



Isoflavonas: propriedades terapêuticas estrogénicas e fitoterapia

Carolina Oliveira Dias

Dissertação

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob orientação da

Professora Doutora Maria da Graça Miguel

2018

Título | Isoflavonas: propriedades terapêuticas estrogénicas e fitoterapia

Aluno | Carolina Oliveira Dias

Orientador | Professora Doutora Maria da Graça Miguel

Dissertação de mestrado para a obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas

Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade do Algarve

Faro, setembro 2018

DECLARAÇÃO DE AUTORIA DE TRABALHO

Declaro ser o autor deste trabalho, que é original e inédito.

Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Copyright

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

À Prof^ª Dr.^a Maria da Graça Costa Miguel, por ter aceitado ser minha orientadora nesta dissertação e por todo o apoio, conselhos e ajuda prestada na realização da mesma.

A todos os professores do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, pelo seu empenho em transmitir o seu conhecimento aos alunos, para que estes se tornem excelentes profissionais.

Aos meus colegas e especialmente aos meus amigos que me acompanharam e ajudaram nesta etapa da minha vida e a tornaram ainda mais maravilhosa.

E por último, mas sem menos importância, muito pelo contrário, agradeço a Deus e à minha querida família pela força e incentivo, pois sem eles nada disto era possível.

“Afastai para longe de mim a dupla obscuridade na qual nasci: o pecado e a ignorância.” S. Tomás de Aquino

Resumo

Desde os tempos primitivos que o uso das plantas tem sido fulcral para a existência do Homem. Para além dos seus vários usos em diversos âmbitos como a alimentação, as plantas podem ser usadas como medicamento para a prevenção e tratamento de doenças.

As isoflavonas são compostos cuja existência nas plantas já é conhecida há mais de cem anos, mas só atraiu a atenção da comunidade científica na década de 1940 devido a problemas de fertilidade observados em animais de pastoreio de campos de trevos vermelhos (*Trifolium pratense* L.). Estes metabolitos secundários polifenólicos são produzidos principalmente por membros da família *Leguminosae*. Diversos estudos revelam que o consumo de alimentos que contêm esta classe de compostos polifenólicos, reduz a incidência de algumas patologias hormono- dependentes tais como a osteoporose e doenças cardiovasculares, reduz a sintomatologia da menopausa e abranda o envelhecimento da pele. Esta capacidade protetora deve-se à similaridade que a isoflavona tem com os estrogénios endógenos (17 β -estradiol, estriol, estrona).

Esta monografia tem como objetivo fazer uma revisão de diversas plantas, tal como a soja (*Glycine max.* L.), o trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.) e outras espécies vegetais, pois contêm fitoestrogénios que ao serem ingeridas na alimentação ou como suplementos alimentares pode ser benéfico para tratamento e/ou prevenção de determinadas patologias.

Palavras-chave: Isoflavonas, *Leguminosae*, estrogénios, Menopausa, Osteoporose

Abstract

Since the earliest times the use of plants has been central to the existence of Man. In addition to its various uses in various fields such as food, plants can be used as a medicine for the prevention and treatment of diseases.

Isoflavones are compounds whose existence in plants has been known for more than a hundred years, but only draw the attention of the scientific community in the 1940s due to fertility problems observed in grazing animals of red clover fields (*Trifolium pratense* L.). These polyphenolic secondary metabolites are mainly produced by members of the *Leguminosae* family. Several studies have found that the consumption of foods containing this class of polyphenolic compounds reduces the incidence of some hormone-dependent conditions such as osteoporosis and cardiovascular disease, reduces the symptoms of menopause, and slows the aging process. This protective capacity is due to the similarity that isoflavone has with endogenous estrogens (17 β -estradiol, estriol, estrone).

This monograph aims to review several plants, such as soybean (*Glycine max* L.), red clover (*Trifolium pratense* L.) and other plant species, as they contain phytoestrogens that when ingested in food or as food supplements may be beneficial for treatment and/or prevention of certain pathologies.

Keywords: Isoflavones, *Leguminosae*, Estrogens, Menopause, Osteoporosis

Índice

Índice de Tabelas	ix
Índice de Figuras	x
Abreviaturas	xi
1. Introdução	1
2. Isoflavonas	5
2.1. Caracterização das isoflavonas	5
2.2. Classificação das isoflavonas	7
2.3. Biodisponibilidade das isoflavonas.....	8
2.4. Mecanismos de ação das Isoflavonas.....	10
2.4.1. <i>Atividade estrogénica das isoflavonas</i>	11
3. Propriedades terapêuticas das isoflavonas	16
3.1. Ação no alívio dos sintomas da menopausa.....	16
3.1.1. <i>Caracterização da Menopausa</i>	16
3.1.2. <i>Tratamento convencional (hormonal)</i>	17
3.2. Osteoporose.....	22
3.2.1. <i>Caracterização da osteoporose</i>	22
3.2.2 <i>Tratamento convencional</i>	24
3.2.3. <i>Tratamento alternativo (isoflavonas)</i>	25
3.3. Cancro da mama.....	25

3.3.1.	<i>Caracterização do cancro da mama</i>	25
3.3.2.	<i>Tratamento alternativo (isoflavonas)</i>	27
3.4.	Envelhecimento da pele	29
3.4.1.	<i>Caracterização da pele envelhecida</i>	29
3.4.2.	<i>Tratamento alternativo (isoflavonas)</i>	31
3.5.	Sistema cardiovascular	31
3.5.1.	<i>Caracterização da doença cardiovascular</i>	31
3.5.2.	<i>Tratamento alternativo (isoflavonas)</i>	32
4.	Fitoterapia utilizando isoflavonas	34
4.1.	Soja (<i>Glycine max</i> L.)	35
4.1.1.	<i>Definição</i>	35
4.1.2.	<i>Distribuição geográfica</i>	35
4.1.3.	<i>Composição da parte utilizada</i>	35
4.1.4.	<i>Atividade estrogénica</i>	37
4.2.	Trevo vermelho (<i>Trifolium pratense</i> L.)	40
4.2.1	<i>Definição</i>	40
4.2.2.	<i>Distribuição geográfica</i>	41
4.2.3.	<i>Composição da parte utilizada</i>	41
4.2.4.	<i>Atividade estrogénica</i>	41
4.2.5.	<i>Principais precauções</i>	42
4.3.	Kudzu (<i>Pueraria montana</i> var. <i>lobata</i> (Willd.) Sanjappa & Pradeep).....	43
4.3.1.	<i>Definição</i>	43
4.3.2.	<i>Distribuição geográfica</i>	43
4.3.3.	<i>Composição da parte utilizada de interesse</i>	44
4.3.4.	<i>Atividade estrogénica</i>	44
4.3.5.	<i>Principais precauções</i>	46
4.4.	Alfalfa (<i>Medicago sativa</i> L.).....	46
4.4.1.	<i>Definição</i>	47
4.4.2.	<i>Distribuição Geográfica</i>	47
4.4.2.	<i>Composição da parte utilizada de interesse</i>	47
4.4.3.	<i>Atividade estrogénica</i>	47

4.4.4. Principais precauções.....	48
4.5. <i>Apios americana</i> Medik.....	49
4.5.1. Definição.....	49
4.5.2. Distribuição geográfica.....	49
4.5.3. Composição da parte utilizada.....	49
4.5.4. Atividade estrogénica.....	49
4.5.5. Principais precauções.....	50
4.6. Grão de bico (<i>Cicer arietinum</i> L.).....	50
4.6.1. Definição.....	51
4.6.2. Distribuição geográfica.....	51
4.6.3. Composição da parte utilizada.....	51
4.6.4. Atividade estrogénica.....	52
4.6.5. Principais precauções.....	52
4.7. <i>Pueraria tuberosa</i> (Willd.) DC.....	53
4.7.1. Definição.....	53
4.7.2. Distribuição geográfica.....	53
4.7.3. Composição da parte utilizada.....	53
4.7.4. Atividade estrogénica.....	53
4.7.5. Principais precauções.....	54
4.8. Feijão-da-china (<i>Vigna radiata</i> (L.) R.Wilczek).....	54
4.8.1. Definição.....	54
4.8.2. Distribuição geográfica.....	54
4.8.3. Composição da parte utilizada.....	55
4.8.4. Atividade estrogénica.....	55
4.8.5. Principais precauções.....	55
4.9. <i>Eriosema laurentii</i> De Wild.....	56
4.9.1. Definição.....	56
4.9.2. Distribuição geográfica.....	56
4.9.3. Composição da parte utilizada.....	56
4.9.4. Atividade estrogénica.....	56
4.9.5. Principais precauções.....	57
5. Conclusão.....	58
6. Referências Bibliográficas.....	61

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Níveis de evidência, recomendações e graus do uso de isoflavonas para alívio da sintomatologia da menopausa.....	22
Tabela 2 - Quantidade em mg de isoflavonas por 100 g em alimentos derivados de soja	37
Tabela 3 – Fármacos para terapêutica não hormonal à base de isoflavonas de soja, com respectiva dose e nome comercial.	59

Índice de Figuras

Figura 1 - Molécula base das isoflavonas.....	5
Figura 2 - Conversão de flavonoides a isoflavonas.....	6
Figura 3 - Representação da fórmula de estrutura de daidzeína, formononetina, genisteína, bioquanina A e gliciteína.....	8
Figura 4 - Comparação estrutural entre a molécula estradiol com isoflavonóides e relações de correspondência entre as moléculas de isoflavonas e do estradiol.	12
Figura 5 - Distribuição dos recetores estrogénicos no Homem.....	14
Figura 6 - Estrutura química da isoflavona puerarina.	44

Abreviaturas

CVA – Cerebrovascular Accident

CVD – Cardiovascular Disease

DNA – Deoxyribonucleic acid

EEC – Equinoconjugated estrogens

EGF – Epidermical Growth Factor

FDA – Food and Drugs Administration

FSH – Follicle-stimulating hormone

GPR30 – G Protein-Coupled Receptor 30

HER 2 – Human epidermal growth factor receptor type 2

HDL – High density lipoproteins

ILGF – Insulin-like growth factor

LD₅₀ – Lethal dose

LDL – Low density proteins

LH – Luteinizing Hormone

MCF-7 – Human breast adenocarcinoma cell line

NADPH – Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

PAL – Phenylalanine Ammonia Lyase

PDGF – Platelet-derived growth factor

PPAR – Peroxisome proliferator-activated receptor

RANKL – Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand

RE – Estrogen Receptor

TC – Total Cholesterol

TGF – Transforming growth factor

TPO – Thyroid peroxidase

VLDL – Very low-density lipoproteins

1. Introdução

Desde os primórdios da humanidade que a maioria dos historiadores reportam ao Paleolítico, o primeiro dos três períodos em que se subdivide a Idade da Pedra, o uso das plantas como alimento, medicamento, na construção de abrigos, no aquecimento, etc. (Cunha, et al., 2009)

As isoflavonas são compostos cuja existência nas plantas já é conhecida há mais de cem anos. Estes metabolitos têm uma distribuição muito limitada encontrando-se em quantidades fisiologicamente relevantes em alguns alimentos mais comumente consumidos pelos seres humanos, como a soja e os alimentos derivados desta leguminosa, embora outras plantas, como o trevo vermelho, serem também fontes ricas. (Messina, 2010)

O tópico das isoflavonas atraiu a atenção da comunidade científica na década de 1940 devido a problemas de fertilidade observados em animais de pastoreio, de ovelhas em campos de trevo vermelho (*Trifolium subterraneum* L.) na Austrália Ocidental. (Messina, 2010)

Na década de 1950, verificou-se o efeito estrogénico daquelas plantas em roedores, logo as isoflavonas foram estudadas como possíveis promotoras de crescimento para se usarem na indústria de alimentos para animais, embora neste caso, as isoflavonas também revelaram ter uma ação anti-estrogénica. Na década seguinte, 1960, a determinação de afinidades químicas das isoflavonas com o recetor de estrogénios ajudou a estabelecer firmemente que estes compostos são fitoestrogénios. (Gilani, 2002) Estes compostos têm uma estrutura semelhante à dos estrogénios. Os fitoestrogénios subdividem-se em 3 classes de maior interesse nutricional e biológico, sendo uma das subclasses as isoflavonas e as outras os linhanos e cumestanos. (Dixon, 2004)

Só em 1990, devido a uma pesquisa patrocinada pelo Instituto Nacional do Cancro dos Estados Unidos, investigou-se as isoflavonas derivadas de alimentos de soja e estudou-se a sua capacidade de aliviar os afrontamentos e retardar a perda óssea em mulheres na menopausa. Este facto foi também suportado por uma intensificação de estudos em relação às isoflavonas, a partir da observação de populações orientais, mulheres asiáticas e particularmente as japonesas, com uma dieta rica de isoflavonas

derivadas de produtos à base de soja, apresentarem menor incidência de algumas patologias, como alguns tipos de cancro, osteoporose e sintomas da menopausa como os afrontamentos. (Setchell, 2017)

A incidência dos números de cancros, incluído o da mama e da próstata revelou ser superior nas populações ocidentais em comparação com alguns países como o Japão e a China. (Nagata, 2010; Yamamoto et al., 2003) Estudos epidemiológicos sugerem que características raciais e outros fatores como o estilo de vida, alimentação, e o consumo de gorduras e fibras têm impacto na etiologia destas doenças. A diferença mais notável é realmente o grande consumo de alimentos de soja ou derivados ricos em isoflavonas nas populações asiáticas. (Chao, 2008) A diferença do consumo de isoflavonas entre as populações ocidentais das orientais indica que as últimas apresentam um maior consumo destes fitoestrogénios. As estimativas sugerem que um consumidor japonês está exposto a uma média de 25 a 100 miligramas de isoflavonas por dia, enquanto no Reino Unido o consumo diário individual está por volta de 1 miligrama. A este facto denominaram por “Fenómeno Japonês” por estar ligado a uma menor incidência de doenças crónicas específicas nos japoneses em comparação com a população ocidental, devido a uma maior ingestão de alimentos de soja altamente ricos em isoflavonas. Para suportar ainda este fenómeno verificou-se que a prevalência de cancro de mama em filhas de japoneses emigrados tornou-se semelhante à dos americanos caucasianos depois de terem mudado os seus hábitos alimentares. (Gütelkin, 2006)

Em 1995 foi descoberta a capacidade deste metabolito derivado da soja, a isoflavona, de reduzir o colesterol e começou-se a discutir um potencial uso como alternativa à terapia hormonal convencional. Também foram feitos os primeiros estudos em animais que demonstraram benefícios a nível da estrutura óssea ao utilizar este produto rico em isoflavonas que melhorava a densidade mineral óssea. Durante os dois anos seguintes fizeram-se diversos estudos e ensaios que abordaram os efeitos destes compostos na densidade mineral óssea em mulheres em pós-menopausa. Estes estudos foram possíveis e facilitados devido ao desenvolvimento de suplementos de isoflavonas que ficaram disponíveis ao público em 1996. (Preedy, 2012)

Em 2000 ocorreu uma intensificação na publicação de resultados sobre atividade farmacológica, propriedades físico-químicas e utilização terapêutica das isoflavonas.

(Messina, 2010) Um desses estudos, realizados por um grupo de pesquisa da Universidade Wake Forest, ajudou a popularizar a noção de que as isoflavonas possuíam propriedades agonistas / antagonistas dos recetores de estrogénios (RE) e eram uma possível alternativa à terapia hormonal convencional. (Michel et al., 2013)

Apesar de toda a informação refletir sobre os potenciais benefícios para a saúde com o consumo de alimentos que contêm isoflavonas, estes compostos não são totalmente seguros. Este facto é baseado, em grande parte, nas propriedades similares às do estrogénio. Na realidade, as isoflavonas não são apenas classificadas como fitoestrogénios e agonistas / antagonistas de estrogénios, mas também como disruptores endócrinos. A Agência Europeia de Saúde Ambiental em 2012, define os disruptores endócrinos como “substâncias exógenas que causam efeitos adversos na saúde de um organismo intacto e sua descendência, resultantes de alterações na função endócrina” e a Agência de Saúde Ambiental dos EUA define como “agentes exógenos que interferem com a produção, libertação, transporte, metabolismo, ligação, ação ou eliminação de hormonas naturais do corpo, responsáveis pela manutenção da homeostase e pela regulação dos processos de desenvolvimento”. O impacto deste tipo de compostos depende de vários fatores, podendo ter uma ação benéfica e por isso ser usado como um fator protetor em determinadas doenças, mas também pode desencadear efeitos adversos em determinadas situações e indivíduos. (Nohynek, 2013)

As avaliações da segurança das isoflavonas foram realizadas por agências governamentais e outras em vários países europeus, bem como no Japão e em Israel. Os resultados experimentais (*in vitro* e em animais e poucos ensaios clínicos) que se têm vindo a obter apontam para o facto de que as isoflavonas podem representar um risco para determinados indivíduos, como é o caso de doentes com cancro dependentes de estrogénios e mulheres com alto risco de desenvolver essa doença. (Messina, 2010)

Independentemente da investigação sobre as isoflavonas e a saúde, ainda se reconhece uma necessidade de identificar os fatores que contribuem para os dados clínicos inconsistentes. Exemplos de fatores incluem as diferenças interindividuais no metabolismo das isoflavonas, o estado de saúde (em risco em comparação com o risco normal, saudável em comparação com o não saudável) e o perfil metabólico (ou seja, os

polimorfismos dos recetores) dos participantes do estudo e especialmente, diferenças na composição química dos produtos de intervenção. (Messina, 2010)

Esta monografia tem como objetivo fazer uma revisão sobre as propriedades terapêuticas das isoflavonas, o seu mecanismo de ação nos distúrbios hormonais, de forma a verificar se o seu aconselhamento como alternativa à terapêutica hormonal de substituição se justifica. Simultaneamente serão igualmente revistos alguns exemplos de plantas que incluem na sua constituição este tipo de metabolitos e que podem ou ser ingeridas na alimentação ou usadas como fonte para suplementos alimentares.

2. Isoflavonas

2.1. Caracterização das isoflavonas

As isoflavonas são uma classe de compostos polifenólicos que se encontram nas espécies vegetais da família *Fabaceae* e que apresentam potencial atividade estrogénica, redutora de colesterol, ação quimioterapêutica e antioxidante. Estas substâncias apresentam um grupo fenilo na posição 3 do anel benzopireno. A maioria das isoflavonas para consumo humano e que atualmente são muito estudadas são derivadas da soja. (Dewick, 2009) A sua fórmula molecular base é $C_{15}H_{10}O_2$ e a respetiva estrutura química encontra-se na figura 1.

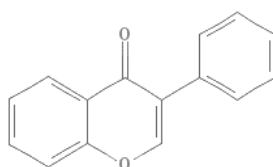


Figura 1 – Fórmula estrutural base das isoflavonas. (PubChem NCBI, 2017)

As isoflavonas pertencem a um grupo de metabolitos secundários que se podem extrair de plantas da família *Leguminosae* (*Fabaceae*). A via biossintética é a da via do chiquimato. A via chiquimato fornece uma via alternativa para compostos aromáticos, particularmente os aminoácidos aromáticos L-fenilalanina, L-tirosina e L-triptofano. Microrganismos e plantas usam esta via, mas os animais não, e por essa razão os aminoácidos aromáticos são aminoácidos essenciais (fenilalanina e tirosina) para o Homem, obtidos através da alimentação. (Dewick, 2009; Preedy, 2012)

A via chiquimato tem o propósito de originar o ácido chiquímico, um precursor para a formação dos flavonoides, e a sua formação inicia-se com uma condensação aldólica de dois metabolitos: fosfoenolpiruvato (vindo da via glicolítica) e D-eritrose-4-fosfato, do ciclo pentose-fosfato. Esta reação é catalisada pela 3-desoxi-2

Os isoflavonóides são sintetizados através de uma via fenilpropanóide que é extensamente estudada em plantas e responsável pela síntese e produção de diversos metabolitos como flavonoides, linhanos, taninos condensados e os isoflavonóides e isoflavonas. A síntese dos isoflavonóides ou isoflavonas requer uma série de reações enzimáticas que inicia com a desaminação do aminoácido L-fenilalanina e prossegue

para a via chiquimato com o auxílio da enzima fenilalanina amônia liase (PAL) produzindo o cinamato que é o precursor de vários fenilpropanoides. (Wang, 2011; Anguraj Vadivel et al., 2016) Estes isoflavonóides formam uma subclasse bastante distinta do composto flavonóide, sendo variantes estruturais nas quais o anel aromático derivado do chiquimato migrou para o carbono adjacente do heterociclo. Este rearranjo ocorre graças à ação da isoflavona sintase (monooxigenase dependente de citocromo P450) que requer como cofatores o NADPH e O₂, que transforma as flavonas liquiritigenina ou naringenina nas isoflavonas daidzeínas ou genisteína respetivamente, através de hidroxiiisoflavonas intermediárias. A formação das isoflavonas formononetina e bioquanina envolve a metilação na fase da hidroxiiisoflavanona. A etapa do rearranjo é bastante rara na natureza e, embora os flavonoides sejam encontrados em todo o reino vegetal, os isoflavonoides estão quase inteiramente restritos à família de plantas *Leguminosae/Fabaceae*. No entanto, muitas centenas de diferentes isoflavonoides foram identificados, a complexidade estrutural é provocada por reações de hidroxilação e alquilação, variando o nível de oxidação do anel heterociclo, ou formando anéis heterociclos adicionais. (Dewick, 2009) O processo descrito anteriormente está representado na figura 2.

