 2 ή 3 δόσεις ημερησίως. Σίγουρα, όμως απαιτούνται περισσότερες κλινικές μελέτες, προκειμένου να διερευνηθούν οι πιθανές ανεπιθύμητες επιδράσεις της λήψης φυτοοιστρογόνων μακροπρόθεσμα και σε άντρες, και σε γυναίκες, καθώς και σε ποιες δόσεις προκαλούνται αυτές. Πάντως, σε γενικές γραμμές είναι αποδεκτό (Busby 2002, Anderson 2003, Barnes 2003) ότι μία δόση της τάξης των 50 mg ισοφλαβονών, θα είναι ασφαλής για το μεγαλύτερο μέρος του πληθυσμού. Φαίνεται επίσης λογικό να επεκταθεί το όριο αυτό ασφαλείας στα 2 mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα (150 mg/ημέρα) σε κλινικές έρευνες, όπου υπάρχει προσεχτική παρακολούθηση των ασθενών που λαμβάνουν μέρος. Η υψηλότερη μάλιστα αυτή δόση μπορεί να αποδειχτεί απαραίτητη για την πρόληψη της οστεοπόρωσης (Barnes 2003).

3.6 Συμπέρασμα

Οι έρευνες σε ζώα και σε κυτταρικές καλλιέργειες έχουν προσφέρει αρκετές αποδείξεις όσον αφορά τον ρόλο των ισοφλαβονών στη διατήρηση ή τη βελτίωση της οστικής μάζας ή πυκνότητας, καθώς και ότι η επίδρασή τους αυτή λαμβάνει χώρα, τουλάχιστον εν μέρει, μέσω του κλασσικού μηχανισμού των ER, πιθανώς στους οστεοβλάστες. Ωστόσο, τα ευρήματα από τις έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί έως τώρα στους ανθρώπους δεν είναι τόσο σαφή, ενώ πολλές φορές μάλιστα είναι και αντικρουόμενα. Οι λόγοι για αυτές τις ασυνέπειες μεταξύ των ερευνών είναι πολλοί και περιλαμβάνουν, διαφορές στην ηλικία, την κατάσταση εμμηνόπαυσης, την παραγωγή ή όχι εκουόλης, καθώς και τη σχετικά σύντομη χορήγηση ισοφλαβονών.

Επομένως, η αβεβαιότητα για τις ενδεχόμενες μακροπρόθεσμες θετικές επιδράσεις των ισοφλαβονών στον σκελετό του ανθρώπου, είτε αυτές προέρχονται από την πρωτεΐνη σόγιας είτε από συμπληρώματα εξευγενισμένων ισοφλαβονών, παραμένει ακόμη. Οι ελάχιστες δημοσιευμένες έρευνες για τις ωφέλιμες επιδράσεις των ισοφλαβονών στην οστική πυκνότητα της σπονδυλικής στήλης των μετεμμηνοπαυσιακών ή των περι-εμμηνοπαυσιακών γυναικών, προτείνουν ότι η απώλεια της λειτουργικότητας των ωοθηκών ή το χαμηλό επίπεδο οιστρογόνων είναι απαραίτητα προκειμένου να παρατηρηθεί οποιαδήποτε διατήρηση, ή ακόμη και ελαφρά αύξηση της οστικής πυκνότητας (BMD). Μάλιστα, βάση των ελάχιστων δημοσιευμένων ερευνών, φαίνεται να είναι πολύ νωρίς για τους επιστήμονες υγείας να προτείνουν τη χορήγηση ισοφλαβονών ως εναλλακτική θεραπεία της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης και των καταγμάτων που συνήθως τη συνοδεύουν (Humfrey 1998, Messina 1999, Wangen et al. 2000, Glazier & Bowman 2001, This P et al. 2001).

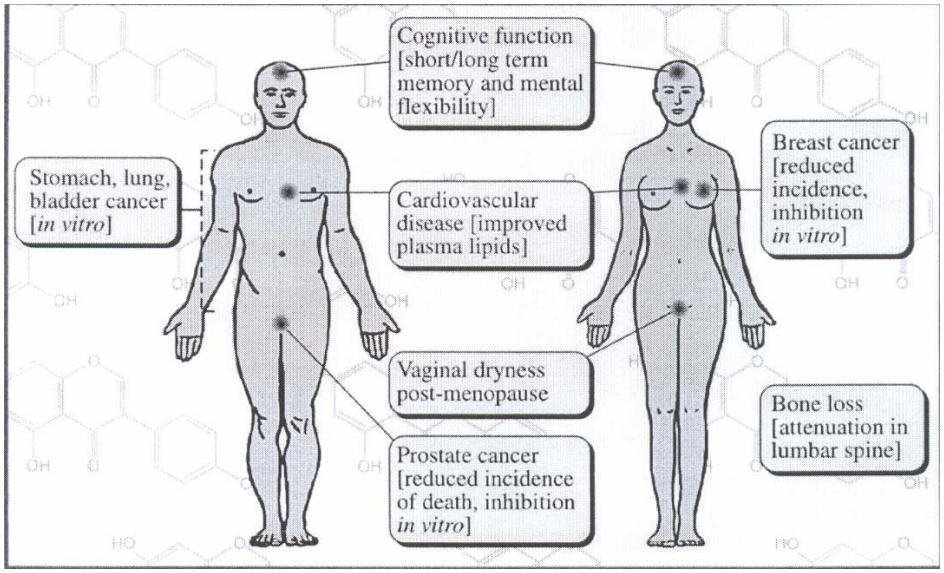
Σίγουρα χρειάζονται επιπρόσθετες προοπτικές, διπλά-τυφλές, *placebo*-ελεγχόμενες μακροπρόθεσμες έρευνες, στις οποίες θα παρακολουθείται μεγαλύτερος αριθμός ατόμων, προκειμένου να διευκρινιστεί η πιθανή αποτελεσματικότητα των ισοφλαβονών στην πρόληψη εμφάνισης καταγμάτων, καθώς και στη διατήρηση ή ακόμη και τη βελτίωση της BMD.

Στον σχεδιασμό των ερευνών αυτών είναι απαραίτητο να καθορίζεται εκ των προτέρων η οιστρογονική κατάσταση και η δυνατότητα για παραγωγή ή όχι εκουόλης των ατόμων που λαμβάνουν μέρος σε αυτές. Επίσης, χρειάζονται περισσότερες έρευνες για να διευκρινιστεί σε βάθος ο μηχανισμός δράσης των ισοφλαβονών, καθώς τα δεδομένα που είναι διαθέσιμα έως σήμερα δεν είναι επαρκή. Επιπλέον, για να διευκρινιστεί εάν είναι η ολόκληρη σόγια, η πρωτεΐνη σόγιας ή οι ισοφλαβόνες υπεύθυνες για τις παρατηρούμενες οστεοπροστατευτικές επιδράσεις. Ωστόσο, για να διευκρινιστεί ο ρόλος των φυτοοιστρογόνων αυτών στην οστική παραγωγή, θα πρέπει να καθοριστούν σαφώς τα επίπεδα της σόγιας και των ισοφλαβονών, τα οποία είναι πρακτικά, ασφαλή και αποτελεσματικά για την εισαγωγή σε μία καθημερινή διαιτητική θεραπεία (ή ως συμπλήρωμα).

Συμπερασματικά, είναι αναγκαίο να πραγματοποιηθούν πολλαπλές διαφορετικές πειραματικές διαδικασίες, που θα χρησιμοποιούν ανθρώπους, προκειμένου να προκύψουν τα ευρήματα εκείνα που χρειάζονται για να ληφθούν σαφείς και οριστικές συστάσεις. Εξάλλου, σύμφωνα με την ομόφωνη απόφαση της North American Menopause Society (Anderson et al. 2003), «επιπρόσθετες κλινικές έρευνες είναι απαραίτητο να διεξαχθούν, προτού μπορούν να γίνουν συγκεκριμένες συστάσεις για τη χρήση της γενιστεΐνης και των υπόλοιπων ισοφλαβονών στη διαχείριση της σκελετικής υγείας των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών». Έτσι, οι συστάσεις για την ιατρική κοινότητα και το γενικό κοινό, ιδιαίτερα όσον αφορά τις αλλαγές στην διαιτητική πρόσληψη σόγιας ή τη λήψη συμπληρωμάτων ισοφλαβονών, για τη αποτροπή ή την καθυστέρηση της οστικής απώλειας σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με χαμηλή BMD, θα πρέπει να περιμένουν επιπρόσθετες έρευνες, προτού μπορέσουν να ανακοινωθούν με ασφάλεια. Πάντως, στην περίπτωση που επιβεβαιωθούν οι οστεοπροστατευτικές δράσεις των ισοφλαβονών, οι θεραπευτικές τους επιπτώσεις θα είναι τεράστιες.

Μέρος 5^{0}

Άλλες αναφερόμενες Επιδράσεις των Φυτοοιστρογόνων στην Υγεία του Ανθρώπου



Κεφάλαιο 1

ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Ήδη από το 1918 οι καρδιαγγειακές παθήσεις (CVD), δηλαδή οι παθήσεις της καρδιάς και του κυκλοφορικού συστήματος, έχουν αναγνωριστεί ως η κύρια αιτία θνησιμότητας στις Ηνωμένες Πολιτείες (Hasler 2002). Σύμφωνα μάλιστα με τις πιο πρόσφατες στατιστικές εκτιμήσεις του American Heart Association (2001), τα καρδιαγγειακά νοσήματα αφαιρούν μία ζωή κάθε 33 δευτερόλεπτα (1 για κάθε 2,4 θανάτους) και εξακολουθούν να επιφέρουν περισσότερους θανάτους από το σύνολο των 14 αμέσως επόμενων κυριότερων αιτιών θνησιμότητας – περισσότερο από 950.000 θανάτους το 1999. Ένας αριθμός διατροφικών συστατικών (Hasler 2000), όπως οι διαλυτές διαιτητικές ίνες από προϊόντα βρώμης, οι φυτικοί εστέρες στερόλης και στανόλης και η πρωτεΐνη σόγιας, έχουν κλινικώς δειχτεί να ελαττώνουν σημαντικά τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης (TC) και της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL-C), οι οποίες αποτελούν δύο από τους σημαντικότερους τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου για τη στεφανιαία νόσο (CHD). Μάλιστα, όσον αφορά τα φυτοοιστρογόνα της σόγιας, δηλαδή τις ισοφλαβόνες, τα ευρήματα από πολλαπλές επιδημιολογικές και κλινικές έρευνες φανερώνουν το ενδεχόμενο για την ύπαρξη μιας αιτιολογικής, αντίστροφης σχέσης μεταξύ της κατανάλωσης τους και του κινδύνου για εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων (Glazier & Bowman 2001). Η καθιερωμένη πλέον χαμηλή συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων και οι υψηλές προσλήψεις διαιτητικών ισοφλαβονών στους ασιατικούς πληθυσμούς, είναι σύμφωνες με την πιθανή προστατευτική επίδραση των ισοφλαβονών. Για τον λόγο αυτό, οι ισοφλαβόνες, και ιδιαίτερα η σόγια ως η κυριότερη πηγή τους, άρχισαν να διερευνούνται ως πιθανοί υποχοληστερολαιμικοί παράγοντες ήδη από τις αρχές του 1940 (St Clair 1998).

Υπάρχουν πολλοί μηχανισμοί μέσω των οποίων τα διαιτητικά φυτοοιστρογόνα θα μπορούσαν να αποτρέψουν ή να μειώσουν την εμφάνιση αθηροσκλήρωσης, συμπεριλαμβανομένων της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας (Mitchell et al. 1998), της βελτίωσης των συγκεντρώσεων των λιπιδίων πλάσματος (Potter et al. 1996, Slavin 2000, Wroblewski et al. 2000), τη μείωση του σχηματισμού θρόμβου (Kris-Etherton 2002) και τη βελτίωση της αγγειακής ενδοτικότητας (Clarkson 2002). Πιθανοί μηχανισμοί δράσης περιλαμβάνουν τους ακόλουθους: αυξημένη έκκριση χολικού οξέος (Potter et al. 1996), άμεση δράση στους υποδοχείς οιστρογόνων (Tikkanen & Adlercreutz 2000), αναστολή της σύνθεσης της ενδογενούς χοληστερόλης (Kari et al. 2002), ανιούσα ρύθμιση των υποδοχέων χοληστερόλης (Mitchell et al. 1998), και αυξημένη θυρεοειδική λειτουργία (ένα αυξημένο επίπεδο θυροξίνης ελαττώνει τα επίπεδα χοληστερόλης) (Potter et al. 1995, Lichtenstein et al. 1998).

Στη συνέχεια του κεφαλαίου αυτού θα παρουσιαστούν τα κυριότερα από τα επιστημονικά δεδομένα, τα οποία οδήγησαν τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) στο να εγκρίνει να γίνονται ισχυρισμοί υγείας για την πρωτεΐνη σόγιας και τη στεφανιαία νόσο τον Οκτώβριο του 1999, καθώς και πρόσφατες επιστημονικές εξελίξεις σχετικά με τον ρόλο της σόγιας και των περιεχόμενων σε αυτή ισοφλαβονών στην καρδιαγγειακή υγεία.

1.1 Η σόγια ως «λειτουργικό» τρόφιμο[5.1] (functional food)

Η σόγια, ένα όσπριο το οποίο είναι κοινό στην Κίνα, καταγράφηκε για πρώτη φορά στη *Materia Medica* του Κινέζου Αυτοκράτορα Shen Nung το 2.838 π.Χ (Adolph WH, Kiang PC 1920, cited in Hasler 2002). Το «ανώτερο αυτό όσπριο» έχει μακρά παράδοση στην Νοτιοανατολική Ασία ως σημαντική διαιτητική πηγή πρωτεΐνης και λίπους. Η σόγια έχει υψηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη (περίπου 40%) από άλλα όσπρια, τα οποία τυπικά περιέχουν 20% με 30% πρωτεΐνη. Περιλαμβάνει 20% περίπου λίπος, το οποίο θεωρείται ένα σχετικά «ισορροπημένο έλαιο» (61% πολυακόρεστα, 24% μονοακόρεστα, 15% κορεσμένα). Η σόγια επίσης περιλαμβάνει έναν αριθμό από μη θρεπτικά (nonnutritive), φυσιολογικώς ενεργά θρεπτικά συστατικά, όπως φυτοστερόλες, σαπωνίνες και ισοφλαβόνες, με τα τελευταία μάλιστα να έχουν ερευνηθεί περισσότερο συστηματικά σε σχέση με την επίδρασή τους στην καρδιαγγειακή υγεία.

Η σόγια άρχισε να καλλιεργείται συστηματικά ως γεωργικό προϊόν στις ΗΠΑ στα τέλη του 1800 (Hasler 2002). Αυτή τη στιγμή οι ΗΠΑ αποτελούν τη χώρα με την μεγαλύτερη παραγωγή σόγιας. Ωστόσο, η κατανάλωση σόγιας στις ΗΠΑ παραμένει αρκετά χαμηλή, σε λιγότερο από 5 g/ημέρα, σε σχέση με την αντίστοιχη σε Ασιατικές χώρες, όπως στην Ιαπωνία, όπου η κατανάλωση μπορεί να φτάνει και τα 55 g/ημέρα (Nagata et al. 1998). Η χρήση της σόγιας ως κύριο προϊόν στις ΗΠΑ έχει παρακωλυθεί, εν μέρει, από τη λανθασμένη αντίληψη ότι το όσπριο αυτό αποτελεί μια κατώτερη πηγή πρωτεΐνης σε σχέση με το κρέας, τα αυγά και άλλες πηγές ζωικής πρωτεΐνης. Η ανακρίβεια

5.1 Τα λειτουργικά τρόφιμα ορίζονται ευρέως ως τρόφιμα, τα οποία παρέχουν κάτι περισσότερο από απλή θρέψη. Συγκεκριμένα, παρέχουν επιπρόσθετη φυσιολογική ωφέλεια στον καταναλωτή. Το λειτουργικό τρόφιμο είναι παρόμοιο στην εμφάνιση, ή ακόμη μπορεί να είναι και το ίδιο ένα συμβατικό τρόφιμο, το οποίο καταναλώνεται ως μέρος μιας συνηθισμένης διατροφής, και φέρεται να έχει φυσιολογικές επιδράσεις και/ ή να μειώνει τον κίνδυνο για χρόνιες παθήσεις πέρα από τις βασικές θρεπτικές λειτουργίες. Παραδείγματα λειτουργικών τροφίμων περιλαμβάνουν τις ντομάτες που είναι πλούσιες σε λυκοπένιο, τα επαλείμματα (spreads) που περιέχουν φυτικές στερόλες και τα αυγά που είναι εμπλουτισμένα σε ω-3 λιπαρά οξέα (Peter J. Jones 2002).

αυτή οφειλόταν στο γεγονός ότι μέχρι πρόσφατα, η προτιμώμενη μέθοδος εκτίμησης της ποιότητας της πρωτεΐνης ήταν η *Protein Efficiency Ratio (PER)*, η οποία βασίζεται στην αύξηση βάρους ενός αναπτυσσόμενου αρουραίου διαιρεμένης με την πρόσληψη συγκεκριμένης πρωτεΐνης τροφίμου, κατά τη διάρκεια της περιόδου εξέτασης. Η *PER* μέθοδος, επομένως, χρησιμοποιεί μια εκτίμηση βασισμένη σε αρουραίους και στην ουσία συσχετίζει το περιεχόμενο σε αμινοξέα μιας πρωτεΐνης τροφίμου με τις απαιτήσεις του αρουραίου σε αμινοξέα. Στους αρουραίους η μεθειονίνη, η οποία βρίσκεται σε χαμηλή ποσότητα στην πρωτεΐνη σόγιας, αποτελεί περιοριστικό αμινοξύ (limiting amino acid)[5.2]. Οι αρουραίοι απαιτούν περίπου 50% περισσότερη μεθειονίνη από ότι οι άνθρωποι (Krause's 2000). Το 1990, ο FDA και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) υιοθέτησαν μια καινούρια μέθοδο για την εκτίμηση της ποιότητας της πρωτεΐνης. Η νέα αυτή μέθοδος, η *Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score (PDCAAS)*, βασίζεται στις απαιτήσεις σε αμινοξέα παιδιών ηλικίας 2 έως 5 ετών και αντιπροσωπεύει το σκορ αμινοξέων, μετά τη διόρθωση για την πέψη. Οι πρωτεΐνες, οι οποίες μετά τη διόρθωση για την πέψη παρέχουν αμινοξέα αντίστοιχα ή περισσότερα των ανθρώπινων αναγκών λαμβάνουν *PDCAAS* 1. Η πρωτεΐνη σόγιας έχει *PDCAAS* 1 και καλύπτει τις ανάγκες των ενηλίκων όταν καταναλώνεται ως μοναδική πηγή πρωτεΐνης στην τάξη των 0,6 g/kg σωματικού βάρους (Krause's 2000). Επομένως, η μέθοδος αυτή κατατάσσει την πρωτεΐνη σόγιας ως ισοδύναμη της ζωικής πρωτεΐνης (FDA/ WHO 1991, Sarwar et al. 1990). Η πρωτεΐνη σόγιας αναγνωρίζεται σήμερα ως πηγή υψηλής βιολογικής αξίας, η οποία μπορεί να αποτελέσει και τη μοναδική πηγή πρωτεΐνης στη διατροφή του ανθρώπου (Young 1991).

Παρόλα αυτά, δεν είναι το θέμα της ποιότητας της πρωτεΐνης σόγιας, το οποίο πυροδότησε τέτοιο έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον γύρω από τη σόγια την τελευταία δεκαετία, αλλά ο ρόλος της στην πρόληψη και θεραπεία χρόνιων

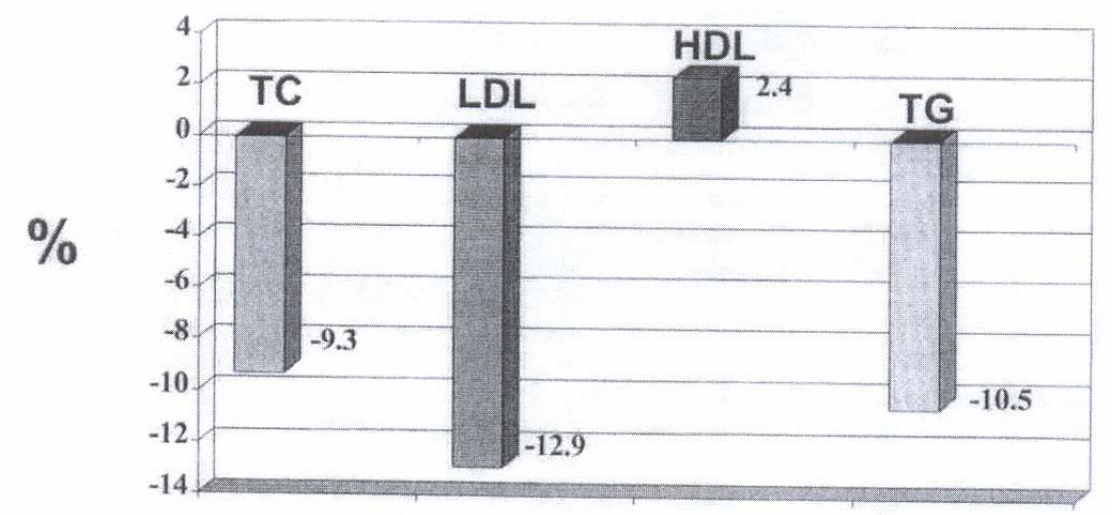
5.2 Περίπου 50 χρόνια πριν, προτάθηκε ότι η θρεπτική ποιότητα μιας πρωτεΐνης εξαρτιόταν από το προφίλ αμινοξέων της και ότι η βιολογική αξία μιας πρωτεΐνης μπορούσε να καθοριστεί από το απαραίτητο αμινοξύ, το οποίο ήταν παρόν στην μικρότερη συγκέντρωση σε σχέση με τις ανθρώπινες απαιτήσεις (Block and Mitchel 1946, cited in Krause's 2000).

παθήσεων (Messina 1995, 1998). Στις μέρες μας η σόγια θεωρείται «λειτουργικό τρόφιμο», τρόφιμο δηλαδή το οποίο παρέχει οφέλη για την υγεία πέρα από τη βασική λειτουργία της θρέψης. Το 1999 ο American Dietetic Association (Thompson 1999) αναγνώρισε τα λειτουργικά τρόφιμα ως ολόκληρα, επεξεργασμένα, εμπλουτισμένα ή ενισχυμένα τρόφιμα, τα οποία ωφελούν τη υγεία όταν καταναλώνονται ως μέρος μιας διατροφής με ποικιλία τροφίμων και σε αποτελεσματικά επίπεδα. Η σόγια και τα περιεχόμενα σε αυτήν φυσιολογικώς ενεργά συστατικά ερευνούνται για τη χημειοπροστασία τους απέναντι σε ποικίλες μορφές καρκίνου, καθώς και στην οστεοπόρωση, τις παθήσεις των νεφρών, τα συμπτώματα εμμηνόπαυσης και τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Ωστόσο, τα καρδιαγγειακά οφέλη της σόγιας συνιστούν τις πιο καλά αποδεδειγμένες επιδράσεις στην υγεία που σχετίζονται με την κατανάλωση του οσπρίου αυτού (Hasler 2002).

1.2 Η πρωτεΐνη σόγιας και οι υπολιπιδαιμικές της ιδιότητες

Οι υποχοληστερολαιμικές ιδιότητες της πρωτεΐνης σόγιας αναγνωρίστηκαν περισσότερο από 90 χρόνια πριν (Ignatowsky 1908, cited in Hasler 2002). Παρόλα αυτά η ιατρική κοινότητα δεν έδωσε ιδιαίτερη σημασία στα καρδιαγγειακά οφέλη της σόγιας μέχρι τη δεκαετία του 1990, όταν δημοσιεύτηκαν τα δεδομένα από δύο σημαντικές ανασκοπήσεις βιβλιογραφιών. Μία ανασκόπηση βιβλιογραφίας από τον Carroli το 1991, η οποία περιλάμβανε περισσότερο από δύο δωδεκάδες ερευνών τόσο σε φυσιολογικούς όσο και υπερχοληστερολαιμικούς εξεταζόμενους, αποκάλυψε πως η αντικατάσταση της ζωικής πρωτεΐνης με πρωτεΐνη σόγιας μπορούσε να ελαττώσει τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης κατά περίπου 12,5%. Μία δεύτερη και πιο σημαντική δημοσίευση είναι η μετα-ανάλυση από τους Anderson et al. (1995) τριάντα οχτώ κλινικών ερευνών (και περισσότερων από 700 εξεταζομένων), η οποία δημοσιεύτηκε στο *New English Journal of Medicine*. Τριάντα τέσσερις από τις τριάντα οχτώ έρευνες παρουσίασαν μια βελτίωση στις τιμές των λιπιδίων. Συνολικά, μία μέση πρόσληψη της τάξης των 47 g πρωτεΐνης σόγιας ανά ημέρα είχε ως αποτέλεσμα μια στατιστικά σημαντική μείωση κατά 9,3% στα επίπεδα πλάσματος της ολικής χοληστερόλης, 12,9% στα επίπεδα της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας LDL και 10,5% στα

επίπεδα των τριγλυκεριδίων (TG), με μία μικρή, αλλά σημαντική αύξηση στα επίπεδα της λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας (HDL) (2,4%) (σχήμα 5.1.1). Δεν παρατηρήθηκε συνολικά αλλαγή στα επίπεδα της VLDL. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι όσο υψηλότερη ήταν η συγκέντρωση της ολικής χοληστερόλης των ασθενών αρχικά, τόσο καλύτερη ήταν η ανταπόκρισή τους στην πρόσληψη σόγιας. Εκείνοι οι οποίοι είχαν φυσιολογικά επίπεδα χοληστερόλης, με αρχικές τιμές χοληστερόλης χαμηλότερες των 5,2 mmol/L (<200 mg/dl) είχαν μη σημαντικές μειώσεις της τάξης του 4,4%, ενώ οι εξεταζόμενοι με αρχικές τιμές υψηλότερες των 8,66 mmol/L (>335 mg/dl) παρουσίασαν σημαντικές μειώσεις της τάξης του 19,6%. Ωστόσο, δεν υπήρχαν αρκετά δεδομένα για να αναλυθούν οι παρατηρούμενες επιδράσεις βάση φύλου.



Σχήμα 5.1.1: Αλλαγές στα επίπεδα λιπιδίων που παρατηρούνται με την κατανάλωση σόγιας, όπως εμφανίζονται στην μετα-ανάλυση των Anderson et al. (1995).

Το γεγονός ότι οι καρδιοπροστατευτικές επιδράσεις της πρωτεΐνης σόγιας φαίνεται να είναι περισσότερο σημαντικές σε άτομα με αυξημένα αρχικά επίπεδα ολικής χοληστερόλης υποστηρίζεται και από άλλους ερευνητές (Vigna et al. 2000, Sirtori et al. 2001, Hasler 2002, Lichtenstein et al. 2002).

