

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID
FACULTAD DE MEDICINA



GRADO EN NUTRICIÓN HUMANA Y DIETÉTICA
CURSO ACADÉMICO 2015-2016

TRABAJO FIN DE GRADO

**“ISOFLAVONAS DE LA SOJA
Y HUESO: REVISIÓN
SISTEMÁTICA”**

AUTORA: MIRIAM RODRIGUEZ MUÑUMER

TUTOR: JOSE LUIS PEREZ CASTRILLÓN

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La soja es una excelente fuente de proteína de alto valor biológico y destaca especialmente por su alto contenido en isoflavonas, que son sustancias nutritivas. Entre las propiedades de las isoflavonas, destaca su efecto en el metabolismo óseo, siendo relacionado con el mantenimiento de la densidad mineral ósea en mujeres menopáusicas y posmenopáusicas.

Por lo tanto, la similitud estructural y funcional de las isoflavonas de la soja con los estrógenos, revelan que estas pueden ser una alternativa a la terapia de reemplazo hormonal empleada en la prevención de la pérdida ósea postmenopáusica; ya que a pesar de ser muy eficaz, produce graves efectos secundarios.

OBJETIVO: El objetivo principal de este estudio es realizar una revisión sistemática para valorar el efecto de las isoflavonas de la soja sobre el hueso en población caucásica.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se llevó a cabo una búsqueda en las bases de datos pubmed y medes. Posteriormente, se seleccionaron aquellos artículos que cumplieren los criterios de inclusión (sexo femenino, población caucásica, ser un ensayo clínico, valorar los efectos en el hueso, realizarse en humanos, valorar parámetros medibles en el hueso como la densidad mineral ósea o marcadores del remodelado óseo) y que estudiaran el tema a tratar. Tras la revisión, finalmente se incluyeron 20 artículos.

RESULTADOS: Comparando diferentes intervenciones, los resultados son muy heterogéneos. La mayoría de estudios se han realizado en mujeres postmenopáusicas y parecen evidenciar un discreto efecto positivo de las isoflavonas sobre el hueso. Este efecto va depender del tipo de isoflavona, siendo la genisteína la más destacada, de la dosis administrada, se observan efectos positivos a partir de 80-90 mg/día, y del tiempo que dure la intervención, ya que un ciclo de recambio óseo dura aproximadamente 3 meses y por lo tanto las intervenciones deben realizarse a largo plazo.

CONCLUSIÓN: Se puede decir que a dosis altas durante un periodo determinado de tiempo las isoflavonas pueden tener efectos positivos en el hueso, a pesar de que aún no se ha llegado a una evidencia científica irrefutable sobre los efectos de las isoflavonas de la soja en el hueso.

PALABRAS CLAVE: Isoflavonas, osteoporosis, hueso, soja, postmenopausia.

ÍNDICE

1. JUSTIFICACION	5
2. INTRODUCCION.....	5
2.1. Isoflavonas.....	5
2.1.1. Composición	6
2.1.2. Bioquímica de las isoflavonas de la soja.....	6
2.2. Isoflavonas, menopausia y osteoporosis	8
2.2.1. Menopausia.....	8
2.2.2. Síntomas de la menopausia	9
2.2.3. Osteoporosis	9
3. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LAS ISOFLAVONAS EN EL HUESO	12
3.1. Efectos genómicos	12
3.2. Efectos no genómicos	14
4. OBJETIVOS.....	15
4.1. Objetivo principal	15
4.2. Objetivos secundarios	15
5. METODOLOGÍA.....	16
5.1. Búsqueda bibliográfica	16
5.2. Selección de artículos	17
5.3. Variables recogidas	17
6. RESULTADOS	18
6.1. Estudios seleccionados.....	18
6.2. Resultados de los estudios	19
7. DISCUSIÓN.....	22
8. CONCLUSIONES.....	25
9. BIBLIOGRAFÍA.....	26