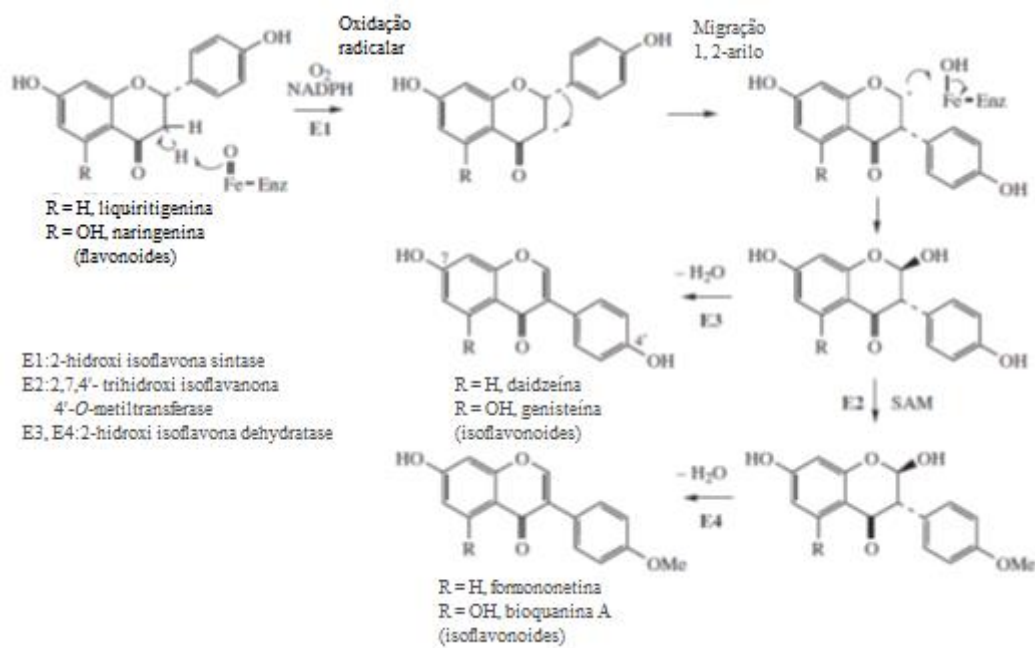


Figura 2 - Conversão de flavonoides a isoflavonas. (Dewick, 2009)

2.2. Classificação das isoflavonas

Os flavonoides são um subgrupo de um vasto grupo de constituintes de plantas, os polifenóis. Os isoflavonóides apresentam uma distribuição muito restrita no reino das plantas e são encontrados predominantemente nas plantas leguminosas. (Dewick, 2009) Neste subgrupo foram identificados cerca de 360 isoflavonoides na natureza que foram divididos em subclasses de acordo com nível de oxidação do anel pirano central. As isoflavonas são uma subclasse de metabolitos que são fitoestrogénios polifenólicos e que se apresentam principalmente na forma de heterósidos metoxilados, glicosilados ou sulfonados e são frequentemente compostos altamente polares. (Dewick, 2009) As isoflavonas de ocorrência natural que demonstraram atividade estrogénica são as agliconas daidzeína (4',7 - di-hidroxi-isoflavona) e genisteína (4',5,7- tri-hidroxi-isoflavona) e os respetivos glucósidos, daidzina e genistina; os precursores bioquanaína A e formononetina, éteres 4-metil da genisteína e daidzeína, após a ação das glucosidases intestinais originam a genisteína e a daidzeína, respetivamente. A gliciteína (7,4'-di-hidroxi-6-metoxi-isoflavona) e o respetivo glucósido glicitina é também uma isoflavona. Os glicósidos podem também encontrar-se esterificados com ácidos orgânicos, tais como malonilo ou ácido acético. Existem no total 12 isómeros diferentes de isoflavonas. (Ososki, 2003; Munro, 2003)

Portanto, as isoflavonas mais comumente encontradas em alimentos à base de plantas e cuja estrutura molecular se encontra na figura 3 são:

- Genisteína
- Daidzeína
- Gliciteína
- Bioquanaína A (derivado de uma metilação da genisteína)
- Formononetina (derivado de uma metilação da daidzeína)

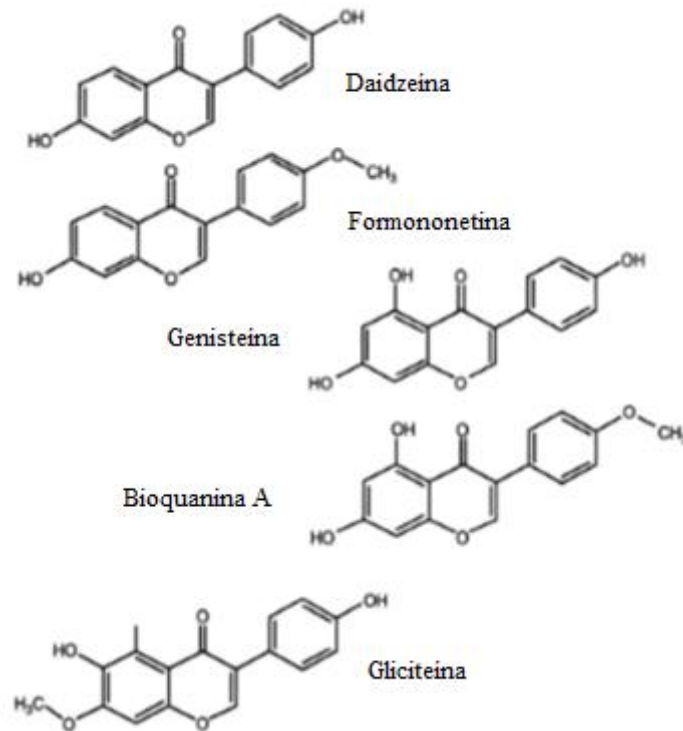


Figura 3 - Representação da fórmula de estrutura de daidzeína, formononetina, genisteína, bioquanicina A e gliciteína. (Pizzorno & Murray, 2013)

Nas plantas, as isoflavonas encontram-se mais comumente na forma de heterósidos, o que significa que estão ligadas a uma molécula de açúcar. (Barnes et al., 2013) Estes heterósidos têm de sofrer algumas alterações antes de se tornarem biologicamente ativos. (Gütelkin, 2006)

2.3. Biodisponibilidade das isoflavonas

De forma a analisar a biodisponibilidade das isoflavonas, é importante compreender as vias de metabolização que ocorrem no corpo humano após a ingestão. Após a ingestão, os isoflavonoides são transformados no trato intestinal pelo metabolismo bacteriano. (Kopečná-Zapletalová et al., 2017). Os glucósidos sofrem hidrólises realizadas por bactérias intestinais e enzimas hidrolíticas libertando as agliconas biologicamente ativas (daidzeína, genisteína e gliciteína). (Gütelkin, 2006)

Como os glucósidos de isoflavonas (apresentam um grupo açúcar) não conseguem ser absorvidos intactos em quantidades significativas, estes devem ser clivados de modo

a libertar as aglíconas. A absorção deste metabolito a partir de alimentos varia geralmente entre 10 a 50 %. (Bohn, 2010) Os respectivos glucósidos das isoflavonas são hidrolisados tanto pelas enzimas presentes nos alimentos, como enzimas bacterianas no intestino grosso ou delgado, ou por enzimas humanas presentes na mucosa intestinal como β -glucosidases. (Bohn, 2010; Motoi et al., 2009) Após clivagem, as aglíconas resultantes são diretamente absorvidas ou então são ainda mais metabolizadas pela microbiota do intestino grosso em outros metabolitos secundários, como o equol, que apresentam potencial benéfico na saúde. Existem estudos que demonstram que a desglucosilação (hidrólise) pode ocorrer também na boca em alguns casos. (Kopečná-Zapletalová et al., 2017) Diferentes taxas de absorção entre as formas de isoflavonas glucosiladas e aglíconas foram reportadas sugerindo que nem todos os isoflavonoides podem ser considerados na mesma forma quando se encontram em diferentes tipos de alimentos. (Kopečná-Zapletalová et al., 2017) Assim, a absorção de isoflavonoides é controlada pela especificidade e distribuição enzimática. No entanto, as aglíconas podem ser absorvidas pelas células epiteliais, tanto no intestino grosso como no delgado, por difusão passiva não saturável. Neste ambiente, as isoflavonas sofrem processos de glucuronidação e/ou sulfonação para aumentar a solubilidade na água, processo que ocorre maioritariamente já no intestino e posteriormente também no fígado e nos rins. (Bohn, 2010) Portanto, depois da absorção inicial, as isoflavonas (aglíconas) sofrem um metabolismo extensivo de primeira passagem. O glucuronido e os metabolitos sulfoconjugados produzidos são transportados através da circulação sanguínea para os tecidos, onde podem ser secretados pela bilis o que faz com que retornem ao intestino, ou excretados através dos rins. O pico plasmático da daidzeína e dos metabolitos da genisteína é por norma entre 6 a 8 horas após a ingestão de isoflavonoides. (Kopečná-Zapletalová, et al. 2017) Algumas isoflavonas foram detetadas na próstata e na mama, muitas vezes em concentrações superiores às do plasma. Apenas pequenas quantidades são excretadas nas fezes (menos de 5 %). A maioria das isoflavonas é excretada na urina, até cerca de 50 % das isoflavonas ingeridas, com maior taxa de depuração plasmática e excreção de daidzeína e gliciteína e menor para genisteína. (Bohn, 2010)

A formononetina e bioquarina A são desmetiladas (eliminação de um grupo metilo) pela microbiota intestinal para daidzeína e genisteína, respetivamente. A

microbiota intestinal também pode modificar as isoflavonas estrogénicas para formas ainda mais ativas. (Pizzorno & Murray, 2013)

O equol é um metabolito específico das isoflavonas produzido pela degradação da daidzeína pelas bactérias intestinais. Tem a capacidade de se ligar aos recetores de estrogénio com maior afinidade para os RE β , sendo por vezes designado como agonista do RE β . O equol apresenta duas isoformas (*S*) e (*R*), apenas o *S*-equol é detetado no plasma e apresenta atividade biológica. Nem todas as pessoas têm a capacidade de converter a daidzeína para o equol. (Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2016) Este metabolito é produzido em quantidades consideráveis por aproximadamente 30 a 35% dos omnívoros e indivíduos da população ocidental e cerca de 60% pelos vegetarianos e asiáticos. (Franke, et al., 2014) A composição bacteriana e condições intraluminais do intestino são os principais fatores que distinguem estas diferenças interindividuais. (Magnet, et al., 2017)

Por norma, as isoflavonas atingem concentrações máximas plasmáticas 4 a 8 horas após ingestão e são excretadas do organismo num intervalo de 24 horas, maioritariamente na urina e eliminadas numa menor extensão, cerca de 5%, pelas fezes. (Gütelkin, 2006)

2.4. Mecanismos de ação das Isoflavonas

As isoflavonas atuam por vários mecanismos que justificam os efeitos terapêuticos que produzem, tais como a redução de doenças coronárias, retardamento da manifestação da aterosclerose, efeitos benéficos na hipercolesterolemia, proteção contra o cancro, melhoria da osteoporose e atividade hormonal. (Matos et al., 2005) Alguns dos mecanismos incluem:

- Ligação aos recetores de estrogénio;
- Inibição da proteína tirosina cinase;
- Propriedades antioxidantes;
- Interação com recetores ativados por proliferador de peroxissoma PPAR (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor);
- Inibição competitiva fraca da peroxidase da tiroide (TPO).

Outros mecanismos foram propostos, incluindo a modulação da síntese e metabolismo dos esteroides, indução da quebra de cadeias de DNA que provocam a apoptose ou morte da célula, inibição da angiogénese, inibição da formação e ativação das plaquetas, aumento da atividade do recetor de LDL e aumento da fluidez da membrana. (Pizzorno & Murray, 2013)

Neste trabalho será focado com maior intensidade o efeito estrogénico destes metabolitos, ou seja, a sua ligação aos recetores de estrogénio e consequentes efeitos.

2.4.1. Atividade estrogénica das isoflavonas

Os fitoestrogénios são compostos naturais não esteróides, geralmente constituintes de plantas ou seus metabolitos, que induzem respostas biológicas em mamíferos imitando ou modulando a ação dos estrogénios endógenos (17 β -estradiol, estriol, estrona). (Michel et al., 2013) Estes compostos têm propriedades estrogénicas relativamente fracas, logo são necessárias concentrações muito altas em relação às de estradiol para produzir uma resposta biológica equivalente. Através de resultados de estudos *in vitro* e *in vivo* estabeleceu-se uma classificação que avaliava a potência destes compostos e verificou-se que entre as isoflavonas, a mais potente era a genisteína, seguida da gliciteína, daidzeína e, por fim, a formononetina e a bioquarina A que apresentam níveis de potência muito semelhantes. (Gütelkin, 2006)

Apesar de serem pouco potentes em relação ao estradiol, isoflavonas simples, como a daidzeína, tem atividade estrogénica suficiente para afetar a reprodução de animais domésticos ou de pastoreio. Estas moléculas são planares e imitam a forma e a polaridade da hormona esteroide estradiol e têm a capacidade de se ligar a um recetor do estrogénio, embora a sua atividade seja muito menor que a do estradiol. (Dewick, 2009)

Alguns elementos estruturais são cruciais para a ligação nos recetores de estrogénio (REs) e, conseqüente, ação estrogénica das isoflavonas, como a presença indispensável de um anel fenólico e peso molecular semelhante ao do estradiol, componentes que as isoflavonas apresentam e lhes confere capacidade de mimetizar a hormona. Também a distância entre os dois grupos hidroxilo ligados aos anéis aromáticos no núcleo das isoflavonas é quase idêntico à distância entre os dois grupos

hidroxilo do estradiol (Figura 4). Estas semelhanças estruturais entre estes fitoestrogénios e o estradiol verificam-se entre as classes das isoflavonas mencionadas anteriormente. (Gütelkin, 2006)

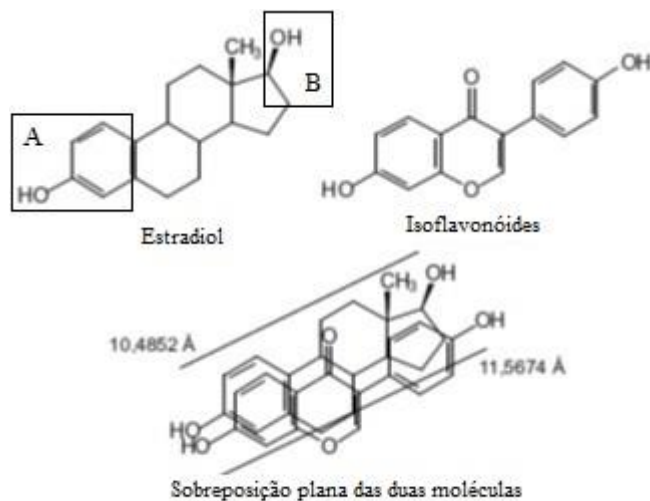


Figura 4 - Comparação estrutural entre a molécula estradiol com isoflavonóides (O quadro A apresenta o anel fenólico e o quadro B contém o grupo hidroxilo que proporciona as características essenciais para a ligação aos REs e que se encontram também nas isoflavonas) e relações de correspondência entre as moléculas de isoflavonas e do estradiol. (Gütelkin, 2006; Matos, et al., 2005)

No início do século XXI é que se descobriram as potenciais propriedades agonistas/antagonistas das isoflavonas nos REs, o que poderia ser uma possível alternativa à terapia hormonal convencional. Tal se deve ao facto de as isoflavonas serem fitoestrogénios cuja ação biológica é praticamente derivada da sua capacidade de se ligar aos REs. Duas isoformas principais, RE α e RE β , codificadas por dois genes diferentes foram descritas. A estrutura principal do RE é caracterizada por três domínios funcionais principais: a área responsável pela ligação com o ligando (hormona, fitoestrogénios), a região responsável pela interação com DNA e a região que regula a transcrição. Os fitoestrogénios podem atuar como agonistas ou antagonistas do estrogénio, pois podem desencadear uma resposta estrogénica ao se ligar e ativar o RE, o que induz um efeito estrogénico, ou uma resposta anti-estrogénica ao bloquear ou alterar a normal ativação do recetor pelos estrogénios endógenos e, assim, inibindo um efeito estrogénico. Os fitoestrogénios também podem não ter afinidade aos RE, logo atuam através de mecanismos de ação alternativos, como através da ativação ou inibição

de determinadas enzimas cuja ação está interligada com a resposta estrogénica ou que altera a quantidade total de estrogénios livres no organismo. (Michel et al., 2013)

Pouco tempo após esta descoberta, os investigadores começaram a referenciar as isoflavonas como moduladores seletivos naturais do RE, uma classificação que teve o apoio da identificação do segundo RE, o recetor de estrogénios beta ($RE\beta$) e a descoberta de que as isoflavonas se ligam preferencialmente ao $RE\beta$ em comparação ao recetor de estrogénio alfa ($RE\alpha$). (Chemler et al., 2010; Messina, 2010)

Estes subtipos de recetores apresentam diferente distribuição nos tecidos, o que pode explicar a sua variedade de ações e os diferentes papéis na regulação de genes, biologia e terapia do cancro. (Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2016)

- $RE\alpha$ e $RE\beta$ – sistema nervoso central, ovários, útero, sistema cardiovascular e seios.
- $RE\alpha$ – mama, fígado, testículos, glândulas suprarrenais, rins.
- $RE\beta$ – vasos sanguíneos, osso, pulmão, cérebro, timo, próstata e trato urogenital (Figura 5).

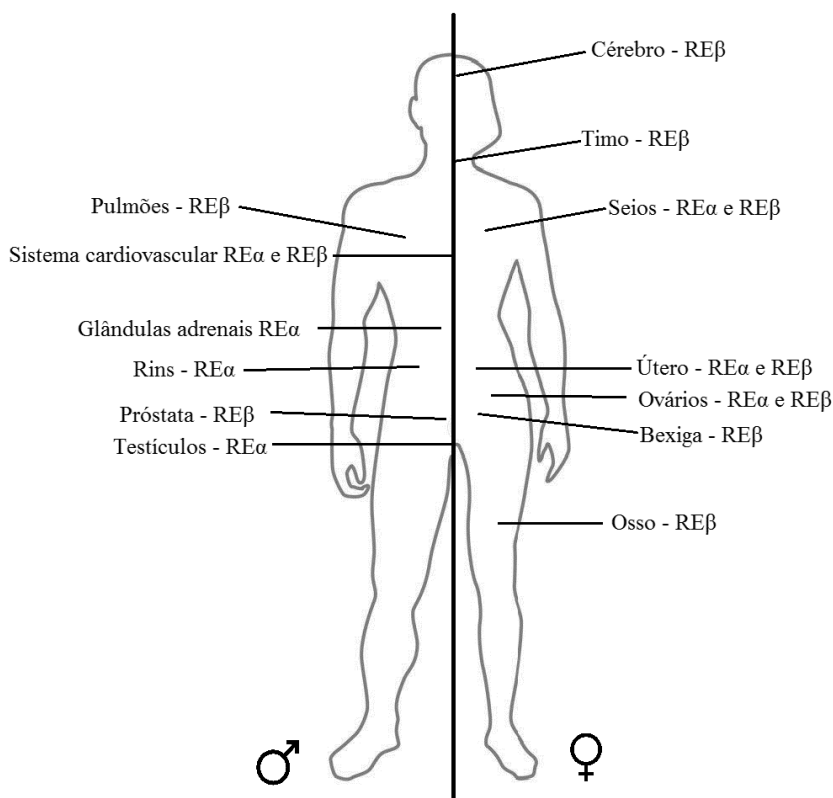


Figura 5 - Distribuição dos recetores estrogénicos no Homem. Adaptado de (Matos et al., 2005).