Προκειμένου να διερευνηθεί εάν η πρωτεΐνη σόγιας μπορεί να ελαττώσει τα επίπεδα χοληστερόλης σε άτομα με φυσιολογικά επίπεδα χοληστερόλης, τα

οποία ακολουθούσαν Step I δίαιτα[5.3] (National Cholesterol Education Panel Step I diet), οι Wong et al. (1998) πραγματοποίησαν μια τυχαιοποιημένη έρευνα αυτοεξέτασης. Δεκατρείς άντρες με φυσιολογικά επίπεδα χοληστερόλης και δεκατρείς υπερχοληστερολαιμικοί άντρες, ηλικίας μεταξύ 20 και 50 ετών, ακολούθησαν είτε μια National Cholesterol Education Panel Step I δίαιτα βασισμένη σε πρωτεΐνη σόγιας, είτε μια National Cholesterol Education Panel Step I βασισμένη σε ζωική πρωτεΐνη, για 5 εβδομάδες, ακολουθούμενες από μία περίοδο 10-15 εβδομάδων όπου δεν έλαβαν καμία από τις δίαιτες, και στη συνέχεια τη δίαιτα που δεν έλαβαν για άλλες 5 εβδομάδες. Η υποχοληστερολαιμική επίδραση της πρωτεΐνης σόγιας βρέθηκε να είναι ανεξάρτητη από την ηλικία και το σωματικό βάρος. Ανεξάρτητα από την αρχική κατάσταση λιπιδίων, η δίαιτα βασισμένη στην πρωτεΐνη σόγιας σχετίστηκε με μία στατιστικά σημαντική μείωση στις συγκεντρώσεις πλάσματος της LDL (P=0,03) και στην αναλογία της LDL πλάσματος προς την HDL (P=0,005).

Αν και τα ευρήματα των Wong et al. (1998) είναι σύμφωνα και με άλλων λίγων ερευνητών (Merz-Demlow 1999, Wangen 2000), στα οποία παρατηρείται δυνατότητα της πρωτεΐνης σόγιας στο να ελαττώνει τα επίπεδα χοληστερόλης ακόμη και σε άτομα με φυσιολογικά αρχικά επίπεδα χοληστερόλης, ωστόσο κάτι τέτοιο βάση των υπαρχόντων ερευνών φαίνεται να αποτελεί την εξαίρεση. Οι όποιες παρατηρούμενες αδυναμίες στη δυνατότητα της πρωτεΐνης σόγιας

5.3 Το NCEP περιλαμβάνει συγκεκριμένες διαιτητικές συστάσεις για τη μείωση του ολικού λίπους, του κορεσμένου λίπους, της χοληστερόλης και της προσαρμογής της ενεργειακής πρόσληψης, προκειμένου να επιτευχθεί το κατάλληλο βάρος σε ανθρώπους με υψηλά επίπεδα χοληστερόλης πλάσματος. Στην Step I δίαιτα, λιγότερο από το 30% των συνολικών θερμίδων προέρχονται από το λίπος, 8-10% των θερμίδων από το κορεσμένο λίπος, ενώ η πρόσληψη χοληστερόλης περιορίζεται σε λιγότερο από 300 mg/d. Η Step II δίαιτα περιέχει το ίδιο ποσοστό θερμίδων από λίπος, αλλά το κορεσμένο λίπος μειώνεται σε λιγότερο από 7% των συνολικών θερμίδων και η χοληστερόλη σε λιγότερο από 200 mg/d. Μία ποικιλία τροφίμων από όλες τις ομάδες τροφίμων, μέσα στους περιορισμούς της δίαιτας, εξασφαλίζει ότι οι δίαιτες αυτές είναι διατροφικά επαρκείς. Όταν ακολουθείται η Step I δίαιτα, τα επίπεδα χοληστερόλης πλάσματος μειώνονται κατά 3-14%. Η Step II δίαιτα μπορεί να ελαττώσει τα επίπεδα χοληστερόλης επιπλέον κατά 3-7% (Krause's 2000).

να ελαττώνει τη χοληστερόλη σε άτομα είτε με φυσιολογικά είτε και με αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης μπορεί να οφείλονται στην ετερογένεια των υπό μελέτη πληθυσμών αναφορικά με τον μεταβολισμό των ισοφλαβονών, και συγκεκριμένα με την παραγωγή ή όχι εκουόλης.

Προς υποστήριξη αυτής της υπόθεσης, οι Howe et al. (2002) επανεξέτασαν τα δεδομένα από μία ολοκληρωμένη, τυχαιοποιημένη, *placebo*-ελεγχόμενη μελέτη αυτοσύγκρισης, που είχε πραγματοποιηθεί σε 23 μέτρια υπερχοληστερολαιμικές προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, και η οποία δεν είχε βρει σημαντικές αλλαγές στα επίπεδα πλάσματος των λιπιδίων, όταν τρόφιμα σόγιας συγκρίθηκαν με γαλακτοκομικά προϊόντα (Gardner et al. 2001). Σε αυτήν την έρευνα, 8 από τις 23 γυναίκες παρήγαγαν εκουόλη (35%), και μετά την επανεκτίμηση των αποτελεσμάτων βάσει της νέας κατάταξης, βρέθηκε ότι η κατανάλωση πέντε μερίδων σόγιας ανά ημέρα για πέντε εβδομάδες, σε σύγκριση με τα γαλακτοκομικά προϊόντα, σημαντικά ελάττωσε τη χοληστερόλη πλάσματος, την LDL, το κλάσμα LDL/HDL, τα τριγλυκερίδια και την λιποπρωτεΐνη (α) κατά 8,5, 10,0, 13,5, 21 και 11%, αντίστοιχα, μόνο σε αυτές που «παρήγαγαν εκουόλη». Ομοίως, σε μία μελέτη διάρκειας 2 ετών σχετικά με τα επίπεδα των λιπιδίων σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με φυσιολογικά και αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης, παρατηρήθηκε ότι η σόγια εμφάνισε τη μεγαλύτερη υποχοληστερολαιμική επίδραση σε αυτές που «παρήγαγαν εκουόλη». Οι συγκεντρώσεις πλάσματος χοληστερόλης σημαντικά μειώθηκαν κατά 7,2% σε αυτές που «παρήγαγαν εκουόλη», σε σύγκριση με μία μείωση της τάξης του 3,0% σε εκείνες που δεν «παρήγαγαν εκουόλη», ανεξάρτητα από την αρχική κατάσταση λιπιδίων (Lydeking-Olsen 2002). Επομένως, οι επιδράσεις της πρωτεΐνης σόγιας στα επίπεδα λιπιδίων θα πρέπει να εξετάζονται εκ νέου βάσει της παραγωγής ή όχι εκουόλης, προκειμένου να προκύψουν πιο σαφή και οριστικά συμπεράσματα.

Συμπερασματικά, ο FDA (1999) βασιζόμενος σε μεγάλο όγκο δεδομένων, τα οποία περιλαμβάνονταν στην μετα-ανάλυση των Anderson et al., καθώς και στην εις βάθος ανάλυση 41 δικών τους κλινικών ερευνών, ενέκρινε έναν ισχυρισμό υγείας[5.4] (health claim) για τη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης πρωτεΐνης σόγιας και την μείωση του κινδύνου για στεφανιαία νόσο.

1.3 Ο εγκεκριμένος από τον FDA ισχυρισμός υγείας για τη σόγια

Σε μία λεπτομερή και εις βάθος εκτίμηση των διαθέσιμων ερευνών σχετικά με τις υποχοληστερολαιμικές επιδράσεις της σόγιας σε ανθρώπους, ο FDA έδωσε ιδιαίτερη έμφαση σε 13 έρευνες, οι οποίες περιλάμβαναν εξεταζόμενους αντιπροσωπευτικούς του Αμερικανικού πληθυσμού και οι οποίες ήταν καλά ελεγχόμενες (Hasler 2002). Επιπλέον, ανέφεραν τις προσλήψεις κορεσμένου λίπους και χοληστερόλης, ενώ απέφυγαν τα προβλήματα που σχετίζονταν με μικρό δείγμα πληθυσμού, έλλειψη χρήσης εικονικού σκευάσματος, καθώς και άλλα προβλήματα σχεδιασμού. Τα κριτήρια, τα οποία χρησιμοποίησε ο οργανισμός για την επιλογή των ερευνών αυτών ήταν σύμφωνα με εκείνα που είχαν χρησιμοποιηθεί παλαιότερα για την εκτίμηση της σχέσης μεταξύ άλλων ουσιών και της στεφανιαίας νόσου. Τα κριτήρια αυτά είναι τα εξής:

- Παρουσιάζουν δεδομένα και επαρκή περιγραφή του σχεδιασμού της έρευνας και των μεθόδων που χρησιμοποιούνται.
- Είναι διαθέσιμες στην αγγλική γλώσσα.
- Περιλαμβάνουν εκτιμήσεις, ή επαρκείς πληροφορίες για την εκτίμηση της πρόσληψης σόγιας.
- Περιλαμβάνουν άμεσες μετρήσεις της ολικής χοληστερόλης αίματος και άλλων λιπιδίων αίματος που σχετίζονται με τη στεφανιαία νόσο.

5.4 Οι ισχυρισμοί υγείας είναι δηλώσεις σε ετικέτες τροφίμων ή σε προϊόντα, οι οποίες σχετίζουν μία ουσία σε ένα τρόφιμο με μία πάθηση ή με μία κατάσταση που σχετίζεται με την υγεία. Τέτοιου είδους δηλώσεις καταστάθηκαν δυνατές μέσω της δράσης του Nutrition Labeling and Education Act (NLEA) το 1990, σκοπός του οποίου είναι η ενίσχυση της δημόσιας υγείας με το να διευκολύνει τους καταναλωτές να κάνουν σωστές διαιτητικές επιλογές από τρόφιμα, τα οποία είναι διαθέσιμα στο εμπόριο. Αυτή τη στιγμή υπάρχουν 13 ισχυρισμοί υγείας σχετικοί με προϊόντα τροφίμων, οι οποίοι είναι εγκεκριμένοι από τον NLEA, με τον πιο πρόσφατο να είναι για την κατανάλωση εστέρων στερόλης και στανόλης και τον μειωμένο κίνδυνο για στεφανιαία νόσο. Ο ισχυρισμός υγείας για την πρωτεΐνη σόγιας και τον μειωμένο κίνδυνο για στεφανιαία νόσο ήταν ο δωδέκατος που εγκρίθηκε από τον NLEA (Hasler 2002).

- Διεξάγονται σε ανθρώπους που είναι αντιπροσωπευτικοί του γενικού αμερικανικού πληθυσμού (για παράδειγμα ενήλικες με επίπεδα ολικής χοληστερόλης λιγότερα από 300 mg/dL).

Οι 13 έρευνες, οι οποίες συνοψίζονται στον πίνακα 5.1.1, δείχνουν ότι η κατανάλωση πρωτεΐνης σόγιας ελαττώνει τα επίπεδα αίματος της ολικής χοληστερόλης (TC) και/ ή της λιποπρωτεΐνης (LDL-C) χαμηλής πυκνότητας. Βασιζόμενος σε αυτά τα δεδομένα ο FDA κατέληξε στο συμπέρασμα ότι υπήρχαν επαρκή επιστημονικά δεδομένα για μία σύμφωνη, κλινικά σημαντική επίδραση της πρωτεΐνης σόγιας στα επίπεδα αίματος της TC και της LDL-C, η οποία ήταν επιπρόσθετη των επιδράσεων μίας διατροφής χαμηλής σε κορεσμένο λίπος και χοληστερόλη. Πρόσφατα, η Nutrition Committee του American Heart Association εξέδωσε μία απόφαση για τους επιστήμονες υγείας, σύμφωνα με την οποία συστήνει να περιλαμβάνονται τρόφιμα με πρωτεΐνη σόγιας σε μία δίαιτα χαμηλή σε χοληστερόλη και κορεσμένο λίπος για την προώθηση της υγείας της καρδιάς (Erdman 2000).

Ο FDA καθόρισε από τη διαθέσιμη βιβλιογραφία ότι **μία ημερήσια πρόσληψη της τάξης των 25 g πρωτεΐνης σόγιας, απαιτείται για να επιφέρει μία κλινικά σημαντική ωφέλιμη επίδραση στα επίπεδα TC και LDL-C**. Επιπρόσθετα, τα 25 g/ημέρα είναι μία λογική ποσότητα πρόσληψης πρωτεΐνης σόγιας και αντιπροσωπεύει το μισό της συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης (RDI) πρωτεΐνης ανά ημέρα (50 g). Ο ακόλουθος ισχυρισμός σόγιας μπορεί πλέον να εμφανίζεται σε συγκεκριμένα τρόφιμα σόγιας, προκειμένου να επιμορφώσει τους καταναλωτές σχετικά με τα καρδιαγγειακά οφέλη της σόγιας:

Δίαιτες χαμηλές σε κορεσμένο λίπος και χοληστερόλη, οι οποίες περιλαμβάνουν 25 g πρωτεΐνης σόγιας ανά ημέρα, μπορεί να ελαττώνουν τον κίνδυνο για παθήσεις της καρδιάς. Μία μερίδα του (όνομα τροφίμου) παρέχει …….. g πρωτεΐνης σόγιας.

Μετά την ισχύ του ισχυρισμού υγείας, ένας αριθμός επιπρόσθετων κλινικών ερευνών έχουν δημοσιευτεί, οι οποίες επιπλέον επιβεβαιώνουν τα

καρδιαγγειακά οφέλη της κατανάλωσης σόγιας (Vitolins et al. 2001). Πέντε πρόσφατες κλινικές έρευνες (Duane 1999, Mitchell 1999, Sitori et al. 1999, Ashton & Ball 2000, Takatsuka et al. 2000) εκτίμησαν την επίδραση των τροφίμων σόγιας στα επίπεδα πλάσματος χοληστερόλης. Σε μία έρευνα των Ashton & Ball (2000), στην οποία 42 μεσήλικες άντρες κατανάλωσαν μία δίαιτα όπου το άπαχο κρέας αντικαταστάθηκε με τοφού (290 g/ημέρα), τα επίπεδα TC και τριγλυκεριδίων ελαττώθηκαν κατά 8,9 mg/dL και 13,3 mg/dL, αντίστοιχα, ενώ τα επίπεδα της LDL-C ελαττώθηκαν κατά 2%. Οι Sitori et al. (1999) παρατήρησαν μία ακόμη μεγαλύτερη μείωση στα λιπίδια ορού σε μία έρευνα αυτοσύγκρισης, η οποία περιλάμβανε 21 έντονα υπερχοληστερολαιμικούς εξεταζόμενους. Μετά την πρόσληψη ενός ποτού με γάλα σόγιας για 4 εβδομάδες, τα επίπεδα TC και LDL-C ελαττώθηκαν κατά 6,2% και 7,8%, αντίστοιχα.

Μάλιστα, σε μία μεγάλη επιδημιολογική έρευνα, σε 4.838 Ιάπωνες άντρες και γυναίκες μετρήθηκαν τα επίπεδα χοληστερόλης πλάσματος και εκτιμήθηκε η διαιτητική πρόσληψη σόγιας και προϊόντων σόγιας, προκειμένου να εκτιμηθεί η σχέση μεταξύ της πρόσληψης προϊόντων σόγιας και των επιπέδων ολικής χοληστερόλης πλάσματος (Nagata et al. 1998). Πράγματι, τόσο για τους άντρες, όσο και για τις γυναίκες παρατηρήθηκε μια δοσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ της πρόσληψης προϊόντων σόγιας και της μείωσης της χοληστερόλης πλάσματος.

Δύο ακόμη έρευνες εφάρμοσαν συμπλήρωση με γάλα σόγιας και προέκυψαν ποικίλα αποτελέσματα. Στην πρώτη (Mitchell et al. 1999), η οποία εφαρμόστηκε σε μόλις 10 εξεταζόμενους, δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση στα επίπεδα χοληστερόλης πλάσματος μετά από 4 εβδομάδες. Παρόλα αυτά, στην έρευνα αυτή χρησιμοποιήθηκαν εξεταζόμενοι με φυσιολογικά επίπεδα χοληστερόλης. Στην έρευνα των Takatsuka et al. (2000), η οποία περιλάμβανε 52 προ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με φυσιολογικά επίπεδα χοληστερόλης και οι οποίες μελετήθηκαν για δύο διαδοχικούς καταμήνιους κύκλους, το γάλα σόγιας ελάττωσε τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης κατά 5,3%. Οι παρατηρούμενες αυτές ασυμφωνίες μπορούν ενδεχομένως να αποδοθούν στον μεταβολισμό των ισοφλαβονών.

Πίνακας 5.1.1: Περίληψη κλινικών ερευνών σε εξεταζόμενους με επίπεδα ολικής χοληστερόλης (TC) <300 mg/dL.

Έρευνα	Αριθμός ατόμων και χαρακτηριστικά	Πηγή πρωτεΐνης και ποσότητα και διάρκεια έρευνας	Αποτελέσματα
Bakhit et al, 1994	21 άντρες, 23-70 ετών TC >220 mg/dL	25 g καζεΐνης ή ISP 4 εβδομάδες αυτοσύγκρισης	-16 και -19 mg/dL TC για 11 άτομα με TC >220 mg/dL
Baum et al, 1998	66 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, 49-83 ετών TC 240-300 mg/dL	40 g καζεΐνης έναντι 40 g ISP + 56 ή 90mg ισοφλαβονών, 24 εβδομάδες	-11 mg/dL σε ISP 90, -10 mg/dL σε ISP 56, αυξήσεις στην HDL κατά 5 mg/dL και 4 mg/dL, αντίστοιχα
Carrol et al, 1978	10 γυναίκες, 19-25 ετών, φυσιολογική TC	44 g ISP, 5 εβδομάδες αυτοσύγκρισης	-10 mg/dL TC, (σόγια έναντι ομ. ελέγχου)
Crouse et al, 1999	156 ενήλικες, 20-70 ετών, LDL >140 mg/dL	25 g ISP + 5, 27, 37, 62 mg ισοφλαβονών, 9 εβδομάδες	-6% LDL στην ομάδα με τα 62 mg ισοφλαβονών
Giovannetti et al, 1986	12 ενήλικες, 20-28 ετών, φυσιολογική TC	66-80 g ISP, 4 εβδομάδες αυτοσύγκρισης	-6 mg/dL LDL, (σόγια έναντι ομ. ελέγχου)
Goldberg et al, 1982	12 ενήλικες, 23-64 ετών, πρωτογενής υπερχολη-στερολαιμία	99 g ISP, 6 εβδομάδες	-10 mg/dL LDL και -8 mg/dL TC (σόγια έναντι ομ. ελέγχου)
Holmes et al, 1980	12 ενήλικες, 27-60 ετών, τύπου II ή τύπου IV υπερχοληστερολαιμία	27 g αλεύρου σόγιας, 4 εβδομάδες αυτοσύγκρισης	-1 mg/dL LDL και -6 mg/dL TC (σόγια έναντι ομ. ελέγχου)
Kurowska et al, 1997	34 ενήλικες, μέσος όρος ηλικίας 55 έτη, μέτρια αυξημένη TC	31g γάλακτος σόγιας, 4 εβδομάδες	-11% LDL για 24 άτομα με την υψηλότερη LDL (σόγια έναντι αρχικών επιπέδων)
Mercer et al, 1987	33 ενήλικες, 25-69 ετών, φυσιολογική με μέτρια αυξημένη TC	17 g ISP, 6 εβδομάδες αυτοσύγκρισης	-2 mg/dL LDL και TC (σόγια έναντι ομάδας ελέγχου)
Potter et al, 1993	25 άντρες, 48-78 ετών, TC >200mg/dL	50 g αλεύρου σόγιας ή ISP, 4 εβδομάδες αυτοσύγκρισης	-5% έως -8% LDL και TC (σόγια έναντι αρχικών επιπέδων)
Shorey et al, 1981	24 άντρες, μέσος όρος ηλικίας 26 έτη, TC >218 mg/dL	57 g ISP, 6 εβδομάδες	-16 mg/dL TC (σόγια έναντι αρχικών επιπέδων)
Van Raaij et al, 1981	69 ενήλικες, 18-28 ετών, TC 150 mg/dL	17 ή 54 g ISP, 4 εβδομάδες	-6,6 mg/dL LDL για την ομάδα με τα 17 g (σόγια έναντι αρχικών επιπέδων)
Van Raaij et al, 1982	57 ενήλικες, 29-60 ετών, TC 215 mg/dL	55 g ISP ή SPC, 4 εβδομάδες	-7,7 mg/dL TC και -3,7 mg/dL TC (ISP έναντι ελέγχου), +7,6 mg/dL LDL (SPC έναντι ελέγχου)

TC: ολική χοληστερόλη, LDL: χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη, ISP: απομονωμένη πρωτεΐνη σόγιας, SPC: συμπύκνωμα πρωτεΐνης σόγιας.

1.4 Οι ισοφλαβόνες και η καρδιαγγειακή υγεία

Παρόλο που εγκεκριμένος ισχυρισμός υγείας του FDA για τη σόγια βασίζεται στο περιεχόμενό της σε πρωτεΐνη, ένας αριθμός άλλων φυσιολογικώς ενεργών συστατικών μπορεί να συμβάλλει στις υποχοληστερολαιμικές επιδράσεις του λειτουργικού αυτού τροφίμου, συμπεριλαμβανομένων του προφίλ αμινοξέων (η σόγια είναι ιδιαίτερα πλούσια σε αργινίνη και έχει μία υψηλή αναλογία αργινίνης/ λυσίνη), των σαπωνινών, του φυτικού οξέος, των ινών, των γλοβουλινών (αποθηκευτικές πρωτεΐνες που ανευρίσκονται στη σόγια) και των ισοφλαβονών (Potter 2000). Από τις ενώσεις αυτές, σημαντικό μέρος της έρευνας (Tikkanen & Adlercreutz 2000) έχει επικεντρωθεί στις ισοφλαβόνες, λόγω εν μέρει του γεγονότος ότι τα τρόφιμα σόγιας αποτελούν την πιο σημαντική πηγή ισοφλαβονών στη διατροφή του ανθρώπου, παρέχοντας 1.000 με 3.000 μg/g. Επιπλέον, όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι ισοφλαβόνες αντιπροσωπεύουν μία σημαντική τάξη των φυτοοιστρογόνων, με μία χημική δομή σημαντικά όμοια με εκείνη της οιστραδιόλης, ενός κύριου ενδογενούς οιστρογόνου.

Οι ισοφλαβόνες εμφανίζουν οιστρογονικές δράσεις, αν και είναι ασθενή οιστρογόνα, έχοντας μόλις το 1/100 με 1/1.000 της δραστικότητας των φυσικά προερχόμενων οιστρογόνων, όσον αφορά την πρόσδεσή τους στον κύριο οιστρογονικό υποδοχέα, τον ER-β. Οι ισοφλαβόνες, όπως έχουμε ήδη δει, προσδένονται με μεγαλύτερη συγγένεια στον πιο πρόσφατα ανακαλυμμένο ER-β, ο οποίος κατανέμεται στα οστά, των εγκέφαλο και τα αγγειακό επιθήλιο και ο οποίος μπορεί να εξηγεί την ευδιάκριτη δράση των ισοφλαβονών στους ιστούς αυτούς. Το γεγονός ότι οι ενώσεις αυτές έχουν και αντι-οιστρογονικές δράσεις, καθώς και πλειάδα μη ορμονικών δράσεων, περιπλέκει επιπρόσθετα τις φυσιολογικές επιδράσεις τους.

Οι ισοφλαβόνες και οι υπολιπιδαιμικές τους δράσεις

Οι ισοφλαβόνες, οι οποίες περιέχονται στα προϊόντα σόγιας έχουν συνδεθεί με μία βελτίωση στα επίπεδα λιπιδίων. Παρόλα αυτά, το εάν οι ισοφλαβόνες είναι το κύριο φυσιολογικώς ενεργό συστατικό, το οποίο είναι υπεύθυνο για τις υπολιπιδαιμικές ιδιότητες της σόγιας, είναι ένα θέμα το οποίο παραμένει ακόμη αδιευκρίνιστο. Παρόλο που οι Anderson et al. (1995) στην μετα-ανάλυσή τους έδειξαν ότι οι ισοφλαβόνες ήταν πιθανό να είναι υπεύθυνες για περισσότερο από 60% των υποχοληστερολαιμικών ιδιοτήτων της σόγιας, στην τελική απόφαση για τον ισχυρισμό υγείας του FDA για τη σόγια, δηλώθηκε ότι δεν υπήρχαν επαρκείς πειστικές αποδείξεις ότι οι ισοφλαβόνες της πρωτεΐνης σόγιας ήταν ένας σχετικός παράγοντας των υποχοληστερολαιμικών ιδιοτήτων της σόγιας. Εξάλλου, μέχρι σήμερα, έχει πραγματοποιηθεί ένας μικρός αριθμός ερευνών που έχουν εξετάσει ξεχωριστά τις επιδράσεις της πρωτεΐνης σόγιας και των ισοφλαβονών.

Αρκετές κλινικές έρευνες (Hodgson et al. 1998, Nestel et al. 1999, Howes et al. 2000, Simons 2000, Upmalis et al. 2000, Dewell et al. 2002) έδειξαν ότι οι ισοφλαβόνες με τη μορφή συμπληρώματος είναι αναποτελεσματικές στο να μειώνουν τη χοληστερόλη, ακόμη και σε συγκεντρώσεις τόσο υψηλές όσο των 150 mg/ημέρα (Dewell et al. 2002), σε εξεταζόμενους τόσο με αυξημένα όσο και με φυσιολογικά επίπεδα ολικής χοληστερόλης. Σε μία πρόσφατη έρευνα (Merz-Demlow et al. 2000), η οποία περιλάμβανε 13 υγιείς γυναίκες με φυσιολογικά επίπεδα χοληστερόλης που έλαβαν τρία διαφορετικά επίπεδα ισοφλαβονών (10, 64,7 και 128,7 mg), η υψηλότερη πρόσληψη δεν είχε καμία επίδραση στα επίπεδα ολικής χοληστερόλης. Παρόλο που σε έρευνα των Grouse et al. (1999) βρέθηκε ότι η απομονωμένη πρωτεΐνη σόγιας που περιείχε αυξημένα επίπεδα ισοφλαβονών (4, 27, 37 ή 62 mg) εμφάνισε μία δοσοεξαρτώμενη επίδραση στη μείωση της χοληστερόλης σε άτομα με υψηλή χοληστερόλη, τα αποτελέσματα αυτά ήταν μέτρια, με το υψηλότερο επίπεδο ισοφλαβονών (62 mg) να ελαττώνει την TC και την LDL-C κατά μόλις 4% και 6%, αντίστοιχα, και η επίδραση αυτή περιορίστηκε σε μία υποκατηγορία των εξεταζόμενων που είχαν μέση συγκέντρωση LDL-C υψηλότερη από τη φυσιολογική (166 mg/dL).

Σε μία πρόσφατη έρευνα από τους Jenkins et al. (2002), 41 υπερλιπιδαιμικοί άντρες και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες έλαβαν μία από τις ακόλουθες τρεις δίαιτες για έναν μήνα: (1) μία δίαιτα ελέγχου με γαλακτοκομικά προϊόντα χαμηλά σε λίπος, (2) μία δίαιτα υψηλή σε ισοφλαβόνες (high-iso, 50 g πρωτεΐνης σόγιας και 73 mg ισοφλαβονών ημερησίως και (3) μία δίαιτα χαμηλή σε ισοφλαβόνες (low-iso, 52 g πρωτεΐνης σόγιας και 10 mg ισοφλαβονών). Και οι τρεις δίαιτες ήταν χαμηλές σε κορεσμένο λίπος (<5% της συνολικής ενέργειας) και χοληστερόλη (<50 mg/ημέρα). Σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου και οι δύο δίαιτες με τη σόγια ελάττωσαν σημαντικά την TC, τον εκτιμώμενο κίνδυνο για στεφανιαία νόσο, την LDL, ενώ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές λόγω φύλου. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ της low-iso και της high-iso ομάδας.