ABREVIATURAS

ADME	absorción, metabolismo, distribución y excreción
ADN	ácido desoxirribonucleico
DE	desviación Estándar
DMO	densidad mineral ósea
E2	estradiol ó 17b-estradiol
ECA	ensayo clínico aleatorizado
IL-6	interleucina-6
MAPK	proteína quinasa activada por mitógenos
MOM	masa ósea máxima
NCBI	centro nacional de información biotecnológica
NF-κB	factor nuclear kappa B
NIH	instituto nacional de salud
NLM	biblioteca nacional de medicina
OMS	organización mundial de la salud
OPG	osteoprotogerina
RANKL	ligando del receptor activador para el factor nuclear kappa B
RE-β	receptor estrogénico beta
RE-α	receptor estrogénico alfa
SERM	moduladores selectivos de los receptores de estrógeno
TRH	terapia de reemplazo hormonal

1. JUSTIFICACIÓN

La soja es un producto alimenticio de moda en los últimos años ya que es una excelente fuente de proteínas de alto valor biológico y tiene un destacable alto contenido de isoflavonas. Son estas últimas las que le proporcionan las propiedades beneficiosas que se le atribuyen sobre distintas enfermedades crónicas.

Dentro de estas propiedades de la soja, destacan los potenciales beneficios sobre la pérdida de masa ósea que ocurre como consecuencia de la disminución de los niveles de estrógenos durante la menopausia y que condiciona la aparición de osteoporosis.

Teniendo en cuenta el incremento de la expectativa de vida en nuestro medio y la prevalencia creciente de osteoporosis, se eligió esta línea de estudio para tener un conocimiento más profundo y concreto del posible beneficio de las isoflavonas sobre el hueso y su efecto en la osteoporosis para la prevención y tratamiento de esta, sobre todo en mujeres postmenopáusicas.

2. INTRODUCCIÓN

La soja es una excelente fuente de proteína de alto valor biológico, con bajos niveles de grasa saturada, un alto contenido de fibra dietética y es única entre las leguminosas por su alto contenido en isoflavonas. Todas estas características son factores clave en los beneficios que la soja tiene sobre el esqueleto¹.

Los fitoestrógenos “estrógeno vegetal” son compuestos orgánicos producidos por plantas, que se clasifican en dos grupos:

- Lignanos: sintetizados endógenamente en el intestino por acción de la microflora sobre precursores de origen vegetal.
- Isoflavonoides: Sintetizados exclusivamente por las plantas y poseen una actividad estrogénica intrínseca.

Dentro del grupo de isoflavonoides se encuentran las isoflavonas que junto con sus derivados glucósidos son los más abundantes en la naturaleza y se encuentran especialmente en las semillas de soja².

2.1. Isoflavonas

Las isoflavonas son sustancias no nutritivas que tienen un efecto beneficioso sobre la salud, asociándose con la prevención y tratamiento de diferentes enfermedades crónicas (cáncer, enfermedades del corazón, diabetes, osteoporosis, hipertensión y capacidad de aliviar los síntomas de la menopausia)^{3,4}.

Entre las propiedades de las isoflavonas se destaca su efecto en el metabolismo óseo, siendo relacionado con el mantenimiento de la densidad mineral ósea (DMO) en mujeres menopáusicas y posmenopáusicas.

2.1.1. Composición

Las isoflavonas son una subclase de flavonoides y su estructura básica es un núcleo de flavona, compuesto por dos anillos de benceno (A y B) unidos por un pirano heterocíclico⁵ (Figura 1). La genisteína y daidzeína son las principales isoflavonas agliconas presentes en la soja, junto con una pequeña cantidad de gliciteína. Ambas se encuentran de forma natural como 7-b-glucósidos, y reciben el nombre de genistina, daidzina y glicitina, respectivamente⁶.