O estrogénio mais potente no ser humano é o 17β -estradiol, seguido da estrona e do estriol. O estradiol é o estrogénio predominante na mulher em idade fértil e é produzido principalmente pelos ovários. (DrugBank, 2018) Esta hormona esteroide derivada do colesterol tem muitas funções, embora atue principalmente no amadurecimento e manutenção do sistema reprodutivo feminino. O aumento natural dos níveis de estradiol durante o ciclo menstrual faz com que o oócito amadureça e seja libertado, para além de ser responsável pelo revestimento do útero para que possa ocorrer nidação caso o óvulo esteja fertilizado. O estradiol também promove o desenvolvimento do tecido mamário e aumenta a espessura do osso e cartilagem. Nas mulheres pré-menopausicas, o estradiol é produzido principalmente pelos ovários. Os seus níveis variam ao longo do ciclo menstrual, sendo maior na ovulação e menor na menstruação. Os níveis de estradiol nas mulheres diminuem lentamente com a idade, com uma grande diminuição na menopausa. O nível mínimo de estradiol circulante no ciclo menstrual normal é cerca de 40 picogramas / ml, sendo de 250 pg / ml no meio do

ciclo e de 100 pg / ml na fase lútea. Na pós-menopausa, o estradiol diminui para níveis inferiores a 20 pg / ml. (Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2016)

Os homens também produzem esta hormona, mas em quantidades muito inferiores às das mulheres. Em ambos os sexos, o estradiol também é produzido em quantidades muito menores pelo tecido adiposo, o cérebro e as paredes dos vasos sanguíneos. Esta hormona é encontrada na maioria dos vertebrados, bem como em muitos crustáceos, insetos, peixes e outras espécies animais. (Society for Endocrinology, 2011)

Os fitoestrogénios estimulam a resposta estrogénica em alguns tecidos enquanto que em outros podem antagonizar o efeito dos estrogénios. Logo ao tomar estes metabolitos através da alimentação, estes influenciarão a atividade estrogénica geral do corpo, adicionando os seus efeitos aos níveis normais dos estrogénios já existentes. (Rietjens et al., 2017)

Alimentos ricos em isoflavonoides, em particular as isoflavonas, são valiosos para combater alguns dos efeitos colaterais da menopausa, como os afrontamentos, cansaço e mudanças de humor. Além disso, verifica-se que os fitoestrogénios também fornecem uma série de outros efeitos benéficos, ajudando a prevenir ataques cardíacos e outras doenças cardiovasculares, protegendo contra a osteoporose, diminuindo o risco de cancro de mama, e também exibe atividade antioxidante significativa que pode reduzir o risco de doença de Alzheimer. Alguns destes benefícios podem ser obtidos através do uso de estrogénios, particularmente através da terapia de reposição hormonal. Os fitoestrogénios oferecem uma alternativa dietética. (Matos et al., 2005)

3. Propriedades terapêuticas das isoflavonas

Como já foi referido anteriormente as isoflavonas têm diversos mecanismos de ação e devido à sua estrutura molecular similar ao do estradiol têm a capacidade de mimetizar esta hormona e ao fazê-lo permitem reduzir as “ondas de calor” características na menopausa, diminuir o risco de certas doenças cardiovasculares, possibilitam a manutenção da densidade óssea, diminuem o colesterol, melhoram o tónus da pele e em algumas situações reduzem o risco de cancro da mama.

3.1. Ação no alívio dos sintomas da menopausa

3.1.1. Caracterização da Menopausa

A menopausa é uma etapa biológica marcada pelo fim da menstruação devido à redução da função dos ovários. Quando a mulher atinge a idade entre os 40 e os 50 anos, o ciclo menstrual torna-se irregular e a ovulação deixa de ocorrer. Finalmente, os ciclos menstruais cessam por completo. (Seeley et al., 2011) Esta ausência definitiva de menstruação é chamada de menopausa e o tempo que decorre entre o início das alterações do ciclo menstrual e a amenorreia da menopausa, que atinge com frequência os 3 a 5 anos, é designado por climatério ou peri-menopausa. A menopausa iatrogénica é consequente à destruição do património folicular ovárico por métodos variados (químico ou radioterapia), incluindo a remoção cirúrgica (menopausa cirúrgica). Considera-se que a menopausa precoce é a que ocorre antes e entre os 40 a 45 anos e a tardia a que ocorre a partir dos 50 anos. (Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2016)

A menopausa associa-se a alterações que ocorrem no ovário. O número de folículos ováricos que restam na mulher na menopausa é pequeno. Além disso, os folículos restantes tornam-se menos sensíveis à estimulação da hormona luteinizante (LH) e da hormona folículo estimulante (FSH), mesmo que os valores destas hormonas permaneçam elevados. Como se torna menor a resposta dos ovários à estimulação pela FSH e pela LH, é menor o número de folículos que amadurecem e menor o número de corpos amarelos a que dão origem. Na mulher, ocorrem alterações morfológicas graduais em resposta à diminuta quantidade de estrogénio e de progesterona produzida pelos ovários. (Seeley et al., 2011)

Diversas alterações causadas pela diminuição da secreção hormonal ovárica na mulher em pós-menopausa (período que se inicia com a última menstruação) podem ocorrer. As estruturas/funções afetadas são:

- Ciclo menstrual: entre cinco e sete anos antes da menopausa, os ciclos começam a ser mais irregulares; por fim, aumenta o número de ciclos em que a ovulação não ocorre e o corpo amarelo não se desenvolve.
- Útero: a menstruação irregular é gradualmente seguida pela ausência de menorreia; por fim, surge a atrofia do endométrio e a diminuição do volume uterino.
- Vagina e genitais externos: a pele e o tecido celular subcutâneo tornam-se mais finos; a vulva torna-se mais fina e menos elástica; a diminuição de secreções vaginais determina a secura vaginal; a vagina é mais facilmente inflamada e infetada.
- Pele: a epiderme torna-se mais fina e a síntese de melanina aumenta.
- Sistema cardiovascular: a hipertensão e aterosclerose são mais frequentes.
- Instabilidade vasomotora: os aumentos súbitos de calor e de sudação estão relacionados com a vasodilatação dos vasos sanguíneos cutâneos; os “afrontamentos” estão relacionados com a diminuição dos níveis de estrogénio.
- Líbido: alterações temporárias, como o aumento ou diminuição do desejo sexual.
- Fertilidade: a fertilidade começa a declinar cerca de dez anos antes da menopausa.

Em algumas mulheres ocorrem, durante o climatério, uma variedade de sintomas entre os quais os “afrontamentos”, a irritabilidade, o cansaço, a ansiedade e, algumas vezes, graves perturbações emocionais. Também é comum verificar alterações no sono e problemas urinários em que as mulheres ficam mais suscetíveis às infeções do trato urinário como cistites ou então uma necessidade de urinar mais frequente. (Lima et al., 2017; Saghafi et al., 2017; Seeley et al., 2011)

3.1.2. Tratamento convencional (hormonal)

Muitas mulheres não procuram aconselhamento médico durante esta fase da sua vida, mas também muitas não necessitam de tratamento. No entanto, deve-se ir a uma

consulta médica caso os sintomas da menopausa estejam a afetar a qualidade de vida da mulher. (Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2016)

A constatação de que os principais sinais e sintomas do climatério resultam do declínio na produção de estrogénios, levou à sua utilização como agente terapêutico. Muitos destes sintomas podem ser tratados com sucesso, se forem administradas pequenas quantidades de estrogénios e depois, gradualmente, for diminuído o tratamento. (DGS, 2011)

O seu modo de ação é essencialmente genómico, mediado por recetores de estrogénios nucleares alfa e beta. Os estrogénios livres entram passivamente nas células, onde se ligam aos recetores nucleares específicos, exercendo a sua função em cada órgão. O fígado é o principal órgão de conjugação dos estrogénios, com vista à sua subsequente excreção pelo rim. Os efeitos da toma de estrogénios são vários, manifestando-se através do sistema cardiovascular com uma melhoria do perfil lipídico e um pequeno aumento da pressão arterial, osteoarticular, função cognitiva e outros. (Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2016)

Verifica-se que a administração de estrogénio após a menopausa ajuda a prevenir a osteoporose. Embora a terapia com o estrogénio seja considerada eficaz, em muitos casos prolonga os sintomas associados à menopausa. Existem alguns efeitos colaterais da terapia com os estrogénios que devem ser considerados como, por exemplo, um pequeno aumento da probabilidade de desenvolvimento dos cancros do útero e da mama. Alguns dados indicam um risco aumentado de doença cardíaca nos primeiros anos após a menopausa. (Seeley et al., 2011)

Os tipos de tratamentos hormonais com estrogénio usados para combater os sintomas da menopausa são: 17β -estradiol administrado por via oral, pode ainda ser utilizado por via transdérmica, percutânea, intranasal (não comercializado em Portugal) e vaginal; valerato de estradiol (pró-fármaco cuja administração é por via oral); estrogénios equinoconjugados (EEC) (administrados por via oral e vaginal); estriol (apenas utilizado por via tópica) e etinilestradiol que é um derivado sintético do 17β -estradiol e integra a maioria das formulações dos contraceptivos combinados. (Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2016)

Mas a maioria dos medicamentos usados para tratamentos hormonais com estrogénio apresentam diversos efeitos adversos como: aumento do risco de hiperplasia e de cancro do endométrio com estrogénios isolados, dependendo da duração e da dose utilizada; aumento dos triglicéridos; aumento do risco de coledocolitíase e litíase biliar; aumento do risco de trombo embolismo venoso e risco de broncospasmo. (Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2016)

Muitos outros tratamentos hormonais podem ser adotados para alívio dos sintomas da menopausa, como os tratamentos progestativos, hormonas bioidênticas, moduladores seletivos dos recetores de estrogénios (SERMs), complexo estrogénico seletivo do tecido (estrogénios conjugados e acetato de bazedoxifeno), androgénios e outros. (Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2016)

A sintomatologia associada aos afrontamentos ocorre na sequência de disfunção do mecanismo da termorregulação corporal composto por três intervenientes principais: o sistema nervoso central, a temperatura corporal e o sistema vascular periférico. Sabendo que o motivo desta disfunção é a redução sérica dos estrogénios, é fácil perceber que a terapêutica hormonal é a mais eficaz. No entanto, qualquer terapêutica que atue nessas áreas pode ter um efeito benéfico a nível da sintomatologia vasomotora da menopausa e os restantes sintomas derivados da redução desta hormona feminina na mulher. (Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2016)

3.1.3. Tratamento alternativo (isoflavonas)

Em várias situações é indicada terapêutica não hormonal, especialmente em alguns grupos de mulheres cujo tratamento não hormonal é preferível, como:

- Mulheres com cancro da mama: maioria dos estudos contraindica o uso da terapêutica hormonal por se verificar aumento de recidiva.
- Mulheres com risco cardiovascular e tromboembólico aumentado: fumadoras, com obesidade mórbida, com antecedentes tromboembólicos, diabéticas e hipertensas não controladas, portadoras de trombofilias ou de patologia autoimune.

- Mulheres com meningioma: a terapêutica com estroprogestativo é contraindicada neste grupo, contudo, na ausência de endométrio/útero estas mulheres podem fazer terapia hormonal com estrogénios isolados.
- Mulheres que não querem tomar “hormonas”. (Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2016)

Para além da terapia hormonal existe um grupo de fármacos, suplementos e outras medidas para o tratamento da sintomatologia da menopausa, estes são os antidepressivos, gabapentina, pregabalina e clonidina, extrato de pólen, os fitoestrogénios e outros. É de salientar que a adoção de estilo de vida mais saudável como a prática de exercício físico, dormir as horas adequadas de sono, ter alimentação saudável e não fumar são essenciais para um melhoramento da qualidade de vida, tendo em conta a fase biológica pela qual a mulher está a passar. (Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2016)

O uso de fitoestrogénios deve-se ao facto de serem compostos derivados de plantas que possuem efeitos estrogénicos e anti-estrogénicos. Estes efeitos das isoflavonas foram demonstrados em roedores há quase 50 anos, mas apenas nos últimos 30 anos a pesquisa foi focada na possibilidade de que os alimentos ricos em isoflavonas possam ser especialmente úteis para as mulheres na peri-menopausa e menopausa. (Messina, 2010)

Um dos factos que ajudou a chegar à conclusão sobre o efeito das isoflavonas foi quando se detetou que as mulheres japonesas têm um quarto da taxa de mortalidade por cancro da mama e apenas um terço dos sintomas da menopausa das mulheres ocidentais, bem como as taxas de osteoporose e doenças cardiovasculares menores no mundo, os investigadores estudaram os seus hábitos de vida e de alimentação, e a associação com estes dados. A conclusão a que chegaram foi que o consumo de produtos de soja é 30 a 50 vezes maior do que o dos ocidentais, sendo este alimento extremamente rico em isoflavonas. (Ahsan, 2017; Yamamoto et al., 2003)

Verificou-se que a toma de genisteína isolada é responsável por reduzir os afrontamentos, do que tomar suplementos com todas as isoflavonas ou baixas quantidades desta isoflavona em particular, e 15 mg de genisteína é o mínimo requerido. Devido à quantidade de estudos e ensaios clínicos realizados para investigar a potencial

influência das isoflavonas na sintomatologia da menopausa é difícil apresentar conclusões seguras. A heterogeneidade entre os resultados dos ensaios clínicos baseados na frequência de sintomas, varia individualmente no metabolismo das isoflavonas e na quantidade de genisteína utilizada. Contudo, verifica-se que o consumo diário de, pelo menos, de 30 mg de isoflavonas (contendo no mínimo 15 mg de genisteína), em alimentos como a soja ou derivados e suplementos, podem reduzir os sintomas como as “ondas de calor” até 50%. A redução de 50% dos afrontamentos deve-se a uma contribuição de 30% de efeito placebo o que resulta em melhoramentos clinicamente relevantes na qualidade de vida. A eficácia aumenta com o aumento de dose até 100 mg de isoflavonas diárias. O benefício é ainda maior em mulheres com maior número de afrontamentos e quando a toma das isoflavonas é distribuída em várias doses ao longo do dia. Alguns profissionais de saúde recomendam a toma de 50 a 100 mg de isoflavonas (mínimo 15 mg de genisteína) a mulheres que estão na menopausa para alívio dos seus sintomas, mais particularmente os afrontamentos. A eficácia do tratamento depende de cada indivíduo e os benefícios devem ser evidentes no espaço de quatro semanas. (Messina, 2010; Pizzorno & Murray, 2013)

Uma revisão sistemática de 2016 verificou que o uso de fitoestrogénios (isoflavonas de soja, trevo vermelho) estava relacionado com diminuição ligeira da frequência de afrontamentos diurnos, mas não dos noturnos, contudo os autores realçam algumas limitações dos estudos necessitando de mais investigação neste campo (Franco et al., 2016)

Constata-se que existem limitações aos estudos como a quantidade, tipo de isoflavonas disponíveis na manufatura dos suplementos, duração e doses dos tratamentos instituídos, o que impossibilita a comparação dos diferentes fitoestrogénios tal como indica o tabela 1. Outra limitação é a caracterização da população uma vez que não estão determinados os metabolizadores de equol (metabolito com atividade biológica) versus não metabolizadores. Mesmo após vários anos de estudo sobre as isoflavonas, conclui-se que os seus efeitos terapêuticos não são claros. (Franco et al., 2016)

Tabela 1 – Níveis de evidência, recomendações e graus do uso de isoflavonas para alívio da sintomatologia da menopausa. (Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2016). O nível de evidência II indica que existem evidências contraditórias e/ou divergência de opiniões sobre a utilidade/eficácia de determinado tratamento ou procedimento. E o grau B designa que a informação recolhida a partir de um único ensaio clínico aleatorizado ou estudos alargados não aleatorizados. (Direção-Geral da Saúde, 2012)

Nível de evidência	Grau	Recomendações
II	B	As isoflavonas podem ter algum papel na redução da frequência da sintomatologia vasomotora, mas as limitações dos estudos recomendam mais investigação.
II	B	O suplemento com S-equol pode favorecer a eficácia das isoflavonas, mas mais estudos são necessários

3.2. Osteoporose

3.2.1. Caracterização da osteoporose

A osteoporose consiste na diminuição global da quantidade de tecido ósseo. Ocorre quando a velocidade de reabsorção óssea supera a da formação óssea. A perda de massa óssea pode tornar os ossos tão porosos e frágeis que se deformam e fraturam espontaneamente. A ocorrência da osteoporose aumenta com a idade e em ambos os sexos a massa óssea começa a diminuir cerca dos 35 anos de idade, sendo esta diminuição progressiva ao longo do tempo. As mulheres podem chegar a perder até metade, e os homens até um quarto, do seu osso esponjoso. Esta patologia é duas vezes e meia mais frequente na mulher do que no homem. (Seeley, et al., 2011)

Nas mulheres pós-menopáusicas, a origem desta doença pode-se dever à diminuição da secreção dos estrogénios. Os estrogénios contribuem normalmente para manter a massa óssea dentro dos valores normais, através da inibição do efeito de estimulação da atividade osteoclástica da hormona paratiroide. Depois da menopausa com a diminuição de estrogénios há degenerescência do osso esponjoso, especialmente

nos ossos da coluna vertebral e nos ossos do antebraço. O colapso das vértebras pode causar uma diminuição na estatura ou, em casos mais graves, produzir cifose (comumente designado por “corcunda”) na região dorsal. (Seeley et al., 2011)

As perturbações que originam diminuição de estrogénios, para além da menopausa, podem também originar osteoporose. São exemplos, a remoção dos ovários antes da menopausa, o exercício físico extremo até ao ponto de causar amenorreia, a anorexia nervosa e o tabagismo. Nos homens, a redução dos níveis de testosterona é geralmente um problema menor do que a diminuição dos níveis de estrogénio nas mulheres, por dois motivos. Primeiro, porque os homens possuem ossos mais densos do que as mulheres, logo a perda de algum tecido ósseo tem menos efeitos clínicos e o segundo motivo é que os níveis de testosterona geralmente não descem significativamente até aos 65 anos de idade e, mesmo depois, a taxa de redução é, com frequência, lenta. (Seeley et al., 2011)

A produção exagerada de hormona paratiroideia, que resulta na maior estimulação da atividade dos osteoclastos, também pode causar esta doença. A inadequada ingestão ou absorção de cálcio pode similarmente contribuir para esta patologia. A absorção no intestino delgado diminui com a idade e os indivíduos com osteoporose frequentemente consomem quantidades insuficientes de cálcio ou vitamina D. Os fármacos que interfiram com a captação ou utilização do cálcio podem igualmente aumentar o risco de osteoporose. Por último, a osteoporose pode resultar da falta de exercício físico, ou de falta de movimentação devido a fraturas ou paralisias. (Seeley, et al., 2011)

Os fatores de risco modificáveis que aumentam o risco de osteoporose são: uma dieta pobre em cálcio; consumo excessivo de álcool, tabagismo, vida sedentária, algumas doenças (p.ex. hipertiroidismo), consumo de fármacos (p.ex. cortisona), imobilização prolongada e menopausa precoce. (CUF, 2017)

A prevenção da osteoporose tem como objetivo a obtenção de bons níveis de massa óssea e deve ser feita através da identificação e correção precoce dos fatores de risco modificáveis, sobretudo aqueles que se relacionam com o estilo de vida (hábitos alimentares e atividade física). Portanto, medidas que se devem ter em conta são: alimentação capaz de assegurar aporte alimentar adequado de cálcio e vitamina D, mantendo consumo proteico adequado às necessidades, evitando-se o consumo

excessivo de cafeína e álcool; evitar o consumo de tabaco e a realização de atividade física nas diversas fases da vida, sendo importante incluir exercícios com impacto. Nas mulheres pós-menopáusicas e nos idosos, é muito importante garantir um aporte alimentar adequado de cálcio e vitamina D. E nos idosos com maior risco de queda, devem ser concebidos programas de exercício adaptados individualmente que incidam na marcha, no fortalecimento muscular, na postura e no equilíbrio. (CUF, 2017)

Todas as mulheres em pós-menopausa e todos os homens com mais de 50 anos devem ser interrogadas quanto à existência de fatores de risco para osteoporose. O exame médico é importante e nele devem ser procurados sinais que façam suspeitar da existência de causas para osteoporose secundária ou de fraturas vertebrais. (CUF, 2017)

A densitometria óssea é o exame mais importante para o diagnóstico da osteoporose, pois permite medir a densidade do osso, que está diretamente relacionada com a massa óssea. Este exame é indolor, rápido e muito fiável. No caso de se confirmar a presença de osteoporose, é importante uma avaliação laboratorial para identificar as causas mais frequentes de osteoporose secundária ou outras causas de fratura, e uma radiografia da coluna dorsal e lombar para verificar a existência de deformação vertebral. (CUF, 2017)

3.2.2 Tratamento convencional

Os tratamentos para a osteoporose são concebidos para reduzir a perda óssea e/ou aumentar a formação de osso com o uso de medicamentos, analgésicos e suplementos de cálcio e vitamina D. A dieta enriquecida com cálcio e vitamina D pode aumentar a absorção de cálcio e promover a formação de osso. Recomendam-se as doses diárias de 1000-1500 mg de cálcio e 800 UI (20 µg) de vitamina D. (DGS, 2011) O exercício físico como andar ou usar pesos leves também é eficaz não só na redução da perda de massa óssea como também no seu aumento.