Όμοια ήταν τα ευρήματα και των Lichtenstein et al. 2002. Επίσης, σε μία μετα-ανάλυση από τους Weggemans & Trautwein (2003) σχετικών ερευνών (959 συνολικά εξεταζόμενοι: 336 άντρες και 623 γυναίκες, μέση ηλικία από 41-67 ετών και αρχικές συγκεντρώσεις χοληστερόλης από 5,42-6,60 mmol/l) συνολικά παρατηρήθηκε ότι το περιεχόμενο της πρωτεΐνης σόγιας σε ισοφλαβόνες δεν φαίνεται να σχετίζεται με αλλαγές στην LDL ή την HDL. Ομοίως, μετά-ανάλυση από τους John Yeung & Tak-fu Yu (2003) έδειξε πως οι ταμπλέτες ισοφλαβονών, έως 150 mg/ημέρα, δεν έχουν σημαντικές επιδράσεις στη μείωση της TC, LDL και TG. Επίσης, ασήμαντη ήταν η επίδραση στην αύξηση της HDL. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές επιδράσεις μεταξύ εξεταζόμενων με φυσιολογικά ή αυξημένα επίπεδα λιπιδίων, καθώς και σε προ- ή μετα- εμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Ωστόσο, απαιτούνται επιπρόσθετες έρευνες για να διερευνηθεί αν υπάρχει συνέργια μεταξύ της πρωτεΐνης σόγιας και των ισοφλαβονών, καθώς και αν υπάρχει ένα συγκεκριμένο επίπεδο ισοφλαβονών απαραίτητο για τις υπολιπιδαιμικές δράσεις της σόγιας.

Συμπερασματικά, οι αποδείξεις μέχρι σήμερα φανερώνουν πως η κατανάλωση ισοφλαβονών χωρίς πρωτεΐνη σόγιας δεν ελαττώνει τη χοληστερόλη (Erdman 2000). Ωστόσο, οι ισοφλαβόνες ενδέχεται να είναι σημαντικές για άλλα καρδιαγγειακά οφέλη, συμπεριλαμβανομένων της μείωσης της οξείδωσης της LDL-C και της βελτίωσης της αρτηριακής ενδοτικότητας (Lichtenstein 1998).

Επίδραση στην οξείδωση της LDL

Η οξείδωση της LDL-C θεωρείται ως ένα γεγονός κλειδί στην παθογένεια της αθηροσκλήρωσης. Η οξειδωμένη LDL προσλαμβάνεται πιο εύκολα από τα μακροφάγα (μεγάλα μονοκύτταρα φαγοκυτταρικά κύτταρα του αρτηριακού τοιχώματος), τα οποία φέρουν υποδοχείς για τα μόρια της οξειδωμένης LDL. Καθώς τα μακροφάγα εγκολπώνουν την οξειδωμένη LDL σχηματίζουν αφρώδη κύτταρα, τα οποία συμβάλλουν στην ανάπτυξη της λιπώδους γράμμωσης στο εσωτερικό των αρτηριών, οδηγώντας συνεπώς στον σχηματισμό αθηρωματικής πλάκας. Τα άτομα με καρδιαγγειακά νοσήματα παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα οξειδωμένης LDL ή έχουν αυξημένη ευαισθησία για την *in vitro* οξείδωση της LDL. Επιπλέον, τα οιστρογόνα έχει αποδειχτεί ότι ελαττώνουν την ευαισθησία της LDL για οξείδωση (Sack et al. 1994). Για τον λόγο αυτό εξάλλου, οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση καρδιαγγειακών παθήσεων, ενώ με τη λήψη ορμονικής θεραπείας ο κίνδυνος αυτός μειώνεται σημαντικά. Ομοίως, οι ισοφλαβόνες ως φυσικά «οιστρογόνα» έχουν δειχτεί να αναστέλλουν την οξειδωτική μετατροπή της LDL από τα μακροφάγα (Kapiotis et al. 1997). Αρκετές πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει μία ωφέλιμη επίδραση της κατανάλωσης προϊόντων σόγιας στη μείωση της οξείδωσης της LDL σε ανθρώπους.

Η αντιοξειδωτική αυτή δράση έχει σημαντικές επιπτώσεις για την καρδιαγγειακή υγεία. Μία έρευνα (αυτοσύγκρισης) των Ashton et al. (2000) περιλάμβανε 43 υγιείς ενήλικες άντρες, στην οποία 150 g άπαχου κρέατος αντικαταστάθηκαν με 290 g τοφού ανά ημέρα (περιέχει 120 mg ολικών

ισοφλαβονών) για ένα μήνα. Παρατηρήθηκε ένας κατά 16% μεγαλύτερος λανθάνων χρόνος αντίδρασης (χρόνος που μεσολαβεί μεταξύ της εφαρμογής ενός ερεθίσματος και της αντίδρασης, lag phase) (p = 0,01) στην οξείδωση της LDL *in vitro*, όταν οι εξεταζόμενοι κατανάλωσαν τη δίαιτα με τη σόγια σε σύγκριση με τη δίαιτα με το κρέας. Ομοίως, οι Tikanen et al. (1998) παρατήρησαν ένα κατά 16% μεγαλύτερο λανθάνων χρόνο αντίδρασης σε μία μικρή έρευνα (έξι άτομα) μετά την ημερήσια κατανάλωση τριών πλακών σόγιας (bars) (παρέχουν 57 mg ισοφλαβονών) για 2 εβδομάδες. Ένα σχεδόν παρόμοιο επίπεδο ισοφλαβονών (56 mg) βρέθηκε να αυξάνει σημαντικά (p = 0,017) τον λανθάνων χρόνο αντίδρασης της οξείδωσης της LDL κατά 8% σε μία έρευνα των Wiseman et al. (2000), στην οποία 24 εξεταζόμενοι κατανάλωσαν 15 g επεξεργασμένης πρωτεΐνης σόγιας ανά ημέρα (περιεχόμενη σε ένα φυτοφαγικό χάμπουργκερ) για 17 ημέρες σε μία τυχαιοποιημένη έρευνα αυτοσύγκρισης με μία ενδιάμεση περίοδο 25 ημερών (washout period). Όταν καταναλώθηκαν τα χάμπουργκερ με τα χαμηλά επίπεδα ισοφλαβονών (low-iso) (1,9 mg) δεν παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση στον λανθάνων χρόνο αντίδρασης της LDL, δηλώνοντας με αυτόν τον τρόπο ότι οι ισοφλαβόνες ήταν υπεύθυνες για την αντιοξειδωτική δράση. Οι συγκεντρώσεις πλάσματος του F2-ισοπροστανίου (F_2-isoprostane, 8-epi-prostaglandin F_{2a}), ενός βιοχημικού δείκτη της *in vivo* υπεροξείδωσης των λιπιδίων, επίσης μειώθηκαν σημαντικά στους εξεταζόμενους που κατανάλωσαν τα χάμπουργκερ με τα υψηλά επίπεδα ισοφλαβονών σε σχέση με τα low-iso. Δύο πρόσφατες έρευνες από τους Jenkins et al. (2000) επίσης έδειξαν ότι η κατανάλωση τροφίμων σόγιας μπορεί να ελαττώσει την οξείδωση (%) της LDL. Στην πρώτη έρευνα, 20 υπερλιπιδαιμικοί άντρες και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες κατανάλωσαν 12 ± 2 g πρωτεΐνης σόγιας ανά ημέρα από ένα μενού τροφίμων βασισμένων στη σόγια (έκαναν μόνοι τους τις επιλογές τροφίμων), ως μέρος της NCEP step II δίαιτας. Μετά από 8 εβδομάδες, η οξείδωση της LDL ελαττώθηκε σημαντικά κατά 8,5 ± 3,3% (p=0,020). Επιπλέον, η δίαιτα αυτή σημαντικά αύξησε τα επίπεδα της HDL-C κατά 6,4 ± 2,4% (p=0,013). Παρόμοια ευρήματα παρατηρήθηκαν σε μία δεύτερη έρευνα των ίδιων ερευνητών, στην οποία 25 υπερλιπιδαιμικοί άντρες και γυναίκες κατανάλωσαν δημητριακά πρωινού βασισμένα στη σόγια, τα

οποία περιείχαν 35 g/ημέρα πρωτεΐνης σόγιας και 168 mg/ημέρα ισοφλαβονών, για 3 εβδομάδες. Η οξειδωμένη LDL ελαττώθηκε σημαντικά κατά 9,2 ± 4,3% (p=0,042).

Συλλογικά, οι έρευνες αυτές υποδεικνύουν ότι **η κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν πρωτεΐνη σόγιας σε συνδυασμό με ισοφλαβόνες μπορούν να αυξήσουν την αντίσταση της LDL στην οξείδωση**. Η υπόθεση αυτή ενδυναμώνεται επιπρόσθετα από το γεγονός ότι σε τρεις έρευνες όπου οι ισοφλαβόνες με μορφή συμπληρώματος (πχ σε κάψουλες) δόθηκαν χωρίς πρωτεΐνη σόγιας, δεν παρατηρήθηκαν επιδράσεις στην οξείδωση της LDL. Οι Nestel et al. (1997) δεν παρατήρησαν καμία επίδραση στους δείκτες της οξείδωσης της LDL σε 21 περι- και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, οι οποίες κατανάλωσαν ταμπλέτες που περιείχαν 80 mg ισοφλαβονών ανά ημέρα για 10 εβδομάδες. Ομοίως, οι Hodgson et al. (1999) δεν διαπίστωσαν καμία απόδειξη για μία *in vivo* αντιοξειδωτική δραστηριότητα, σε μία έρευνα όπου ταμπλέτες των 55 mg ισοφλαβονών/ ημέρα δόθηκαν για 8 εβδομάδες. Πιο πρόσφατα, οι Samman et al. (1999) δεν παρατήρησαν αλλαγές στην οξείδωση της LDL σε 14 υγιείς προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, που κατανάλωσαν 86 mg ισοφλαβονών ανά ημέρα κατά τη διάρκεια δύο καταμήνιων κύκλων. Φαίνεται πως οι ισοφλαβόνες δεν είναι τα κύρια συστατικά της πρωτεΐνης σόγιας που ευθύνονται αποκλειστικά για τη μείωση της οξείδωσης της LDL, παρόλο που επιπρόσθετη έρευνα απαιτείται για τον καθορισμό της αντιοξειδωτικής δυνατότητας των ισοφλαβονών, χρησιμοποιώντας πιο ευαίσθητες μεθόδους της *in vivo* οξείδωσης της LDL.

Επίδραση στην αρτηριακή πίεση και την αρτηριακή ενδοτικότητα

Η πρωτεΐνη σόγιας ή άλλες ουσίες στα προϊόντα τροφίμων σόγιας, ιδιαίτερα οι ενώσεις που μοιάζουν με τα οιστρογόνα, μπορεί να επηρεάζουν ευνοϊκά την αρτηριακή πίεση. Η μειωμένη αρτηριακή ενδοτικότητα (αυξημένη ακαμψία) των αρτηριών θεωρείται ότι συμβάλλει στις καρδιαγγειακές παθήσεις, συμπεριλαμβανομένων της συστολικής υπέρτασης και της ανεπαρκούς αιμάτωσης της στεφανιαίας αρτηρίας (Dart et al. 1993, cited in Hasler 2002). Τα οιστρογόνα έχουν δειχτεί να αυξάνουν τη διαστολή της βραχιόνιου αρτηρίας (ένα μέτρο της ελαστικότητας των αρτηριών) στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Lieberman et al. 1997). Εφόσον οι ισοφλαβόνες σόγιας είναι οιστρογόνα φυτικής προέλευσης, αναμένεται να έχουν μία αντι-υπερτασική επίδραση και/ ή να αυξάνουν την αρτηριακή ενδοτικότητα. Η υπέρταση (βραχιόνιος αρτηριακή πίεση ≥ 140/90 mm Hg) προσβάλλει περισσότερο από 150 εκατομμύρια Αμερικανούς και είναι ένας κύριος παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις, συμπεριλαμβανομένων του εγκεφαλικού και της καρδιακής ανεπάρκειας. Το οξειδωτικό στρες έχει συνδεθεί με μία αυξημένη πίεση αίματος, και η συμπλήρωση με αντιοξειδωτικά έχει δειχτεί να ελαττώνει την πίεση αίματος σε μερικές, αλλά όχι σε όλες τις έρευνες (Hasler 2002). Η κατανάλωση σόγιας μπορεί να αναμένεται να ελαττώσει την αρτηριακή πίεση, δεδομένου ότι οι ισοφλαβόνες έχουν δειχτεί να έχουν αντιοξειδωτική δράση σε μία ποικιλία *in vitro* συστημάτων (Record et al. 1995, Ruiz-Larrea et al. 1997). Σχετικά λίγες έρευνες έχουν εξετάσει την επίδραση της πρωτεΐνης σόγιας και/ ή των σχετιζόμενων με αυτήν ισοφλαβονών στην αρτηριακή πίεση σε κλινικές δοκιμές. Μόνο μία έρευνα (Washburn et al. 1999) έδειξε ωφέλιμη επίδραση με τη χρήση σόγιας. Στην έρευνα αυτή, οι Washburn et al. βρήκαν μία σημαντική μείωση στη διαστολική αρτηριακή πίεση σε 51 μη υπερτασικές, περι-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, οι οποίες κατανάλωσαν 20 g απομονωμένης πρωτεΐνης σόγιας (που περιείχε 34 mg ισοφλαβονών) για 6 εβδομάδες, σε δύο ημερήσιες δόσεις. Ωστόσο, τα ευρήματα των ερευνητών αυτών δεν είναι σύμφωνα με εκείνα των Hermansen et al. (2001), οι οποίοι δεν βρήκαν καμία σημαντική επίδραση στην αρτηριακή πίεση με την κατανάλωση 50 g σόγιας

(περίπου 165 mg ισοφλαβονών) διαιρεμένης σε δύο ημερήσιες δόσεις, μετά από 6 εβδομάδες. Άλλες έρευνες (Hodgson et al. 1999, Jenkins et al. 1999, Merz-Demlow et al. 2000) έχουν αποτύχει να δείξουν ότι η σόγια ή οι απομονωμένες ισοφλαβόνες έχουν μία σημαντική επίδραση στην αρτηριακή πίεση, συμπεριλαμβανομένης μίας έρευνας από τους Jenkins et al. (2000), η οποία παρείχε μία ημερήσια δόση της τάξης των 168 mg ισοφλαβονών, σε συνδυασμό με 36 g πρωτεΐνης σόγιας για 3 εβδομάδες. Τα διαθέσιμα κλινικά δεδομένα δεν υποστηρίζουν την υπόθεση ότι η σόγια και/ ή οι ισοφλαβόνες σόγιας ελαττώνουν την αρτηριακή πίεση σε υπερτασικούς ασθενείς.

Η επίδραση της σόγιας στην αρτηριακή ενδοτικότητα εμφανίζεται πιο ελπιδοφόρα, και ο βιολογικός αυτός δείκτης μπορεί να είναι περισσότερο σχετικός με τον κίνδυνο για καρδιαγγειακές παθήσεις από ότι η μείωση της χοληστερόλης. Οι ισοφλαβόνες έχουν δειχτεί να ενισχύουν την αγγειακή ενδοτικότητα σε αθηροσκληρωτικούς θηλυκούς πιθήκους (Honore et al. 1997). Πιο σημαντικά, δύο έρευνες από τους Nestel et al. έχουν δείξει ότι οι ισοφλαβόνες προερχόμενες είτε από τη σόγια (1997) είτε από το κόκκινο τριφύλλι (1999) μπορούν να βελτιώσουν τη συστηματική αρτηριακή ενδοτικότητα κατά 20% με 26% σε περιεμμηνοπαυσιακές και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ακόμη και αν απέτυχαν να ελαττώσουν τα επίπεδα λιπιδίων. Μάλιστα, το ποσοστό αυτό είναι παρόμοιο με εκείνο που παρατηρείται σε γυναίκες που λαμβάνουν συμβατική ορμονική θεραπεία (Glazier et al. 2001). Οι αγγειοδιασταλτικές αυτές επιδράσεις μπορεί να επιτυγχάνονται μέσω της άμεσης ενεργοποίησης του μεταβολικού μονοπατιού της L-αργινίνης/ νιτρικού οξέος (NO), καθώς το νιτρικό οξύ είναι ένας καθιερωμένος αγγειοδιαστολέας. Οι Walker et al. (2001) έδειξαν πρόσφατα ότι η γενιστεΐνη προκαλεί μία οξεία αγγειοδιαστολή εξαρτώμενη από το NO στη βραχιόνιο αρτηρία, και μάλιστα με μία δραστικότητα παρόμοια με εκείνη της 17 β-οιστραδιόλης. Σαφέστατα απαιτείται επιπρόσθετη έρευνα, προκειμένου να επιβεβαιωθούν, αλλά και να επεκταθούν οι παρατηρήσεις ότι οι ισοφλαβόνες μπορεί να αυξάνουν την αρτηριακή ενδοτικότητα.

1.5 Συμπέρασμα

Υπάρχει σημαντική ομοφωνία μεταξύ των επιστημόνων ότι η κατανάλωση πρωτεΐνης σόγιας συμβάλλει στην ελάττωση των επιπέδων αίματος των κύριων λιπιδίων που σχετίζονται με τον κίνδυνο για καρδιαγγειακές παθήσεις. Λόγω μάλιστα των ισχυρών κλινικών αποδείξεων που υποστηρίζουν τη σχέση αυτή μεταξύ διατροφής-πάθησης, ο FDA επιτρέπει να αναγράφεται στις ετικέτες ορισμένων τροφίμων σόγιας ισχυρισμός υγείας, εφόσον παρέχεται ένα ελάχιστο επίπεδο της τάξης των 6,25 g πρωτεΐνης σόγιας ανά μερίδα τροφίμου. Μία διατροφή βασισμένη στην πρωτεΐνη σόγιας, η οποία ελαττώνει τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης κατά 10%, μπορεί να αναμένεται να ελαττώσει τον κίνδυνο για στεφανιαία νόσο κατά 20%, όπως προκύπτει από επιδημιολογικές αποδείξεις και πρόσφατες πρωτογενείς και δευτερογενείς δοκιμασίες παρέμβασης (Hasler 2002). Παρόλο που το συγκεκριμένο συστατικό της σόγιας υπεύθυνο για την υπολιπιδαιμική επίδραση παραμένει άγνωστο, οι ισοφλαβόνες *per se* φαίνεται να μην είναι υπεύθυνες. Ωστόσο, οι ισοφλαβόνες ενδέχεται να έχουν άλλα καρδιαγγειακά οφέλη εκτός από τις υπολιπιδαιμικές επιδράσεις τους, συμπεριλαμβανομένης της ικανότητάς τους να ελαττώνουν την οξείδωση της LDL και να ενισχύουν την ελαστικότητα των αιμοφόρων αγγείων.

Πάντως, η ποικιλομορφία στον σχεδιασμό των ερευνών (ιδιαίτερα όσον αφορά τον τύπο και την ποσότητα των φυτοοιστρογόνων που χρησιμοποιούνται), στα άτομα που μελετώνται (η ηλικία και το φύλο ποικίλουν σημαντικά) και στα ευρήματα που προκύπτουν, καθιστούν τον συνδυασμό των ήδη υπαρχόντων ερευνών σχετικά με τις υποχοληστερολαιμικές δράσεις της σόγιας, εξαιρετικά δύσκολο (Wuttke et al. 2003). Ο αριθμός των ατόμων που μελετάται είναι γενικά μικρός (συνήθως <100, συχνά <30). Φαίνεται πως οι ωφέλιμες επιδράσεις είναι μεγαλύτερες σε εκείνους με αυξημένα, παρά με φυσιολογικά επίπεδα χοληστερόλης. Συνολικά, προκύπτει πως η συμπλήρωση της διατροφής με σόγια φαίνεται να έχει μια θετική επίδραση τις τιμές των λιπιδίων, αλλά το μέγεθος αυτής της επίδρασης, η κλινική της σημαντικότητα και το ποσό των φυτοοιστρογόνων που απαιτούνται παραμένουν ακόμη αδιευκρίνιστα (Bowman et al. 2001). Ωστόσο, παρά τις

όποιες ασυμφωνίες, δεν υπάρχουν έρευνες μέχρι σήμερα, οι οποίες να δείχνουν μια αύξηση των τιμών των λιπιδίων μετά τη χορήγηση τέτοιων διαίτων.

Οι επιστήμονες υγείας που αναλαμβάνουν ασθενείς με καρδιαγγειακές παθήσεις θα πρέπει να έχουν υπόψη τους τη σημασία ορισμένων τροφίμων, όπως της σόγιας, στην καρδιαγγειακή υγεία και να συζητούν με τους ασθενείς τους τρόπους προκειμένου να ενσωματώσουν τέτοιου είδους τρόφιμα στην καθημερινή τους διατροφή. Η θεαματική αύξηση στον αριθμό νέων τροφίμων σόγιας στο εμπόριο, μετά την έγκριση του ισχυρισμού υγείας, καθιστά εφικτή για τους ασθενείς που ενδιαφέρονται για την υγεία της καρδιάς τους την πρόσληψη 25 g πρωτεΐνης σόγιας σε καθημερινή βάση. Οι επιστήμονες υγείας έχουν δώσει εδώ και καιρό έμφαση στη σημασία της κατανάλωσης μίας δίαιτας χαμηλής σε κορεσμένο λίπος και χοληστερόλη για την καλή υγεία της καρδιάς. Με τις νέες αποδείξεις να δείχνουν τη σημασία της σόγιας στη διατροφή, οι συστάσεις αυτές μπορούν να επεκταθούν προκειμένου να συμπεριλάβουν την αντικατάσταση πηγών πρωτεΐνης πλούσιων σε κορεσμένο λίπος, όπως το κρέας, με πηγές πλούσιες σε φυτικές πρωτεΐνες, όπως η σόγια.

Κεφάλαιο 2

ΔΙΑΦΟΡΟΙ ΤΥΠΟΙ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Τα φυτοοιστρογόνα απασχόλησαν εντόνως τους ερευνητές, ιδιαίτερα όσον αφορά τις πιθανές δράσεις τους στους ορμονοεξαρτώμενους καρκίνους του στήθους και του ενδομητρίου, ο κίνδυνος για τους οποίους φαίνεται να αυξάνεται με τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας.

Τα φυτοοιστρογόνα έχουν πολλαπλές πιθανές αντικαρκινογενετικές δράσεις (Glazier et al. 2001). Πρώιμες έρευνες επικεντρώθηκαν στις αντι-οιστρογονικές τους ιδιότητες, ιδιαίτερα στην πιθανή τους δυνατότητα να ελαττώνουν τον κίνδυνο για καρκίνο του στήθους, αλλά πιο πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι οι δράσεις τους δεν είναι αποκλειστικά ορμονικές, και ότι οι μη ορμονικές δράσεις τους μπορεί να είναι πιο σημαντικές στην πρόληψη του καρκίνου (Kris-Etherton 2002). Οι προτεινόμενοι μηχανισμοί μέσω των οποίων μπορεί να αναστέλλουν τα καρκινικά κύτταρα περιλαμβάνουν τους ακόλουθους: (1) αναστολή των DNA τοποϊσομερασών, (2) καταστολή της αγγειογένεσης, (3) επαγωγή της διαφοροποίησης των καρκινικών κυττάρων και (4) επαγωγή της απόπτωσης (Adlercreutz et al. 2002). Πολυάριθμες *in vitro* έρευνες σε καλλιέργειες κυττάρων και *in vivo* πειράματα σε ζώα έχουν δείξει ότι τα φυτοοιστρογόνα μπορούν να εμποδίσουν την ανάπτυξη όγκων (Adlercreutz 2002). Σε μία αναλυτική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας για τον πιθανό ρόλο των φυτοοιστρογόνων στη μείωση της ανάπτυξης των όγκων, οι Fournier et al. (1998) παρατήρησαν ότι σε 16 από 17 έρευνες σε ζώα, η προσθήκη προϊόντων σόγιας ελάττωσε την εμφάνιση όγκων ή τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του στήθους, του προστάτη, του ήπατος, του οισοφάγου και του στήθους. Οι ισοφλαβόνες ήταν το πιο συχνό συστατικό της σόγιας που προστέθηκε (στις 11 έρευνες), καθώς και ποικίλα άλλα συστατικά της σόγιας (σαπωνίνες σόγιας, άλευρο σόγιας).

Πολλές έρευνες έχουν επικεντρωθεί στην ισοφλαβόνη γενιστεΐνη, η οποία φαίνεται να αποτελεί το κύριο αντικαρκινικό συστατικό της σόγιας. Έχει επιπλέον και αντιοξειδωτικές ιδιότητες, οι οποίες μπορεί επίσης να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις αντικαρκινογενετικές της επιδράσεις. Μπορεί να αναστείλει την ιδιότητα του υδρογόνου του περοξειδίου να δρα ως επαγωγέας της καρκινικής δραστηριότητας *in vitro* και *in vivo* (Slavin 2000) και επίσης έχει δειχτεί ότι μπορεί να αναστείλει την τυροσικινάση (Adlercreutz 2002). Η δραστηριότητά της ως αντικαρκινογενετικός παράγοντας πιθανώς προκύπτει από τη δυνατότητά της να καταστέλλει τα ένζυμα εκείνα, τα οποία προωθούν την κυτταρική αύξηση.

Χρειάζεται προσοχή στην ερμηνεία των διαθέσιμων δεδομένων. Πολλές, αλλά όχι όλες οι αντικαρκινογενετικές επιδράσεις, έχουν παρατηρηθεί με πολύ μεγάλες δόσεις φυτοοιστρογόνων, πολύ υψηλότερες από εκείνες που θα μπορούσαν να επιτευχθούν μόνο με τη δίαιτα (Bowman et al. 2001). Οι πειραματικές διαδικασίες και οι συγκεντρώσεις των ισοφλαβονών που χρησιμοποιούνται ποικίλλουν σημαντικά. Οι χρησιμοποιούμενες κυτταρικές καλλιέργειες επίσης διαφέρουν, καθώς και η παρουσία ή απουσία της οιστραδιόλης. Οι ερευνητές δεν είναι σε θέση σήμερα να γνωρίζουν τη δόση και τον τύπο των φυτοοιστρογόνων που χρειάζονται για την καταστολή των όγκων, τη διάρκεια και τη συχνότητα χορήγησής τους, καθώς και τις πιθανές ή πραγματικές αρνητικές επιδράσεις ή τοξικότητες. Μέχρι σήμερα δεν έχουν πραγματοποιηθεί έρευνες παρέμβασης σε ανθρώπους στις οποίες χρησιμοποιείται σόγια ή προϊόντα σόγιας, για πρωτογενή ή δευτερογενή πρόληψη του καρκίνου. Οι έρευνες αυτές είναι αναγκαίες, αλλά θα είναι δύσκολο να διεξαχθούν και να ελεγχθούν. Επιπρόσθετα, είναι δύσκολο να πραγματοποιηθούν αναδρομικές επιδημιολογικές έρευνες για την πρόσληψη σόγιας. Εκτιμήσεις της ποσότητας και του είδους των προϊόντων σόγιας που καταναλώθηκαν 3 με 4 δεκαετίες νωρίτερα από την έρευνα είναι αναξιόπιστες, καθώς και η δυνατότητα να συνδεθούν οι πληροφορίες αυτές με την ανάπτυξη καρκίνου χρόνια αργότερα.

Δεν μπορούν να γίνουν συστάσεις σχετικά με τη χρήση των φυτοοιστρογόνων για την πρόληψη και τη θεραπεία του καρκίνου, εκτός από το γεγονός ότι

φαίνονται να έχουν ενθαρρυντικές επιδράσεις *in vitro*. Βασιζόμενοι σε αυτές τις αποδείξεις, οι ερευνητές δεν μπορούν να καταλήξουν σε κάποιο άλλο συμπέρασμα για την προστατευτική επίδραση των φυτοοιστρογόνων εκτός από το ότι στις περισσότερες *in vitro* και ζωικές έρευνες τα συστατικά της σόγιας, και ιδιαίτερα οι ισοφλαβόνες έχουν αντινεοπλασματικές ιδιότητες. Εξάλλου, για τις όποιες παρατηρούμενες θετικές επιδράσεις, δεν είναι δυνατόν να διευκρινιστεί εάν αυτές προκαλούνται από την παρουσία των διαιτητικών φυτοοιστρογόνων, ή είναι απλώς δείκτες μια υγιεινής διατροφής γενικότερα (Adlercreutz et al. 2002).