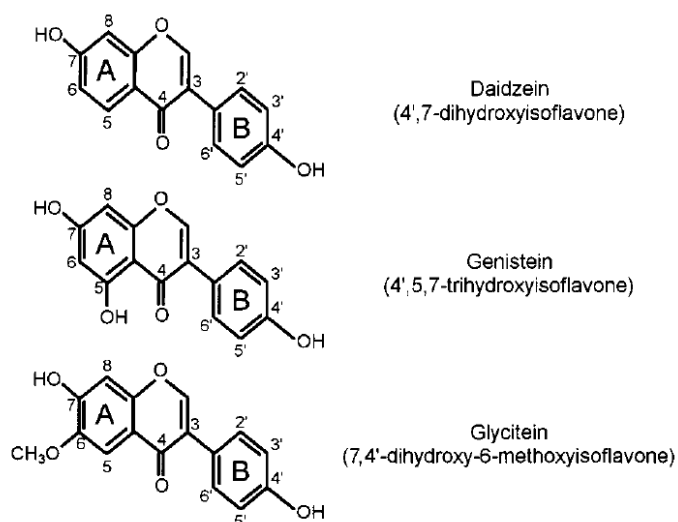


Figura 1. Estructura de las principales isoflavonas de la soja⁶.

2.1.2. Bioquímica de las isoflavonas de la soja

A modo de resumen en cuanto al metabolismo de las isoflavonas, tras ser ingeridas, una vez en el intestino delgado requieren el efecto emulsionado de las sales biliares para ser absorbidos e incorporados a la circulación enterohepática y excretado nuevamente con la bilis en forma conjugada; allí son sometidos a la acción de la flora intestinal, reabsorbidos, metabolizados por el hígado y excretados finalmente por la orina².

I. Biodisponibilidad de las isoflavonas⁷

En cuanto a la biodisponibilidad de las isoflavonas, en lo que se refiere al término no nutritivo, se define como “la eficacia de un producto químico en provocar un respuesta en un tejido diana”.

Para una adecuada evaluación de la biodisponibilidad, es necesario un marcador funcional sensible, en el caso de las isoflavonas, este marcador no está disponible y por lo tanto deben basarse en los datos de absorción, metabolismo, distribución y excreción (ADME) de estudios en humanos y animales. Incluso cuando se toma esta interpretación más limitada del término “biodisponibilidad”, está claro que la ADME de las isoflavonas no está completamente definida en humanos. La mayor parte de la farmacocinética disponible en los fitoestrógenos se refiere a los niveles alcanzados en el plasma y en la orina de las isoflavonas y sus metabolitos específicos, por ejemplo daidzeína y genisteína.

II. Metabolismo de las isoflavonas^{5,7,8}

En los humanos, las agliconas de isoflavonas se absorben fácilmente en la parte superior del intestino delgado por difusión pasiva, alcanzando los niveles plasmáticos máximos después de una hora de ser ingerido. Por el contrario, las isoflavonas β -glucósidos no son absorbidas pasivamente a través del tracto gastrointestinal en esta forma y por lo tanto su biodisponibilidad requiere que sean hidrolizadas hasta sus agliconas (daidzeína y genisteína). Esta hidrólisis es catalizada por las enzimas β -glucósidasas de la mucosa intestinal o por β -glucósidasas producidas por la flora intestinal bacteriana.

Las isoflavonas β -glucósidos no hidrolizadas pasan al intestino grueso, donde las poblaciones de microorganismos son más altas; en este entorno más anaeróbico además de la hidrólisis, también se producen modificaciones reductivas en el anillo heterocíclico de la isoflavona daidzeína, produciéndose dihidrodaidzeína, O-desmetil-angolensina y equol (*Figura 3*).