A terapêutica hormonal de substituição com estrogénios, em mulheres que já passaram à menopausa, diminui o número de osteoclastos por inibir o recetor para ativação do ligando do fator nuclear kappa B (RANKL). Isto reduz a perda de osso, mas não aumenta a massa óssea, porque a atividade dos osteoclastos ainda excede a atividade dos osteoblastos. Mas, embora benéficos para os ossos, os estrogénios

umentam o risco de cancro da mama e de eventos cardiovasculares o que limita o seu uso em mulheres osteoporóticas. (Khajuria, et al., 2011)

Moduladores seletivos dos recetores de estrogénios constituem uma classe de fármacos que se liga aos recetores de estrogénios. Têm uma capacidade de proteger contra a perda óssea sem aumentar o risco de cancro da mama. Outros medicamentos podem ser utilizados para tratamento desta patologia como bifosfanatos, calcitonina e inibidores da via do recetor para ativação do ligando do fator nuclear kappa B e a leptina. O diagnóstico precoce pode levar à utilização de tratamentos mais preventivos. (Khajuria et al., 2011)

3.2.3. Tratamento alternativo (isoflavonas)

Vários pesquisadores têm investigado o impacto das isoflavonas nos marcadores da saúde óssea, incluindo a densidade mineral óssea e marcadores da formação e reabsorção do osso. Verificou-se evidência que a intervenção das isoflavonas atenuam a perda óssea, diminui os marcadores da reabsorção óssea e aumenta os marcadores de formação de osso em mulheres na menopausa e após menopausa. (Esteves & Monteiro, 2001)

Vários possíveis mecanismos têm sido sugeridos para explicar os efeitos benéficos das isoflavonas de soja no tecido ósseo, os quais podem ajudar a prevenir o desenvolvimento da osteoporose. Tem-se sugerido que os osteoblastos e os osteoclastos são as células-alvo para a ação da genisteína e da daidzeína. Alguns estudos sugerem que a genisteína apresenta afinidade com os recetores de estrogénios e exerce os seus efeitos pelo mesmo mecanismo que esta hormona. Por outro lado, esta isoflavona pode também exercer efeitos por outros mecanismos, independentes de recetores dos estrogénios. Outros mecanismos propostos para justificar a ação deste metabolito como a inibição da topoisomerase II que interfere com a progressão do ciclo celular, ou a ativação dos recetores peptídicos ligados à membrana. (Esteves & Monteiro, 2001)

3.3. Cancro da mama

3.3.1. Caracterização do cancro da mama

O cancro da mama é o cancro principal das mulheres tanto nos países desenvolvidos como nos em desenvolvimento. A incidência deste tipo de cancro está a aumentar no mundo em desenvolvimento devido ao aumento da esperança média de vida, ao aumento da urbanização e à adoção de estilos de vida ocidentais. Embora seja possível conseguir uma redução de risco com medidas de prevenção, essas estratégias não eliminam a maioria dos cancros da mama nos países em desenvolvimento onde o diagnóstico desta doença é feito, muitas vezes, em estádios muito tardios. (World Health Organization, 2018)

O cancro da mama tem origem numa disfunção celular, que se caracteriza por processo de multiplicação e crescimento desordenado das células epiteliais. Desenvolve-se a partir de tecido mamário. Os sinais deste tipo de cancro incluem nódulos perto da mama ou na zona axilar e/ou clavícula, mudança no tamanho ou forma da mama, aumento da sensibilidade por parte do mamilo, refração do mamilo (mamilo invertido), ondulações da pele ou alterações cutâneas, eczema mamilar, aréola ou mamilo com aspeto de “escamas”. Pode ocorrer sinais como secreção de líquido pelo mamilo com característica sanguinolenta, unicanalicular e espontânea. Existem diversos fatores de risco para o aparecimento e desenvolvimento desta patologia tais como sexo feminino (31% de todos os cancros invasivos são nas mulheres e menos de 1 % nos cancros do homem), alterações genéticas, obesidade, falta de exercício físico, abuso do consumo de álcool, terapia de substituição hormonal durante a menopausa, menarca precoce (antes dos 12 anos) e menopausa tardia (depois dos 55 anos), pois um longo período de exposição ao estrogénio aumenta o risco, história pessoal e familiar de cancro da mama, raça (maior incidência nas mulheres caucasianas), radioterapia ao peito e densidade da mama (mulheres com tecido mamário denso têm maior probabilidade de desenvolver cancro da mama). (Kabel & Baali, 2015)

Este tipo de cancro normalmente é derivado de uma interação entre fatores ambientais e genéticos. O perfil genómico demonstrou elevada importância na caracterização dos subtipos do cancro da mama invasivos, nomeadamente a identificação do recetor de estrogénio, recetor de progesterona, e de fator de crescimento epidérmico tipo 2 (HER2) nas células neoplásicas. A avaliação destas proteínas permite subdividir em três grupos principais o cancro da mama: o cancro que tem a presença do recetor de estrogénio, o cancro que tem a presença do HER2 e o

cancro que não tem nenhuma das proteínas anteriores, a que se chama triplo negativo (CUF, 2017) O subtipo que será desenvolvido é o associado ao recetor de estrogénios devido a ser dependente da ação das isoflavonas.

Existem vias que, por norma, têm a função de proteger as células normais de se “suicidarem”. Quando os genes que codificam estas vias protetoras estão mutados, as células ficam incapazes de provocarem a sua morte quando já não são necessárias o que leva ao desenvolvimento do cancro. Estas mutações estão associadas à exposição ao estrogénio. Os mecanismos através dos quais os estrogénios podem causar cancro da mama, incluem, a ligação do estradiol ao recetor de estrogénio que estimula a transcrição de genes envolvidos na proliferação celular e o aumento de divisões celulares, o que pode conduzir a erros na replicação do DNA, aumentando assim o número de mutações. Os efeitos do estradiol são mediados pelos RE que existem nas duas isoformas, o RE α e o RE β , estando ambos presentes no tecido mamário. Quando o cancro da mama se desenvolve, apresenta geralmente, elevados níveis de RE α e baixos de RE β . Aproximadamente 70-80% de todas neoplasias da mama são o RE positivo. (Williams et al., 2008)

O processo de diagnóstico requer várias etapas. A primeira etapa consiste na história clínica e exame objetivo efetuado pelo médico, verificando os possíveis sinais e sintomas da doença. Para diagnosticar o cancro da mama utiliza-se exames complementares de diagnóstico, recorrendo a imagiologia, como a mamografia bilateral, ecografia mamária e axilar e a ressonância magnética. (Kabel & Baali, 2015)

Para o tratamento do cancro da mama podem ser utilizados tanto no contexto neoadjuvante, adjuvante ou paliativo, a radioterapia, hormonoterapia, cirurgia e quimioterapia. (Padilha et al., 2012)

3.3.2. Tratamento alternativo (isoflavonas)

São várias as formas que aparentemente as isoflavonas exercem para controlar e mesmo reduzir o efeito neoplásico. Entre estes efeitos alguns são explicados por mecanismos já conhecidos há bastante tempo como a inibição da proliferação celular, por inibição das tirosina-cinases pela genisteína e a inibição da angiogénese, também atribuída à genisteína, mas desta vez por mecanismos dependentes dos recetores

estrogénicos. De certa forma o seu efeito inibidor de enzimas chave, entre as quais se destaca a tirosina-cinase, é responsável por uma cascata de efeitos inibitórios a nível do desenvolvimento de neoplasias como o bloqueio da ação de vários fatores de crescimento por diminuição da síntese de recetores destes, tais como o fator de crescimento epidérmico (EGF), o fator de crescimento semelhante à insulina (ILGF), fator de crescimento plaquetário (PDGF) e fator de crescimento tumoral (TGF). Como consequência destes fenómenos surge também a inibição da expressão dos protooncogenes e a estimulação da apoptose. (Matos et al., 2005)

Alguns dados epidemiológicos que despertaram o interesse para os fitoestrogénios relatam o facto de as mulheres asiáticas possuírem níveis mais baixos de estrona e estradiol em relação às caucasianas, relacionando epidemiologicamente a ingestão de alimentos ricos em fitoestrogénios como a isoflavona, com a diminuição da frequência de cancros dependentes de hormonas. (Mishra et al., 2009) Esse tipo de alimentação deve requerer doses de 25-30 mg de isoflavonas 2 a 3 vezes por dia, mas doses superiores (> 100 mg) por dia necessitam de mais evidência para indivíduos com cancro da mama. Também é de interesse remarcar o envolvimento do equol, metabolito da daidzeína produzido pela microflora intestinal que também pode ter uma ação benéfica na incidência desta patologia. Mas só uma percentagem da população (30-40%) é capaz de transformar a daidzeína em equol, o qual é biologicamente mais ativo. Esta diferença interindividual pode explicar as diferentes respostas aos fitoestrogénios. (Franke et al., 2014)

Uma diferença bastante significativa, explorada em alguns estudos, entre as mulheres com e sem cancro da mama, residia no tipo de dieta. (Banikazemi et al., 2018) Dietas vegetarianas podem aumentar o consumo de isoflavonas, o que contribui parcialmente como fator protetor contra o desenvolvimento do cancro da mama. Muitos estudos exemplo são ainda necessários para validar esta associação. (Chang et al., 2017) Segundo alguns estudos, as mulheres sem cancro da mama tinham uma alimentação mais rica em legumes e vegetais contendo linhanos, isoflavonoides e fibra dietética. (Banikazemi, et al., 2018)

Como referido anteriormente, o principal modo de ação pelo qual as isoflavonas e outros fitoestrogénios podem exercer os seus possíveis efeitos para a saúde, é baseado

na sua semelhança estrutural com o estradiol, o que lhes permite causar efeitos anti-estrogénicos pela ligação aos recetores de estrogénio. Os dois subtipos de RE têm diferentes papéis na regulação de genes, biologia do cancro e respetiva terapia. A ativação de RE α na mama e no útero demonstrou aumentar a proliferação celular, necessária para o crescimento e a manutenção dos tecidos, mas também pode desempenhar um papel no crescimento ilimitado de tumores de mama especialmente RE α -dependentes, dos quais cerca de 70% respondem à terapia anti-estrogénio como, por exemplo, o antagonista tamoxifeno. RE β demonstrou contrariar a estimulação mediada por RE α da proliferação celular, ou seja, tem uma ação de neutralização da proliferação celular mediada pelo RE α . (Piersen, 2003)

A EFSA, Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar, referiu em 2015 que estudos observacionais não apontaram um risco aumentado de cancro da mama nas mulheres na menopausa, mas também salientou que esta conclusão não se pode alargar para o risco de suplementos de alimentos à base de isoflavonas em mulheres em pós-menopausa e que têm historial de cancro dependente de estrogénios. Logo, ainda existem preocupações de que a atividade estrogénica das isoflavonas pode representar um risco para doentes com cancro da mama sensível ao estrogénio e para mulheres com alto risco de desenvolver tumores mamários, e continua por se demonstrar se as isoflavonas reduzem ou aumentam os riscos do cancro da mama. (European Food Safety Authority (EFSA), 2015; Messina, 2016)

3.4. Envelhecimento da pele

3.4.1. Caracterização da pele envelhecida

O processo de envelhecimento do corpo é um fenómeno geneticamente programado, cujos efeitos não são fisiologicamente reversíveis. Este fenómeno também afeta a pele da face e do pescoço, o que resulta numa diminuição da firmeza da pele e a formação de rugas e perda da cor uniforme da pele. O envelhecimento cutâneo pode ser acelerado por diversos fatores como a poluição, estilos de vida incorretos tais como o consumo de tabaco, ingestão exagerada de álcool, stress, doenças e outros fatores. Apesar destes vários fatores que aceleram este processo, alguns dos quais são inevitáveis, existem outros que podem retardar o envelhecimento da pele tais como o

uso regular e correto de produtos cosméticos, contendo especialmente alguns constituintes que sejam dotados de proteção solar, ação nutritiva, anti-radicalar e hidratante. (Cunha et al., 2015)

A pele envelhece devido a diversos fatores como a diminuição da atividade enzimática, o aumento dos radicais livres, as modificações do metabolismo e as alterações nas diferentes estruturas da pele e nos seus anexos cutâneos. (Cunha, et al., 2015) Portanto, o envelhecimento da pele não é totalmente dependente do estrogênio. Muitos outros fatores como a radiação ultravioleta, podem acelerar a degradação dos componentes da pele e a apoptose das células epiteliais e dérmicas. (Eucerin, 2018)

Os sinais mais característicos do envelhecimento da pele são as rugas, definidas como lesões lineares que surgem devido à diminuição da hidratação e elasticidade da pele. Com o passar do tempo, a atividade de divisão das células da camada basal da epiderme (estrato basal) é reduzida. As células desta camada basal tornam-se planas e orientadas horizontalmente. Outra alteração clínica que ocorre na epiderme é a atrofia da camada espinhosa (estrato espinhoso) e da camada granular (estrato granuloso), que resulta na diminuição gradual da espessura da epiderme. A diminuição da aderência entre estas duas camadas de pele reduz a superfície de contacto da derme e da epiderme. Devido a isto, o suprimento inadequado de sangue para a camada basal da epiderme, reduz e limita a troca de nutrientes entre as camadas. Alterações histológicas resultantes do envelhecimento também podem ser verificadas na derme. O conteúdo reduzido de fibras de colagénio tipo I e III leva a mudanças na ligação cruzada de fibras de suporte recém-formadas o que provoca a sua distribuição caótica na pele. A formação de rugas também é promovida pelo aumento da secura da pele, resultante da redução do conteúdo lipídico no cimento intercelular, bem como redução da atividade da glândula sebácea. O sebo é um componente do manto hidrolipídico natural da pele, que o protege da perda excessiva de água transepidérmica. (Kapuścińska & Nowak, 2015)

Basicamente os cuidados a adotar para tratar e proteger a pele envelhecida é o uso de cosméticos com extratos de plantas ricos em isoflavonas, com inibidores de radicais livres, com constituintes que sejam estimulantes celulares e que ativem a microcirculação e o uso de protetores solares, de preferência naturais para a proteção da pele. (Cunha et al., 2015)

3.4.2. Tratamento alternativo (isoflavonas)

A maioria das evidências dos efeitos dos estrogénios na pele e nas suas funções vem de estudos realizados em mulheres em pós-menopausa. Isto deve-se ao facto que nos anos pós-menopausa refletem uma privação desta hormona, o que resulta em vários efeitos em vários órgãos já mencionados anteriormente. (Hall & Phillips, 2005)

Os efeitos dos estrogénios tópicos aumentam a espessura epitelial da pele, logo as isoflavonas devem melhorar o epitélio da pele ao se ligar aos recetores de estrogénio, promovendo assim a proliferação celular. Além das células epiteliais, os recetores de estrogénio também são encontrados noutros componentes da pele, como nos fibroblastos. Nestas células, os estrogénios atuam reduzindo a degradação das fibras de colagénio da pele o que aumenta a estrutura e força da pele. Além disso, a ação estrogénica aumenta a concentração de glicaminoglicanos, elevando assim o teor de água da pele e, conseqüentemente a turgescência da pele. Estudos revelam que este efeito é mediado pela ativação do recetor de estrogénio, em particular os recetores de estrogénios encontrados na derme que são do subtipo RE β . Para além da derme, também se encontram um grande número de recetores RE β na camada basal, espinhosa e granular da epiderme como na camada papilar da derme. (Kapuścińska & Nowak, 2015)

Devido ao facto de nem todas as mulheres poderem utilizar a terapia hormonal de substituição, as isoflavonas são uma alternativa para tratamento da pele envelhecida. O mecanismo de ação das isoflavonas na pele não é só dependente do mecanismo que mimetiza o estrogénio, mas também envolve a participação de antioxidantes. Estudos em mulheres pós-menopausa a utilizarem isoflavonas revelam melhorias na saúde da pele, principalmente através do aumento da espessura do epitélio, concentrações elevadas de colagénio e fibras elásticas e um aumento do número de vasos sanguíneos subcutâneos. No entanto, a terapia com isoflavonas requer uma investigação mais aprofundada nesta área. (Accorsi-Neto et al., 2009)

3.5. Sistema cardiovascular

3.5.1. Caracterização da doença cardiovascular

As doenças cardiovasculares (CVD) são uma das principais causas de morte no mundo e afetam todo o sistema circulatório (coração e vasos sanguíneos). Existem diversos tipos de CVD, mas todas são provocadas por aterosclerose, ou seja, pelo depósito de placas de gordura no interior das artérias. Estas placas irão dificultar a circulação sanguínea nos órgãos ou até mesmo impedi-la. Algumas das patologias provocadas são a angina de peito, o enfarte do miocárdio ou um acidente vascular cerebral (CVA). (Bourbon, et al., 2016)

A maneira mais eficaz de prevenir as doenças cardiovasculares é no controlo dos fatores de risco. Os fatores de risco modificáveis são a glucose elevada no sangue (diabetes), colesterol elevado, os triglicéridos elevados, hipertensão arterial, excesso de peso, tabaco, exagero no consumo de bebidas alcoólicas e o sedentarismo. Já os fatores de risco não modificáveis que podem desencadear esta doença são a idade, sexo e a genética (inclui a história familiar de doenças cardiovasculares). (Bourbon, et al., 2016)

3.5.2. Tratamento alternativo (isoflavonas)

Estudos epidemiológicos demonstraram que a doença cardiovascular, como a doença coronária e a hipertensão, é menos comum em mulheres pré-menopausa em comparação com homens da mesma idade ou mulheres pós-menopausa, sugerindo benefícios cardiovasculares derivados do estrogénio. O aumento do risco de doenças cardiovasculares em mulheres pós-menopausa tem sido associado à diminuição dos níveis plasmáticos de estrogénio. (Masood et al., 2011)

Os recetores de estrogénio como $RE\alpha$, $RE\beta$ e uma proteína de bloqueio de estrogénio GPR30 foram identificados em vasos sanguíneos de humanos e animais experimentais e estudos experimentais demonstraram efeitos vasodilatadores derivados da ligação do estrogénio com RE no endotélio, músculo liso vascular e matriz extracelular, tanto por vias genómicas como não genómicas. O estrogénio promove o relaxamento do endotélio derivado do aumento de monóxido de azoto e da prostaciclina. Também inibe os mecanismos de contração do músculo liso vascular. Outros efeitos adicionais do estrogénio no citoesqueleto vascular, matriz extracelular, perfil lipídico e resposta inflamatória vascular foram relatados. Além de evidências experimentais em modelos animais e células vasculares, estudos observacionais indicam

que o uso de estrogénio na terapia hormonal de substituição em mulheres na menopausa pode proteger contra doenças cardiovasculares. (Khalil, 2013)

Os níveis reduzidos de estrogénio durante a menopausa podem influenciar o desenvolvimento da obesidade, distribuição de gordura, perfil lipídico no plasma e propriedades reológicas da função plasmática e plaquetária. Estas observações sugerem que a deficiência de estrogénio pode promover doenças cardiovasculares em mulheres, portanto, o uso de fitoestrogénios como as isoflavonas são uma alternativa que podem reduzir o risco desta doença. Esta alternativa também é apoiada pelas baixas taxas de doenças cardiovasculares em populações asiáticas, onde a dieta é particularmente rica em soja (rica em isoflavonas), e que estas populações quando emigraram para sociedades ocidentais perderam esta característica protetora. Para além do facto de essa alimentação ser rica em isoflavonas, também é considerada uma dieta saudável devido ao alto teor de gorduras poli-insaturadas, fibras, vitaminas e minerais que exerce um efeito indireto na redução dos fatores de risco. (Yu et al., 2015) É de acentuar que as isoflavonas, neste caso, não terão só uma ação que deriva de mecanismo estrogénico, mas de vários outros mecanismos como a sua ação antioxidante. Os estrogénios apresentam uma ação contra a aterosclerose e também como possível disruptor das placas ateroscleróticas estabelecidas, sendo estas fundamentais na patogénese da doença cardiovascular. Estudos experimentais e clínicos foram realizados para examinar a associação da ingestão de isoflavonas com eventos cardiovasculares numa população sem doença cardiovascular. A conclusão foi que a ingestão de isoflavonas não foi associada à diminuição do risco de doença cardiovascular. Nenhum benefício é evidente no colesterol HDL, nos triglicéridos, nas lipoproteínas ou na pressão arterial. Mas verificou-se uma pequena redução do colesterol total, do colesterol LDL e um melhoramento da função vascular. Logo, não ficou claro se a administração de fitoestrogénios no período pós-menopausa pode ser protetora de doenças cardiovasculares. Para os fitoestrogénios, a evidência atual continua a ser fraca em comparação com a informação disponível para os estrogénios, e é possível que o efeito potencial dos estrogénios no risco de acidente vascular cerebral não seja reproduzido pelas isoflavonas. (Rietjens et al., 2017; Sacks et al., 2006)