2.1 Καρκίνος του στήθους

Στις αρχές της δεκαετίας του 1980 προτάθηκε ότι οι λιγνάνες και τα ισοφλαβονοειδή (ισοφλαβόνες, κουμεστάνες) μπορεί να αποτρέπουν την εμφάνιση καρκίνου (Adlercreutz et al. 2002). Η υπόθεση αυτή οδήγησε σε πολυάριθμες επιδημιολογικές, πειραματικές, αναδρομικές και ασθενών-μαρτύρων (case-control) μελέτες, οι οποίες ερεύνησαν την υπόθεση αυτή (Adlercreutz et al. 1998, 1997).

Τα φυτοοιστρογόνα, όπως έχει ήδη αναφερθεί, παρουσιάζουν δομική ομοιότητα με τα ενδογενή οιστρογόνα, και επομένως είναι θεωρητικά δυνατόν η πρόσληψή τους να μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο για καρκίνο του στήθους. Ωστόσο, οι επιδημιολογικές έρευνες δείχνουν ότι η κατανάλωση φυτοοιστρογόνων σχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με την εμφάνιση καρκίνου του στήθους. Η επιδημιολογική παρατήρηση ότι οι γυναίκες από την Ασία παρουσιάζουν σημαντικά χαμηλότερο κίνδυνο για την εμφάνιση καρκίνου του στήθους σε σύγκριση με τις δυτικές γυναίκες, οδήγησε στη θεωρία ότι η υψηλή πρόσληψη σόγιας πλούσιας σε ισοφλαβόνες από γυναίκες της Ασίας, θα μπορούσε να συμβάλλει σε αυτή τη διαφορά στον κίνδυνο εμφάνισης. Επικεντρωμένες έρευνες παρατήρησης, οι οποίες εκτίμησαν τη σχέση μεταξύ του κινδύνου για καρκίνο και της διατροφής, υποστήριξαν αυτή τη θεωρία μέσω της εύρεσης σημαντικής αντίστροφης σχέσης μεταξύ του κινδύνου για καρκίνο του στήθους και της κατανάλωσης ισοφλαβονών σόγιας, τόσο σε

σχέση με την πρόσληψη (Lee et al. 1991, Hirose et al. 1995, Wu et al. 1996, Dai Q et al. 2001) όσο και την ουρική τους απέκκριση (Zheng W et al. 1999, Murkies et al. 2000, Dai Q et al. 2002). Προς υποστήριξη των ευρημάτων αυτών είναι και η παρατήρηση ότι οι γυναίκες από την Ασία που μετανάστευσαν στις ΗΠΑ και υιοθέτησαν μία δυτική δίαιτα, έχασαν αυτόν τον χαμηλότερο κίνδυνο για καρκίνο του στήθους (Adlercreutz 2000, 2002).

Οι λιγνάνες έχουν επίσης επισημανθεί για τη συνεισφορά τους στη μείωση του κινδύνου για καρκίνο του στήθους, από ευρήματα ερευνών παρατήρησης. Οι φυτοφάγοι, οι οποίοι εμφανίζουν χαμηλότερο κίνδυνο για καρκίνο του στήθους από τους κρεατοφάγους, επίσης έχουν σημαντικά υψηλότερη διαιτητική πρόσληψη και ουρική απέκκριση λιγνανών (Adlercreutz et al. 1998, 2002). Επιπλέον, η ουρική εντεροδιόλη και εντερολακτόνη (Ingram et al. 1997, Adlercreutz et al. 1998) είναι σημαντικά χαμηλότερες σε μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς με καρκίνο του στήθους, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Επιπρόσθετα, σημαντικές αντίστροφες συσχετίσεις έχουν αναφερθεί μεταξύ του κινδύνου για καρκίνο του στήθους και διαιτητικών λιγνανών (McCann et al. 2002), της εντερολακτόνης ορού (Pietinen et al. 2001, Hulten et al. 2002), καθώς και των ουρικών συγκεντρώσεων της εντερολακτόνης, εντεροδιόλης και των ολικών λιγνανών (Dai Q et al. 2002). Σύμφωνες με αυτά τα δεδομένα είναι και έρευνες, οι οποίες δείχνουν ότι η κατανάλωση λιναρόσπορου ή εξευγενισμένων λιγνανών μειώνει τον κίνδυνο για καρκίνο του στήθους σε τρωκτικά (Thompson et al. 1998).

Παρόλη την ύπαρξη των υποστηρικτικών αυτών ερευνών, οι επιδημιολογικές έρευνες οι οποίες σχετίζουν τον κίνδυνο για καρκίνο του στήθους με την πρόσληψη ή/ και την ουρική απέκκριση των φυτοοιστρογόνων δεν είναι σύμφωνες. Σε μία μελέτη διατροφής και καρκίνου ασθενών-μαρτύρων σε Κινέζες δεν αναφέρθηκε παρατηρούμενη διαφορά μεταξύ της κατανάλωσης τροφίμων σόγιας και του κινδύνου για καρκίνο του στήθους (Yuan et al. 1995), καθώς και σε μία πιο πρόσφατη περιγραφική έρευνα σε Γιαπωνέζες (Key et al. 1999). Ομοίως, ο κίνδυνος για καρκίνο του στήθους δεν επηρεάστηκε από την πρόσληψη ούτε ισοφλαβονών, αλλά ούτε και λιγνανών, σε μία έρευνα ασθενών-μαρτύρων, η οποία περιλάμβανε γυναίκες ποικίλων εθνικοτήτων

από την Αμερική (Horn-Ross et al. 2001). Τέλος, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ της ουρικής απέκκρισης γενιστεΐνης ή εντερολακτόνης και του κινδύνου για καρκίνο του στήθους, σε μία έρευνα σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες από την Δανία (Tonkelaar et al. 2001).

Σημαντικό ρόλο στον πιθανό προστατευτικό ρόλο των φυτοοιστρογόνων φαίνεται να διαδραματίζει και η ηλικία έκθεσης. Έρευνες σε ζώα από τους Lamartiniere et al. (2002) έδειξαν ότι η μέγιστη προστασία από τον χημικά επαγώμενο καρκίνο του στήθους σε ενήλικους αρουραίους, παρατηρήθηκε από την έκθεση στη γενιστεΐνη προ-εφηβικά και ξανά στην ενήλικη ζωή. Τα ευρήματα αυτά είναι σύμφωνα με δύο πρόσφατες έρευνες ασθενών-μαρτύρων, οι οποίες αναφέρουν ότι η έκθεση σε τρόφιμα σόγιας πλούσια σε ισοφλαβόνες στην εφηβεία, σχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο για καρκίνο του στήθους στην ενήλικη ζωή (Shu Xo et al. 2001, Wu AH et al. 2002).

Συμπερασματικά, από τις υπάρχουσες έρευνες φαίνεται πως η σόγια πιθανώς να μπορεί να προστατέψει από τον καρκίνο του στήθους εάν καταναλώνεται ιδιαίτερα πριν και κατά τη διάρκεια της εφηβείας (Adlercreutz et al. 2002). Το εάν τα φυτοοιστρογόνα είναι υπεύθυνα για αυτήν την προστασία δεν είναι ακόμη γνωστό, μιας και είναι πιο πιθανό ότι τα προϊόντα σόγιας ή δημητριακών να είναι προστατευτικά στο σύνολό τους.

2.2 Καρκίνος του προστάτη

Έχει προταθεί ότι τα φυτοοιστρογόνα μπορεί να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην προστασία έναντι του καρκίνου του προστάτη, με τα περισσότερα δεδομένα να επικεντρώνονται στις ισοφλαβόνες της σόγιας (Duncan 2003). Πληθυσμιακές έρευνες αναφέρουν μία παγκόσμια διαφορά στην κλινική εμφάνιση του καρκίνου του προστάτη, με τους ρυθμούς εμφάνισης να είναι χαμηλότεροι στους άντρες από την Ασία σε σχέση με τους άντρες από την Δύση (Pienta et al. 1996). Η υψηλή πρόσληψη φυτοοιστρογόνων, και ιδιαίτερα ισοφλαβονών, από τους Ασιάτες έχει υποτεθεί ότι συνεισφέρει στη χαμηλότερη εμφάνιση του καρκίνου του προστάτη (Adlercreutz et al. 2000). Η υψηλή πρόσληψη ισοφλαβονών από τους Ασιάτες είναι προφανής από τις αυξημένες συγκεντρώσεις ισοφλαβονών που ανιχνεύονται στο αίμα, στα ούρα και στο προστατικό τους υγρό, σε σχέση με τους Ευρωπαίους και τους δυτικούς ομολόγους τους. Επιπρόσθετα υποστηρικτικά δεδομένα παρέχουν και τα ευρήματα ότι με τη μετανάστευση Ασιατών σε δυτικές κοινωνίες, φαίνεται να εξαφανίζεται η όποια προστατευτική επίδραση.

Τα ευρήματα από τις επιδημιολογικές έρευνες, οι οποίες συσχετίζουν την πρόσληψη σόγιας πλούσιας σε ισοφλαβόνες με τον κίνδυνο για καρκίνο του προστάτη έχουν υπάρξει υποστηρικτικά, όχι όμως και σταθερά επαναλαμβανόμενα. Υποστηρικτικές είναι δύο αμερικανικές έρευνες ασθενών – μαρτύρων, μία από τις οποίες βρήκε σημαντική αντίστροφη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης τροφίμων σόγιας και του κινδύνου για καρκίνο του προστάτη (Kolonel et al. 2000), και η άλλη η οποία παρατήρησε μια τάση προς την ύπαρξη αντίστροφης σχέσης μεταξύ της πρόσληψης δαϊζδεΐνης και του κινδύνου για καρκίνο (P = 0,07) (Stromm et al. 1999). Τέλος, οι Hebert et al. (1998) ανέφεραν μια σημαντική προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης σόγιας, τέσσερις φορές μεγαλύτερη από οποιονδήποτε άλλο διαιτητικό παράγοντα.

Όσον αφορά την πιθανή σχέση μεταξύ των λιγνανών και του καρκίνου του προστάτη έχουν πραγματοποιηθεί πολύ λίγες έρευνες, αν και μία πολύ πρόσφατη διαχρονική έρευνα ασθενών–μαρτύρων δεν ανέφερε σημαντική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης εντερολακτόνης στον ορό και του κινδύνου για καρκίνο του προστάτη σε άντρες από την Νορβηγία (Stattin et al. 2002).

Έχουν διεξαχθεί λίγες μόνο έρευνες, οι οποίες έχουν εκτιμήσει την επίδραση των φυτοοιστρογόνων στους άντρες που βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο ή που έχουν ήδη καρκίνο του προστάτη. Μία ανεξάρτητη μελέτη «χαρακτηριστικών παραδειγμάτων» (case study) πρότεινε ότι τα φυτοοιστρογόνα μπορεί να προκαλούν παλινδρόμηση του όγκου, μιας και παρατήρησαν ότι για μία βδομάδα πριν από την προστατεκτομή η κατανάλωση φυτοοιστρογόνων, οδήγησε στον κυτταρικό θάνατο των καρκινικών κυττάρων, χωρίς μάλιστα παρενέργειες (Stephens 1997). Μία πρόσφατη έρευνα αυτοσύγκρισης σε μεγαλύτερους άντρες με αυξημένα επίπεδα του ειδικού προστατικού αντιγόνου (PSA), δεν ανέφερε σημαντικές επιδράσεις της πρωτεΐνης σόγιας με ισοφλαβόνες (69 mg/d) σε σχέση με την πρωτεΐνη σόγιας με μηδαμινές ισοφλαβόνες (3,4 mg/d), στις συγκεντρώσεις των συσχετιζόμενων με τον καρκίνο του προστάτη βιοδεικτών, όπως είναι το PSA (Urban et al. 2001). Τέλος, μία ακόμη έρευνα παρέμβασης επικεντρώθηκε στον πλούσιο σε λιγνάνες λιναρόσπορο και εκτίμησε τις επιδράσεις του στις ορμόνες του αίματος, στο PSA και στα ιστοπαθητικά χαρακτηριστικά, πριν και μετά την παρέμβαση διάρκειας 34 ημερών σε άντρες, οι οποίοι είχαν διαγνωστεί με καρκίνο του προστάτη και περίμεναν να χειρουργηθούν (Demark-Wahnefried et al. 2001). Όταν συγκρίθηκε με την ομάδα ελέγχου, η κατανάλωση λιναρόσπορου μείωσε σημαντικά την ολική τεστοστερόνη, αύξησε τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση) και έτεινε να μειώσει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Παρόλα αυτά, δεν παρατηρήθηκε σημαντική αλλαγή στο PSA. Πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι η παρέμβαση περιλάμβανε μία δίαιτα χαμηλή σε λίπος, η οποία δεν μπορεί να διαχωριστεί από την επίδραση του λιναρόσπορου.

Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι ορμόνες του αναπαραγωγικού συστήματος θεωρείται ότι παίζουν ρόλο στον καρκίνο του προστάτη και ότι η διαιτητική γενιστεΐνη πρόσφατα δείχθηκε να ρυθμίζει προς τα κάτω τους υποδοχείς ανδρογόνων και οιστρογόνων στον προστάτη αρουραίου (Lopez-Otin et al. 1998), ένας πιθανός μηχανισμός μέσω των οποίων οι ισοφλαβόνες σόγιας μπορεί να μειώνουν τον κίνδυνο για καρκίνο του προστάτη, είναι μέσω των επιδράσεών τους στις ορμόνες του αναπαραγωγικού στο αίμα. Παρόλο που τα επιδημιολογικά δεδομένα δείχνουν μία αντίστροφη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης σόγιας και των αναπαραγωγικών ορμονών ορού σε υγιείς άντρες (Nagata et al. 2000), οι λίγες έρευνες παρέμβασης που ολοκληρώθηκαν δείχνουν σε μεγάλο βαθμό ασήμαντες επιδράσεις στις ορμόνες ορού (Kurzer et al. 2002).

Υπάρχουσες αποδείξεις αναφέρονται και σε άλλους πιθανούς μηχανισμούς σχετικά με τον ρόλο των ισοφλαβονών σόγιας, συμπεριλαμβανομένων της αναστολής της 5α-ρεδουκτάσης, του ενζύμου που μετατρέπει την τεστοστερόνη στην πιο ενεργή διϋδροτεστοστερόνη (Evans et al. 1995), αναστολή και άλλων ενζύμων που εμπλέκονται στον μεταβολισμό των στεροειδών ορμονών, όπως της αρωματάσης (Krazeisen et al. 2001), και επαγωγή της απόπτωσης των καρκινικών προστατικών κυττάρων (Onozawa et al. 1998).

Συμπερασματικά, αν και φαίνεται πως οι πληθυσμοί που καταναλώνουν σόγια πλούσια σε ισοφλαβόνες έχουν χαμηλή συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του προστάτη, υπάρχει ανάγκη για ανθρώπινες έρευνες παρέμβασης, οι οποίες θα εκτιμούν της πιθανές ωφέλιμες επιδράσεις της πρόσληψης ισοφλαβονών και λιγνανών στον κίνδυνο για καρκίνο του προστάτη.

2.3 Άλλες μορφές καρκίνου

Αρκετές έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί για τη διερεύνηση του πιθανού ρόλου των φυτοοιστρογόνων και σε άλλους τύπους καρκίνου, όπως στον στόμαχο και στο ενδομήτριο (Adlercreutz et al. 2002). Είναι συνετό να έχουμε υπόψη ότι η πλειοψηφία των επιδημιολογικών ερευνών που έχουν συσχετίσει τα φυτοοιστρογόνα με αυτούς τους καρκίνους, πραγματοποιήθηκαν πριν από την υπόθεση ότι τα φυτοοιστρογόνα μπορεί να είναι προστατευτικά απέναντι στον καρκίνο (Messina & Bennink 1998). Ως αποτέλεσμα, η ποσοτικοποίηση της πρόσληψης των φυτοοιστρογόνων δεν ήταν πάντα το επίκεντρο και επομένως, προκύπτουν ανησυχίες σχετικά με την ακρίβεια των δεδομένων (Messina & Bennink 1998).

Η σχέση μεταξύ της κατανάλωσης τροφίμων σόγιας και του κινδύνου για καρκίνο του στομάχου, φαίνεται ότι εξαρτάται από το εάν το τρόφιμο σόγιας έχει υποστεί ζύμωση ή όχι. Μία πρόσφατη μετα–ανάλυση από τους Wu et al. (2000) ανέφερε ότι η κατανάλωση σόγιας ήταν σημαντικά προστατευτική απέναντι στον καρκίνο του στομάχου, με την προϋπόθεση ότι η ανάλυση δεν περιλάμβανε τις έρευνες με τα τρόφιμα σόγιας που είχαν υποστεί ζύμωση. Τα τρόφιμα αυτά στην πραγματικότητα είχαν ως αποτέλεσμα μια σημαντική αύξηση στον κίνδυνο για καρκίνο του στομάχου. Τα αντίθετα αυτά αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται στο υψηλό περιεχόμενο σε αλάτι, σε νιτρικές ενώσεις ή σε άλλα μη αναγνωρισμένα συστατικά των επεξεργασμένων τροφίμων (Wu et al. 2000). Παρόλα αυτά, οι ερευνητές αναγνώρισαν ότι οι έρευνες δεν επικεντρώθηκαν συγκεκριμένα στη διερεύνηση των τροφίμων σόγιας, και επισήμαναν την ύπαρξη πολυάριθμων άλλων συγχητικών παραγόντων, ιδιαίτερα την πρόσληψη φρούτων και λαχανικών (Wu et al. 2000).

Όσον αφορά τους άλλους τύπους καρκίνου, η κατανάλωση προϊόντων σόγιας και άλλων οσπρίων έχει συσχετιστεί σημαντικά με ένα μειωμένο κίνδυνο για καρκίνο του ενδομητρίου μεταξύ Ασιατών και μη–Ασιατών σε μία έρευνα ασθενών-μαρτύρων, η οποία διεξήχθη στη Χαβάη (Goodman et al. 1997). Επιπρόσθετα, σε τρεις έρευνες, οι οποίες εξέτασαν την επίδραση της

συμπλήρωσης φυτοοιστρογόνων στο ενδομήτριο μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, δεν παρατηρήθηκαν επιδράσεις στο πάχος του ενδομητρίου, όπως μετρήθηκε από κολπικό υπέρηχο (Scabia et al. 2000, Upmalis et al. 2000, Baber et al. 1999), σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Επιπλέον, οι Foth & Cline (1998) μελέτησαν τις επιδράσεις της συμπλήρωσης της δίαιτας μετεμμηνοπαυσιακών πρωτευόντων με υπερσυμπύκνωμα πρωτεΐνης σόγιας, που περιείχε 148 mg φυτοοιστρογόνων, και το οποίο δόθηκε καθημερινά για 6 μήνες. Ακόμη και μία τέτοια συγκριτικά υψηλή δόση ισοφλαβονών για ένα τόσο μεγάλο χρονικό διάστημα απέτυχε να επιφέρει οποιοδήποτε πολλαπλασιαστικό αποτέλεσμα στην ενδομήτρια ιστολογία. Επίσης, τα φυτοοιστρογόνα εμφανίστηκαν να ανταγωνίζονται τις πολλαπλασιαστικές επιδράσεις των οιστρογόνων, όταν τα δύο σκευάσματα δόθηκαν σε συνδυασμό. Επομένως, φαίνεται από τα παραπάνω ότι η πρόσληψη ισοφλαβονών σόγιας έχει τη δυνατότητα να μειώσει τον κίνδυνο αρκετών τύπων καρκίνου. Ωστόσο, οι περιορισμένες έρευνες αποκλείουν τα σύμφωνα συμπεράσματα.

Κεφάλαιο 3

ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΗΣ

Η εμφάνιση εξάψεων -κύριο γνώρισμα της εμμηνόπαυσης- αποτελεί τον κυριότερο λόγο έναρξης ορμονικής θεραπείας από τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Glazier et al. 2001). Η πιθανή χρήση των φυτοοιστρογόνων για την ανακούφιση των συμπτωμάτων που σχετίζονται με την εμμηνόπαυση, ιδιαίτερα των εξάψεων, αποτελεί μία περιοχή έντονου ερευνητικού ενδιαφέροντος, και σχετίζεται με την αποτελεσματικότητα της πλούσιας σε ισοφλαβόνες σόγιας ή των συμπληρωμάτων ισοφλαβονών ως πιθανά εναλλακτικά της ορμονικής θεραπείας.

Η συχνότητα εμφάνισης εξάψεων ποικίλλει σημαντικά ανάλογα με τη γεωγραφική κατανομή από 70-80% στις γυναίκες των ΗΠΑ σε μόλις 10-14% στις γυναίκες της Σιγκαπούρης και της Ιαπωνίας (Boulet et al. 1994). Έχει γίνει η υπόθεση ότι η διαφορά αυτή μπορεί να αποδοθεί στην υψηλή πρόσληψη φυτοοιστρογόνων, ιδιαίτερα ισοφλαβονών, από τους ανατολικούς πληθυσμούς (Adlercreutz et al. 1996, 1998). Η πρόσληψη σόγιας έχει συσχετιστεί σημαντικά αρνητικά με τη συχνότητα εξάψεων σε περιγραφικές (Nagata et al. 1999) και προοπτικές (Nagata et al. 2001) έρευνες σε γυναίκες από την Ιαπωνία.

Έρευνες παρέμβασης σε περι- και μετα- εμμηνοπαυσιακές γυναίκες έχουν αναφέρει μειωμένο αριθμό εξάψεων, μετά την κατανάλωση σόγιας (Duncan 2003). Παρόλα αυτά, σε πολλές έρευνες, η μείωση αυτή δεν ήταν σημαντικά διαφορετική από τη μείωση που παρατηρήθηκε στην ομάδα ελέγχου (Dalais et al. 1998, Murkies et al. 1998, Knight et al. 2001, Patten et al. 2002). Η φαινομενική ισχυρή επίδραση του εικονικού σκευάσματος (placebo), πιστεύεται ότι οφείλεται σε ένα πραγματικό *placebo effect* και στη μείωση της συχνότητας των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων, η οποία παρατηρείται ως

φυσική διαδικασία με το πέρασμα του χρόνου (Davis et al. 2001). Παρά το γεγονός αυτό, μερικές έρευνες έχουν βρει σημαντικές μειώσεις στον αριθμό (Albertazzi et al. 1998) ή τη σοβαρότητα (Albertazzi et al. 1998, Washburn et al. 1999) των εξάψεων στην ομάδα που ακολούθησε τη θεραπεία με τη σόγια (πολύ μεγαλύτερες από την ομάδα με το εικονικό σκεύασμα), αν και η κλινική σημαντικότητα μερικών από τις αλλαγές που παρατηρούνται αμφισβητείται. Πολυάριθμες έρευνες παρέμβασης, οι οποίες έχουν επίσης χρησιμοποιήσει ισοφλαβόνες, έχουν ομοίως παρουσιάσει αντικρουόμενα αποτελέσματα, με ορισμένες μελέτες να αναφέρουν σημαντικά λιγότερες εξάψεις (Nagata et al. 1999, Faure et al. 2002, Hann KK et al. 2002), και άλλες να μην αναφέρουν σημαντικά αποτελέσματα πέρα από ένα εμφανές *placebo effect* (Baber et al. 1999, Knight et al. 1999, Quella et al. 2000).

Η επίδραση των λιγνανών δεν έχει μελετηθεί ευρέως. Οι Dalais et al. (1998), οι οποίοι χρησιμοποίησαν λιναρόσπορο ως θεραπεία στην έρευνα παρέμβασής τους, προκειμένου να εκτιμήσουν τις επιδράσεις των φυτοοιστρογόνων, βρήκαν ότι δεν μείωσε τη συχνότητα των εξάψεων. Ωστόσο, η επίδραση του λιναρόσπορου δεν ήταν σημαντικά διαφορετική από τις ομάδες που έλαβαν σόγια ή σίτο. Οι Brzezinski et al. (1997) επίσης συμπεριέλαβαν λιναρόσπορο ως μέρος της παρέμβασής τους, αλλά η μέτρια, αν και στατιστικά σημαντική, μείωση στις εξάψεις δεν μπορούσε να αποδοθεί αποκλειστικά στο λιναρόσπορο, μιας και καταναλώθηκε σε συνδυασμό με προϊόντα σόγιας.

Συνολικά, προκύπτει ότι υπάρχουν ορισμένες αποδείξεις για να υποστηρίξουν ένα ρόλο για τις ισοφλαβόνες σόγιας στη διαχείριση των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων, αν και φαίνεται πως οι δράσεις τους είναι μέτριες, ενώ μάλιστα πολλές από τις παρατηρούμενες επιδράσεις μπορούν να αποδοθούν σε *placebo effect*.

Κεφάλαιο 3

ΝΟΗΤΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Στους Ασιατικούς πληθυσμούς, και ιδιαίτερα στους Ιάπωνες, παρατηρείται χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης άνοιας (Graves et al. 1996). Ωστόσο, τα δεδομένα από μία πρόσφατη προοπτική έρευνα (White et al. 2000), τα οποία δείχνουν ότι η κατανάλωση τοφού σχετίζεται με εξασθενισμένη νοητική λειτουργία σε άντρες και γυναίκες από την Ιαπωνία, δημιουργούν αρκετή σύγχυση. Η έρευνα αυτή ξεκίνησε στα μέσα της δεκαετίας του 1960 και οι ερευνητές συσχέτισαν την παρούσα νοητική λειτουργία των ατόμων με την κατανάλωση τοφού που είχε καταγραφεί 30-40 χρόνια νωρίτερα. Προηγούμενες δημοσιευμένες έρευνες σε ζώα δεν υποστηρίζουν το εύρημα αυτό (Pan et al. 1998, 1999, 2000, 2001) και δύο τουλάχιστον έρευνες προτείνουν ότι οι ισοφλαβόνες μπορεί να επηρεάζουν θετικά τη νοητική λειτουργία. Σε μία μελέτη (File et al. 2001), 27 υγιείς νέοι άντρες και γυναίκες (μέση ηλικία: ~25 ετών), οι οποίοι κατανάλωσαν μία δίαιτα πλούσια σε σόγια, που παρείχε 100 mg ισοφλαβονών/ ημέρα για 10 εβδομάδες, παρουσίασαν βελτίωση στη βραχυπρόθεσμη και μακροπρόθεσμη μνήμη και εγκεφαλική πλαστικότητα. Σε άλλη έρευνα, 53 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, στις οποίες δόθηκε ημερησίως συμπλήρωμα ισοφλαβονών (110 mg) για 6 μήνες, παρουσίασαν βελτίωση στην προφορική/ λεκτική μνήμη, σε σχέση με την ομάδα που έλαβε εικονικό σκεύασμα (Messina et al. 2002). Παρόλο που οι έρευνες αυτές δεν μπορούν να αντικρούσουν άμεσα την επιδημιολογική έρευνα που παρουσιάστηκε προηγουμένως, επειδή δεν εξέτασαν τη μακροπρόθεσμη επίδραση της κατανάλωσης σόγιας, ωστόσο συμβάλλουν στο να μετριάσουν τις ανησυχίες ότι η σόγια έχει αρνητικές επιδράσεις στη νοητική λειτουργία. Σίγουρα, πάντως χρειάζεται να πραγματοποιηθούν επιπρόσθετες έρευνες, προκειμένου να διευκρινιστεί η πιθανή θετική επίδραση των ισοφλαβονών σόγιας στη νοητική λειτουργία.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΠΙΝΑΚΑΣ Α: Συγκεντρώσεις δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης σε λαχανικά.