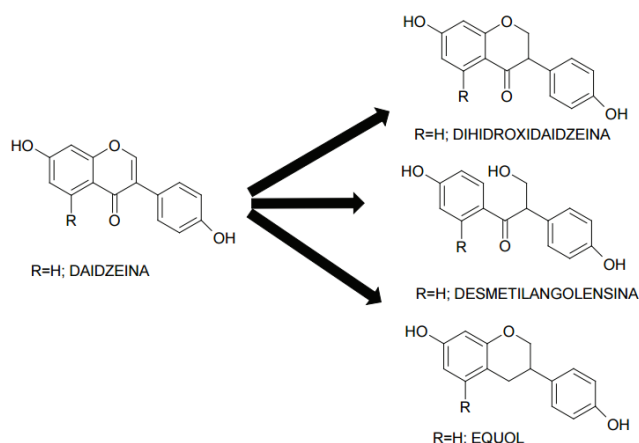


Figura 3. Productos del metabolismo de la daidzeína⁵

Se ha establecido que aproximadamente 30% de la población posee una flora intestinal que es capaz de reducir la daidzeína a equol. Dicha molécula permite la formación de dos isómeros, de los cuales el S-(-) equol tiene una afinidad por el receptor de estrógenos beta (RE- β) mucho mayor que el isómero R-(-) equol.

Las isoflavonas agliconas se distribuyen más fácilmente a los tejidos periféricos en comparación con los β -glucósidos. Una vez absorbidas, las isoflavonas son reconjugadas predominantemente a ácido glucurónico y, en menor grado en ácido sulfúrico y entran a la circulación sistémica a través de la circulación entero hepática (*Figura 4*). Sólo una pequeña parte de la aglicona libre es detectado en la sangre, lo que demuestra que la tasa de conjugación es alta.

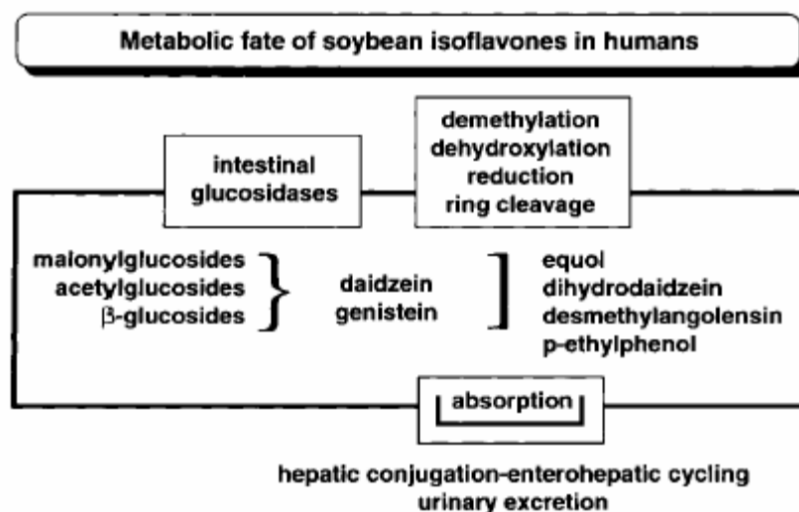


Figura 4. Esquema que muestra las principales biotransformaciones en el metabolismo de las isoflavonas en humanos y animales⁸

2.2. Isoflavonas, menopausia y osteoporosis

2.2.1. Menopausia⁹

La Organización Mundial de la Salud (OMS) determina las siguientes categorías para describir la transición de la menopausia:

- Pre-menopausia: Tiempo que precede a los cambios observables debido a una alteración en la función ovárica.
- Perimenopausia: Tiempo que transcurre desde la primera indicación de irregularidad menstrual hasta su fin, con un rango de 3 a 9 años.
- Postmenopausia: Tiempo posterior al último periodo menstrual.

Las hormonas más afectadas en esta etapa de la vida son las producidas por los ovarios (estrógenos, progesterona y andrógenos), siendo los estrógenos las hormonas sexuales más importantes.