4. Fitoterapia utilizando isoflavonas

A utilização de plantas tem sido fulcral para a sobrevivência do Homem desde sempre, em várias circunstâncias e necessidades, desde a alimentação até ao seu uso como medicamento. A fitoterapia consiste no uso de medicamentos derivados de plantas para o tratamento ou prevenção de uma doença, portanto, consiste numa ciência baseada na prática médica controlada por ensaios clínicos, estudos farmacológicos e fitoterapêuticos rigorosos. (Encyclopaedia Britannica, 2018)

De acordo com o Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, “medicamento à base de plantas entende-se por qualquer medicamento que tenha exclusivamente como substâncias ativas uma ou mais substâncias derivadas de plantas, uma ou mais preparações à base de plantas ou uma ou mais substâncias derivadas de plantas em associação com uma ou mais preparações à base de plantas”. Como todos os medicamentos, existem diversos procedimentos que são necessários para a aprovação do uso de determinada substância para entrada de mercado ou então que justifiquem a sua utilização e possam ser recomendadas por um profissional de saúde. (Infarmed - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, 2016)

A FDA (Food and Drugs Administration) define os suplementos alimentares na categoria de alimentos e não de medicamentos. Por esta razão a FDA não necessita de provas da segurança e efetividade no diagnóstico, prevenção, tratamento ou cura das condições de saúde. Somente as remove do mercado se detetar que os produtos são perigosos ou apresentam ingredientes que podem prejudicar a saúde. (U.S. Food and Drug Administration, 2016)

Existem diversas plantas que contêm isoflavonas na sua constituição e que, por essa razão, são usadas para tratamento ou prevenção de diversas doenças como a osteoporose ou para redução da sintomatologia da menopausa devido à sua ação estrogénica. As referidas plantas tanto podem ser usadas na alimentação como em suplementos alimentares. (Dietz et al., 2016)

As isoflavonas são polifenóis vegetais que se encontram predominantemente em diversas variedades de família *Fabaceae*, incluindo a soja, a raiz de kudzu e o trevo vermelho. Em termos de fontes alimentares humanas, a soja constitui a principal fonte

alimentar, com concentrações de isoflavonas tipicamente entre 1-30 mg por 100 g de soja, podendo chegar a concentrações mais altas como 155 mg de isoflavonas por 100 g de soja. (Bohn, 2010)

4.1. Soja (*Glycine max* L.)

Ao longo das duas últimas décadas, a soja e os seus constituintes receberam uma atenção considerável de investigadores e profissionais de saúde. Dados epidemiológicos indicam que pessoas de culturas asiáticas têm taxas mais baixas de doenças cardiovasculares e uma diminuição do risco de certos tipos de cancro, o que despertou interesse na soja como fator protetor, pois é um alimento muito consumido na cultura oriental. (Messina, 2016)

4.1.1. Definição

Glycine max (L.) Merr. pertence à família das Fabáceas (Leguminosas). É denominada vulgarmente por ervilha-oleaginosa-do-japão, fava-da-manchúria, feijão-chinês e feijão-soja. (Encyclopaedia Britannica, 2018)

4.1.2. Distribuição geográfica

Planta herbácea anual, originária do Sudoeste da Ásia, é muito cultivada em climas temperados quentes. (Encyclopaedia Britannica, 2018)

4.1.3. Composição da parte utilizada

Dependendo da variedade e das condições de crescimento ambiental, os grãos de soja são compostos aproximadamente por 18% de óleo, 15% de fibras / hidratos de carbono insolúveis, 15% de hidratos de carbono solúveis e 38% de proteína. Além disso, a soja contém vários constituintes em menor percentagem, como: lecitinas (0,5%), esteróis (0,3%), isoflavonas (0,1%) e tocoferóis (0,02%). (Van Ee, 2009) As partes utilizadas desta planta incluem as sementes de soja de onde se pode extrair o óleo e o respetivo insaponificável. O óleo é constituído principalmente por triglicéridos onde predominam os seguintes ácidos gordos: 6% de ácido esteárico, 9% de ácido palmítico, 26% de ácido oleico, 50% de ácido linoleico e 7% de ácido linolénico. Para além do

óleo, as sementes têm, ainda, na sua constituição, fosfolípidos (fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol), insaponificável [esteróis, vitaminas lipossolúveis A, E e K (0,2 a 0,5%)], glucósidos de isoflavonas, proteínas, ácido fítico e sais minerais. (Cunha et al., 2015)

Embora a maioria dos constituintes de soja tenham sido investigados, os constituintes que apresentam maior foco do ponto de vista terapêutico são as três isoflavonas: genisteína, daidzeína e gliciteína e os seus respectivos glucósidos que apresentam uma percentagem de aproximadamente 50%, 40% e 10%, respetivamente, do total de isoflavonas presentes nos grãos de soja. (Van Ee, 2009; Messina, 2016) Cada grama de proteína de soja em grãos de soja e outros alimentos que contêm soja estão associados a aproximadamente 3,5 miligramas de isoflavonas. Consequentemente, uma refeição tradicional de soja, como por exemplo 100 gramas de tofu ou 250 mililitros de leite de soja fornecem pelo menos cerca de 25 miligramas de isoflavonas. Em produtos mais refinados, que apresentam maioritariamente proteína da soja isolada (cerca de 90%), até 80 a 90% do teor de isoflavona pode ser perdido como resultado do processamento. A tabela 2 apresenta diversos produtos derivados de soja e o respetivo teor em isoflavonas (mg/100 g) (Messina, 2016)

Tabela 2 - Quantidade em mg de isoflavonas por 100 g em alimentos derivados de soja (Rizzo & Baroni, 2018)

Produto derivado da soja	mg por 100 g
Miso	41,45
Edamame	17,92
Natto	82,29
Queijo de soja	6,02-25,72
Farinha de soja texturizada	172,55
Farinha de soja desengordurada	150,94
Lecitina de soja	15.7
Proteína de soja isolada	91,05
Shoyu (molho de soja)	1,18
Feijão de soja torrado	148,5
Feijão de soja cru	154,53
Yuba/foe jook	44.67
Leite de soja	0,7-10,73
Sufu	13,75
Tempeh	3,82
Tofu	13.1–34.78
Okara	9,39
Fuyu	45,51
Óleo de soja	0

4.1.4. Atividade estrogénica

O consumo de soja aparenta reduzir de forma consistente o colesterol LDL no sangue em indivíduos hiperlipidémicos, no entanto a magnitude deste efeito é variável em diferentes estudos. De acordo com a evidência verifica-se uma correlação entre o consumo deste alimento com a prevenção da perda óssea em mulheres na pós-menopausa. Os efeitos da proteína e isoflavonas de soja no alívio dos sintomas da menopausa e na prevenção do cancro de mama não são ainda evidentes. (Chao, 2008)

Alguns dados epidemiológicos mostram que a ingestão de isoflavonas pode ser responsável pelas diferentes taxas de doenças cardiovasculares entre países asiáticos e

ocidentais. Certos efeitos benéficos estão associados ao consumo de soja, alguns dos quais podem depender do seu teor de fitoestrogénios. Estudos *in vivo* e *in vitro* sugerem os mecanismos de ação estrogénica, anti estrogénica e não hormonal. Além disso, durante a digestão da soja no intestino, ocorre a produção de péptidos de soja biologicamente ativos, como a conglícinina. Esses compostos podem ter um papel preventivo no cancro, hipertensão, hipercolesterolemia e obesidade. Várias evidências verificadas, sugerindo um efeito benéfico geral das isoflavonas na saúde humana. (Rizzo & Baroni, 2018)

Em relação aos sintomas da menopausa, mais especificamente os afrontamentos, que habitualmente diminuem entre seis meses a dois anos, muitas mulheres relatam ter até 20 anos após menopausa. Foi realizado pela Study of Women's Health Across the Nation (SWAN), um estudo observacional multirracional/multiétnico da transição da menopausa envolvendo 3302 mulheres inscritas em sete locais nos EUA. A média de duração de afrontamentos durante o período peri- ou pós-menopausa foi de 11,8 anos. Verificou-se uma menor prevalência de afrontamentos entre as mulheres nativas japonesas e sabendo que as isoflavonas da soja interagem com os REs, pôs-se a hipótese de que os alimentos derivados de soja impedem o aparecimento de afrontamentos e/ou são capazes de aliviar as “ondas de calor” já existentes. Vários estudos já foram realizados, mas uma metanálise publicada em 2012 forneceu um forte apoio para a eficácia das isoflavonas, bem como uma explicação para dados inconsistentes. Esta análise mostrou que as isoflavonas de soja reduzem significativamente ($p < 0,00001$) 26,2% ($p = 0,001$) os sintomas, isto é, maior que a redução que ocorreu no grupo placebo (redução total na resposta das isoflavona, ou seja, placebo mais isoflavonas foi cerca de 50%). No entanto, a subanálise dos dados revelou que nos ensaios em que o suplemento de intervenção forneceu mais de 18,8 mg de genisteína (a mediana de todos os ensaios), a redução na frequência de ondas de calor foi mais do que o dobro do observado nos ensaios com suplementos com menor quantidade de genisteína. Aproximadamente 40 mg de isoflavonas totais derivadas da soja integral fornecem a quantidade de genisteína que se mostrou eficaz. (Taku et al., 2012)

O óleo das sementes de soja apresenta atividade biológica sobre o tecido cutâneo. O extrato com glucósidos de isoflavonas tem ação estrogénica, estimulando a renovação do tecido cutâneo. As loções com extrato contendo isoflavonas são, também, úteis no

caso de queda do cabelo por alopecia androgénica da menopausa. Cremes com outros extratos da soja podem ter ação protetora de zonas de pele sensível, particularmente à volta dos lábios e olhos ou então utilizados na pele pigmentada, na redução da descamação da pele e no eritema provocado pelos raios ultravioletas. (Accorsi-Neto et al., 2009; Cunha et al., 2015) Portanto, em relação ao envelhecimento da pele, não é surpreendente o efeito das isoflavonas sobre a saúde geral da pele uma vez que estas se ligam a REs que estão presentes na pele e que a terapia estrogénica pode melhorar vários parâmetros da pele, incluindo elasticidade, capacidade de retenção de água, pigmentação, vascularização e apêndices cutâneos como os folículos pilosos. (Hall & Phillips, 2005) Vários estudos sugerem que as isoflavonas ajudam a reduzir as rugas, mas todos estes apresentam algumas limitações. Num estudo, que não teve um grupo controlo definido, utilizou dois grupos de 20 mulheres saudáveis na pós-menopausa com idades entre 50 e 65 anos que foram instruídas a consumir na sua dieta habitual 20 gramas diárias de proteína de soja rica em isoflavonas, num grupo por três meses, e o outro grupo só consumia a sua dieta normal sem a suplementação de isoflavonas. Verificaram-se melhorias estatisticamente significativas no enrugamento facial da pele, descoloração e aparência geral no grupo suplementado. (Messina, 2016) Um estudo de 14 semanas que envolveu 159 mulheres na pós-menopausa revelou que uma bebida contendo isoflavonas (além de outros compostos bioativos) reduziu significativamente as rugas em cerca de 10%. Houve também uma correlação positiva entre rugas basais e resposta à bebida com isoflavonas, isto é, quanto maior a profundidade das rugas no início, maior a melhoria verificada. Houve também um aumento estatisticamente significativo na síntese de colagénio. (Jenkins et al., 2014)

4.1.5. Principais precauções

A nível da segurança em relação a este produto verifica-se que para além das pessoas que têm alergia à soja, o consumo desta é seguro quando em quantidades normais, doses até 60 gramas de soja por dia o que contribui com 185 mg de isoflavonas diárias. Mas, a longo prazo, o efeito resultante do uso de grandes doses de extratos de soja ainda não foi estabelecido. Os efeitos adversos mais comuns são problemas gastrointestinais como dor de estômago e diarreia. A evidência atual indica que é seguro comer alimentos com soja para as mulheres que tiveram cancro da mama ou que têm risco de desenvolver cancro da mama. No entanto, o mesmo não se aplica com

suplementos de isoflavonas de soja pois não há informação suficiente. (National Center for Complementary and Integrative Health (NCCIH), 2017) Em crianças é provavelmente seguro o consumo em doses normais encontradas na alimentação e não afetará a saúde reprodutiva mais tarde. No entanto, o leite de soja não deve ser usado como um substituto da alimentação normal da criança pois pode levar a deficiências nutricionais. Nas grávidas o consumo de soja é provavelmente seguro na alimentação normal, mas possivelmente inseguro quando tomado oralmente em quantidades medicinais pois pode afetar o desenvolvimento do feto e por isso é preferível evitar a toma de quantidades muito elevadas. (Natural Medicines Comprehensive Database, 2012)

Em relação a efeitos secundários e toxicidade não são conhecidos numa aplicação normal tópica de produtos que apresentam na sua composição isoflavonas derivadas da soja. O emprego de preparações cosméticas contendo extrato com isoflavonas não deve ser feita mais de duas vezes ao dia e estes devem ser padronizados. (Cunha et al., 2015)

4.2. Trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.)

O trevo vermelho é uma das 250 espécies do género *Trifolium*, que pertence à família de plantas Leguminosae. Uma das primeiras evidências que demonstrou que o trevo vermelho tem atividade estrogénica foi um artigo da Austrália que mencionava problemas associados à fertilidade de animais de pastoreio em campos com este tipo de planta. Desde então, o estudo desta planta e suas propriedades terapêuticas foi desenvolvido. Nos problemas do foro ginecológico, usam-se extratos enriquecidos em isoflavonoides obtidos da parte florida do trevo vermelho. (Beck, et al., 2005)

4.2.1 Definição

Trifolium pratense L., conhecida como trevo vermelho, trevo de vaca, trevo de prado ou trevo selvagem pertence à família Leguminosae (*Fabaceae*). A presença de quantidades significativas de fitofármacos com importância médica gerou um aumento de interesse por esta planta. (Vlaisavljević et al., 2017)

4.2.2. Distribuição geográfica

Planta herbácea que aparece com frequência em prados, sendo hoje muito cultivada para a obtenção de extratos. É uma cultura forrageira amplamente difundida em regiões temperadas e subtropicais de ambos os hemisférios. Proveniente de regiões de clima temperado da Ásia e Europa. (Vlaisavljević et al., 2017)

4.2.3. Composição da parte utilizada

A parte utilizada desta planta são as flores e folhas para preparação de extratos que são utilizados para suplementos alimentares em forma de comprimidos ou cápsulas e também em chás ou forma líquida. Os principais constituintes ativos do extrato isoflavonóico são isoflavonas livres (genisteína, daidzeína), 7-*O*-glucósidos de isoflavonas [bioquarina A (metilgenisteína), daidzina, genistina e formononetina (4'-*O*-metil éter da daidzeína)]. (Cunha et al., 2009) As isoflavonas mais abundantes no trevo vermelho são a formononetina e biocanina A. O trevo vermelho também contém pequenas quantidades de cumestanos que apesar de serem também fitoestrogénios, não revelam grande atividade estrogénica em comparação com as isoflavonas. (Kumar et al., 2018)

4.2.4. Atividade estrogénica

Na prática, o trevo vermelho tem um efeito positivo no alívio dos afrontamentos das mulheres na menopausa. No entanto, segundo alguns estudos, denuncia mudanças pouco significativas nas hormonas FSH, LH e testosterona e um efeito mais significativo dos estrogénios derivado do consumo de trevo vermelho. No entanto, os resultados do estudo são limitados devido a falhas metodológicas dos estudos incluídos, do estágio da menopausa e a grande heterogeneidade entre os estudos. Mais ensaios seriam necessários para confirmar estes efeitos do trevo vermelho. (Ghazanfarpour et al., 2015)

De forma a avaliar o efeito de suplementação das isoflavonas do trevo vermelho nos sintomas vasomotores e outros associados à menopausa realizou-se um estudo com 109 mulheres em pós-menopausa com idades superiores a 40 anos. A estas mulheres foram atribuídas aleatoriamente duas cápsulas diárias do composto ativo (80 mg de

isoflavonas de trevo vermelho, Grupo A) ou com placebo de aparência igual (Grupo B) por um período de 90 dias. Depois de um período de “washout” de 7 dias, a medicação foi cruzada e tomada durante mais 90 dias. A frequência diária de fluxo de calor e suores noturnos e intensidade geral dos sintomas da menopausa (índice de Kupperman) foram medidos no início do estudo, 90, 97 e 187 dias. Os resultados deste ensaio demonstraram que a frequência de afrontamentos, suores noturnos e valores de Kupperman foram bastante similares nos dois grupos no início do estudo. Os sintomas diminuíram significativamente no grupo A depois da fase da toma de trevo vermelho correspondendo respetivamente para um decréscimo médio de 73,5%, 72,2% e 75,4%. Estas diminuições foram significativamente mais elevadas do que aquelas observadas no grupo B depois da fase de toma de placebo (8.2%, 0.9% e 6.7% respetivamente). No grupo A, depois da fase do “washout” e placebo, todos os valores aumentaram significativamente. No grupo B, todos os índices permaneceram similares depois das fases de placebo e “washout”, no entanto diminuíram significativamente após o tratamento com trevo vermelho. Estes resultados também foram significativamente inferiores aos observados no grupo A após a fase de placebo. A conclusão deste estudo é que suplementação à base de isoflavonas de trevo vermelho são mais efetivas do que o placebo na redução da intensidade dos efeitos da menopausa das mulheres pós-menopausa. (Lipovac et al., 2012)

4.2.5. Principais precauções

A toma oral de trevo vermelho é praticamente bem tolerada. Pode causar reações de erupção cutânea, mialgias, cefaleias, náuseas e manchas vaginais. Teoricamente, o trevo vermelho pode ter um efeito aditivo ou antagonista com outras plantas que têm uma ação estrogénica como por exemplo a soja, anho casto (*Vitex agnus-castus*), cimicifuga e kudzu (*Pueraria montana* var. *lobata*). O trevo vermelho também pode interferir com medicamentos contraceptivos devido à competição pelos REs e a ocorrência de interação com o efeito de fármacos anticoagulantes, provocando hemorragias em caso de toma excessiva desta planta, também é possível devido à presença de cumarina no trevo vermelho. O efeito da genisteína também pode antagonizar os efeitos anti-neoplásicos do tamoxifeno. (Stockton, 2012)

Nenhum efeito colateral grave foi relatado em estudos que avaliaram o trevo vermelho para várias condições de saúde num prazo de um ano. Como o trevo vermelho contém compostos semelhantes ao estrogénio, existe a possibilidade de que o uso a longo prazo aumente o risco de desenvolvimento de cancro no endométrio em mulheres. No entanto, estudos de curto prazo em mulheres que tomaram o trevo vermelho não mostraram alterações prejudiciais no revestimento uterino. O trevo vermelho pode não ser seguro para mulheres grávidas ou que estão a amamentar, para crianças ou para mulheres que tenham cancro de mama ou outros cancros sensíveis a hormonas. (U.S. Food and Drug Administration, 2018; NCCIH, 2017) Existe pouca informação em relação a casos de toxicidade, mas de qualquer das maneiras devido ao conteúdo isoflavónico e da cumarina presentes no trevo vermelho, a ingestão excessiva deve ser evitada. (Stockton, 2012)

4.3. Kudzu (*Pueraria montana* var. *lobata* (Willd.) Sanjappa & Pradeep

O Kudzu é uma planta trepadeira perene com uma raiz de grandes dimensões podendo atingir o tamanho de um ser humano e utilizada em Fitoterapia. Esta planta é conhecida por auxiliar a diminuir os “desejos” de alcoólicos abstinentes. (Michigan Medicine, 2018) Planta nativa do sudeste da Ásia e a sua utilização com alimento, forragem e medicamento já é de há milhares de anos. (Wong, et al. 2011)

4.3.1. Definição

A *Pueraria montana* var. *lobata* pertence à família *Fabaceae*, subfamília *Papilionoideae*, espécie *Phaseoleae*, subespécie *Glycininae* e género *Pueraria*. A taxonomia do kudzu ainda não é totalmente clara, existindo múltiplos sinónimos e variedades dentro das espécies. Comumente denominada também por kudzuvína, kudsu, wa yaka, nepalem, araruta japonesa, kuzu (japonês) e outros nomes. (Wong et al., 2011)

4.3.2. Distribuição geográfica

Esta planta prolifera maioritariamente em áreas resguardadas de luz em montanhas, campos, ao longo de estradas, bosques e pequenas florestas na China e no sudeste dos Estados Unidos da América. (Michigan Medicine, 2018)

4.3.3. Composição da parte utilizada de interesse

A raiz de kudzu é uma fonte rica de compostos polifenólicos, incluindo isoflavonas, glucósidos de isoflavonóides, cumarinas, but-2-enóides e seus derivados. As isoflavonas puerarina (Figura 6) e daidzina e seus glucósidos são os principais constituintes bioativos. A puerarina foi isolada pela primeira vez da raiz de kudzu no final dos anos 50 e desde então tem sido investigada a sua ação biológicas *in vitro* e *in vivo*. Triterpenos e glucósidos triterpenóides também foram identificados no kudzu, nomeadamente kudzusaponina, kudzusapogenol e soyasapogenol. A raiz de kudzu possui um odor levemente adocicado e suave, devido à presença de componentes voláteis como palmitato de metilo (42,2%), estearato de metilo (5,2%), acetato de 2-metoxietil (4,8%), acetil carbinol (4,5%) e ácido butanóico (4,1%). Contém também alguns constituintes menores, incluindo 5-metil-hidantoína, tuberosina, cloreto de colina, cloreto de acetilcolina, D-manitol, glicerol 1-monotetracosanoato, ácido eicosanóico, ácido hexadecanóico, ácido tetracosanóide-2, 3-dihidroxipropil éster e diacetonaamina. (Wong et al., 2011; Zhang et al., 2013)

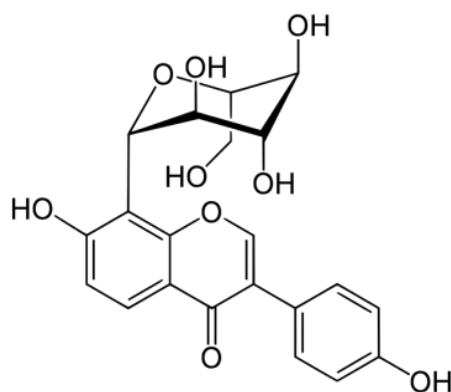


Figura 6 – Representação da fórmula de estrutura da isoflavona puerarina.