J. Liggins *et al.*

Daidzein (Da) and genistein (Ge) contents of vegetables and vegetable products commonly eaten in Europe*
(Mean values with their interassay standard errors)

M&W code†	Vegetable	Date of assay	Recovery of internal standards (%)		Concentration (μg/kg dry weight)‡ (Da)		Concentration (μg/kg dry weight)‡ (Ge)		DM	Mean concentration (μg/kg wet weight)‡		
			Da	Ge	Mean	SE	Mean	SE		Da	Ge	Sum of Da and Ge
13-001	Potatoes, new, raw	Dec 97	72	75	132	8	304	47	0·190	25·1	57·9	83
13-003	Potatoes, new, cooked	Dec 97	75	78	55	12	147	13	0·186	10·2	27·3	37·5
13-009	Potatoes, old, raw	Dec 97	79	83	28	5	47	12	1·186	5·2	8·7	13·9
13-014	Potatoes, old, cooked	Dec 97	72	79	5		37	0	0·175	0·9	6·5	7·4
nc	Potatoes, red, cooked	Jun 98			nd		nd			nd	nd	
nc	Potatoes, red, raw	Mar 98			nd		nd			nd	nd	
13-043	Baked beans	Jul 97		102	nd		228	64	0·278	nd	63·5	63·5
13-044	Baked beans, heated	Jun 97	93	76	51	11	201	94	0·276	14·1	55·3	69·4
13-052	Beansprouts, mung, raw	Feb 98	88	77	39×10^3	329	68×10^3	3134	0·054	2066	3670	5736
13-064	Broad beans, raw	Oct 97	72	96	74	8	59	12	0·183	13·6	10·8	24·4
13-066	Broad beans, cooked	Oct 97			nd		nd			nd	nd	
13-070	Butter beans, dried, raw	Mar 98	82	73	305	16	847	25	1·000	305	847	1152
13-071	Butter beans, dried, cooked	Mar 98	76	78	185	6	65	6	0·375	69·4	24·4	93·8
13-074	Chickpeas, whole, dried, raw	Mar 98	71	87	475	19	766	21	1·000	475	766	1241
13-075	Chickpeas, whole, dried, cooked	Mar 98		83	nd		578	66	0·418	nd	241·4	241·4
13-081	French beans, raw	Feb 98	96	87	1198	26	3372	67	0·084	100·8	283·6	384·4
13-083	French beans, cooked	Dec 97	78	77	1151	189	3075	124	0·083	95·4	254·9	350·3
13-085	French sliced beans, frozen, cooked	Mar 98	92	81	686	42	1938		0·097	66·5	188	254·5
nc	French sliced beans, frozen, raw	Mar 98	85	88	479	5	1362		0·097	46·5	132·1	178·6
13-086	Haricot beans, raw	Mar 98	71	73	131	13	105	30	1·000	131	105	236
13-087	Haricot beans, cooked	Apr 98	93	91	186	17	173	7	0·425	79	73·5	152·5
13-091	Lentils, red, split, dried, raw	Mar 98	72	87	139	32	84	27	1·000	139	84	223
13-092	Lentils, red, split, dried, cooked	Mar 98	83	99	50	2	93	29	0·357	17·8	33·2	51
13-096	Mung beans, dried, raw	Apr 98	70	86	50	1	106	7	1·000	50	106	156
13-099	Mung beans, dried, cooked	Apr 98	72	80	154	43	399	36	0·373	57·4	148·8	206·2
13-109	Red kidney beans, raw	Mar 98	104	109	191	116	209	9	1·000	191	209	400
13-110	Red kidney beans, cooked	Mar 98	73	89	311	38	221	8	0·419	130·2	92·5	222·7
13-112	Runner beans, Dunn IHRM, raw	Mean§	96	95	23×10^3	532	31×10^3	2994	0·073	1672	2260	3932
13-112	Runner beans, raw	Jan 98	76	77	13×10^3	396	15×10^3	508	0·081	1036	1183	2219
13-114	Runner beans, cooked	Jan 98	72	78	7080	281	8860	616	0·056	396	495·9	891·9
13-115	Soyabeans, dried, raw	Apr 98	101	101	583×10^3	62×10^3	838×10^3	71×10^3	1·000	583×10^3	838×10^3	1421×10^3
13-116	Soyabeans, dried, cooked	Apr 98	79	74	411×10^3	36×10^3	839×10^3	98×10^3	0·375	154×10^3	315×10^3	469×10^3
nc	Miso	Aug 97	88	79	594×10^3	5×10^3	673×10^3	9×10^3	0·998	593×10^3	672×10^3	1265×10^3
17-081	Textured vegetable protein, raw	Oct 97	96	103	248×10^3	23×10^3	438×10^3	77×10^3	1·000	248×10^3	438×10^3	686×10^3
13-127	Peas, fresh, raw	Nov 97		94	nd		232	47	0·233	nd	54·1	54·1
13-129	Peas, fresh, cooked	Nov 97			nd		nd			nd	nd	
13-130	Peas, dried, raw	Apr 98	89	74	41	9	144	16	1·000	41·0	144	185
13-131	Peas, dried, cooked	Mar 98	91	74	32	10	381	9	0·375	12·0	142·9	154·9
13-132	Peas, frozen, raw	Apr 98	84	96	nd		268	2	0·208	nd	55·7	55·7
13-134	Peas, frozen, cooked	Jul 97	101	83	nd		215	40	0·194	nd	41·7	41·7
nc	Peas processed, tinned	Oct 97		89	nd		70		0·271	nd	19·0	19·0
13-141	Split peas, green, raw	Mar 98	76	70	130	4	347	16	1·000	130	347	477
13-142	Split peas, green, cooked	Mar 98		70	nd		128	10	0·408	nd	52·3	52·3
13-157	Asparagus, raw	Oct 97	96	93	36	15	79	1	0·079	2·8	6·2	9·0
13-158	Asparagus, cooked	Oct 97			nd		nd			nd	nd	0
13-161	Aubergine, raw	Oct 97	88	75	8	23	99	14	0·074	0·6	7·3	7·9
nc	Aubergine, cooked	Sep 97	105	90	50	37	105	27	0·054	2·7	5·7	8·4

Table 1. *continued*

M&W code†	Vegetable	Date of assay	Recovery of internal standards (%)		Concentration (μg/kg dry weight)‡ (Da)		Concentration (μg/kg dry weight)‡ (Ge)		DM	Mean concentration (μg/kg wet weight)‡		
			Da	Ge	Mean	SE	Mean	SE		Da	Ge	Sum of Da and Ge
13-166	Beetroot, precooked	Nov 97			nd		nd			nd	nd	
13-170	Calabrese, raw	Aug 97			nd		nd			nd	nd	
13-172	Calabrese, cooked	Aug 97			nd		nd			nd	nd	
13-174	Sprouting broccoli, raw	Jun 98	101	85	69	10	29	1	0·140	9·6	4·1	13·7
13-176	Sprouting broccoli, cooked	Jun 98	73	73	72	50	94	6	0·109	7·8	10·2	18·0
13-177	Brussels sprouts, raw	Jul 97			nd		nd			nd	nd	
13-179	Brussels sprouts, cooked	Jul 97			nd		nd			nd	nd	
13-183	Cabbage, green, raw	Dec 97			tr		tr			tr	tr	
13-185	Cabbage, green, cooked	Dec 97			tr		tr			tr	tr	
13-190	Cabbage, red, raw	Jul 97			nd		tr			nd	tr	
13-191	Cabbage, red, cooked	Sep 97		76	nd		276	14	0·088	nd	24·4	24·4
13-192	Cabbage, Savoy, raw	Jul 97		105	nd		289	68	0·100	nd	28·8	28·8
13-193	Cabbage, Savoy, cooked	Jul 97			nd		nd			nd	nd	
13-196	Cabbage, white, raw	Mar 98		88	nd		32	0	0·092	nd	2·9	2·9
13-197	Cabbage, white, cooked	Mar 98		78	nd		84	2	0·073	nd	6·1	6·1
13-200	Carrots, old, raw	Aug 97			nd		nd			nd	nd	
13-202	Carrots, old, cooked	Aug 97			nd		nd			nd	nd	
nc	Carrots, tinned	Feb-98			nd		nd			nd	nd	
13-215	Cauliflower, raw	Aug 97			nd		nd			nd	nd	
13-217	Cauliflower, cooked	Aug 97			nd		nd			nd	nd	
13-219	Celeriac, raw	Jul 97		106	nd		442	81	0·101	nd	44·7	44·7
13-220	Celeriac, cooked	Oct 97		73	nd		420	76	0·081	nd	33·9	33·9
13-221	Celery, raw	Jul 97			nd		nd			nd	nd	
13-222	Celery, cooked	Jul 97			nd		nd			nd	nd	
13-225	Chicory, raw	Jan 98	89		9		nd		0·053	0·5	nd	0·5
13-230	Courgette, raw	Aug 97			nd		nd			nd	nd	
13-231	Courgette, cooked	Aug 97			nd		nd			nd	nd	
13-233	Cucumber, with skin	Oct 97		71	nd		77	14	0·037	nd	2·9	2·9
nc	Cucumber, flesh only	Oct 97		81	nd		62	10	0·038	nd	2·4	2·4
13-241	Fennel, raw	Aug 97			nd		nd			nd	nd	
13-242	Fennel, cooked	Aug 97			nd		nd			nd	nd	
13-263	Leeks, raw	Sep 97			nd		nd			nd	nd	
13-265	Leeks, cooked	Sep 97			nd		nd			nd	nd	
13-266	Lettuce, round	Dec 97			nd		nd			nd	nd	
13-269	Lettuce, Iceberg	Dec 97			nd		nd			nd	nd	
13-274	Marrow, raw	Dec 97			nd		nd			nd	nd	
13-276	Marrow, cooked	Dec 97			nd		nd			nd	nd	
13-284	Mushroom, common, raw	Jul 97	83	82	12	6	209	21	0·077	0·9	16·0	16·9
13-285	Mushroom, common, cooked	Jun 97	71	99	nd		182	54	0·085	nd	15·4	15·4
13-300	Okra, raw	Jun 98	74	72	253	13	112	3	0·188	47·6	21·1	68·7
13-304	Onion, raw	Jan 98			nd		nd			nd	nd	
13-306	Onion, cooked	Jan 98			nd		nd			nd	nd	
13-312	Parsnip, raw	Jul 97			nd		nd			nd	nd	
13-313	Parsnip, cooked	Jul 97			nd		nd			nd	nd	
13-318	Pepper, green	Feb 98			nd		nd			nd	nd	
13-323	Plaintain, raw	Oct 97			nd		nd			nd	nd	
13-324	Plaintain, cooked	Oct 97			nd		nd			nd	nd	
13-326	Pumpkin	May 98	74		262	79	nd		0·047	12·2	nd	12·2

Table 1. *continued*

M&W code†	Vegetable	Date of assay	Recovery of internal standards (%)		Concentration (μg/kg dry weight)‡ (Da)		(Ge)		DM	Mean concentration (μg/kg wet weight)‡		
			Da	Ge	Mean	SE	Mean	SE		Da	Ge	Sum of Da and Ge
13-330	Radish, raw	Nov 97	80	88	nd		45	4	0·051	nd	2·3	2·3
13-343	Spinach, raw	Nov 97			nd		nd			nd	nd	
13-345	Spinach, cooked	Nov 97			nd		nd			nd	nd	
13-348	Spring greens, raw	Jul 97			nd		nd			nd	nd	
13-350	Spring greens, cooked	Jul 97			nd		nd			nd	nd	
13-352	Salad onions	Jul 97		100	nd		187	20	0·094	nd	17·6	17·6
13-359	Swede, raw	Aug 97			nd		nd			nd	nd	
13-361	Swede, cooked	Aug 97			nd		nd			nd	nd	
13-362	Sweet potato, raw	Aug 97			nd		nd			nd	nd	
13-364	Sweet potato, cooked	Aug 97			nd		nd			nd	nd	
13-368	Sweetcorn, on cob, raw	Dec 97	93	73	nd		134	2	0·235	nd	31·5	31·5
13-370	Sweetcorn, on cob, cooked	Jun 98	75	86	29	10	45	8	0·235	6·8	10·6	17·4
nc	Sweetcorn, tinned or frozen, cooked	Jun 98	93	77	40	5	66	2	0·262	10·5	17·3	27·8
nc	Sweetcorn, tinned or frozen, raw	Dec 97	79	82	74	25	59	7	0·308	22·8	18·2	41·0
13-384	Tomato, raw	Aug 97	72	80	nd		480	31	0·068	nd	32·5	32·5
13-389	Turnip, raw	Mar 98	91	79	165	15	47	3	0·091	15·0	4·3	19·3
13-391	Turnip, cooked	Mar 98	77	87	94	9	72	78	0·077	7·3	5·6	12·9
13-396	Salad cress	Oct 97			nd		nd			nd	nd	
13-396	Watercress	Nov 97			nd		nd			nd	nd	

M&W code, food coding as in Holland *et al.* (1991); nc, not coded in Holland *et al.* (1991); nd, not detected; tr, trace.
* For details of procedures for sampling and analysis, see p. 718.
† Items are listed in the order of their appearance in Holland *et al.* (1991).
‡ Concentrations adjusted to correct for any losses of the internal standards; for details, see p. 724.
§ This food was separately analysed twenty-four times over a period of 2 years and the values shown are an average of those assays.

Σχήμα Α: Σύγκριση των συγκεντρώσεων δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης σε ποικίλα λαχανικά και προϊόντα λαχανικών (Liggins et al. 2000).

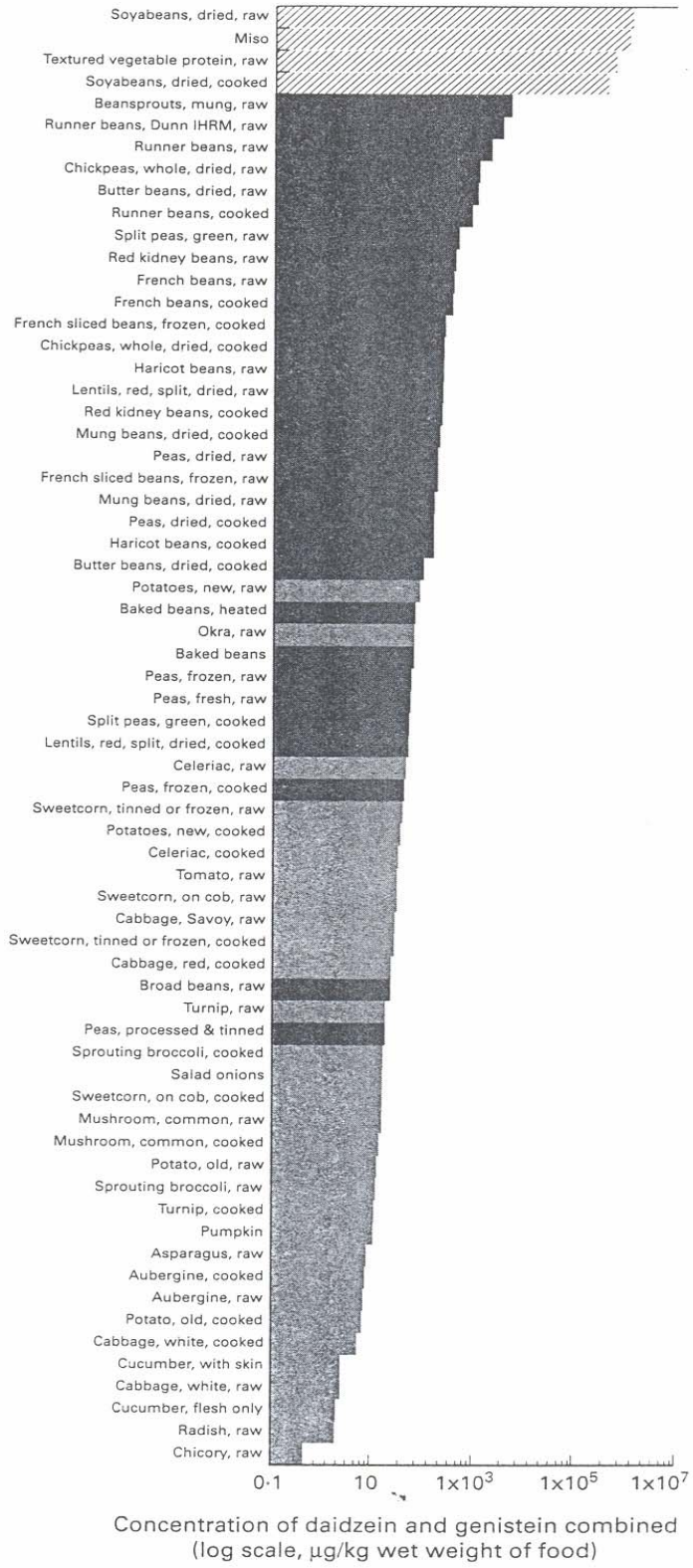


Fig. 1. Comparison of the combined concentrations of daidzein and genistein in different foods vegetables and vegetable products commonly used in Europe. (▨), Soyabean products; (■) legumes; (□), other vegetables.

Πίνακας Β: Συγκεντρώσεις δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης σε φρούτα και ξηρούς καρπούς (Liggins et al. 2000).

Table 1 Daidzein and genistein content of fruits and nuts

			Recovery of internal standards (%)		Concentration per dry weight (μg/kg)					Mean concentration per wet weight (μg/kg)		
					Daidzein		Genistein					
Food (M&W code[1])		Assayed	Da	Ge	Mean	SE	Mean	SE	Dry matter	Da	Ge	Sum of Da and Ge
14-002	Apples, cooking, raw	Jan-98			nd		nd			nd	nd	
14-005	Apples, cooking, cooked	Jan-98			nd		nd			nd	nd	
14-017	Apple, Cox with skin	Jul-97			nd		nd			nd	nd	
nc	Apple, Cox no skin	Jul-97			nd		nd			nd	nd	
14-019	Apple, golden delicious with skin	Jan-98			nd		nd			nd	nd	
nc	Apple, golden delicious without skin	Jan-98			nd		nd			nd	nd	
14-021	Apple, Granny smith with skin, raw	Jul-97			nd		nd			nd	nd	
nc	Apple, Granny smith without skin	Jul-97			nd		nd			nd	nd	
14-023	Apple, red with skin	Jan-98			nd		nd			nd	nd	
nc	Apple, red without skin	Jan-98			nd		nd			nd	nd	
14-025	Apricots, raw	Jan-98			nd		nd			nd	nd	
14-031	Apricots, dried	Jun-98	82		50	3	nd		0.855	42.7	nd	42.7
14-034	Apricots, tinned	Feb-98			nd		nd			nd	nd	
14-037	Avocado	Jul-98			nd		nd			nd	nd	
14-045	Banana	Jul-98			nd		nd			nd	nd	
14-061	Cherries, raw	Jan-98			nd		nd			nd	nd	
14-071	Clementines	Mar-98	96	104	27	2	270	119	0.107	2.9	29	31.9
14-073	Cranberries	Aug-97	75	89	51	12	213	14	0.144	7.3	30.6	37.9
14-074	Currants	May-98	96	77	560	8	2167	2	0.823	461	1783.8	2244.8
14-085	Dates, dried	Jun-98	103	100	18	1	54	6	0.956	17.2	51.6	68.8
14-091	Figs, raw	Mar-98	87	91	28	20	77	3	0.180	5	13.9	18.9
14-092	Figs, dried	Apr-98	84	86	19	5	45		0.933	17.7	42	59.7
14-097	Fruit cocktail in syrup	Mar-98	103	80	nd		17		0.184	nd	3.1	3.1
14-100	Gooseberries, raw	Jan-98			nd		nd			nd	nd	
14-107	Grapefruit, tinned in natural juice	Feb-98			nd		nd			nd	nd	
14-109	Grapes, black	Oct-97			nd		nd			nd	nd	
14-109	Grapes, white	Oct-97			nd		nd			nd	nd	
14-111	Greengage, raw	Jan-98			nd		nd			nd	nd	
14-123	Kiwi fruit	Feb-98			nd		nd			nd	nd	
14-144	Lyches, tinned in syrup	Feb-98			nd		nd			nd	nd	
14-147	Oranges, mandarin, tinned	Feb-98			nd		nd			nd	nd	
14-148	Mango, raw	Oct-97	89	92	251	41	212	52	0.153	38.3	32.3	70.6
14-150	Mango tinned in syrup	Mar-98	109	75	39	13	54		0.235	9.2	12.7	21.9
14-156	Melon, canteloupe	Mar-98		107	nd		42		0.103	nd	4.3	4.3
14-159	Melon, galia	Jun-98	81	90	10	3	46	5	0.169	1.7	7.8	9.5
14-162	Melon, yellow honeydew	Dec-97	81	98	151	17	117	77	0.097	14.6	11.3	25.9
14-165	Watermelon	Oct-97			nd		nd			nd	nd	
14-171	Nectarines	Jan-98			nd		nd			nd	nd	
14-173	Olives, tinned in brine	Apr-98			nd		nd			nd	nd	
14-175	Oranges	Jul-97			nd		nd			nd	nd	
14-178	Passion fruit	Feb-98	80	86	245	18	403	11	0.268	65.8	108.2	174
14-183	Peach, raw	Jan-98			nd		nd			nd	nd	
14-189	Peaches, tinned in syrup	Mar-98	76	88	32		59	1	0.169	5.4	10	15.4
14-198	Pears, tinned in light syrup	Apr-98	75	82	10	2	52	3	0.200	2	10.4	12.4
nc	Pears, comice without skin	Mar-98	71	76	3		54	14	0.136	0.4	7.3	7.7
14-201	Pears, conference with skin	Mar-98			nd		nd			nd	nd	
nc	Pears, conference without skin	Mar-98			nd		nd			nd	nd	
14-208	Pineapple	Feb-98			nd		nd			nd	nd	
14-211	Pineapple, tinned in own juice	Feb-98			nd		nd					
14-213	Plums, red, raw	Mar-98			nd		nd			nd	nd	
14-220	Plums, Victoria, raw	Mar-98	105	73	5		551	24	0.135	0.7	74.4	75.1

(continued on next page)

Table 1 *(Continued)*

Food (M&W code[1])		Assayed	Recovery of internal standards (%)		Concentration per dry weight (μg/kg)				Dry matter	Mean concentration per wet weight (μg/kg)		
					Daidzein		Genistein					
			Da	Ge	Mean	SE	Mean	SE		Da	Ge	Sum of Da and Ge
14-226	Pomegranates	Mar-98			nd		nd			nd	nd	
14-239	Prunes, dried, raw	Apr-98	74	93	52	33	104	35	0.820	42.6	85.3	127.9
nc	Prunes, dried, cooked	Apr-98	73	84	153	22	663	115	0.201	30.8	133.3	164.1
14-242	Raisins, California	May-98	80	98	690	24	1458	40	0.855	589.9	1246.5	1836.4
14-244	Raspberry, raw	Jan-98			nd		nd			nd	nd	
14-246	Rhubarb, cooked	Jul-97			nd		nd			nd	nd	
14-248	Raspberry, tinned in syrup	Jul-98			tr		tr			tr	tr	
14-252	Rhubarb, raw	Jul-97			nd		nd			nd	nd	
14-257	Satsumas	Mar-98	89		80	8	nd		0.102	8.2	nd	8.2
14-260	Strawberry, raw	Oct-97	79	102	45	30	457	108	0.101	4.5	46.1	50.6
14-262	Strawberries, tinned in syrup	Jul-98		88	nd		223	101	0.179	nd	40	40
14-277	Lemon juice, fresh	Jul-97			nd		nd			nd	nd	
14-283	Orange juice	Mar-98			nd		nd			nd	nd	
14-801	Almonds	Feb-98			nd		nd			nd	nd	
14-808	Brazil nut	Apr-98	83		12	2	nd		0.987	11.8	nd	11.8
14-813	Chestnuts, raw	Jun-98	72	96	79	17	59	5	0.498	39.3	29.4	68.7
nc	Chestnuts, cooked	Apr-98		77	nd		7		0.587	nd	4.1	4.1
14-816	Coconut, fresh	Jun-98	109	70	128	1	185	4	0.594	76	109.9	185.9
14-818	Coconut, desiccated	Mar-98			nd		nd			nd	nd	
14-821	Hazelnuts	Apr-98	93	70	58	2	194	28	0.952	55.2	184.7	239.9
14-829	Peanut butter	Apr-98		72	nd		98	1	1.000	nd	98	98
14-831	Peanuts, fresh	Apr-98	80	84	77	4	158	2	1.000	77	158	235
14-833	Peanuts, dry roasted	Apr-98	82	75	37	3	172	3	1.000	37	172	209
14-844	Sesame seeds	Apr-98	101	82	37	6	17	4	1.000	37	17	54
14-845	Sunflower seeds	Apr-98			nd		nd			nd	nd	
14-850	Walnuts	Apr-98			nd		nd			nd	nd	
nc	Fruit pie filling; bramley apple and raspberry, tinned	Jul-98	84		13	2	nd		0.212	2.8	nd	2.8
nc	Fruit pie filling; black cherry, tinned	Jul-98	73	77	10	3	182	3	0.255	2.6	46.4	49
nc	Fruit pie filling; black currant, tinned	Jul-98	70		6	1	nd		0.265	1.6	nd	1.6
nc	Fruit pie filling; red cherry, tinned	Jul-98			nd		nd			nd	nd	

The foods are listed in their order of appearance in Holland *et al.* (i.e., M & W code).[12] The month and year in which they were assayed is stated. The percentage recovery of the internal standards is indicated, but the analytical results presented have been corrected for losses of the internal standards. Da–daidzein. Ge–genistein. nc–not coded in Holland *et al.*[12] nd–not detected in this food. tr–compound detected in unquantifiable trace concentration.

Σχήμα Β: Σύγκριση των συγκεντρώσεων δαϊζδεΐνης και γενιστεΐνης σε ποικίλα φρούτα (γκρι) και ξηρούς καρπούς (μαύρο) (Liggins et al. 2000).

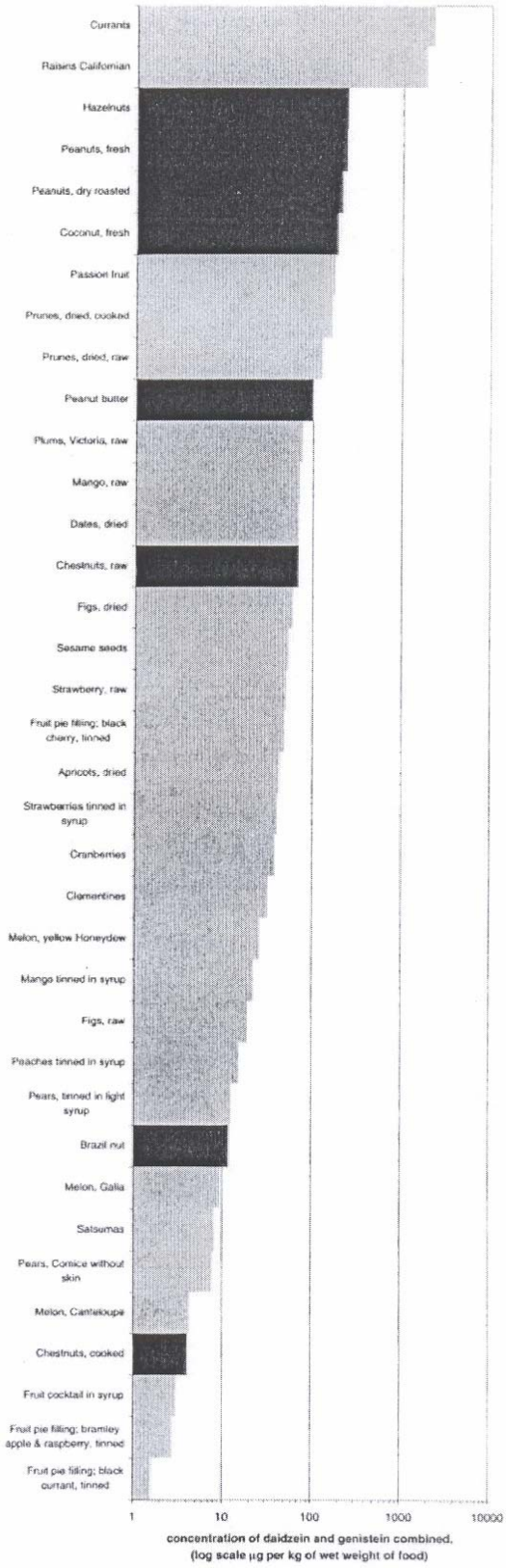


Figure 1 Comparison of the combined concentration of daidzein and genistein in different fruit (grey) and nuts (black).