2.2.2. Síntomas de la menopausia⁹

La sintomatología de la menopausia aparece cuando los ovarios de la mujer disminuyen la producción de las hormonas femeninas, en concreto la reducción de estrógenos será la que lo produzca. Los síntomas y efectos se dividen según el momento de aparición.

- Síntomas a corto plazo: Sofocos, sudoración, irritabilidad y fatiga.
- Síntomas a medio plazo: Alteraciones de la piel, vaginales y urológicas, cambios psíquicos y disminución de la resistencia y la calcificación de los huesos de todo el cuerpo.
- Efectos a largo plazo: **Osteoporosis** y enfermedades cardiovasculares.

2.2.3. Osteoporosis

La osteoporosis es la enfermedad metabólica ósea más prevalente ya que afecta alrededor del 30% de la mujeres mayores de 60 años. Clasificada por la OMS como el quinto problema de salud a nivel global¹⁰.

Las mujeres son las más susceptibles a sufrir osteoporosis (1 de cada 3), especialmente después de la menopausia debido a la caída y déficit de estrógenos, que disminuyen la actividad de las células que destruyen el tejido óseo (osteoclastos). Por lo tanto al haber un déficit de estrógenos, existe un mayor riesgo de padecer osteoporosis.

I. Definición de osteoporosis

No existe una definición totalmente satisfactoria de osteoporosis. En 1988, el Instituto Nacional de Salud Americano (NIH) publicó su primera definición, en la que se refería a la osteoporosis como “una condición en la que la masa ósea disminuye incrementando la susceptibilidad de los huesos a sufrir fracturas”. En la actualidad, la definición aceptada de osteoporosis es la publicada por el NIH en el 2001, definida como “una enfermedad esquelética sistemática caracterizada por masa ósea baja y deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, con el consecuente incremento de la fragilidad ósea y una mayor susceptibilidad a las fracturas”¹¹. Las manifestaciones clínicas de la osteoporosis son las fracturas y sus complicaciones¹².

La OMS estableció, en 1994, una definición clínica mediante densitometría ósea, prueba que mide la densidad mineral ósea (DMO), en columna lumbar, cadera o antebrazo a mujeres postmenopáusicas de origen caucásico y por lo tanto establecer unos criterios para el diagnóstico de la osteoporosis¹³ (Tabla 1).

Los valores de DMO se expresan en unidades de desviación estándar (DE) llamadas "T Score". De acuerdo con la definición de la OMS, la osteoporosis está presente cuando los valores de DMO en índice T son inferiores a -2,5 DE.

Categoría diagnóstica	Valor de DMO
Normal	T-score >-1 DE
Osteopenia	T-score entre 1 y -2,5 DE
Osteoporosis	T-score <-2,5 DE
Osteoporosis Establecida ("grave")	T-score <-2,5 DE y con fracturas de fragilidad

Tabla 1. Criterios diagnósticos de la osteoporosis según la OMS.

Adaptado de SEIOMM¹³

Es importante diferenciar entre la T-score y la Z-score¹⁴:

- *Puntuación T*: se define como el número de desviaciones estándar por encima o por debajo del valor promedio de la DMO para la población joven de mujeres caucásicas y sanas.
- *Puntuación Z*: se define como el número de desviaciones estándar por encima o por debajo de la media de la DMO para los sujetos de la misma edad y sexo.

II. Tipo de osteoporosis y factores de riesgo⁹

Desde el punto de vista fisiopatológico se definen dos tipos de osteoporosis:

- Osteoporosis posmenopáusica o tipo I: caracterizada por la pérdida ósea, sobre todo trabecular. Se da en mujeres durante los 15-20 años posteriores a la menopausia.
- Osteoporosis senil o tipo II: afecta a los dos sexos en una edad más avanzada (>70 años) debido a un déficit de la función de los osteoblastos (remodelado óseo bajo).