4.3.4. Atividade estrogénica

A raiz de kudzu já é utilizada na cultura chinesa há muito tempo para o tratamento de doenças cardiovasculares, como a hipertensão, doenças cerebrovasculares e hiperlipidemia. Esta ação deve-se essencialmente à presença da isoflavona puerarina que é responsável pelas ações farmacológicas no sistema cardiovascular. (Zhou et al., 2014)

Num ensaio aleatório, “double blind” e controlado por placebo, investigou-se o efeito do extrato de *Salvia miltiorrhiza* e *P. montana* var. *lobata* na função e estrutura vascular. Utilizaram-se cem doentes (média de idade de 58 ± 8 anos) com doença arterial coronária documentada e dividiram-nos em dois grupos: um grupo recebia tratamento e o outro placebo. No grupo de tratamento administrou-se diariamente 6 cápsulas, cada uma contendo 500 mg de extrato de *S. miltiorrhiza* e *P. montana* var. *lobata*, durante 24 semanas. No final desse período estipulado verificou-se uma pequena diminuição do LDL plasmático, melhoria na dilatação mediada pelo fluxo braquial e na camada íntima-média da artéria carótida (medida utilizada para avaliar a aterosclerose subclínica e, subsequentemente, para avaliar o risco de CVD) do grupo de tratamento. O estudo foi acompanhado por um estudo opcional de ensaio aberto durante seis meses. Os doentes do grupo de tratamento ($n = 45$) receberam 1,5 g de extrato de *S. miltiorrhiza* e *P. montana* var. *lobata* por dia. (Wong et al., 2011) Verificou-se uma melhoria adicional na dilatação mediada por fluxo braquial e na camada íntima-média da artéria carótida no grupo de tratamento em comparação ao grupo placebo ($n = 47$). A efetividade de *P. montana* var. *lobata* no controlo da hipertensão foi avaliada em sessenta e nove doentes com estágio I ou estágio II de hipertensão. Estes doentes foram divididos aleatoriamente em grupo de tratamento e grupo de controlo. No grupo de tratamento ($n = 46$), os doentes receberam 200 mL de decocção de kudzu, contendo 12% de raiz seca de *P. montana* var. *lobata*, duas vezes por dia durante quatro semanas. Os indivíduos do grupo controlo ($n = 23$) foram tratados com um comprimido hipotensivo (0,1 mg de reserpina, 12,5 mg de di-hidralazina, 12,5 mg de hidroclorotiazida e 3 mg de clordiazepóxido) duas vezes ao dia. Os resultados revelaram que a decocção reduziu significativamente o nível de colesterol total e os valores de glicéridos totais e uma melhoria dos sintomas hipertensivos, como aperto no peito, fadiga, cansaço e sonolência. Segundo algumas revisões, a raiz de kudzu apresenta um grande potencial para ser integrado na prática médica convencional para o tratamento e gestão de síndromes metabólicas como as doenças cardiovasculares e suas complicações. No entanto, mais pesquisa sobre este assunto seria necessário para fornecer conhecimento e possivelmente utilizar em produtos nutracêuticos e farmacêuticos. (Wong et al., 2011)

O extrato metanólico da raiz de kudzu e os seus isoflavonóides (puerarina, daidzina, genisteína) demonstraram possuir efeito estrogénico ligado ao RE β . Estes fitoestrogénios, em particular, a genisteína mostraram trazer algumas complicações do sistema reprodutor feminino como hiperplasia escamosa e quistos ováricos. Estas são algumas das razões que requerem mais estudos sobre os efeitos do extrato da raiz de kudzu e seus isoflavonóides no sistema reprodutor feminino. (Wong et al., 2011)

4.3.5. Principais precauções

Não existem ensaios clínicos que reportem efeitos adversos derivados da toma oral de kudzu. Existe um caso de uma reação alérgica associada a uma combinação utilizando esta planta e que envolve uma erupção maculopapular que começou nas coxas e espalhou pelo corpo inteiro. A nível intravenoso, o derivado do kudzu, a puerarina, tem sido associada a prurido e náuseas. Hemólise intravascular também já foi referido como um efeito causado pelo kudzu. Também como o trevo vermelho, a toma de kudzu não deve ser feita concomitantemente com fármacos anticoagulantes devido ao risco de hemorragia. (Stockton, 2012) O kudzu não deve ser tomado por mulheres grávidas ou que estejam a amamentar. Tal como se deve atuar com todos os suplementos medicinais em qualquer situação, o melhor é pedir informação a um profissional de saúde. (Encyclopaedia Britannica, 2018)

4.4. Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

A alfalfa (*Medicago sativa*) é a principal espécie de *Medicago* amplamente cultivada em todo o mundo com o principal intuito de ser fonte de forragem de alta qualidade para o gado devido à sua fácil digestibilidade, conteúdo proteico e outros nutrientes. Pelo facto de ser uma fonte de metabolitos secundários com interesse também é usada como ingrediente alimentar humano, na forma de rebentos em saladas, sanduíches ou sopas, ou como suplemento alimentar. (Rodrigues, 2017; Soto-Zarazúa & Bah, 2017)

4.4.1. Definição

Medicago sativa L., também é conhecida comumente como luzerna, feno-de-borgonha, alfafa e melga-dos-prados. (Khaleel & Gad, 2005)

4.4.2. Distribuição Geográfica

O género *Medicago* faz parte da família botânica de *Leguminosae* e inclui cerca de 56 espécies diferentes distribuídas principalmente no clima mediterrânico em regiões de clima temperado e seco. A origem desta leguminosa forrageira perene é da Ásia Ocidental e da região oriental do Mediterrâneo. (Michigan Medicine, 2018)

4.4.3. Composição da parte utilizada de interesse

A planta inteira contém várias substâncias farmacologicamente ativas importantes como ácidos (láurico, maleico, palmítico, etc.) alcaloides, aminoácidos (arginina, asparagina, cistina, etc.), aminoácidos não proteicos como a carvanina, bem como os metabolitos secundários (cumarinas, isoflavonóides, saponinas, esteroides) e outros constituintes como a frutose, vitaminas (A, B1, B6, B12, C, E, K), pectina, clorofila, minerais e outros elementos vestigiais. (Soto-Zarazúa, et al. 2016) Dentro dos compostos fenólicos existentes nesta planta encontram-se algumas isoflavonas das quais a bioquarina A e formononetina, precursores metilados da genisteína e daidzeína, respetivamente, estão em maiores quantidades. (Soto-Zarazúa & Rodrigues, 2016) Os rebentos e sementes contêm canavanina, um análogo do aminoácido do derivado da arginina. (Khaleel & Gad, 2005) Para uso medicinal são utilizadas a folha, flor, semente e chá de rebentos da alfafa.

4.4.4. Atividade estrogénica

Atividade estrogénica tem sido reportada em ruminantes que foram alimentados com grandes quantidades de alfafa como forragem o que parece estar associado com os constituintes de cumestrol e isoflavonas da alfafa. Em humanos foi reportado que o consumo de sementes de alfafa podem ser lactogénicos e afetar o ciclo menstrual. (Samac & Austin-Phillips, 2006)

O extrato de folhas de *M. sativa* foi utilizado no tratamento da sintomatologia neurovegetativa da menopausa, que se deve à adaptação do corpo à privação de estrogénio afetando vários neurotransmissores centrais. Verificou-se que num grupo de 30 mulheres pós-menopausa tratadas com folhas de salva e de alfafa, em 20 mulheres desapareceram os afrontamentos e os suores noturnos completamente, nas restantes dez só se verificou apenas redução da sintomatologia da menopausa. O produto vegetal induziu um aumento significativo da prolactina e na resposta hormonal estimulante da tiroide. Níveis basais de estradiol, hormona luteinizante, hormona folículo estimulante, prolactina e hormona estimulante da tiroide permaneceram inalterados. Portanto, a alfafa demonstra ter uma leve ação anti dopaminérgica sem efeitos colaterais, para além dos outros efeitos que produz, e é um agente efetivo no tratamento dos sintomas da menopausa. (Bora & Sharma, 2011)

4.4.5. Principais precauções

Mulheres grávidas ou que estão a amamentar não devem consumir sementes de alfafa devido à sua capacidade de aumentar a produção de leite. Crianças e pessoas com saúde fragilizada devem somente usar a alfafa em doses culinárias (saladas). (Stockton, 2012)

Embora a alfafa seja inofensiva para a maioria das pessoas quando tomada nas quantidades recomendadas, as pessoas com lúpus eritematoso sistémico auto-imune não devem tomar nenhuma forma de alfafa pois já foram documentados efeitos adversos especialmente aquando tomas com quantidades superiores às recomendadas. Também pessoas com outras doenças autoimunes não devem consumir alfafa como forma de prevenção. Não foram reportados efeitos adversos em pessoas saudáveis que usavam alfafa nas doses recomendadas. (Encyclopaedia Britannica, 2018; Memorial Sloan Kettering Cancer Center, 2018; Michigan Medicine, 2018) Devido à capacidade estrogénica, grandes quantidades de alfafa podem interferir com a terapia hormonal e contraceptivos. (Stockton, 2012)

4.5. *Apios americana* Medik

O *Apios americana* é uma leguminosa, trepadeira e perene nativa da América do Norte que gera tubérculos comestíveis, tendo sido muito utilizados como alimento de grande importância pelos americanos nativos. (Ichige et al., 2013)

4.5.1. Definição

Apios americana, também denominada de feijão de batata, batata índia, hodoimo, amendoim americano ou amendoim, é uma planta com grandes tubérculos comestíveis. (Ichige, et al., 2013)

4.5.2. Distribuição geográfica

A sua extensão natural é do sul do Canadá (incluindo Ontário, Quebec e New Brunswick) até à Flórida (sul dos Estados Unidos da América) e fronteira oeste de Colorado. A sua distribuição nativa é em locais húmidos e matagais. (USDA Natural Resources Conservation Service, 2018)

4.5.3. Composição da parte utilizada

Vários estudos relataram que esta planta contém na sua composição ácidos gordos, aminoácidos e hidratos de carbono e como metabolitos secundários apresenta saponinas, genisteína e glucósidos da genisteína. (Ichige et al., 2013) Num determinado estudo foi realizado o isolamento de uma nova isoflavona de *A. americana* cujo nome é genisteína-7-*O*-gentiobioside. Esta é uma isoflavona específica de *A. americana* e apresenta uma gentiobiose (6-*O*-β-D-glucopiranosil-D-glucose) ligado à genisteína. (Kaneta et al., 2016) Basicamente, cem gramas do tubérculo de *A. americana* contém aproximadamente 60 mg de genisteína (maioritariamente como genisteína diglucósido) e 20 a 40 mg dos seus glucósidos.

4.5.4. Atividade estrogénica

Devido ao facto das isoflavonas exibirem uma atividade semelhante às hormonas femininas através da ligação ao RE da membrana celular foi realizado um exame à capacidade de ligação de *A. americana* aos REs. Definindo que a capacidade de ligação ao RE às isoflavonas derivadas de soja é de 100%, verificou-se que a capacidade de

ligação do extrato desta espécie ao RE α foi de 6,0%, 29,5% e 77%, e ao RE β foi de 10%, 47% e 87%, nas concentrações de 10, 100 e 1000 $\mu\text{g/mL}$ respetivamente. Portanto, o extrato de *A. americana* apresentou afinidade ao RE apesar de ser em menor percentagem do que com as isoflavonas da soja. Em baixas concentrações do extrato da planta observou-se pouca capacidade de ligação ao RE. No entanto, se a capacidade de ligação saturada do estradiol ao RE for definida como 100% (a concentração de estradiol foi de 10 nM), a afinidade da isoflavona da soja ao RE α e RE β foram de 55-70% e 75-80 %, respetivamente. Além disso, a capacidade de ligação do extrato de *A. americana* ao RE α foi de 3,9%, 19,5% e 53,5% e ao RE β foi de 8,0%, 36,7% e 71,5% em concentrações de 10, 100 e 1000 $\mu\text{g/mL}$, respetivamente. (Kaneta et al., 2016) Sabendo que as células MCF-7 (linha celular de adenocarcinoma de mama humano) expressam RE α , e as isoflavonas genisteína e daidzeína são conhecidas por induzir a transcrição e estimular o crescimento desta linha celular como agonistas parciais, examinou-se o efeito do extrato de *A. americana* na expressão do gene de RE. Verificou-se que o extrato desta leguminosa estimulou ligeiramente a expressão génica do RE α e do RE β . A expressão do gene do RE α aumentou aproximadamente 1,5 vezes em células expostas a 100 $\mu\text{g/mL}$ de extrato do amendoim americano durante 24 horas em comparação com as células não tratadas. A expressão génica do RE β aumentou aproximadamente 2,0 e 2,9 vezes após exposição a 100 $\mu\text{g/mL}$ de extrato de groundnut e da isoflavona da soja, respetivamente, durante as 24 horas em comparação com as células não expostas. (Takashima et al., 2013)

4.5.5. Principais precauções

As precauções a ter em conta são similares às da soja, referidas anteriormente. (Kaneta et al., 2016)

4.6. Grão de bico (*Cicer arietinum* L.)

As sementes de *C. arietinum* são geralmente consumidas como alimento, para além de ser uma boa fonte de proteína, são tradicionalmente utilizados devido ao seu efeito afrodisíaco, estrogénico, antioxidante, inibidor da enzima de conversão da

angiotensina, antidiabético, anti-inflamatório, hipocolesterolémico, antidiarreico, anticonvulsivante, hepatoprotetor, anticancerígeno, diurético, anti nefrolitíase e muitos outros efeitos farmacológicos. (Al-Snafi, 2016)

4.6.1. Definição

Cicer arietinum tem diversas denominações que variam de região para região. Em Portugal é vulgarmente conhecida por grão-de-bico, já em árabe é denominada por *hummus*, *homos* ou *lablabi* e na China por *ying zui dou*. (Al-Snafi, 2016)

4.6.2. Distribuição geográfica

As culturas são feitas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas. Algumas evidências botânicas e arqueológicas mostram que o grão-de-bico foi domesticado pela primeira vez no Médio Oriente e foi amplamente cultivado na Índia, na região do Mediterrâneo, no Médio Oriente e na Etiópia desde a antiguidade. Atualmente é cultivado em diversas regiões do mundo, desde vários países da África como a Argélia e o Quênia, outros da Ásia como a China e Índia e outros mais pertencentes ao Médio Oriente. (Al-Snafi, 2016)

4.6.3. Composição da parte utilizada

As sementes de *C. arietinum* apresentam na sua constituição hidratos de carbono, proteínas, aminoácidos, fitoesteróis, alcaloides, compostos fenólicos e taninos, flavonoides, glicosídeos, saponinas, aminoácidos, ferro, fosfato, sulfato e cloreto. A maior parte da semente é composta por hidratos de carbono (61%) e 5% de gordura. A fibra está principalmente localizada no revestimento da semente. O conteúdo de fitoestrogénios de *C. arietinum* foi de 11-192 µg de daidzeína por 100 g de peso seco, 69-214 µg de genisteína por 100 g de peso seco. (Al-Snafi, 2016) Outros estudos mostraram que sementes e brotos de grão-de-bico contêm pelo menos os seguintes oito fitoestrogénios: bioquarina A, formononetina, genisteína, bioquarina A -7-O-β-D-glicosídeo, calicosina, trifolirhizina, ononina e sissotrina. (Zhao et al., 2009)

4.6.4. Atividade estrogénica

As isoflavonas, importantes componentes químicos das sementes e rebentos do grão-de-bico, chamaram a atenção devido ao seu potencial uso terapêutico. Três das isoflavonas do grão-de-bico, bioquarina A, a formononetina e a bioquarina A 7-O-β-D-glucósido, também se encontram no *Trifolium pratense* (trevo vermelho), que tem demonstrado fortes efeitos estrogénicos, inclusive estimulando o crescimento uterino e prevenindo a perda óssea. Num estudo descobriu-se que isoflavonas extraídas dos rebentos de grão-de-bico estimularam a atividade promotora do elemento *estrogen responsive* em células, e o tratamento concomitante com o antagonista não seletivo do recetor de estrogénio ICI (182, 780) aboliu a atividade estrogénica induzido pelas isoflavonas dos rebentos de grão-de-bico. Os resultados *in vitro* deste estudo sugerem que a atividade estrogénica pode ser induzida pelas isoflavonas desta leguminosa. No entanto, nenhuma evidência direta demonstrou que as isoflavonas desta planta podem induzir efeitos estrogénicos em ratos fêmeas ovariectomizadas (ablação cirúrgica dos ovários). Neste estudo, usa-se um modelo de rato ovariectomizado para estudar as potenciais atividades estrogénicas das isoflavonas do grão-de-bico. Prosseguiu-se a observação e o estudo do efeito destes componentes no crescimento uterino, hormonas ováricas, respostas gonadotrofinas e alterações estruturais ósseas. A conclusão que se chegou foi que as isoflavonas do grão-de-bico exibiram uma forte atividade estrogénica e preveniram a perda óssea em ratos fêmea sem ovários. Portanto, estes resultados indicam que as isoflavonas do grão-de-bico são benéficas para o tratamento de sintomas da menopausa e osteoporose causadas por deficiência de estrogénio. (Ma et al., 2013)

4.6.5. Principais precauções

Certos estudos foram realizados para verificar os efeitos colaterais e toxicidade do grão-de-bico. Em alguns estudos de toxicidade aguda não foi observada mortalidade, mesmo na dose mais alta de 2 gramas por cada quilograma do rato, administrada por via oral. Ratinhos albinos Swiss adultos do sexo feminino foram sujeitos a estudos de toxicidade aguda. Estes foram observados continuamente por duas horas em vários perfis comportamentais, neurológicos, autonómicos e para qualquer letalidade ou morte nas 48 horas após o consumo de grão-de-bico. Os resultados indicaram que o extrato de