Πίνακας Γ: Παραγωγή λιγνανών (εντερολακτόνης και εντεροδιόλης) από ποικίλα τρόφιμα (Thompson et al. 1991, cited in Li-Quan Wang 2002).

L.-Q. Wang / J. Chromatogr. B 777 (2002) 289–309

Table 1
Mammalian lignan production from different foods[a] [21]

Foods	As-is (wet) basis		Foods	As-is (wet) basis	
	ENL	END		ENL	END
Oilseeds			Vegetables		
Flaxseed meal	8517	59 024	Garlic	81	326
Flaxseed flour	11 818	40 861	Squash	271	110
Rapeseed	975	155	Asparagus	136	238
Soybean	693	170	Carrot	284	62
Sunflower	201	195	Sweet potato	240	55
Peanuts	105	56	Broccoli	161	65
Cereal brans			Leek	24	174
Oat bran	265	386	Green pepper	162	33
Corn bran	168	480	Turnip	78	78
Wheat bran	269	298	Cauliflower	68	77
Barley bran	243	140	Beet	109	26
Rice bran	134	47	Snow pea	60	62
Whole cereals			Iceberg lettuce	58	63
Triticale	519	405	Onion	11	101
Wheat	411	79	String bean	40	56
Purple rice	340	80	Potato	33	50
Oats	251	89	Brussels sprout	57	18
Brown rice	169	128	Boston lettuce	27	47
Sorghum	199	56	Cabbage	30	34
Corn	199	31	Bok choy	44	14
Rye	69	91	Mushroom	43	13
Barley	41	74	Watercress	20	28
Dried whole legumes			Radish	25	10
Lentil	789	998	Celery	17	14
Kidney bean	329	232	Cucumber	18	11
Alfalfa seed	328	170	Tomato	11	10
Navy bean	352	108	Fiddle head	14	7
Faba bean	129	88			
Yellow pea	169	44	Legume hulls		
Pinto bean	154	47	Navy bean	370	165
Fruits			Lentil	278	119
Pear	112	69	Kidney bean	299	91
Plum	47	98	Field pea bean	262	49
Strawberry	41	38	Faba bean	143	79
Banana	55	14			
Orange	27	12	Dried seaweeds		
Cantaloupe	21	16	Mekuba	167	980
Apple	34	1	Hijiki	266	387

[a] Values expressed as μg/100 g sample.

Πίνακας Δ: Συγκεντρώσεις φυτοοιστρογόνων σε επιλεγμένα τρόφιμα, όπως αναγράφονται αυτές στο ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων EPIQ-FFQ (Boker et al. 2002).

APPENDIX A

Concentration of phytoestrogens in selected foods items (EPIC-FFQ)—the basis for scoring[1,2]

	Isoflavones				Coumestans	Lignans precursors		Lignans	
	Daidzein	Genistein	Formonon.	Biochanin A	Coumesterl	Mat.	Secoiso.	Enterolac.	Enterodiol
	mg of phytoestrogens/100 g product								
Breakfast cereals and other grains									
Muesli	1.33768058	1.373014	0.000852	0.0000003	0.0000003	0.21899621	0.02116253	0.029130	0.032965
Cornflakes						0	0.000521331	0.010348	0.001612
Grains: sorghum and buckwheat								0.199	0.056
White rice	0	0				0.00001	0.001536		
Brown rice								0.169	0.128
Wheat pasta	0.0000083	0.0000083				0.00645408			
Whole wheat pasta								0.34113	0.06557
Bread and baked goods									
White bread	0.0000058	0.0000058				0.00451008			
Whole grain bread	0.01	0.01	0.0024			0.0707	0.483006		
Brown bread	0.002014	0.002809	0.000636						
White currant & raisin bread	0.0000058	0.0000058				0.00857133	0.016587		
Rye bread	0.00001	0.00001	0.00001					0.064	0.023
Rolls, croissants	0.0000058	0.0000058				0.00451008			
Crisp bread	0.01	0.01	0.002842	0.00001	0.00001				
Biscuits, toasts, crackers	0.0000058	0.0000058				0.00451008			
Breakfast rye cake	0	0				0.022608			
Apple cake	0.00125196	0.0000073				0.00139968	0.0000055	0.0187	0.00055
Fruit cake	0.000480884	0.0018533				0.00101088	0.000372	0.03030	0.0492
Cookie filled with almonds	0.00110308	0.0000034				0.00264674	0.0294164		
Fruit									
Apples	0.00227292	0.00001				0	0.00001	0.034	0.001
Pears	0.0000486	0.0008748						0.112	0.069
Oranges	0	0				0	0.01129	0.027	0.012
Mandarins	0.0003	0.0029				0	0.01129	0.027	0.012
Grapefruit						0	0.0199782		
Citrous fruit, mixed	0	0				0	0.01286735	0.00891	0.00396
Banana	0	0				0	0.00298	0.055	0.014
Strawberries	0.0005	0.0046				0.00971564	0.1866	0.041	0.038
Grapes									
Peaches (proxy: plum)	0.0005	0.0010				0	0.00074	0.047	0.098
Cherries (proxy: plum)	0	0				0	0.00074	0.047	0.098
Kiwi						0.00137295	0.1971285		
Melon	0.0015	0.0004				0	0.01227935	0.021	0.016
Watermelon						0.000187	0.00425		
Vegetables									
Potatoes, fries	0.0010	0.0027				0.0015462	0.02577	0.033	0.050
Garlic	0.00065279	0.0009364				0.0162	0.1713	0.081	0.326
Regular lettuce								0.0425	0.055
Cucumber	0	0.0003				0.00001	0.001004	0.018	0.011
Tomato	0.0033	0				0.00032175	0.0025542	0.011	0.010
Carrots	0.00019968	0.00021216				0.000356928	0.02396	0.284	0.062
Cabbage	0.00001	0.0029				0.00001	0.00624	0.03	0.034
Red cabbage	0.000495	0.0029	0.001089			0.00001	0.013959	0.030	0.034
Cauliflower	0.0004225	0.0007605				0.00001	0.0081965	0.068	0.077
Broccoli	0.000468	0.000624			0.000624	0.001794	0.032292	0.161	0.065
Brussels sprouts								0.057	0.018
Green pepper	0	0				0.000553	0.009243	0.162	0.033
Red pepper						0	0.0040685		
Chicory	0.0005	0				0.000825	0.009625		
Mushrooms	0.0016564	0.009594				0.0083	0	0.043	0.013
Green regular beans	0	0	0.01455	0.00001	0				
Green string beans								0.04	0.056
Red beet	0	0						0.109	0.026
Spinach (proxy: beet)								0.109	0.026
Endive (proxy: chicory)	0.0005	0				0.000825	0.009625		
Onion	0	0				0.000832	0.008632	0.011	0.101
Leek								0.024	0.174

APPENDIX A *(Continued)*

Concentration of phytoestrogens in selected foods items (EPIC-FFQ)—the basis for scoring[1,2]

	Isoflavones				Coumestans	Lignans precursors		Lignans	
	Daidzein	Genistein	Formonon.	Biochanin A	Coumesterl	Mat.	Secoiso.	Enterolac.	Enterodiol
	mg of phytoestrogens/100 g product								
Legumes									
Green peas	0.0490383	0.0460719				0.00001	0.013		
Marrowfat peas (proxy: peas)	0.0490383	0.0460719				0.00001	0.013		
Brown & white beans	0.00511368	0.24827022	0.2706	0.00424465	0				
Lentils	0.0093496	0.017081	0.01	0.0063829	0.0061132	0.00001	0.006293		
Dried green peas	7.3	0.00001	0.0043512	0.02664	0.00001				
Broad beans	0.0286518	0.0011	0.035139	0.00001	0				
Soy foods									
Vegetarian schnitzel		1							
Tempeh	27.3	39.8							
Tofu	25.34	42.15							
Nuts									
Almonds	0.003792	0				0.00001	0.101436		
Cashew						0.0039052	0.2509		
Hazelnuts	0.0055	0.0185				0.003956	0.117691		
Walnuts	0.004893	0.00001				0.004893	0.1595		
Mixed nuts	0.009823	0.064625	0.0025	0.0025	0	0.0019703	0.20075675	0.02625	0.014
Peanuts	0.03	0.24	0.01	0.01	0	0.00001	0.333	0.105	0.056
Fruit and vegetables juices									
Apple juice	0.00227292	0.00001				0	0.00001	0.034	0.001
Orange juice	0	0				0	0.01129	0.027	0.012
Grapefruit juice						0	0.0199782		
Currant juice	0	0				0.00429875	0.0250368		
Raspberry juice	0.0000036	0.0000036				0	0.010008		
Mixed fruit drinks	0.000279861	0.000067585				0	0.00178888	0.009744	0.0079275
Tomato juice	0.00495	0				0.00048255	0.0038313	0.0165	0.015
Beetroot juice	0	0				0.00001	0.0220108		
Carrot juice	0.000198602	0.000211039				0.000355115	0.0238402	0.28258	0.06169
Hot drinks									
Coffee	0.00102168	0.00044892	0.00120747				0.01108368		
Black tea	0.0001947					0.0012095	0.0077644		
Alcoholic drinks									
Beer	0.0000646	0.0001821	0.0004024	0.0001376	0				
White wine	0	0	0	0	0	0.0022	0.0174		
Red wine	0	0	0	0	0	0.0098	0.1280		
Port (proxy: red wine)	0	0	0	0	0	0.0098	0.1280		
Whiskey	0	0	0	0	0				
Red currant gin	0	0					0.00598386		
Spreads, sweet spreads and sauces									
Jam	0.000123333	0.00069066				0.00119825	0.0231965	0.01665	0.02886
Syrup	0.000422763	0.00000186				0.0000014	0.0025623	0.006324	0.000186
Peanut butter	0.0285	0.228	0.0095	0.0095	0	0.00001	0.31635	0.09975	0.0532
Peanut sauce	0.0954	0.1452	0.0038	0.0038	0	0.00009552	0.12910352	0.04111	0.03239
Spaghetti sauce	0.0023764	0.0000004	0	0	0	0.00065918	0.00304750	0.00946	0.02134
Apple mousse	0.00204562	0.000009				0	0.000009	0.0306	0.0009
Mixed dishes									
Soup + vegetables	0.000016185	0.000403598	0.00000026	0.00000026	0	0.000031671	0.001137301	0.011102	0.012220
Soup + legumes	0.001022736	0.049654	0.05412	0.000848912	0	0.0000416	0.0004316	0.00175	0.01375
Pizza	0.001289756	0.00038626				0.002395047	0.000945054	0.00579	0.00422
Spring roll	0.0000057	0.00004103	0.0000013	0	0	0.00334508	0.0008736	0.00612	0.01868

[1] A reference list is available as supplemental data in the online posting of this paper at www.nutrition.org.
[2] ↑, from page 28.

Πίνακας Ε: Συγκεντρώσεις φυτοοιστρογόνων σε τρόφιμα, όπως αναγράφονται αυτές στο ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων Willet (de Kleijn et al. 2001).

TABLE 2

Phytoestrogen concentrations of food items in the Willett food-frequency questionnaire

Food name as in Willett food-frequency questionnaire[1]	Food name as in literature (Reference)	*g/100 g dry weight*	Daidzein	Genistein	Formo-nonetin	Biochanin A	Cou-mestrol	Matai-resinol	Secoiso—lariciresinol
					mg/100 g or g/L				
Prunes	Plums (14)	67.6 (40)	0	0	0	0	0	0	0.005
Bananas	Bananas (14)	29.8	0	0	0	0	0	0	0.010
Cantaloupe	Cantaloupe (17)	6.7	0	0	0	0	0	0	0.1839
Watermelon	Watermelon[2]	8.5 (40)	—	—	—	—	—	0.0022	0.050
Fresh apples or pears	Apples (17)	18.3	0.0124	trace	0	0	0	0	trace
Apple juice or cider	Apples (17)	18.3	0.0124	trace	0	0	0	0	trace
Oranges	Oranges (17)	14.7	0	0	0	0	0	0	0.0768
Orange juice	Oranges (17)	14.7	0	0	0	0	0	0	0.0768
Grapefruit	Grapefruit[2]	9.9 (40)	—	—	—	—	—	0	0.2193
Grapefruit juice	Grapefruit[2]	9.9 (40)	—	—	—	—	—	0	0.2193
Other fruit juice	Cranberry (8)	14.5	0	0	0	0	0	0	1.510
Strawberries	Strawberries (17)	12.4	trace	trace	0	0	0	0.0781	1.5
Blueberries	Blueberries (14)	26.6	0	0	0	0	0	0	0.835
Peaches, apricots or plums	Plums (14)	14.8	0	0	0	0	0	0	0.005
Tomatoes	Tomatoes (17)	5.0	0	0	0	0	0	0.0065	0.0516
Tomato juice	Tomatoes (17)	6.0	0	0	0	0	0	0.0065	0.0516
Tomato sauce	Tomatoes (17)	11.0	0	0	0	0	0	0.0065	0.0516
Red chili sauce	Red peppers[2]	25.0 (40)	—	—	—	—	—	0	0.0515
Tofu or soybeans	Tofu (15)		25.34[3]	42.15	ND	ND	ND	0	0
String beans	Green beans fresh; boiled (15)	36.8 (40)	ND	ND	0.0001[3]	0.000001[3]	ND	0.04[4]	0.056[4]
Broccoli	Broccoli (14)	7.8	0.006	0.008	0	0	0.008	0.023	0.414
Cabbage or coleslaw	Red cabbage (14)	18.9	0.005	0.014	0.011	0	0	trace	0.141
Cauliflower	Cauliflower (14)	8.5	0.005	0.009	0	0	0	trace	0.097
Carrots, raw	Carrots (8, 14)	12.5	0.0016	0.0017	0	0	0	trace	0.370
Carrots, cooked	Carrots (8)	12.5	0.0016	0.0017	0	0	0	0.00286	0.192
Corn	Corn[2]	18.6 (40)	0	0	0	0	0	0	0.0416
Peas or lima beans	Peas (17)	92.7	0.0529	0.0497	0	0	0	0	0.013
Mixed vegetables	corn (17)	18.6 (40)	0	0	0	0	0	0	0.0416
	peas (17)	92.7	0.0529	0.0497	0	0	0	0	0.013
	carrots (8)	12.5	0.0016	0.0017	0	0	0	0.00286	0.192
Beans or lentils	Navy beans (haricot) (41)	36.8 (40)	0.0137	0.408	0	0.044	0		0.0588
Yellow (winter) squash	Squash (16)		—	—	—	—	—	0.27[14]	0.110[4]
Eggplant, zucchini, summer squash	Zucchini with peel (14)	7.9	0	0	0	0	0	trace	0.817
Yams or sweet potatoes	Yams (16)		—	—	—	—	—	0.24[4]	0.055[4]
Iceberg or head lettuce	Iceberg lettuce (16)		—	—	—	—	—	0.058[4]	0.063[4]
Celery	Celery (17)	27.5	0	0	0	0	0	0.0035	0.1114
Beets	Beetroot (14)	22.5	0	0	0	0	0	trace	0.1
Alfalfa sprouts	Alfalfa sprouts (17, 41, 40)	8.5	0.062	0.005	261	0.124	4.68	0.0007	0.033
Garlic	Garlic (8)	45.0	0.00145	0.00208	0	0	0	0.00362	0.379
Cold breadkfast cereal	Wheat bran (8)		0.0035	0.0069	0	0	0	0	0.110
	Rye bran (8)		0	0	0	0	0	0.167	0.132
Cooked oatmeal	Oatmeal (8)		0	0	0	0	0	0.0003	0.0134
Other cooked breakfast cereal	Wheat bran (8)		0.0035	0.0069	0	0	0	0	0.110
	Rye bran (8)		0	0	0	0	0	0.167	0.132
Dark bread	Nine-grain bread (24)		0.0076	0.0105	0.0024	0	0	0.0110	0.0707
Brown rice	Rice (16)	28.5 (40)	0	0	0	0	0	0.169[4]	0.128[4]
White rice	Rice (17)	28.5 (40)	0	0	0	0	0	trace	0.016
Pasta (spaghetti, noodles)	Spaghetti = 35.8% tomatoes (17)	11.0 (40)	0	0	0	0	0	0.0065	0.0516
	3.7% onions (14)		0	0	0	0	0	0.0080	0.0830

continued

TABLE 2 (*continued*)

Phytoestrogen concentrations of food items in the Willett food-frequency questionnaire

Food name as in Willett food-frequency questionnaire[1]	Food name as in literature (Reference)	*g/100 g dry weight*	Daidzein	Genistein	Formo-nonetin	Biochanin A	Cou-mestrol	Matai-resinol	Secoiso—lariciresinol
					mg/100 g or *g/L*				
French fried potatoes	Potato peeled (14)	74.2	0	0	0	0	0	0.006	0.010
Potatoes, baked, boiled, mashed	Potato peeled (14)	74.2	0	0	0	0	0	0.006	0.010
Potato or corn chips	Potato peeled (14)	74.2	0	0	0	0	0	0.006	0.010
Pizza	Tomatoes (34.6%) (17)	11.0 (40)	0	0	0	0	0	0.0065	0.0516
Decaffeinated coffee	Coffee (18)	1.5 (40)	0.066	0.029	0.078	0	0	0	0.716
Coffee	Coffee (18)	1.5 (40)	0.066	0.029	0.078	0	0	0	0.716
Tea	Black tea (8, 18)	0.3 (40)	0.029	0	0	0	0	0.305	2.418
Beer	Beer (19)		0.0000646	0.0001821	0.0004024	0.0001376	0	—	—
Red wine	Red wine (17)		0	0	0	0	0	0.0098	0.1280
White wine	White wine (17)		0	0	0	0	0	0.0022	0.0174
Cookies, ready made	6% peanuts/ground nut (14, 17, 41)		0.058	0.811	0.0068	0.031	0	trace	0.333
Peanut butter	Peanut/ground nut (14, 17, 41)		0.058	0.811	0.0068	0.031	0	trace	0.333
Popcorn	Corn[2]		0	0	0	0	0	0	0.0416
Nuts	Peanut/ground nut (14, 17, 41)	98.1	0.058	0.811	0.0068	0.031	0	trace	0.333
Bran, added to food	Wheat bran (14)	97.0	0.004	0.007	0	0	0	0	0.110
Wheat germ	Wheat whole grain (8)	97.0	0	0	0	0	0	0.0026	0.0329

[1] Dairy products (skim or lowfat milk, whole milk, crem, sour cream, nondairy coffee whitener, sherbert or ice milk, ice cream, yogurt, cottage or ricotta cheese, cream cheese, other cheese, margarine, butter)/raisins or grapes/brussels sprouts/spinach, raw and cooked/kale, mustard, chard greens/romaine or leaf lettuce/eggs/meat and fisch (chicken/turkey, bacon, hot dogs, processed meat, liver, hamburger, beef, pork, lam, canned tuna fish, dark meat fish, other fish, shrimp, lobster, scallops)/english muffins, bagels, rolls/muffins or biscuits/other grains (bulgar, kasha, couscous)/pancakes or waffles/crackers, triskets, wheat thins/soft drinks (cola or other carbonated beverage, low calorie or with sugar, with or without caffeine, non carbonated beverage with sugar)/liquid/chocolate/candy bars/candy without chocolate/cookies home baked/white bread, including pita bread/liquor/chocolate/candy bars/candy without chocolate/cookies homemade/other sweets (brownies, doughnuts, cake home baked or ready made, sweet roll home baked or ready made, pie home baked or ready made, jams/jellies/preserves/syrup/honey)/crackers, triskets, wheat thins/chowder or cream soup/oil and vinegar dressing/mayonnaise or creamy dressing/mustard, dry or prepared/pepper/salt are all food-items of the Willett food-frequency questionnaire with no data available on phytoestrogen concentrations.

[2] Personal communication.

[3] Wet weight.

[4] Enterolactone (matairesinol)/enterodiol (secoisolariciresinol).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Επιστημονικά άρθρα

2003

1 Adlercreutz Herman. *Phytoestrogens and breast cancer.* Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology 83, 113-118. 2003.

2 Barnes Stephen. *Phyto-oestrogens and osteoporosis: what is a safe dose?* British Journal of Nutrition 89, Suppl. 1 S101-S108. 2003.

3 Beck V, Unterrieder E, Krenn L, Kubelka W, Jungbauer A. *Comparison of hormonal activity of standardized plant extracts for large scale use in hormone replacement therapy.* Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology 84, 259-268. 2003.

4 Bowey E, Adlercreutz H & Rowland I. *Metabolism of isoflavones and lignans by the gut microflora - a study in germ-free and human flora associated rats*. Food and Chemical Toxicology in press. 2003.

5 Coxam Veronique. *Prevention of osteopaenia by phyto-oestrogens: animal studies.* British Journal of Nutrition 89, Suppl. 1, S75-S85. 2003.

6 Davis Susan R. *Menopause: new therapies.* MJA Vol. 178, 634-637. 2003.

7 Duncan Alison M, Phipps William R, Kurzer Mindy S. *Phyto-oestrogens.* Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism Vol. 17, No. 2, pp. 253-271. 2003.

8 Fitzpatrick Lorraine A. *Soy isoflavones: hope or hype.* Maturitas 44 suppl. 1, S21-S29. 2003.

9 Fletcher R.J. *Food sources of phyto-oestrogens and their precursors in Europe.* British journal of Nutrition 89, Suppl. 1,S39-S43. 2003.

10 Migliacio S, Anderson J.J.B. *Isoflavones and skeletal health: are these molecules ready for clinical application?* Osteoporosis International 14, 361-368. 2003.

11 Rowland Ian, Faughnan Marian, Hoey Leane, Wahala Kristina, Gary Williamson, Aedin Cassidy. *Bioavailability of phyto-oestrogens.* British Journal of Nutrition 89, Suppl. 1, S45-S58. 2003

12 Setchell KDR, Faugnan MS, Avades T, Zimmer-Nechemias L. *Comparing the pharmacokinetics of daidzein and genistein using [13C] labelled tracers in premenopausal women.* American Journal of Clinical Nutrition. 2003.

13 Valsta LM, Kilkkinen A, Mazur W, Nurmi T, Lampi A-M, Ovaskainen M-L, Korhonen T, Adlercrutz H & Pietinen P. P*hyto-oestrogen database of foods and average intake in Finland.* British Journal of Nutrition 89, Suppl. 1, S31-S38. 2003.

14 Van Erp-Baart AMJ, Brants HAM, Kiely M, Mulligan A, Turrini A, Sermoneta C, Kilkkinen A & Valsta LM. *Isoflavone intake in four different European countries: the VENUS approach.* British Journal of Nutrition 89, Suppl. 1, S25-S30. 2003.

15 Weggemans RM, Trautwein EA. *Relation between soy-associated isoflavones and LDL and HDL cholesterol concentrations in humans: a meta-analysis.* European Journal of Clinical Nutrition 57(8), 940-6. 2003.

16 Wuttke W, Jarry H, Westphalen S, Christoffel V, Seidlova-Wuttke D. *Phytoestrogens for hormone replacement therapy?* Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology 83, 133-147. 2003

17 Wuttke W, Jarry Hubertus, Becker Tamara, Schultens Alexander. *Phytoestrogens: endocrine disrupters or replacement for hormone replacement therapy?* Maturitas 44 Supp, 1 S9-S20. 2003.

18 Yeung John, Yu Tak-fu. *Effects of isoflavones (soy phyto-estrogens) on serum lipids: a meta-analysis of randomised controlled trials.* Nutrition Journal 2, 15. 2003.

2002

19 Adlercreutz Herman. *Phyto oestrogens and cancer.* Lancet Oncol 3, 364-373. 2002.

20 Albertazzi Paola, Purdie David W. *The nature and utility of the phytoestrogens: a review of the evidence.* Maturitas 42, 173-185. 2002.

21 Arjmandi BH, Khalil DA, Hollis BW. *Soy Protein: Its Effects on Intestinal Calcium Transport, Serum Vitamin D, and Insulin-like Growth Factor-I in Ovariectomized Rats.* Calcified Tissue International. 2002.

22 Arjmandi BH, Smith BJ. *Soy isoflavones osteoprotective role in postmenopausal women: mechanism of action.* Journal of Nutritional Biochemistry 13, 130-137. 2002.

23 Ayman AA. *Phytoestrogens in the Management of the Menopause: Up-To-Date.* Obstetrical and Gynecological Survey Vol. 57. 2002

24 Boker LK, Yvonne T, Van der Schouw, De Kleijn. *Intake of Dietary Phytoestrogens by Dutch Women*. Journal of Nutrition 132, 1319-1328. 2002.

25 Burdette JE, Jianghua Liu Dan Lantvit, Eula Lim. *Trifolium pratense (Red Clover) Exhibits Estrogenic Effects In Vivo in Ovariectomized Sprague-Dawley Rats.* Journal of Nutrition 123, 27-30. 2002.

26 Busby MG, Bloedon LT, Koch MA, Black Tracy, Dix KJ, Heizer WD, Thomas BF, Hill JM, Crowell JA, Zeisel SH. *Clinical characteristics and pharmacokinetics of purified soy isoflavones: single-dose administration to healthy men.* American Journal of Clinical Nutrition 75, 126-36. 2002.

27 Chechi LM. Secreto G, Amore MD. *Efficacy of a soy rich diet in preventing postmenopausal osteoporosis: the Menfis randomized trial.* Maturitas 42, 295-300. 2002.

28 Clarkson TB. *Soy, Soy Phytoestrogens and Cardiovascular Disease.* Journal of Nutrition 132, 566S-569S. 2002.

29 Dewell A, Hollenbeck C, Bruce B. *The effects of soy-derived phytoestrogens on serum lipids and lipoproteins in moderately hypercholesterolemic postmenopausal women.* J Clin Endocrinol Metab 87, 118-121. 2002.

30 Dixon Richard A., Ferreira Daneel. *Genistein.* Phytochemistry 60, 205-211. 2002.

31 Doerge DR., Chang HC. *Inactivation of thyroid peroxidase by soy isoflavones, in vitro and in vivo.* Journal of Chromatography 777, 269-279. 2002.

32 Greendale GA, Fitzgerald G, Huang M-H, Sternfeld B, Gold E, Seeman T, Sherman S, Sowers M. *Dietary soy isoflavones and bone mineral density: results form the Study of Women's Health Across the Nation.* American Journal of Epidemiology 85, 3043-8. 2002.

33 Gunter. *Antiestrogenic activities of Cimicifuga racemosa extracts.* Journal of Steroid Biochemistry & Molecular 80, 125-130. 2002.