éter de petróleo de *C. arietinum* foi seguro até a dose de 5000 mg/kg de peso corporal. (Al-Snafi, 2016)

4.7. *Pueraria tuberosa* (Willd.) DC

O tubérculo da planta *Pueraria tuberosa* (Willd.) DC é usado principalmente para fins terapêuticos em sistemas etnomedicinais e tradicionais. Diversos usos tradicionais têm sido utilizados com o propósito de emoliente, laxante, afrodisíaco, galactagogo, diurético, emético, rejuvenescedor e expetorante. (Verma et al., 2012)

4.7.1. Definição

P. tuberosa é uma erva medicinal conhecida por vários nomes comuns como por exemplo Kudzu indiano. (Maji et al., 2014)

4.7.2. Distribuição geográfica

Apresenta uma distribuição por toda a Índia, a partir dos Himalaias ocidentais até Sikki, e em regiões tropicais e subtropicais. Também é nativa do Nepal e Paquistão. (Maji et al., 2014)

4.7.3. Composição da parte utilizada

A análise fitoquímica do extrato do tubérculo revela a presença de diferentes classes de fitoconstituintes incluindo alcaloides, hidratos de carbono, esteroides, glucósidos, taninos, terpenóides, flavonoides, cumarinas e antocianinas. Alguns estudos utilizando o método HPLC (Cromatografia líquida de alta eficiência) para analisar o extrato do tubérculo revelaram a presença de isoflavonoides como a puerarina (8,31%), daidzeína (1,70%) e genisteína (1,37%). (Maji et al., 2014)

4.7.4. Atividade estrogénica

Como já referido anteriormente, as isoflavonas podem ter uma ação protetora do sistema cardiovascular ao mimetizarem os estrogénios. Um estudo realizado com ratos Wistar para avaliar os níveis séricos de colesterol total, triglicéridos, colesterol LDL e colesterol VLDL revelou uma redução significativa destes valores com a administração

de extrato metanólico de *P. tuberosa*. É de enfatizar que os ratinhos eram alimentados com uma dieta hipercolesterolemia. Foi demonstrado, portanto, que as isoflavonas da *P. tuberosa* foram responsáveis por esta redução. A puerarina reduziu significativamente o colesterol total e triglicéridos séricos dos ratinhos com hiperlipidemia. A genisteína também reduziu os níveis séricos de triacilglicerol, colesterol e ácidos gordos livres em ratos experimentais. (Maji et al., 2014)

4.7.5. Principais precauções

A *P. tuberosa* é amplamente utilizada de forma tradicional e existem poucos estudos que avaliam o seu efeito tóxico nos seres vivos. Alguns estudos em animais indicaram que a LD₅₀ do extrato era de 227,5 mg / 100 g em ratos. Em relação à toxicidade subcrónica, a toma de doses repetidas de *P. tuberosa* (100 mg / 100 g) durante 30 dias aumentou os níveis de enzimas hepáticas no sangue, congestões sinusoidais, rutura da veia central, infiltração de células inflamatórias e necrose hepatocelular. (Maji et al., 2014)

4.8. Feijão-da-china (*Vigna radiata* (L.) R.Wilczek)

4.8.1. Definição

A *Vigna radiata* é conhecida como feijão-da-china em português, mas apresenta diversas designações que variam de país para país. Este legume pertencente à família *Fabaceae* é consumido na sua forma tradicional a nível mundial há mais de 3500 anos. *Vigna radiata* era conhecida por *Phaseolus aureus* Roxb. (Ganesan & Xu, 2017)

4.8.2. Distribuição geográfica

O feijão-da-china é uma planta que cresce até 90 centímetros de altura num clima quente por volta dos 35°C. É uma cultura de curta duração (75-90 dias) e tem uma ampla adaptabilidade e cresce extensivamente em todos os tipos de solo. Condições áridas e semiáridas são favoráveis para o seu crescimento. A sua produção tem origem na Índia, mas com o passar dos anos, o cultivo desta planta dispersou-se para a China e várias regiões do sudeste da Ásia. (Ganesan & Xu, 2017)

4.8.3. Composição da parte utilizada

As sementes e rebentos do feijão-da-china apresentam atividade farmacêutica. As flavonas, isoflavonas, flavonoides e isoflavonoides são os metabolitos mais importantes encontrados nesta planta. (Tang et al., 2014) Através do método HPLC foram identificados nos rebentos do feijão-da-china quatro isoflavonas, incluindo duas agliconas (daidzeína e genisteína) e os seus glucósidos (daidzina e genistina, respetivamente). Em relação ao total de isoflavonas, os glucósidos correspondiam a 85%, sendo a daidzina o glucósido maioritário correspondendo a 67-89% das isoflavonas determinadas. (Ganesan & Xu, 2017)

4.8.4. Atividade estrogénica

Num estudo que incluía sete extratos de legumes: soja, feijão, rebentos de alfafa, rebentos de feijão-da-china, raiz de kudzu e flores e rebentos de trevo vermelho, basicamente todas estas leguminosas possuíam fitoestrogénios. A atividade estrogénica foi determinada usando uma linha de células de cancro da mama MCF-7 dependentes de estrogénio. O antagonista de estrogénio ICI (182,780), suprimiu a proliferação de células induzida pelos extratos, sugerindo uma via relacionada com o envolvimento de REs. Todos os extratos exibiram atividade agonista preferencial em relação ao RE β . O extrato de feijão-da-china foi um dos que apresentou níveis mais baixos de atividade estrogénica em relação às outras plantas estudadas. Somente apresentou maior crescimento da linha de células de proliferação em relação ao estradiol no extrato de maior concentração (100 μ g / mL). Os rebentos da *Vigna radiata* não foram ativos na ligação aos REs ou algum dos subtipos. Esta leguminosa apresenta baixos níveis de isoflavonas apesar de conterem as flavonas kaempferol e quercetina que contribuíram para a atividade estrogénica observada no crescimento e proliferação das células MCF-7. (Iese et al., 2003)

4.8.5. Principais precauções

Apesar de vários estudos já existirem em relação a esta planta sobre as suas propriedades fitoquímicas, preventivas e curativas são necessários ainda mais estudos específicos para comprovar efeitos adversos da toma de *Vigna radiata*. Também mais

ensaios clínicos deverão ser realizados pois os existentes não são suficientes ou inadequados para justificar o efeito preventivo desta planta. (Ganesan & Xu, 2017)

4.9. *Eriosema laurentii* De Wild.

4.9.1. Definição

O género *Eriosema* (*Leguminosae*) é composto por mais de 150 espécies, com a maioria dos seus representantes distribuídos por áreas tropicais. (Ateba et al., 2013)

4.9.2. Distribuição geográfica

Arbusto herbáceo ou semilenhoso que pode atingir até 1,5 metros de altura, com flores amarelas brilhantes, encontram-se amplamente dispersos no Oeste e na África Central, onde é usado para tratar queixas ginecológicas e menopausicas. (Ateba et al., 2016; Ateba et al., 2014)

4.9.3. Composição da parte utilizada

Os principais compostos ativos presentes nesta planta são a genisteína, genistina, 20-hidroxi-genisteína e lupinalbina A que se encontram principalmente nas partes aéreas e são responsáveis pelos efeitos estrogénicos. Para além destes constituintes vários outros flavonoides foram detetados em concentrações mais baixas. (Ateba et al., 2016; Ateba et al., 2014)

4.9.4. Atividade estrogénica

Num estudo procurou-se determinar o potencial uso do *Eriosema laurentii* em transtornos/condições ginecológicas através de uma avaliação das propriedades estrogénicas do extrato metanólico obtido das partes aéreas desta planta e a sua habilidade de prevenir diferentes problemas da saúde ginecológica induzidas por ooforectomia bilateral. Uma investigação *in vivo* foi realizada em ratos ovarietomizados através de um ensaio uterotrófico de 3 dias (este ensaio baseia-se no aumento do peso uterino ou na resposta uterotrófica) e 9 semanas de tratamento oral em ratos ovarietomizados. Os resultados nos ratos mostraram que o extrato metanólico das partes aéreas de *E. laurentii* não induziram a proliferação do endométrio nem no tratamento de

3 dias nem no de 9 dias, mas induziram a estratificação das células, preveniram perda de massa óssea do fêmur, aumentaram os valores de HDL e reduziram os de TC (colesterol total), LDL e o índice aterogénico do plasma. Portanto os resultados deste estudo sugerem que o *E. laurentii* não parece ter influência no endométrio, mas possivelmente previne a secura vaginal e perda de massa óssea devidas à menopausa e melhora o perfil lipídico. (Ateba et al., 2013)

4.9.5. Principais precauções

Através de um estudo de avaliação de segurança, verificou-se no estudo da toxicidade aguda que a administração de uma dose única por via oral de 2000 mg/kg de extrato metanólico de *E. laurentii* não causou nem sintomas toxicológicos nem mortalidade durante e após tratamento e o LD₅₀ estimado foi >5000 mg/kg. Nos estudos de toxicidade subcrónica, o extrato desta planta também não induziu sinais fenotípicos de toxicidade durante ou após tratamento. Apenas ocorreu uma diminuição tardia do peso relativo do baço dos machos na dose mais elevada do extrato de 400 mg/kg. Nas fêmeas não se verificou diferenças nos parâmetros hematológicos. Também não foram observadas diferenças nos níveis de bilirrubina e creatinina, nem alterações histológicas nos órgãos. Os resultados deste estudo indicam uma ampla margem de segurança para o extrato metanólico de *E. laurentii*. (Ateba et al., 2014)

5. Conclusão

As isoflavonas de origem vegetal das plantas referidas no presente trabalho, com base em alguns estudos *in vivo* e outros *in vitro*, revelam potencial para serem usadas para prevenção e em alguns casos para tratamento de situações hormonais onde há diminuição da hormona estradiol. As isoflavonas são responsáveis pela redução das ondas de calor características na menopausa, diminuem as doenças cardiovasculares, mantêm a densidade óssea, diminuem o colesterol e melhoram o tónus da pele. (Paulino, 2016) No entanto, apesar dos estudos já realizados e dos seus resultados positivos, mais estudos e ensaios clínicos deverão ser realizados para comprovar a sua efetividade e segurança. (Franco et al., 2016)

Algumas das plantas referidas no trabalho podem ser adotadas na alimentação normal diária, mas também como fonte de isoflavonas para produção de suplementos alimentares. A planta mais comumente utilizada é a soja devido às estatísticas e diversos estudos que comprovam a sua efetividade. (Paulino, 2016) Portanto, para além de usufruir das isoflavonas da soja a partir do consumo da própria planta, existem diversos suplementos alimentares disponíveis nas farmácias portuguesas com isoflavonas à base de soja e que podem e são aconselhados pelos profissionais de saúde e se encontram descritos no Tabela 3.

Tabela 3 – Fármacos para terapêutica não hormonal à base de isoflavonas de soja, com respetiva dose e nome comercial. (Farmácias Portuguesas, 2018) (Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2016)

Isoflavonas de soja	Dose	Nome comercial
Isoflavonas de soja	20 mg	Menopace®
Isoflavonas de soja	40 mg	Promensil®
Isoflavonas de soja	80 mg	Promensil Forte®, Fisiogen®
Isoflavonas de soja	100 mg	Estrofito Forte®, Menopace Plus®
Isoflavonas de soja + bifidobacterium	100 mg	Estrofito Forte Bio®
Isoflavonas de soja + extrato de magnólia + complexos vitamínicos	60 mg	Estromineral Serena®
Isoflavonas de soja + cálcio + melatonina + magnésio + Vitamina D, vitamina B6, B9 e B12 + ómega 3	54,5 mg	Flavia Nocta®
Isoflavonas de soja+ ómega 3 e 6+ complexo vitamínico	80 mg	Estrofito Plus Vita®
Isoflavonas de soja + óleo de onagra + lecitina de soja + tocoferol	150 mg	Climater Plus®
Outros...		Considerados suplementos vitamínicos de venda livre não registados pelo Infarmed

Em relação a outras plantas referidas anteriormente como o trevo vermelho e a raiz de kudzu, também são utilizadas para suplementação, mas a sua venda está mais restrita a estabelecimentos como ervanárias ou o seu uso ainda permaneça na forma tradicional, não existindo produtos registados pelo Infarmed e, portanto, a sua dispensa na farmácia portuguesa não ser comum. (Infarmed - Autoridade Nacional do

Medicamento e Produtos de Saúde, 2016) Este facto não deve ser considerado como desencorajador no que diz respeito ao potencial destas plantas, contudo é necessário que sejam realizados mais estudos onde seja possível compreender se realmente são as isoflavonas presentes nas plantas responsáveis pelo mecanismo de atuação ao mimetizarem os estrogénios endógenos. Com base no conhecimento das isoflavonas responsáveis pela atividade estrogénica, importa verificar qual ou quais a(s) parte(s) da planta que apresentam um melhor perfil para serem utilizadas. Relativamente aos ensaios clínicos, para que se consiga avaliar a real eficácia das plantas e comparar com outros trabalhos realizados por diferentes grupos de investigadores, utilizando preparações estandardizadas de cada planta e utilizar o maior número de voluntários intervenientes para que o estudo seja mais rigoroso e fidedigno.

O farmacêutico, como profissional de saúde e interveniente ativo na saúde da população, tem um papel bastante importante no que respeita ao aconselhamento de medidas, tanto não farmacológicas como farmacológicas que permitam o alívio dos sintomas da menopausa e na prevenção de diversas patologias derivadas da deficiência de estrogénios na mulher tais como a osteoporose e as doenças cardiovasculares. Além disso, o farmacêutico deve ter atenção com os utentes que pertençam ou não a grupos de risco, tais como mulheres com cancro da mama ou que já tiveram.

Apesar de existirem diversos suplementos alimentares com isoflavonas, maioritariamente da soja, à venda nas farmácias indicados para alívio da sintomatologia da menopausa e prevenção de outras doenças, o farmacêutico pode aconselhar os que são derivados da soja, mas com base nesta dissertação, o farmacêutico ainda não dispõe de suporte clínico suficiente que lhe permita aconselhar, com garantias de efetividade, suplementos com isoflavonas derivados das plantas referidas anteriormente, exceto a soja.

6. Referências Bibliográficas

- Accorsi-Neto, A., Haidar, M., Simões, R., Simões, M., Soares-Jr, J., Baracat, E. . (2009) 'Effects of isoflavones on the skin of postmenopausal women: a pilot study', *Clinics*, 64(6), pp. 505–510. doi: 10.1590/S1807-59322009000600004.
- Al-Snafi, A. E. (2016) 'The medical importance of *Cicer arietinum* - A review', *IOSR Journal of Pharmacy*, 6(3), pp. 2250–3013. Disponível em: <http://www.iosrphr.org/papers/v6i3/D0632940.pdf>.
- Anguraj Vadivel, A. K., Sukumaran, A., Li, X., Dhaubhadel, S. (2016) 'Soybean isoflavonoids: role of GmMYB176 interactome and 14-3-3 proteins', *Phytochemistry Reviews*.15(3), pp. 391–403. doi: 10.1007/s11101-015-9431-3.
- Ahsan, M. (2017) 'The Effect of Soy Isoflavones on the menopause rating scale scoring in perimenopausal and postmenopausal women: A Pilot Study', *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, pp. 10–13. doi: 10.7860/JCDR/2017/26034.10654.
- Ateba, S. B., Njamen, D., Medjakovic, S., Hobiger, S., Mbanya, J., Jungbauer, A., Krenn, L., (2013) '*Eriosema laurentii* de Wild (Leguminosae) methanol extract has estrogenic properties and prevents menopausal symptoms in ovariectomized Wistar rats', *Journal of Ethnopharmacology*. 150(1), pp. 298–307. doi: 10.1016/j.jep.2013.08.050.
- Ateba, S. B., Simo, R., Mbanya, J., Krenn, L., Njamen, D. (2014) 'Safety profile and gender specific differences of a methanol extract of *Eriosema laurentii* (Leguminosae) in acute and subchronic (28 days) oral toxicity studies in Wistar rats', *Food and Chemical Toxicology*. 65, pp. 27–32. doi: 10.1016/j.fct.2013.12.016.
- Ateba, S. B., Njamen, D., Medjakovic, S., Zehl, M., Kaehlig, H., Jungbauer, Al., Krenn, L., (2014) 'Lupinalbin A as the most potent estrogen receptor α - and aryl hydrocarbon receptor agonist in *Eriosema laurentii* de Wild. (Leguminosae)', *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14:294, doi: 10.1186/1472-6882-14-294.
- Ateba, S. B., Njamen, D., Gatterer, C., Scherzer, T., Zehl, M., Kählig, H., Krenn, L. (2016) 'Rare phenolic structures found in the aerial parts of *Eriosema laurentii* de Wild', *Phytochemistry*, 128, pp. 5–11.
- Banikazemi, Z., Haji, H., Mohammadi, M., Taheripak, G., Iranifar, E., Poursadeghiyan, M., et al. (2018) 'Diet and cancer prevention: Dietary compounds, dietary MicroRNAs, and dietary exosomes', *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(1), pp. 185–196. doi: 10.1002/jcb.26244.

Barnes, S., Prasain, J. and Kim, H. (2013) ‘In Nutrition, Can We “See” What Is Good for Us?’, *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 4(3), p. 327S–334S. doi: 10.3945/an.112.003558.

Beck, V., Rohr, U. and Jungbauer, A. (2005) ‘Phytoestrogens derived from red clover: An alternative to estrogen replacement therapy?’, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 94(5), pp. 499–518. doi: 10.1016/j.jsbmb.2004.12.038.

Bohn, T. (2010) ‘Isoflavone bioavailability from foods and supplements. Dietary factors impacting utilization’, *Agro Food Industry Hi-Tech*, 21(2), pp. 59–62.

Bora, K. S. & Sharma, A. (2011) ‘Phytochemical and pharmacological potential of *Medicago sativa*: A review’, *Pharmaceutical Biology*, 49(2), pp. 211–220. doi: 10.3109/13880209.2010.504732.

Bourbon, M., Miranda, N., Vicente, A., Rato, Q. (2016) ‘Sabe como Prevenir? - Doenças Cardiovasculares’, *Instituto Nacional de saúde Doutor Ricardo Jorge*, p. 3,24. Disponível em: <http://www2.portaldasaude.pt/NR/rdonlyres/E729E9EE-A547-4429-8696-7DF0D79643A7/0/DoencasCardiovasculares.pdf>.

Chang, Y.-J., Hou, Y., Chen, L., Wu, J., Wu, C., Chang, Y., Chung, K. (2017) ‘Is vegetarian diet associated with a lower risk of breast cancer in Taiwanese women?’, *BMC Public Health*, 17(1), p. 800. doi: 10.1186/s12889-017-4819-1.

Chao, W. X. (2008) ‘Health effects of soy protein and isoflavones in humans’, *Journal of Nutrition*, 138(6), pp. 4–9. doi: 138/6S-I/1244S [pii].

Chemler, J. A., Lim, C., Daiss, J., Koffas, M. (2010) ‘A Versatile Microbial System for Biosynthesis of Novel Polyphenols with Altered Estrogen Receptor Binding Activity’, *Chemistry and Biology*. Elsevier Ltd, 17(4), pp. 392–401. doi: 10.1016/j.chembiol.2010.03.010.

CUF (2017). [Acedido em 2 fevereiro 2018]. Disponível em : <https://www.saudecuf.pt/mais-saude/doencas-a-z/osteoporose>

Cunha, A. P., Ribeiro, J. A. & Roque, O. R., 2009. *Plantas Aromáticas em Portugal Caracterização e Utilizações*. 2º ed. Av. de Beato, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.

Cunha, A. P., Silva, A. P., Roque, O. R. & Cunha, E., 2015. *Plantas e Produtos Vegetais em Cosmética e Dermatologia*. 4º ed. s.l.:Fundação Calouste Gulbenkian.

Dewick, P. M., 2009. Isoflavonoids. Em: *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. 3^o ed. The Atrium, Southern Gate, Chichester (West Sussex): Wiley, pp. 174-178.

Dietz, B. M., Hajirahimkhan, A., Dunlap, T. L., Bolton, J. L. (2016) 'Botanicals and their bioactive phytochemicals for women's health', *Pharmacological Reviews*, 68(4), pp. 1026–1073. doi: 10.1124/pr.115.010843.

Direção Geral da Saúde. Orientação no 01/2011 - Menopausa - Conceitos e Estratégias. Lisboa: Direção Geral da Saúde; 2011.

Direção Geral da Saúde. Orientação no 027/2011 - Tratamento Farmacológico da Osteoporose Pós-Menopáusicas. Lisboa: Direção Geral da Saúde; 2011.

Direção-Geral da Saúde (2012) 'Normas Clínicas: Graus de Recomendação e Níveis de Evidência', p. 1. [Acedido a 7 de julho 2018] Disponível em: <https://www.dgs.pt/profissional/normas-e-orientacoes.aspx>.

Dixon R. A., 2004. Phytoestrogens. *Annual Review Plant Biology*; 55: 225-261

DrugBank - Estradiol. (2018) [Acedido a 2 fevereiro 2018]. Disponível em : <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00783>

DrugBank - Isoflavone. (2017) [Acedido a 2 fevereiro 2018]. Disponível em : <https://www.drugbank.ca/drugs/DB12007>

Encyclopaedia Britannica, Inc. Phytotherapy. (2018) [Acedido a 14 de abril de 2018]. Disponível em: <https://www.britannica.com/science/phytotherapy>

EFSA - European Food Safety Authority - ANS Panel (2015). Scientific opinion on the risk assessment for peri- and post-menopausal women taking food supplements containing isolated isoflavones *EFSA Journal* 13: 342.

Esteves, E. & Monteiro, J. (2001) 'Beneficial effects of soy isoflavones on chronic diseases', *Revista de Nutrição*, 14(1), pp. 43–52. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-52732001000100007&script=sci_arttext.

Eucerin - Envelhecimento geral da pele. (2018) [Acedido a 20 de fevereiro de 2018]. Disponível em: <https://www.eucerin.pt/indicacoes-da-pele/pele-madura/envelhecimento-geral-da-pele>

Farmácias Portuguesas – *Catálogo - menopausa* (2018) [Acedido a 28 de agosto de 2018]. Disponível em: <https://www.farmaciasportuguesas.pt/catalogo/catalogsearch/result/?q=menopausa>

Franco, O. H., Chowdhury, R., Troup, J., Voortman, T., Kunutsor, S., Kavousi, M., Oliver-Williams, C., Muka, T. (2016) 'Use of plant-based therapies and menopausal symptoms: A systematic review and meta-analysis', *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 315(23), pp. 2554–2563. doi: 10.1001/jama.2016.8012.

Franke, A. A., Lai, J. F. and Halm, B. M. (2014) 'Absorption, distribution, metabolism, and excretion of isoflavonoids after soy intake', *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 559, pp. 24–28. doi: 10.1016/j.abb.2014.06.007.

Ganesan, K. and Xu, B. (2017) 'A critical review on phytochemical profile and health promoting effects of mung bean (*Vigna radiata*)', *Food Science and Human Wellness*. Beijing Academy of Food Sciences., (2017). doi: 10.1016/j.fshw.2017.11.002.

Gilani G., Anderson, J. Phytoestrogens and Health. Champaign, Illinois: AOCS Press; 2002.

Ghazanfarpour, M., Sadeghi, R., Latifnejad Roudsari, R., Mirzaii Najmabadi, K., Mousavi Bazaz, M., Abdolahian, S., Khadivzadeh, T. (2015) 'Effects of red clover on hot flash and circulating hormone concentrations in menopausal women: a systematic review and meta-analysis.', *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 5(6), pp. 498–511.

Gütelkin, E. & Yildiz, F. Phytoestrogens in Functional Foods. (2006) In: Fatih Yildiz, editor. Introduction to Phytoestrogens. 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300 Boca Raton, pp. 4-16.

Hall, G. & Phillips, T. J. (2005) 'Estrogen and skin: The effects of estrogen, menopause, and hormone replacement therapy on the skin', *Journal of the American Academy of Dermatology*, 53(4), pp. 555–568. doi: 10.1016/j.jaad.2004.08.039.

Ichige, M., Fukuda, E., Miida, S., Hattan, J., Misawa, N., Saito, S., et al. (2013) 'Novel isoflavone glucosides in groundnut (*Apios americana* Medik) and their antiandrogenic activities', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(9), pp. 2183–2187. doi: 10.1021/jf305233t.

Iese, T. H. E. W. *et al.* (2003) 'Evaluation of the Estrogenic Effects of Legume Extracts Containing Phytoestrogens'. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, doi: 10.1021/jf021114s

Infarmed - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. Medicamentos à base de plantas. Lisboa: Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P ©2016 [Acedido em 14 de abril de 2018]. Disponível em: http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/medicamentos_a_base_de_plantas.

Jenkins, G., Wainwright, L. J., Holland, R., Barrett, K. E., Casey, J. (2014) 'Wrinkle reduction in post-menopausal women consuming a novel oral supplement: A double-blind placebo-controlled randomized study', *International Journal of Cosmetic Science*, 36(1), pp. 22–31. doi: 10.1111/ics.12087.

Kabel, A. M. & Baali, F. H. (2015) 'Breast Cancer: Insights into Risk Factors, Pathogenesis, Diagnosis and Management', *Journal of Cancer Research and Treatment*, 3(2), pp. 28–33. doi: 10.12691/jcrt-3-2-3.

Kaneta, H., Koda, M., Saito, S., Imoto, M., Kawada, M., Yamazaki, Y., Momose, I., Shindo, K. (2016) 'Biological activities of unique isoflavones prepared from *Apios americana* Medik', *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 80(4), pp. 774–778. doi: 10.1080/09168451.2015.1127132

Kapuścińska, A. and Nowak, I. (2015) 'The use of phytoestrogens in anti-ageing cosmetics', *Chemik*, 69(3), pp. 154–159.

Khajuria, D., Razdan, R. and Mahapatra, D. (2011) 'Medicamentos para o tratamento da osteoporose: revisão', *Revista Brasileira de Reumatologia*, 51(4), pp. 365–82. doi: 10.1590/S0482-50042011000400008.

Khaleel, A., Gad, M., El-Maraghy, S., Hifnawy, M., Abdel-Sattar, E. (2005) 'Study of hypocholesterolemic and antiatherosclerotic properties of *Medicago sativa* L. cultivated in Egypt', *Journal of Food and Drug Analysis*, 13(3), pp. 212–218.

Khalil, R. A. (2013) 'Estrogen, vascular estrogen receptor and hormone therapy in postmenopausal vascular disease', *Biochemical Pharmacology*. 86(12), pp. 1627–1642. doi: 10.1016/j.bcp.2013.09.024.

Kopečná-Zapletalová, M., Krasulová, K., Anzenbacher, P., Hodek, P., Anzenbacherová, E. (2017) 'Interaction of isoflavonoids with human liver microsomal cytochromes P450: inhibition of CYP enzyme activities', *Xenobiotica*, 47(4), pp. 324–331. doi: 10.1080/00498254.2016.1195028.

Kumar, A. M., Sravanthi Pammi, S., Sukanya, M. S., Giri, A. (2018) 'Enhanced production of pharmaceutically important isoflavones from hairy root rhizoclones of *Trifolium pratense* L.', *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 54(1), pp. 94–103. doi: 10.1007/s11627-017-9873-y.)

Lima, S., Campaner, A., Auge, A. (2017) 'Isoflavones derived from *Glycine max* (L.) Merr. in the treatment of vaginal atrophy: A new frontier', *Revista da Associação Médica Brasileira*. doi <http://dx.doi.org/10.1590/1806-9282.63.09.727>

Lipovac, M., Chedraui, P., Gruenhut, C., Gocan, A., Kurz, C., Neuber, B., Imhof, M. (2012) 'The effect of red clover isoflavone supplementation over vasomotor and

menopausal symptoms in postmenopausal women’, *Gynecological Endocrinology*, 28(3), pp. 203–207. doi: 10.3109/09513590.2011.593671.

Ma, H. R., Wang, J., Qi, H., Gao, Y., Pang, L., Yang, Y., et al. (2013) ‘Assessment of the estrogenic activities of chickpea (*Cicer arietinum* L) sprout isoflavone extract in ovariectomized rats’, *Acta Pharmacologica Sinica*. 34(3), pp. 380–386. doi: 10.1038/aps.2012.160.

Magnet, U., Urbanek, C., Gaisberger, D., Tomeva, E., Dum, E., Pointner, A., Haslberger, A. G. (2017) ‘Topical equol preparation improves structural and molecular skin parameters’, *International Journal of Cosmetic Science*, 39(5), pp. 535–542. doi: 10.1111/ics.12408.

Maji, A. K., Pandit, S., Banerji, P., Banerjee, D. (2014) ‘*Pueraria tuberosa*: A review on its phytochemical and therapeutic potential’, *Natural Product Research*, 28(23), pp. 2111–2127. doi: 10.1080/14786419.2014.928291.

Massod, D., Roach, E., Beauregard, K., Khalil, R., (2011) ‘Impact of sex hormone metabolism on the vascular effects of menopausal hormone therapy in cardiovascular disease’, *Current Drug Metabolism*, 11(8), pp. 693-714.

Matos, M. P., Castilho, M., Campos, M., Ramos, F., Silveira, I., (2005). “What are the benefits of a diet rich in phytoestrogens?.” *Revista da sociedade portuguesa de medicina interna*, Volume 12.

Memorial Sloan Kettering Cancer Center (2018) [Acedido em 14 de abril de 2018]. Disponível em: <https://www.mskcc.org/cancer-care/integrative-medicine/herbs/alfalfa>

Messina, M., (2010). “A brief historical overview of the past two decades of soy and isoflavone research”. *The Journal of Nutrition*, 140(7), pp. 1350S-4S. doi: 10.3945/jn.109.118315.isoflavone.

Messina, M. (2016) ‘Soy and health update: evaluation of the clinical and epidemiologic literature’, *Nutrients*, 8(12). doi: 10.3390/nu8120754.

Michel, T., Halabalaki, M., Skaltsounis, A. L. (2013) ‘New concepts, experimental approaches, and dereplication strategies for the discovery of novel phytoestrogens from natural sources’, *Planta Medica*, pp. 514–532. doi: 10.1055/s-0032-1328300.

Michigan Medicine – University of Michigan – Alfafa (2015) [Acedido a 28 de abril de 2018] Disponível em: <https://www.uofmhealth.org/health-library/hn-2035004>

Mishra, P., Kar, A., Kale, R. K. (2009<) ‘Prevention of chemically induced mammary tumorigenesis by daidzein in pre-pubertal rats: The role of peroxidative damage and antioxidative enzymes’, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 325(1–2), pp. 149–157. doi: 10.1007/s11010-009-0029-1.

Motoi, T., Takashi, I., Kazuhiro, H., Kikuji, I. (2009) ‘High fiber diet supplemented with rice bran hemicellulose may reduce daidzein absorption in mice’. *Food Science and Technology Research*, 15(2). 99. 141-146.

Munro I.C., Harwood M., Hlywka J.J., Stephen A.M., Doull J., Flamm W.G., Adlercreutz H. (2003) ‘Soy isoflavones: a safety review.’ *Nutrition Reviews*, 61(1). 1-33.

Nagata, C. (2010) ‘Factors to Consider in the Association Between Soy Isoflavone Intake and Breast Cancer Risk’, *Journal of Epidemiology*, 20(2), pp. 83–89. doi: 10.2188/jea.JE20090181.

National Center for Complementary and Integrative Health (NCCIH) – Red Clover. (2017) [Acedido em 26 maio 2018]. Disponível em : <https://nccih.nih.gov/health/redclover/ataglance.htm>

Nohynek G.J., Borgert, C., Dietrich, D., Rozman, K. 2013. Endocrine disruption: fact or urban legend? *Toxicology Letters*, 223(endocrine disruption), pp. 295-305. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.10.022

Ososki AL, Kennelly EJ. (2003) Phytoestrogens: a review of the present state of research. *Phytotherapy Research*; 17(8), 845 - 869. doi: 10.1002/ptr.1364

Padilha, M., Henriques, M., Guardado, M., Miranda, C., Melo, G., Alves, P., (2012) Radioterapia e Hormonoterapia a Título Neoadjuvante no Carcinoma Localmente Avançado da Mama: Estado da Arte. *Acta Médica Portuguesa*, pp. 422-426. 43.

Piersen, C. E. (2003) ‘Phytoestrogens in Botanical Dietary Supplements: Implications for Cancer’, *Integrative Cancer Therapies*, 2(2), pp. 120–138. doi: 10.1177/1534735403002002004.

Pizzorno, J. E. & Murray, M. T., 2013. Soy and other constituents. *Textbook of Natural Medicine*. 4^a ed. 3251 Riverport Lane: Churchill Livingstone.

Preedy, V. P., 2012. Phytoestrogens in Health: The Role of Isoflavones. V. P. Preedy, ed. *Isoflavones: Chemistry, Analysis, Function and Effects*. 5^a ed. s.l.:Royal Society of Chemistry.

PubChem NCBI - Open Chemistry Database. *Isoflavone*. (2017) [Acedido em 1 fevereiro 2018]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound>

Paulino, C. - Ultrapassar a menopausa: isoflavonas de soja (29 de junho 2016), *Revista Saúda*, [Acedido a 28 de agosto de 2018]. Disponível em: <https://www.revistasauda.pt/noticias/Pages/Isoflavonas-de-soja-Ultrapassar-a-menopausa.aspx>

Rietjens, I. M. C. M., Louisse, J. and Beekmann, K. (2017) ‘The potential health effects of dietary phytoestrogens’, *British Journal of Pharmacology*, 174(11), pp. 1263–1280. doi: 10.1111/bph.13622.

Rizzo, G. & Baroni, L. (2018) ‘Soy, Soy Foods and Their Role in Vegetarian Diets’, *Nutrients*. doi: 10.3390/nu10010043.

Rodrigues, F. (2017) ‘Medicago : A Promising Source of Bioactive Compounds’, *EC Nutrition Editor’s Column - 2017*, pp. 35–37.

Sacks, F., Lichtenstein, A., Horn, L., Harris, W., Kris-Etherton, P., Winston, M., (2006) ‘Soy protein, isoflavones, and cardiovascular health: A summary of a statement for professionals from the American Heart Association Nutrition Committee’, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 26(8), pp. 1689–1692. doi: 10.1161/01.ATV.0000227471.00284.ef.

Saghafi, N., Ghazanfarpour, M., Sadeghi, R., Najarkolaei, A.H., Omid, M.G., Azad, A., Bakhtiyari, M., Najarkolaei, E.H. (2017) ‘Effects of phytoestrogens in alleviating the menopausal symptoms: A systematic review and meta-analysis’, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 16(October 2015), 18(2), 260 – 269. doi: 10.3109/13697137.2014.966241

Samac, D. & Austin-Phillips, S. (2006) ‘Alfalfa (*Medicago sativa* L.)’, *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 343(9), pp. 301–11. doi: 10.1385/1-59745-130-4:301.

Seeley, R. R., Stephens, T. D. & Tate, P., 2011. *Anatomia & Fisiologia*. 8^a ed. s.l.:McGraw-Hill Higher Education.

Setchell, K. D. R. (2017) ‘The history and basic science development of soy isoflavones’, *The Journal of The North American Menopause Society*, 24(12), pp. 1338–1350. doi: 10.1097/GME.0000000000001018.

Sociedade Portuguesa de Ginecologia, 2016. Consenso Nacional sobre Menopausa. (2016) [Acedido em 15 fevereiro 2018]. Disponível em: <http://www.spGINECOLOGIA.pt/consensos/consenso-nacional-sobre-menopausa-2016.html>

Soto-Zarazúa, M., Costa, A., Rodrigues, F., Pimentel, F., Rojas-Molina, I., Rojas, A., Oliveira, M. (2017) 'Nutraceutical Potential of New Alfalfa (*Medicago sativa*) Ingredients for Beverage Preparations.', *Journal of Medicinal Food*, 20(10), pp. 1039–1046. doi: 10.1089/jmf.2017.0046.

Society of Endocrinology - Oestradiol - You and your Hormones. (2011) [Acedido a 30 janeiro 2018]. Disponível em: <http://www.yourhormones.info/hormones/oestradiol/>

Soto-Zarazúa, Rodrigues, F., Pimentel, F., M. G., Bah, M., Oliveira, M., (2016) 'The isoflavone content of two new alfalfa-derived products for instant beverage preparation', *Food and Function. Royal Society of Chemistry*, 7(1), pp. 364–371. doi: 10.1039/c5fo01115a.

Stockton, (2012). *Natural Medicines Comprehensive Database*, 13th ed. Therapeutic Research Faculty.

Takashima, M., Nara, K., Niki, E., Hagihara, Y., Yoshida, Y., Stowe, M., Horie, M. (2013) 'Evaluation of biological activities of a groundnut (*Apios americana* Medik) extract containing a novel isoflavone', *Food Chemistry*, 138(1), pp. 298–305. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.10.100.

Taku, K., Melby, M., Kronenberg, F., Kurzer, M., Messina, M. (2012) 'Extracted or synthesized soybean isoflavones reduce menopausal hot flash frequency and severity: Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials', *Menopause*, 19(7), pp. 776–790. doi: 10.1097/gme.0b013e3182410159.

Tang, D., Dong, Y., Ren, H., Li, L., He, C. (2014) 'A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common food mung bean and its sprouts (*Vigna radiata*)', *Chemistry Central Journal*, 8(1), pp. 1–9. doi: 10.1186/1752-153X-8-4.

U.S. Food & Drug Administration. - FDA updates draft guidance on premarket safety notifications for dietary supplement industry. (2016) [Acedido em 14 de abril de 2018]. Disponível em: <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm516197.htm>

U.S. Food & Drug Administration – FDA Poisonous Plant Database. (2018) [Acedido em 26 maio 2018]. Disponível em : <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/plantox/detail.cfm?id=20236>

USDA Natural Resources Conservation Service (2018) [Acedido em 14 de abril de 2018]. Disponível em: <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=APAM>

Van Ee, J. H. (2009) 'Soy constituents: Modes of action in low-density lipoprotein management', *Nutrition Reviews*, 67(4), pp. 222–234. doi: 10.1111/j.1753-4887.2009.00192.x.

Verma S.K., Jain V., Singh D.P. (2012). "Effect of Pueraria tuberosa DC (Indian kudzu) on blood pressure, fibrinolysis and oxidative stress in patients with stage 1 hypertension." *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 15(15), pp. 742–747.

Vlaisavljević, S., Kaurinović, B., Popović, M., Vasiljević, S. (2017) 'Profile of phenolic compounds in *Trifolium pratense* L. extracts at different growth stages and their biological activities', *International Journal of Food Properties*, 20(12), pp.3090 - 3101 doi: 10.1080/10942912.2016.1273235.

Wang, X. (2011) 'Structure, function, and engineering of enzymes in isoflavonoid biosynthesis', *Functional and Integrative Genomics*. 11(1), pp. 13–22. doi: 10.1007/s10142-010-0197-9

Williams, C., Edvardsson, K., Lewandowski, S. A., Ström, A., Gustafsson, J. Å. (2008) 'A genome-wide study of the repressive effects of estrogen receptor beta on estrogen receptor alpha signaling in breast cancer cells', *Oncogene*, 27(7), pp. 1019–1032. doi: 10.1038/sj.onc.1210712.

Wong, K. H., Li, G., Li, K., Razmovski-Naumovski, V., Chan, K. (2011) 'Kudzu root: Traditional uses and potential medicinal benefits in diabetes and cardiovascular diseases', *Journal of Ethnopharmacology*. doi: 10.1016/j.jep.2011.02.001.

World Health Organization – Cancer: Breast cancer: prevention and control. (2018) [Acedido a 5 de fevereiro de 2018]. Disponível em: <http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/>

Yamamoto, S., Sobue, T., Sasaki, S., Tsugane, S. (2003) 'Soy, Isoflavones, and Breast Cancer Risk in Japan', *Journal of the National Cancer Institute*, 95(12), pp. 906–913. doi: 10.1093/jnci/95.12.906.

Yu, D., Shu, X., Li, H., Yang, G., Cai, Q., Xiang, Y., Ji, B., Franke, A., Gao, Y., et al. (2015) 'Dietary isoflavones, urinary isoflavonoids, and risk of ischemic stroke in Women', *American Journal of Clinical Nutrition*, 102(3), pp. 680–686. doi: 10.3945/ajcn.115.111591.

Zhang, Z., Lam, T. N., Zuo, Z. (2013) 'Radix puerariae: An overview of its chemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use', *Journal of Clinical Pharmacology*, 53(8), pp. 787–811. doi: 10.1002/jcph.96.

Zhao S, Zhang L, Gao P., Shao Z. (2009) 'Isolation and characterisation of the isoflavones from sprouted chickpea seeds.' *Food Chemistry*, 114: 869-873. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.10.026

Zhou, Y., Zhang, H., Peng, C. (2014) 'Puerarin : A Review of Pharmacological Effects', *Phytotherapy Research*, pp. 961–975. doi: 10.1002/ptr.5083