34 Hasler CM. *The cardiovascular effects of soy products*. J Cardiovasc Nurs 16(4), 50-63. 2002.

35 Ishimi, Yoshida M, Wakimoto S, Wu J, Chiba H, Wang X, Takeda K, Miyaura C. *Genistein, a Soybean Isoflavone, Affects Bone Marrow Lymphopoiesis and Prevents Bone Loss in Castrated Male Mice*. Bone Vol. 31, No. 1, 180-185. 2002.

36 Jenkins DJA, Kendall CWC, Parker T. *Effects of high- and low-isoflavone soy foods on blood lipids, oxidized LDL, homocysteine, and blood pressure in hyperlipidemic men and women.* American journal of Clinical Nutrition 76, 365-72. 2002.

37 Jones PJ. *Clinical Nutrition: 7. Functional foods – more than just nutrition.* Canadian Medical Association Journal 166 (12), 1555-63. 2002.

38 Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome C. *Bioactive Compounds in Foods: Their Role in the Prevention of Cardiovascular Disease and Canser.* Am J Med. 113, 71S-88S. 2002.

39 Kulling SE, Lehman L, Metzler M. *Oxidative metabolism and genotoxic potential of major isoflavone phytoestrogens.* Journal of Chromatography B, 777: 211-218. 2002.

40 Kurzer MS. *Hormonal Effects of Soy in Premenopausal Women and Men.* Journal of Nutrition 132, 570S-573S. 2002.

41 Lichtenstein AH, Jalbert SM, Adlercreutz H. *Lipoprotein response to diets high in soy or animal protein with and without isoflavones in moderately hypercholesterolemic subjects.* Arterioscler Thromb Vasc Bio 22, 1852-1858. 2002.

42 Lydeking-Olsen E, Jensen JBE, Meinertz H, Setchell KDR, Damhus M, Jensen TH. *Isoflavone-rich soymilk prevents bone-loss in the lumbar spine of post menopausal women.* A 2 year study. Journal of Nutrition 132, 581S (abs.). 2002.

43 Lydeking-Olsen E, Meinertz H, Setchell KDR, Damhus M, Jensen TH. *Lipoprotein effects of soy milk and progestrerone for prevention of bone loss in post menopausal hypercholestrolemic women.* Journal of Nutrition 132, 608S (abs.). 2002.

44 Mishra SI, Dickerson V, Najm W. *Phytoestrogens and Breast Cancer Prevention: What is the Evidence?* Reprint from Clin J Women's Health 2, 52-7. 2002.

45 Morito Keiko, Aomori Thru, Toshiharu Hirose, Junei Kinjo, Junichi Hasegawa, Sumito Ogawa, Masami Muramrtsu and Yukito Masamune. *Interaction of phytoestrpgens with estrogen receports α and β* (II). Biol Pharm Bull 25(1), 48-52. 2002.

46 Mueller SO. *Overview of in vitro tools to assess the estrogenic and antiestrogenic activity of phytoestrogens.* Journal of Chromatography B, 777, 155-165. 2002.

47 Nicholls J, Lasley BL, Nakajima ST, Setchell KDR, Schneeman BO. *Effects of Soy Consumption on Gonadotropin Secretion and Acute Pituitary Responses to Gonadotropin-Releasing Hormone in Women.* Journal of Nutrition 132, 708-714. 2002.

48 Rassi CM, Lieberherr M, Chaumaz G, Pointillart A, Cournot G. *Down-Regulation of Osteoclast Differentiation by Daidzein via Caspase 3.* Journal of Bone and Mineral Research Vol. 17, No. 4. 2002.

49 Setchell KDR, Brown NM, Lydeking-Olsen E. *The Clinical Importance of the Metabolite Equol – A Clue to the Effectiveness of Soy and its Isoflavones.* Journal of Nutrition 132, 3577-3584. 2002.

50 Setchell KDR, Brown NM, Zimmer-Nechemias L. *Evidence for lack of absorption of soy Isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability.* American Journal of Clinical Nutrition 76, 447-53. 2002.

51 *Soy consumption and chronic disease.* In: 4th International Symposium on the Role of Soy in Preventing and Treating Chronic Disease. Journal of Nutrition 132, 545-619, 2002.

52 Stark A, Madar Z. *Phytoestrogens: A Review of Recent Findings.* Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism, 15, 561-572. 2002.

53 Twaddle NC, Churchwell MI, Doerge DR. *High-throughput quantification of soy isoflavones in human and rodent blood using liquid chromatography with electrospray mass spectrometry and tandem mass spectrometry detection.* Journal of Chromatography B, 777, 139-145. 2002.

54 United States Department of Agriculture – Iowa State University Isoflavones Database. *Database on the isoflavones content of foods, Release 1.3. 2002.*
http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/isoflav/isoflav.html.

55 Viereck Volker, Grundker Carsten, Blaschke Sadine, Siggelkow Heide, Emons Gunter, Hofbauer. *Phytoestrogen Genistein Stimulates the Production of Osteoprotegerin by Human Trabecular Osteoblasts.* Journal of Cellular Biochemistry 84, 725-735. 2002.

56 Wang Li-Quan. *Mammalian phytoestrogens: enterodiol and enterolactone.* Journal of Chromatography B 777, 289-309. 2002.

57 Warren MP, Shortl B, Dominguez JE. *Use of alternative therapies in menopause.* Best Practice & Research Obstetrics and Gynecology Vol. 16, No. 3, pp. 411-448. 2002.

58 Watanabe Shaw, Uesugi Sayo, Kikuhi Yuriko. *Isoflavones for prevention of cancer, cardiovascular diseases, gynecological problems and possible immune protection.* Biomed Pharmacother 56, 302-312. 2002.

59 Wiseman H, Cacey K, Clarke DB, Barnes KA, Bowey E. *Isoflavone Aglycon and Glucoconjugate Content of High- and Low-Soy U.K. Foods Used in Nutritional Studies.* J Agric Food Chem 50, 1404-1410. 2002.

60 Zierau O, Bodinet C, Kolba S, Wulf M, Vollmer BWS, Dial SL, Moland CI, Hass BS, Blair RM, Fang H, Leming S, Weida T. *Phytoestrogens and mycoestrogens bind to the rat uterine estrogen receptor.* Journal of Nutrition 132, 658-664. 2002.

2001

61 American Heart Association. *Heart and Stroke Statistical Update*. Dallas, TX: American Heart Association. 2001.

62 Arjmandi BH. *The Role of Phytoestrogens in the Prevention and Treatment of Osteoporosis in Ovarian Hormone Deficiency.* Journal of the American College of Nutrition, Vol. 20, No. 5, 398S-402S. 2001.

63 Birt DF, Hendrich S, Wang W. *Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids.* Pharmacology & Therapeutics 90, 157-177. 2001.

64 Clifton-Bligh. *The effects of isoflavones extracted from red clover (Rimostil) on lipid and bone metabolism.* Menopause 8, 259-265. 2001.

65 Dornstauder E, Jisa E, Unterrieder I, Krenn L, Kubelka W, Jungbauer A. *Estrogenic activity of two standardized red clover extracts (Menoflavon) intended for large scale use in hormone replacement therapy.* Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology 78, 67-75. 2001.

66 Gardner CD, Newell KA, Cherin R, Haskell WL. *The effect of soy protein with or without isoflavones relative to milk protein on plasma lipids in hypercholesterolemic postmenopausal women.* American Journal of Clinical Nutrition 73, 728-735. 2001.

67 Glazier MG, Bowman MA. *A review of the Evidence for the Use of Phytoestrogens as a Replacement for Traditional Estrogen Replacement Therapy.* Arch Interm Med. 161, 1161-1172. 2001.

68 Heinonen S, Nunoi T, Linkkonen K, Poutanen K, Wahala K, Deyama T, Nishibe S & Adlercreutz H. *In vitro metabolism of plant lignans: new precursors of mammalian lignans enterolactone and enterodiol* Journal of Agriculture and Food Chemistry 49, 3178-3186. 2001.

69 Horn Ross, Davis JPL. *Phytoestrogen consumption and breast cancer risk in a multiethnic population.* American Journal of Epidemiology 154, 434-441. 2001.

70 Kulling SE, Honing DE, Metzler M. *Oxidative Metabolism of the Soy Isoflavones Daidzein and Genistein in Vitro and in Vivo.* J Agric Food Chem 49, 3024-3033. 2001.

71 Lampe JW, Skor HE, Li S, Wahala K. *Wheat bran and soy protein feeding do not alter urinary excretion of the isoflavone equol in premenopausal women.* Journal of Nutrition 131, 740-744. 2001.

72 Miriam JJ, de Kleijn, Yvonne T, van der Schouw, Pete WF. *Intake of Dietary Phytoestrogens Is Low in Postmenopausal Women in the United States: The Framingham Study.* Journal of Nutrition 131, 1826-1832. 2001.

73 Morito K, Hirose T, Hirakawa T, Okawa M, Nohara T, Inoue S, Muramatsu M and Masamune Y. *Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors α and β.* Biol Pharm Bull 24, 351-356. 2001.

74 Owen RW, Haubner R, Hull WE, Thompson LU. *Formation of the mammalian lignans enterodiol and enterolactone from (+)-pinoresinol a*

major lignan present in olive oil. In whole Grains and Human Health, International Symposium held on 13-15 June, Abstracts Book. VTT Symposium vol.213, pp. 85-88. Finland: VTT. 2001.

75 Picherit C, Bennetau-Pelissero C, Chanteranne B, Coxam V. *Soybean isoflavones dose-dependently reduce bone turnover but do not reverse established osteopaenia in adult ovariectomized rats.* Journal of Nutrition 131, 723-728. 2001α.

76 Rochefordiere DL, Clough K, Fourquet A, Magdelenat and The Breast Cancer of the Institute Curie. *Phytoestrogens after breast cancer.* Endocrine-Related Cancer 8, 129-134. 2001.

77 Setchell KDR, PhD. *Soy Isoflavones- Benefits and Risks from Nature's Selective Estrogen Receptor Modulators (SERMs).* Journal of the American College of Nutrition, Vol. 20, No. 5, 354S-362S. 2001.

78 Setchell KDR, Brown NM, Desai P, Zimmer-Nechemias L, Wolfe BE. *Bioavailability of pure isoflavones in healthy humans and analysis of commercial soy isoflavone supplements.* J Nutr 131, 1362S-1375S. 2001.

79 Setchell KDR, Brown NM, Desai P, Zimmer-Nechemias L, Wolfe BE, Brown WT, Desai P, Zimmer-Nechemias L, Brashear WT, Kirschner AS, Cassidy A and Heudi JE. *Bioavailability of Nutrients and Other Bioactive Components from Dietary Supplements.* Journal of Nutrition 131, 1362S-1375S. 2001.

80 Sirtori CR, Lovati MR. *Soy proteins and cardiovascular disease.* Curr Atheroscler Rep 3(1), 47-53. 2001.

81 Tsourounis Candy. *Clinical Effects of Phytoestrogens.* Clinical obstetrics and gynecology Vol.44, pp 836-842. 2001.

82 Uehara M, Ohta A, Watanabe S, Adlercreutz H. *Dietary fructopolysaccharides modify intestinal bioavailability of a single dose of genistein and daidzein and affect their urinary excretion and kinetics in blood of rats.* Journal of Nutrition 131, 787-795. 2001.

83 Ueno T, Uchiyama S. *Identification of the specific intestinal bacteria capable of metabolising soy isoflavone to equol.* Ann Nutr Metab 45, 114 (abs.). 2001.

84 Vitolins MZ, Anthony M, Burke G. *Soy protein isoflavones, lipids and arterial disease.* Curr Opin Lipidol 12, 433-437. 2001.

85 Wagner JD, Anthony MS, Cline JM. *Soy Phytoestrogens: Research on Benefits and Risks.* Clinical Obstetrics and Gynecology Vol.44, No. 4. 2001.

86 Walker HA, Deans TS, Sanders TAB, Jackson G. *The phytoestrogen genistein produces acute nitric oxide-dependent dilation of human forearm vasculature with similar potency to 17β-estradiol.* Circulation 103, 258-262. 2001.

87 Yoshiaki Somekawa, Miki Chiguchi, Tomoko Ishibashi and Takehi Aso. *Soy intake related to menopausal symptoms, serum lipids, and bone mineral density in postmenopausal Japanese women.* Obstet Gynecol 97, 109-15. 2001.

2000

88 Alekel MDL, Germain AS, Petesson CT, Hanson KB, Stewart JW and Toda T. *Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women.* American Journal of Clinical Nutrition 72, 844-852. 2000.

89 Andlauer W, Kolb J & Furst P. *Absorption and metabolism of genistin in the isolated rat small intestine*. FEBS Letters 475, 127-130. 2000.

90 Arjmandi BH, Birnbaum R, Juma S, Barengolts E, Kukreja SC. *The synthetic phytoestrogen ipriflavone and estrogen prevent loss by different mechanisms.* Calcified Tissue International 66, 61-65. 2000.

91 Ashton E, Ball M. *Effects of soy as tofu vs meat on lipoprotein concentrations.* Eur J Clin Nutr 54, 14-19. 2000.

92 Ashton EL, Dalais FS, Ball MJ. *Effect of meat replacement by tofu on CHD risk factor including copper induced LDL oxidation.* J Am Coll Nutr 19, 761-767. 2000.

93 Bowers JL, Tyulmenkov VV, Jernigan SH and Klinge CM. *Resveratrol Acts as a Mixed Agonist/Antelonist for Estrogen Receptor α and β*. Endocrinology Vol. 141, No. 10. 2000.

94 Brown NM, Setchell KDR. *Animal models impacted by Phytoestrogens in commercial chow: implications for pathways influenced by hormones.* Lab Investig 81, 735-747. 2000.

95 Burke GL, Vitolins MZ and Bland D. *Soybean Isoflavones as an Alternative to Traditional Hormone Replacement Therapy: Are We There Yet?* American Society for Nutritional Sciences. Journal of Nutrition 130, 664S-665S. 2000.

96 Coldham NG & Saner MJ. *Pharmacokinetics of [^{14}C] genistein in the rat: gender-related differences, potential mechanisms of biological action and implications for human health*. Toxicology and Applied Pharmacology 164, 206-215. 2000.

97 Day AJ, Canada FJ, Diaz JC, Kroon PA. *Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of the lactase phlorizin hydrolase*. FEBS Letters 468, 166-170. 2000.

98 Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. *Food Labelling: health claims: plant sterol/tanol esters and coronary heart disease, interim final rule.* Fed Reg 65, 54686-54739. 2000.

99 Duncan AM, Melz-Demlow BE, Xu X, Phipps WR & Kurzer MS. *Premenopausal equol excretors show plasma hormone profiles associated with lowered risk of breast cancer.* Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention 9, 581-586. 2000.

100 Edman JW jr. Soy protein and cardiovascular disease. *A statement for health care professionals from the Nutrition Committee of the AHA.* Circulation 102, 2555-2559. 2000.

101 Hasler GM, Kundrat S, Wool DL. *Functional foods and cardiovascular disease*. Curr Atherosclerosis Rep. 2, 467-475. 2000.

102 Horcada-Molteni MN, Crespy V, Coxam V. *Rutine inhibits ovariectomy-induced osteopaenia in rats.* Journal of Bone and Mineral Research 15, 2251-2258. 2000α.

103 Horcada-Molteni MN, Davicco MJ, Lebecque P, Coxam V, Miller SC. *Effect of lignans on ovariectomy-induced bone loss in rats.* Journal of Bone and Mineral Research 15, Suppl., S553. 2000b.

104 Horn-Ross, Lee M. John and Keo J. *Sources of Phytoestrogen exposure among non-Asian women in California.* U.S.A. Cancer Causes Control 11, 299-302. 2000.

105 Howes JB, Sullian D, Lai N. *The effects of dietary supplementation with isoflavones from red clover on the lipoprotein profiles of post menopausal*

women with mild to moderate hypercholesterolemia. Atherosclerosis 154, 143-147. 2000.

106 Ilich JZ, and Kerstetter JE. *Nutrition in Bone Health Revisited: A Story Beyond Calcium.* Journal of the American College of Nutrition, Vol.19, No. 6, 715-737. 2000.

107 Ishida H, Uesugi T, Toda T, Tsuji K. *Effects of soy isoflavones, daidzein, genistein and glycitein, on bone loss and lipid metabolic pathway in ovariectomized rats.* Journal of Nutrition 130, Suppl., 685S. 2000.

108 Izumi T, Piskula MK, Osawa S. *Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans.* Journal of Nutrition 130, 1695-1699. 2000.

109 Jeffery EH, Walsh J, Rivera A, Evans G. *Soy isoflavones may enhance bone density in ovariectomised rats.* Journal of Nutrition 130, Suppl., 667S. 2000.

110 Jenkins DJA, Kendall CWC, Vidgen E. *The effect on serum lipids and oxidized low-density lipoprotein of supplementing self-selected low-fat diets with soluble-fiber, soy, and vegetable protein foods.* 49, 67-72. 2000.

111 Jenkins DJA, Kendall CWC, Vidgen E. *Effects of soy-based breakfast cereal on blood lipids and low-density lipoprotein*. Metabolism 49, 1496-1500. 2000.

112 Kass-Annese Barbara. *Altarnative Therapies for Menopause.* Clinical Obstetrics and Gynecology Vol. 43, No. 1, pp. 162-183. 2000.

113 Liggins J, Bluck LJG, Runswick S, Atkinson C, Coward WA, and Bingham SA. *Daidzein and genistein content of fruits and nuts.* J Nutr Biochem 11, 326-331. 2000.

114 Liggins J, Bluck JLG, Runswick S, Atkinson C, Coward WA and Bingham SA. *Daidzein and genistein content of vegetables.* British Journal of Nutrition 84, 717-725. 2000.

115 Liggins J, Grimwood R, and Binghan SA. *Extraction and Quantification of Lignan Phytoestrogens in Food and Human Samples.* Analytical Biochemistry 287, 102-109. 2000.

116 Lissin LW, Cooke JP. *Phytoestrogens and Cardiovascular Health.* Journal of the American College of Cardiology Vol. 35, No. 6. 2000.

117 Merz-Demlow BE, Duncan AM, Wangen KE. *Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic, premenopausal women.* American Journal of Clinical Nutrition 71, 1462-1469. 2000.

118 Picherit C, Coxam V, Davicco MJ. *Daidzein is more efficient than genistein in preventing ovariectomy-induced bone loss in rats.* Journal of Nutrition 130, 1675-1681. 2000.

119 Potter SM. *Soy – new health benefits associated with an ancient food.* Nutr Today 35, 53-60. 2000.

120 Rowland IR, Wiseman H, Sanders TA, Adlercreutz H, Bowey EA. *Interindividual variation in metabolism of soy isoflavones and lignans: influence of habitual diet on equol production by the gut flora.* Nutrition and Cancer 36, 27-32. 2000.

121 Rowland IR, Wiseman H, Sanders TA, Adlercreutz H, Bowey EA. *Interindividual variation in metabolism of isoflavonoids and lignans: the role of the gut microflora and habitual diet*. Nutrition and Cancer 36, 27-32. 2000.

122 Simons LA, von Konigsmark M, Simons J, Celermajer DS. *Phytoestrogens do not influence lipoprotein levels or endothelian function in healthy, postmenopausal women.* Am J Cardiol 85(11), 1297-301. 2000.

123 Slavin JL. *Mechanisms for the Impact of Whole Grain Foods on Cancer Risk.* Journal of the American College Nutrition, Vol. 19, No. 3, 300S-307S. 2000.

124 Takatsuka N, Nagata C, Kurisu Y. *Hypercholesterolemic effect of soymilk supplementation with usual diet in premenopausal normolipidemic Japanese women.* Prev Med 31, 308-314. 2000.

125 Tikkanen MJ, Adlercreutz H. *Dietary Soy - Derived Isoflavone Phytoestrogens could they have a role in coronary health disease prevention?* Biochemical Pharmacology, Vol. 60, pp. 1-5. 2000.

126 Upmalis DH, Lobo R, Bradley L. *Vasomotor symptom relief by soy isoflavone extract tablets in postmenopausal women: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study.* Menopause 7, 236-242. 2000.

127 Vincent A, and Fitzpatrick LA. *Soy Isoflavones: Are They Useful in Menopause?* Mayo Clin. Proc. 75, 1174-1184. 2000.

128 Vigna GB, Pansini F, Bonaccorsi G, Albertazzi P. *Plasma lipoproteins in soy-treated postmenopausal women: a double-blind, placebo-controlled trial.* Nutr Metabol Cardiovasc Dis 10(6), 315-22. 2000.

129 Wang L, Meselhy R, Li Y, Oin G. *Human intestinal bacteria capable of transforming secoisolariciresinol diglucoside to mammalian lignans enterodiol and enterolactone.* Chemical and Pharmacology Bulletin 48, 1606-1610. 2000.

130 Wiseman W, O'Reily JD, Adlercreutz H. *Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decrease F_2-isoprostane concentrations and increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans.* American Journal Clinical Nutrition 72, 395-400. 2000.

1999

131 Adlercreutz H, Yamada T, Wahala K &; Watanabe S. *Maternal and neonatal phytoestrogens in Japanese women during birth*. American Journal of Obstetrics and Gynecology 180, 737-743. 1999.

132 Anderson JJB. *Plant-based diets and bone health: nutritional implications.* American Journal of Clinical Nutrition 70, (suppl.), 539S-42S. 1999.

133 Brzezinski A, Dedi A. *Phytoestrogens: the "natural" selective estrogen receptor modulators?* European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive biology 85, 47-51. 1999.

134 Carroll KK. *Review of clinical studies on cholesterol-lowering response to soy protein.* J Am Diet Assoc 91, 820-827. 1999.

135 Chen Z, Zheng W, Custer LJ. *Usual dietary consumption of soy foods and its correlation with the excretion rate of isoflavonoids in overnight urine samples among Chinese women in Shanghai*. Nutrition and Cancer 33, 82-87. 1999.

136 Chiechi LM. *Dietary phytoestrogens in the prevention of long-term postmenopausal diseases.* International Journal of Gynecology & obstetrics 67, 39-40. 1999.

137 Coldham NG, Howells LC, Santi A, Monteissa C, Langlais C, King LC, Macpherson DD & Sauer MJ. *Biotransformation of genistein in the rat:*

elucidation of metabolite structure by production mass fragmentology. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 70, 169-184. 1999.

138 Crouse JR, Morgan T, Terry JG. *A randomized trail 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 159, 2070-2076. 1999.

139 Cui L, Ma YF, Jee WSS, Lu J. *A mixture of herbs prevented ovariectomized induced cancellous bone loss in rats.* Journal of Bone and Mineral Research 14, Suppl., S283. 1999.

140 Davis SR, Dalais FS, Simpson ER, and Murkies AL. *Phytoestrogens in Health and Disease.* Recent Progress in hormone Reserch, Vol. 54. 1999.

141 Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. *Food labelling: health claims, soy protein and coronary heart disease*. Fed Reg 64, 57700-57733. 1999.

142 Doerge DR, Chang HC, Churchwell MI, Holder CI. *Analysis of soy isoflavone conjugation in vitro and in human blood using liquid chromatography mass spectrometry.* Drug Metabolism and Disposition Vol. 28, No. 3. 1999.

143 Duane WC. *Effects of soyabean protein and very low dietary cholesterol on serum lipids, biliary lipids, and fecal sterols in humans.* Metabolism 48 (suppl 4), 489-494. 1999.

144 Duncan AM, Underhill KEW, Xu Xia, Lavalleur J, Phipps WR and Kurzer MS. *Modest Hormonal Effects of Soy Isoflavones in Postmenopausal Women.* J Clin Endocrinol Metab 84, 3479-3484. 1999.

145 Fitzatrick LA. *Selective Estrogen Receptor Modulators and Phytoestrogens: New Therapies for the Postmenopausal Woman.* Mayo Clin Proc. 74, 601-607. 1999.

146 Greendale GA, Lee NP, Arriola ER. *The menopause.* Lancer 353, 571-80. 1999.

147 Hargreaves DF, Potter CS, Harding C, Shaw LE, Morton MS, Roberts SA, Howell A & Bundred NT. Two-*week soy supplementation has an estrogenic effect on normal premenopausal breast*. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 84, 4011-4024. 1999.

148 Head KA. *Ipriflavone: An Important Bone-Building Isoflavone.* Altern Med Rev 4(1), 10-22. 1999.

149 Hegsted M, Warner S, Heaton S, Bowman B, Miller SC. *Soy diet increases tibial cortical bone formation in ovariectomized retired breeder rats.* Journal of Bone and Mineral Research 14, Suppl., S531. 1999.

150 Heinonen S, Wahala K & Adlercreutz H. *Identification of isoflavone metabolites dihydrodaidzein, dihydrogenistein. 6'-OH-O-DMA and cis-4-0H-equol in human urine by GC-MS using authentic reference compounds*. Analytical Biochemistry 274, 211-219. 1999.

151 Hodgson J, Puddey IB, Beilin Lj. *Effects of isoflavonoids on blood pressure in subjects with high-normal ambulatory blood pressure levels: a randomized controlled trial.* Am J Hypertens 12, 47-53. 1999.

152 Hodgson J, Puddey IB, Croft KD, Mori TA. *Isoflavonoids do not inhibit in vivo lipid peroxidation in subjects with high-normal blood pressure.* Atherosclerosis 145, 167-172. 1999.

153 Ishimi Y, Miyaura C, Ohmura M, Onoe Y. *Selective effects of genistein, a soybean isoflavone, on B-lymphopoiesis and bone loss caused by estrogen deficiency.* Endocrinology 140, 1893-1900. 1999.

154 Jenkins DJA, Kendall CYC, Mehling CC. *Combined effect of vegetable protein (soy) and soluble fiber added to a standard cholesterol-lowering diet.* Metabolism 48, 809-816. 1999.

155 Kalu DN. *Animal models of the ageing skeleton*. In the Ageing Skeleton, 37-50. 1999.

156 Lampe JW, Gustafson DR, Hutchins AM, Martini MC, Li S Wahala K, Grandits GA, Potter JD, and Savin JL. *Urinary Isoflavonoid and Lignan Excretion on a Western Diet: Relation to Soy, Vegetable, and Fruit Intake.* Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention 699-707. August 1999.

157 Messina MJ. *Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects.* American Journal of Clinical Nutrition 70 (suppl), 439S-50S. 1999.

158 Mitchell JH, Collins AR. *Effects of a soy milk supplement on plasma cholesterol levels and oxidative DNA damage in men – a pilot study.* Eur J Nutr 38, 143-148. 1999.

159 Murphy PA, Song TT, Buseman G, Barva K, Beecher GR, Trainer D & Holden J. *Isoflavones in retail and institutional soy foods.* Journal of Agricultural and Food Chemistry 47, 2697-2704. 1999.

160 Nesbitt PD, Lam Y, Thompson LU. *Human metabolism of mammalian lignan precursors in raw and processed flaxseed.* American Journal of Clinical Nutrition 69, 549-555. 1999.

161 Nestel PJ, Pomeroy S, Kay S. *Isoflavones form red clover improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal women.* J Clin Endocrinol Metab 84, 895-898. 1999.

162 Piskula MK, Yamakoshi J, Iwai Y. *Daidzein and genistein but not their glucosides are absorbed from the rat stomach.* FEBS Letters 447, 287-291. 1999.

163 Purba Mb, Lukito W, Wahlqvist ML, Kamso S. *Food intake and eating patterns of Indonesian elderly before the 1998 economic crisis.* Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition 8, 200-206. 1999.

164 Rubin J, Rubin H, Rubin C. *Constraints of experimental paradigms used to model the ageing skeleton.* In the Ageing Skeleton, pp. 27-36. 1999.

165 Rowland L, Wiseman H, Sanders T, Adlercreuta H, Bowey E. *Metabolism of oestrogens and PEs: role of the gut microflora.* Biochemical Society Transactions 27, 304-308. 1999.

166 Samman S, Wall PLM, Chan GSM, Smith SJ, Petocz. *The effect of supplementation with isoflavones on plasma lipids and oxidisability of low-density lipoprotein in premenopausal women.* Atherosclerosis 147, 277-283. 1999.

167 Santiago Palacios. *Osteoporosis: prevention with estrogens in women over 60.* Maturitas 33, 1-6. 1999.

168 Setchell KDR and Cassidy A. *Dietary Isoflavones: Biological Effects and Relevance to Human Health.* Journal of Nutrition 129, 758S-767S, 1999.

169 Sitori CR, Pazzucconi F, Colombo L. *Double-blind study of the addition of high-protein soya milk v cow's milk to the diet of patients with severe hypercholesterolemia and resistance to or intolerance of statins.* British Journal of Nutrition 82, 91-96. 1999.

170 Song TT, Hendirich S and Murphy PA. *Estrogenic activity of glycitein, a soy isoflavone.* J Agric Food Chem 47, 1607-1610. 1999.

171 Steensma A, Noteborn HPJM, Kuiper HA. *Bioavailability of genistein, daidzein, and their glycosides in intestinal epithelial Caco-2 cells.* Environmental Toxicology and Pharmacology 7, 209-212. 1999.

172 Thompson C, Block AS, Hasler CM. *Position of the American Dietetic Association: functional foods.* J Am Diet Assoc 99, 1278-1285. 1999.

173 Wakai K, Egami I, Kato K, Kawamura T. *Dietary intake and sources of isoflavones among Japanese.* Nutrition and Cancer 33, 139-145. 1999.

174 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 6, 7-13. 1999.

175 Wiseman H. *The bioavailability of non nutrient plant factors: dietary flavonoids and phytoestrogens.* Proceedings of the Nutrition Society 58, 139-146. 1999.

176 Ying Hua Gao and Masayoshi Yamaguchi. *Inhibitory Effect of Genistein on Osteoclast-Like Cell Formation in Marrow Cultures.* Biochemical pharmacology, Vol. 58, pp. 767-772. 1999.

177 Yoshiko Ishimi, Chisato Miyaura, Mineko Ohmura, Yoshiko Onoe, Toshiyuki Sato. *Selective Effects of Genistein, a Soybean Isoflavone, on B-Lymphopoiesis and Bone Loss Caused by Estrogen Deficiency.* Endocrinology Vol. 140, No. 4, 1893-1900. 1999.

178 Zhang Y, Wang GJ, Song TT, Murphy PA and Hendrich S. *Urinary Disposition of the Soybean Isoflavones Daidzein, Genistein and Glycitein Differs among Humans with Moderate Fecal isoflavone Degradation Activity.* Journal of Nutrition 129, 957-962. 1999.

179 Zhang Y, Song TT, Cunnick JE. *Daidzein and Genistein Glucuronides in Vitro are Weakly Estrogenic and Activate Human Natural Killer at Nutritionally Relevant Concentrations.* Journal of Nutrition 129, 399-405. 1999.

1998

180 Anderson JJ, Ambrose WW, Garner SC. *Biphasic effects of genistein on bone tissue in the ovariectomized, lactating rat model.* Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 217, 345-350. 1998.

181 Arjmandi BH, Birnbaum R, Goyal NV, Getlinger MJ. *Bone sparing effect of soy-protein in ovarian hormone-deficient rats is related to its isoflavone*

content. American Journal of Clinical Nutrition 68, Suppl., 1364S-1368S. 1998α.

182 Arjmandi BH, Getlinger MJ, Goyal NV, Alekel L. *Role of soy protein with normal or reduced isoflavone content in reversing bone loss induced by ovarian hormone deficiency in rats.* American Journal of Clinical Nutrition 68, Suppl., 1358S-1363S. 1998b.

183 Baum J, Teng H, Erdman JW jr. *Long-term intake of soy protein lowers the risk of cardiovascular disease and increases mononuclear cell LDL receptor mRNA in hypercholesterolemic postmenopausal women*. American Journal of Clinical Nutrition 68, 545-551. 1998.

184 Bingham SA, Atkinson C, Liggins J, Bluck L and Coward A. *Phyto-oestrogens: where are we now?* British Journal of Nutrition 79, 393-406. 1998.

185 Day AI, DuPont MS & Saxon Ridley S. *Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver and beta glucosidase activity*. FEBS Letters 436, 11-15. 1998.

186 Fanti O, Faugere MC, Geng Z, Schmidt J, Morris PE. *The phytoestrogen Genistein reduces bone loss in short-term ovariectomized rats.* Osteoporosis International 8, 274-281. 1998.

187 Franke AA, Custer LJ, Wang W & Shi CY. *HPLC analysis of isoflavonoids and other phenolic agents from foods and from human fluids.* Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 217, 263-273. 1998.

188 Gao YH, Yamaguchi M. *Zinc enhancement of genistein's anabolic effect on bone component in elderly female rats.* General Pharmacology 31, 119-202. 1998.

189 Harisson E, Adjei A, Ameho C, Yamamoto S & Kono S. The effect of soybean protein on bone loss in a rat model of postmenopausal osteoporosis. Journal of Nutrition Sciences and Vitaminology 14, 257-268. 1998.

190 Hodgson JM, Puddey IB, Beilin LJ, Mori TA. *Supplementation with isoflavonoid phytoestrogens does not alter serum lipid concentrations: a randomized controlled trial in humans.* Journal of Nutrition 128, 728-732. 1998.

191 Hollman PCH & Katan MB. *Absorption, metabolism and bioavailability of flavonoids.* In Flavonoids in Health and Disease, pp. 483-522 [CA Rice-Evans and L Packer. editors]. New York: Marcel Dekker. 1998.

192 Humfrey CDN. *Phytoestrogens and Human Health Effects: Weighing up the Current Evidence.* Natural Toxins 6, 51-59. 1998.

193 Ishida H, Uesugi T, Hirai K, Toda T. *Preventive effects of the plant isoflavones, daidzin and genistin, on bone loss in ovariectomized rats fed a calcium-deficient diet*. Biological and Pharmacological Bulletin 21, 62-66. 1998.

194 King RA and Bursill DB. *Plasma and urinary kinetics of the isoflavones daidzein and genistein after a single soy meal in humans.* American Journal of Clinical Nutrition 67, 867-72. 1998.

195 Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC. *Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta.* Endocrinology 139, 4252-4263. 1998.

196 Lampe JW, Karr SC, Hutchins AM, Slavin JL. *Urinary isoflavonoid excretion with a soy challenge: influence of habitual diet.* Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 217, 335-339. 1998.

197 Lees CJ, Ginn A. *Soy protein isolate diet does not prevent increased cortical bone turnover in ovariectomized macaques.* Calcified Tissue International 62, 557-558. 1998.

198 Lichtenstein AH. *Soy protein, isoflavones and cardiovascular disease risk.* Journal of Nutrition 128, 1589-1592. 1998.

199 Liggins J, Blluck LJC, Coward WA, and Bingham SA. *Extraction and Quantification of Daidzein and Genistein in Food.* Analytical Biochemistry 264, 1-7. 1998.

200 Lu LJW and Anderson KE. *Sex and Long-term soy diets affect the metabolism and excretion of soy isoflavones in humans.* American Journal of Clinical Nutrition 68 (suppl): 1500S-4S. 1998.

201 Messina M, Erdman JW jr. *The role of soy in preventing and treating chronic disease*. American Journal of Clinical Nutrition 68, 1329S-1544S. 1998.

202 Mitchell JH, Gardner PT, McPhail DB, Morrice PC, Collins AR, and Duthie GG. *Antioxidant Efficacy of Phytoestrogens in Chemical and*

Biological Model Systems. Archives of Biochemistry and Biophysics Vol. 360, No. 1, pp. 142-148. 1998.

203 Murkies AL, Wilcox G, and Davis SR. *Clinical Review 92 phytoestrogens.* Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism Vol.83, No. 2. 1998.

204 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.* Journal of Nutrition 128, 209-213. 1998.

205 Nagel SC, vom Saal FS, Welshons WV. *The effective free fraction of estradiol and xenoestrogens in human serum measured by whole cell uptake assays: physiology of delivery modifies estrogenic activity.* Proc Soc Exp Biol Med 217, 300-309. 1998.

206 Potter G. *Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women*. American Journal of Clinical Nutrition 68, 1375-1379. 1998.

207 Setchell KDR. *Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones.* American Journal of Clinical Nutrition 68 (suppl), 1333S-46S. 1998.

208 Setchell KDR, Zimmer-Nechemias L, Cai J, Heubi JE. *Isoflavone content of infant formulas and the metabolic fate of these phytoestrogens in early life.* American Journal of Clinical Nutrition 68, 1453S-1461S. 1998.

209 Slavin JL, Karr SC, Hutchins AM, and Lampe JW. *Influence of soybean processing, habitual diet, and soy dose on urinary isoflavonoid excretion.* American Journal of Clinical Nutrition 68, 1492S-5S. 1998.

210 Termine JD, Wong M. *Post-menopausal women and osteoporosis: available choices for maintenance of skeletal health.* Maturitas 30, 241-245. 1998.

211 Tham DM, Garder CD and Haskell WL. *Clinical Review 97 Potential Health Benefits of Dietary Phytoestrogens: A Review of the Clinical, Epidemiological, and Mechanistic Evidence.* Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism Vol. 83, No. 7. 1998.

212 Tikkanen MJ, Wahal H, Ojala S, Vihma V, Adlercreutz H. *Effect of soybean phytoestrogen intake on low density lipoprotein oxidation resistance.* Proc Natl Acad Sci USA. 95, P3106-P3110. 1998.

213 Wahala K, Salakka R, Adlercreutz H. *Synthesis of novel mammalian metabolites of the isoflavonoids phytoestrogens daidzein and genistein.* Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine 217, 293-299. 1998.

214 Watanabe S, Yamaguchi M, Sobue T, Takahashi T, Miura T, Arai Y, Mazur W. *Pharmacokinetics of soyabean isoflavones in plasma, urine and feces of men after ingestion of 60 g baked soyabean powder (kinako).* Journal of Nutrition 128, 1710-1715. 1998.

1997

215 Adlercreutz H & Mazur W. *Phyto-oestrogens and Western diseases.* Annals of Medicine 29, 95-120. 1997.

216 Agnusdei D, Bufalino L. *Efficacy of Ipriflavone in Established Osteoporosis and Long-Term Safety.* Calcified Tissue International 61, S23-S27. 1997.

217 Anderson JJ, Garner SC. *The effects of Phytoestrogens on bone.* Nutrition Research 17, 1617-1632. 1997.

218 Bonacorsi G, Albertazzi P, Constantino D. *Soy phytoestrogens and bone.* North American Menopause Society Meeting 44, 44. 1997.

219 Brandi ML. *Natural and Synthetic Isoflavones in the prevention and Treatment of Chronic Diseases.* Calcified Tissue International 61S5-S8. 1997.

220 Draper CR, Edel MJ, Dich JM, Randall AG. *Phytoestrogens reduce bone loss and bone resorption in oophorectomized rats.* Journal of Nutrition 127, 1795-1799. 1997.

221 Gamdacciani M, Cappagli B, Piaggesi L, Ciaponi M, Genazzani AR. *Ipriflavone Prevents the Loss of Bone Mass in Pharmacological Menopause Induced by GnRH-Agonists.* Calcified Tissue International 61, S15-S18. 1997.

222 Gennari G. *Ipriflavone: Background.* Calcified Tissue International 61, S3-S4. 1997.

223 Gennari GS, Adami D, Agnusdei L, Bufalino R, Cervetti L. *Effects of Chronic Treatment with Ipriflavone in Postmenopausal Women with Low Bone Mass.* Calcified Tissue International 61, S19-S22. 1997.

224 Hidaka S, Okamoto Y, Nakajima K. *Preventive effects of traditional Chinise (Kampo) medicines on experimental osteoporosis induced by ovariectomy in rats.* Calcified Tissue International 61, 239-246. 1997.

225 Honore EK, Williams JK, Anthony MS, Clarkson TB. *Soy isoflavones enhance coronary vascular reactivity in atherosclerotic female macaques.* Fertile Steril 67, 148-154. 1997.

226 Kapiotis S, Hermann M, Held I, Seelos C. *Genistein, the dietary-derived angiogenesis inhibitor, prevents LDL oxidation and protects endothelial cells from damage by atherogenic LDL*. Atheroscler Thromb Vasc Biol 17, 1868-1874. 1997.

227 Karr SC, Lampe JW, Hutchins AM, Slavin JL. *Urinary isoflavone excretion in humans is dose-dependent at low to moderate levels of soy-protein consumption.* American Journal of Clinical Nutrition 66, 46-51. 1997.

228 Kurowska EM, Jordan J, Spence JD. *Effects of substituting dietary soybean protein and oil for milk protein and fat in subjects with hypercholesterolemia*. Clin Invest Med 20, 162-170. 1997.

229 Kurzer MS and Xu X. *Dietary Phytoestrogens.* Annu Rev Nutr 17, 353-81. 1997.

230 Lieberman EH, Gerhard MD, Uehata A. *Estrogen improves endothelium dependent flow-mediated vasolidation in postmenopausal women.* Ann Intern Med 121, 936-941. 1997.

231 McMahon LG, Nakano H, Levy MD, Gregory JF. *Cytosolic pyridoxine-beta-D-glucoside hydrolase from porcine jejunal mucosa – purification, properties, and comparison with broad specificity beta-glucosidase.* Journal of Biological Chemistry 272, 32025-32033. 1997.

232 Morton MS, Ferreira A, Monteiro L, Correia R. *Measurement and metabolism of isoflavonoids and lignans in the human male.* Cancer Letters 114, 145-151. 1997.

233 Nestel PJ, Yamashita T, Sasahara T. *Soy isoflavones improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal and*

perimenopausal women. Arterioscler Thromb Vasc Biol 17, 3392-3398. 1997.

234 Ruiz-Larrea MB, Mihan AR, Pagana G. *Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones.* Free Raic Res 26, 63-70. 1997.

235 Setchell KDR, Zimmer-Nechemias L, Cai J, Heubi JE. *Exposure of infants to Phytoestrogens from soy –based infant formula.* Lancet 350, 23-37. 1997.

236 Sfakionos J, Coward L, Kirk M, Barnes S. *Intestinal uptake and biliary excretion of the isoflavone genistein in rats.* Journal of Nutrition 127, 1260-1268. 1997.

1996

237 Arjmandi BH, Alekel L, Hollis BW. *Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis.* Journal of Nutrition 126, 161-167. 1996.

238 Blair HC, Jordan SE, Peterson TG, Barnes S. *Variable effects of tyrosine kinase inhibitors on avian osteoclastic activity and reduction of bone loss in ovariectomized rat.* Journal of Cellulal Biochemistry 61, 629-637. 1996

239 Dodge JA, Glasabrook AL, Magee DE, Phillips DL. *Environmental estrogens: effects on cholesterol lowering and bone in the ovariectomized rat.* Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 59, 155-161. 1996.

240 Fukutake M, Takahashi M, Ishida K, Kawamura H, Sugimura T, Wakabayashi K. *Quantification of Genistein and Genistin in Soybeans and Soybean Products.* Food and Chemical Toxicology 34, 457-461. 1996.

241 Jayo MJ, Anthony MS, Register TC, Rankin SE, Clarkson TB. *Dietary soy isoflavones and bone loss: a study in ovariectomized monkeys.* Journal of Bone and Mineral Research 11, Suppl., S228. 1996.

242 Knight DC, Eden JA. *A review of the clinical effects of phytoestrogens.* Obstet Gynecol 87, 897-904. 1996.

243 Lu LJW, Lin SN, Grady JJ, Nagamani M, Anderson KE. *Altered kinetics and extent of urinary daidzein and genistein excretion in women during chronic soya exposure.* Nutrition and Cancer 26, 289-302. 1996.

244 Reinli K & Block G. *Phytoestrogen content of foods – a compendium of literature values.* Nutrition and Cancer 26, 123-148. 1996.

_____1995

245 Adlercreutz H, van der Wildt J. Kinzel J, Attalla H. Wahala K, Maketa T, Hase T & Fotsis T. *Lignan and isoftavonoid conjugates in human urine.* Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 52, 97-103. 1995.

246 Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. *Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids.* N Engl J Med 333, 276-282. 1995.

247 Chang YC & Nair MG. *Metabolism of daidzein and genistein by intestinal bacteria*. Journal of Natural Products 58, 1892-1896. 1995.

248 Franke AA, Custer JL, Cerna CM & Naral K. *Rapid analysis of dietary phytoestrogens from legumes and from human urine.* Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 208, 18-26. 1995.

249 Hutchins AM, Slavin JL, Lampe JW. *Urinary isoflavonoid phytoestrogen and lignan excretion after consumption of fermented and unfermented soy products.* Journal of the American Dietetic Association 95, 545-551. 1995.

250 Joannou GE, Kelly GE, Reeder AY, Waring M, Nelson C. *A urinary profile study of dietary phytoestrogens. The identification and mode of metabolism of new isoflavonoids.* Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 54, 167-184. 1995.

251 Kelly GE, Ioannou GE, Reeder AY, Nelson C, Waring MA. *The variable metabolic response to dietary isoflavones in humans.* Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 208, 40-43. 1995.

252 Knight David C, Eden John A. *Phytoestrogens – a short review.* Maturitas 22, 167-175. 1995.

253 Kirkman LM, Lampe JW, Cambell DR. *Urinary lignan and isoflavonoids excretion in men and women consuming vegetable and soy diets.* Nutrition and Cancer 24, 1-12. 1995.

254 Kurzer MS, Lampe JW, Martini MC, Adlercreutz H. *Fecal lignan and isoflavonoids excretion in premenopausal women consuming flaxseed powder.* Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention 4, 353-358. 1995.

255 Lee K, Wang H, Murphy PA, Hendrich S. *Soybean isoflavone extract suppresses early but not later promotion of hepatocarcinogenesis by phenobarbital in female rat liver.* Nutrition and Cancer 24, 267-278. 1995.

256 Lu LJW, Broemeling LD, Marshall MV. *A simplified method to quantify isoflavones in commercial soybean diets and human urine after legume consumption.* Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention 4, 497-503. 1995α.

257 Lu LJW, Grady JJ, Marshall MV, Anderson KE. *Altered time course of urinary daidzein and genistein excretion during chronic soya diet in healthy male subjects.* Nutrition and Cancer 24, 311-323. 1995b.

258 Messina M. *Isoflavone intakes by Japanese were overestimated.* American Journal of Clinical Nutrition 62, 645. 1995.

259 Messina M, Erdman JW jr. *First international Symposium on the role of soy in preventing and treating chronic disease.* Journal of Nutrition 125, 567S-808S. 1995.

260 Record IR, Dreosti IE, McInerney JK. *The antioxidant activity of genistein in vitro.* J Nutr Biochem 6, 481-485. 1995.

261 Wilkox B, fuchigami K, Wilcox D, Kendall C. *Isoflavone intake in Japanese and Japanese Canadians.* American Journal of Clinical Nutrition 61, 901. 1995.

262 Xu X, Harris KS, Wang H, Murphy PA, Hendrich S. *Bioavailability of soyabean isoflavones depends upon gut microflora in women.* Journal of Nutrition 125, 2307-2315. 1995.

263 Bachit RM, Klein BP, Essex-Sorlie D, Ham JO. *Intake of 25 g of soybean protein with or without soybean fiber alters plasma lipids in men with elevated cholesterol concentrations.* Journal of Nutrition 124, 213-222. 1994.

264 Food and Drug Administration. *Guidelines for the preclinical and clinical evaluation of agents used in the prevention or treatment of postmenopausal osteoporosis.* 1994.

265 Messina MJ, Persky V, Setchell KDR, Barnes. *Soy intake and cancer risk: a review of the in vitro and in vivo data.* Nutrition and Cancer 21, 113-131. 1994.

266 Omi N, Aoi S, Murata K, Ezawa I. *Evaluation of the effect of soybean milk and soybean milk peptide on bone metabolism in the rat model with ovariectomized osteoporosis.* Journal of Nutritional Sciences and Vitaminology 40, 201-211. 1994.

267 Rossouw JE. *The effects of lowering serum cholesterol on coronary heart disease risk.* Med Clin North Am 78, 181-195. 1994.

268 Sack MN, Rader DJ, Cannon RO. *Oestrogen and inhibition of oxidation of low-density lipoproteins in postmenopausal women*. Lancet 343, 269-270. 1994.

269 Wang H & Murphy P. *Isoflavone content in commercial soybean.* Journal of Agriculture and food Chemistry 42, 1666-1673. 1994.

270 Coward L, Bames NC, Setchell KDR & Bames S. *Genistein, daidzein and their β-glycoside conjugates: antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets*. Journal of Agriculture and Food Chemistry 41, 1961-1967. 1993.

271 Dart A, Silagy C, Jennings G, Mc-Neil J. *Aortic distensibility and left ventricular structure and function in isolated systolic hypertension.* Eur Heart J 14, 1465-1470. 1993.

272 Kelly GE, Nelson C, Waring MA. *Metabolites of dietary soya isoflavones in human urine*. Clinica Chimica Acta 223, 9-22. 1993.

273 Potter SM, Bakhit RM, Essex-Sorlie D. *Depression of plasma cholesterol in men with consumption of baked products containing soy protein*. American Journal of Clinical Nutrition 58, 501-506. 1993.

274 Omi N, Aoi S, Murata K, Ezawa I. *The effect of soybean milk on bone mineral density and bone strength in ovariectomized osteoporotic rats.* Journal of Home Economics Japonica 44, 549-554. 1992.

275 Adlercreutz H, Fotsis T, Bannwart C, Wahala K, Brunow G & Hase T. *Isotope dilution gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of lignans and isoflavonoids in human urine, including identification of genistein*. Clinica Chimica Acta 119, 263-278. 1991.

276 Cassidv A. *Plant oestrogens and their relation to hormonal status in women*. PhD Thesis, University of Cambridge. 1991.

277 Food and Agricultural Organization/ World Health Organization. *Protein Quality Evaluation Report of Joint FAO/WHO Expert Consultation*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Food and Nutrition Report Paper 51. 1991.

278 Koyama T. *Osteoporosis with Kampo treatment.* Sanfujinka Chiryo 63, 203-207. 1991.

279 Thompson LU, Robb P, Serraino M, Cheung F. *Mammalian lignan production from various foods*. Nutrition and Cancer 16, 43-52. 1991.

280 Young VR. *Soy protein in relation to human protein and amino acid nutrition*. J Am Diet Assoc 91, 828-835. 1991.

281 Nutrition Labeling and Education Act of 1990, Public Law 101-535, 104 Stat 2353, codified at 21 USC 343(q) and (r). 1990

282 Sarwar G, Mc Donough FE. *Evaluation of protein digestibility – corrected amino acid score method for assessing protein quality of foods.* J Assoc Off Anal Chem 73, 347-356. 1990.

283 Tsumura & Company. *Tsumura Kampo Medicine Extract Granules for Clinical Use Product Catalogue*. Tokyo: Tsumura & Company. 1990.

284 Jones A, Price K, Fenwick G. *Development and application of high-performance liquid chromatographic method for the analysis of phytoestrogens.* J Sci Food Agric 46, 357-364. 1989.

285 Kalu DN, Masoro EJ, Byung PB. *Modulation of age-related hyperparathyroidism and senile bone loss in Fisher rats by soy protein and food restriction.* Endocrinology 122, 1847-1854. 1988.

286 Setchell KDR, Adlercreutz H. *Mammalian lignans and phytoestrogens: recent studies on their formation, metabolism and biological role in health*

and disease. In The Role of the Gut Microflora in Toxicity and Cancer, pp. 315-345. 1988.

287 Adlercreutz H, Horckerstedt K, Bannwart C, Bloigu S, Hamalainen E, Fotsis T & Ollus A. *Effect of dietary components including lignans and phytoestrogens on enterohepatic circulation and liver metabolism of estrogens and on sex hormone binding globulin.* Journal of Steroid Biochemistry 27, 1135-1144. 1987.

288 Mercer NJH, Carroll KK, Giovannetti PM, Steinke FH. *Effects on human plasma lipids of substituting soybean protein isolate for milk protein in the diet.* Nutr Rep Int 35, 279-287. 1987.

289 Giovannetti PM, Caroll KK, Wolfe BM. *Constancy of fasting serum cholesterol of healthy young women upon substitution of soy protein isolate for meat and dairy protein in medium and low fat diets.* Nutr Res 6, 609-618. 1986.

290 Borrjello SP, Setchell KDR, Axelson M & Lawson AM. *Production and metabolism of lignans by the human fecal flora*. Journal of Applied Bacteriology 58, 37-43. 1985.

291 Setchell KDR, Boriello SP, Hulme, Axelson M. *Non steroidical estrogens of dietary origin: possible roles in hormone-dependent diseases.* American Journal of Clinical Nutrition 40, 569-578. 1984.

292 Setchell KDR, Lawson AM, Axelson M. *Measurement of enterolactone and enterodiol, the first mammalian lignans using stable isotope dilution and gas chromatography-mass spectrometry.* Biomed Mass Spectrom 10, 227-235. 1983.

293 Axelson M, Kirk DN, Farrant RD, Cooley G, Lawson AM & Setchell KDR. *The identification of the weak oestrogen equol in human urine*. Biochemical Journal 201, 353-357. 1982.

294 Goldberg AP, Lim A, Kolar JB, Grundhauset JJ, Steinke FH. *Soybean protein independently lowers plasma cholesterol in primary hypercholesterolemia.* Atherosclerosis 43, 355-368. 1982.

295 Holmes WL, Rubel GB, Hood SS. *Comparison of the effect of dietary meat versus dietary soyabean protein on plasma lipids of hyperlipidemic individuals*. Atherosclerosis 43, 355-368. 1982.

296 Van Raaij JMA, Katan MB, West CE, Hautvast JGAJ. *Influence of diets containing casein, soy isolate, and soy concentrate on serum cholesterol and lipoproteins in middle-aged volunteers.* American Journal of Clinical Nutrition 35, 925-934. 1982.

297 Axelson M, Setchell KDR. *The excretion of lignans in rats – evidence forn an intestinal bacterial source for this new group of compounds*. FEBS Lett 123, 337-342. 1981.

298 Shorey RL, Bazan B, Lo GS, Steinke FH. *Determinants of hypercholesterolemic response to soy and animal protein-based diets.* American Journal of Clinical Nutrition 34, 1769-1778. 1981.

299 Van Raaij JMA, Katan MB, Hautvast JGAJ, Hermus RJJ. *Effects of casein versus soy protein diets on serum cholesterol and lipoproteins in young healthy volunteers.* American Journal of Clinical Nutrition 34, 1261-1271. 1981.

300 Adolph WH, Kiang PC. *The nutritional value of soy bean products*. China Med J 34, 268-275. 1920.

Επιστημονικά βιβλία

- Ανδρικόπουλος ΝΚ. *Φυσικοχημεία και Βιοχημεία Τροφίμων – Σημειώσεις Φροντιστηρίου*. Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο 2003.
- Καρδούλης Α. *Εγκυκλοπαιδικό λεξικό τροφίμων και ποτών*. Αθήνα 2003.
- Γελαδάς Ν, Τσακόπουλος Μ. *Φυσιολογία του Ανθρώπου*. Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης 2001.
- *Cecil Παθολογία*. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας 2000.
- Δημόπουλος ΚΑ, Αντωνοπούλου Σ. *Βασική Βιοχημεία*. Αθήνα 2000.
- Mahan L. Kathleen, Escott-Stump Sylvia. *Krause's Food, Nutrition & Diet Therapy*. 10th Edition 2000.
- Θεοχαρίδης ΘΚ. *Φαρμακολογία – Βασικές έννοιες στην κλινική πράξη.* Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας 1997.
- *Dorland's Ιατρικό λεξικό*. Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης1997.
- *Stein Παθολογία*. Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης1997.