La osteoporosis puede manifestarse como consecuencia de diversos factores de riesgo, los más importante son la edad, factores genéticos (sexo, raza, carácter familiar, enfermedades hereditaria, constitución), factores hormonales, factores higiénico-dietéticos y estilo de vida (estado nutritivo, aporte de calcio y vitamina D, ejercicio físico, tabaco y alcohol), enfermedades no endocrinológicas (malabsorción, hepatopatías, etc.) y fármacos. Por ejemplo en cuanto al sexo femenino es un factor de riesgo, al igual que las diferencias raciales; ser de raza caucásica predispone a padecer osteoporosis ya que es infrecuente la osteoporosis postmenopáusica en mujeres de raza negra.

III. Fisiología de la osteoporosis^{5,15}

Para conocer bien este proceso fisiológico de pérdida de masa ósea, debemos conocer bien el proceso de formación y maduración del hueso. El volumen del hueso se mantiene gracias al “remodelado óseo”. El remodelado óseo, está formado por dos procesos, uno la *resorción* ósea (realizado por osteoclastos) y el otro la *formación de hueso* (realizada por osteoblastos) y el desequilibrio en alguno de estos conduce a enfermedades metabólicas en los huesos como, la caída de estrógenos en la postmenopausia y la osteoporosis (*Figura 5*).

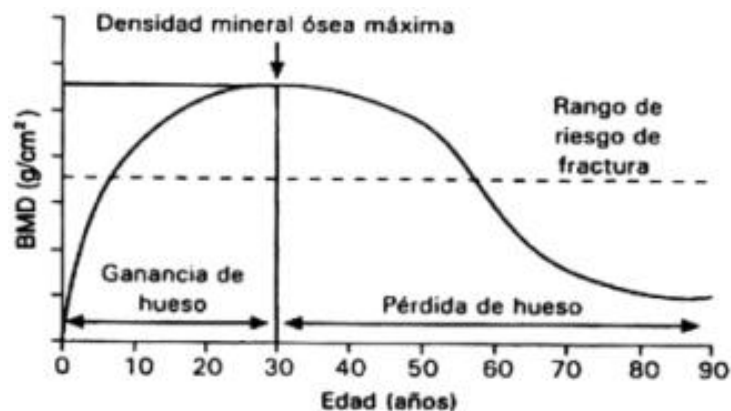


Figura 5. Gráfico de la evolución de la Masa Ósea: Ganancia inicial y pérdida tardía de hueso en la mujer¹⁵.

La densidad mineral ósea, o cantidad de hueso por unidad de volumen, aumenta progresivamente durante el crecimiento y la juventud, donde predomina la formación ósea.

La masa ósea máxima (MOM) también conocida como “pico óseo máximo”, se alcanza en torno a los 30 años de edad. A partir de entonces, comienza la pérdida de masa ósea que es rápida en la etapa temprana de la menopausia (durante unos diez años), continuando después más lentamente hasta el final de la vida.

3. MECANISMOS DE ACCION DE LAS ISOFLAVONAS EN EL HUESO

3.1. Efectos genómicos

La remodelación ósea esta mediada por los osteoclastos y osteoblasto que dependen de muchas hormonas, citoquinas y factores de crecimiento. El mecanismo de acción principal de los estrógenos es alterar la función de ambos suprimiendo la duración de la vida y la función de los osteoclastos mediante la inducción de apoptosis. Por lo que cuando se produce el déficit de estrógenos en la menopausia, la actividad de los osteoclastos supera a la de los osteoblastos, y conduce a la ya nombrada osteoporosis postmenopáusica.

Las isoflavonas son un tipo de fitoestrógenos debido a que su estructura química es muy similar a la del estradiol (E2), estrógeno endógeno humano (*Figura 6*). El mecanismo de acción exacto por el cual las isoflavonas alteran la remodelación ósea no se conoce bien. Estudios in vitro sugieren que se debe en parte a su actividad estrogénica, ya que actúan como moduladores selectivos de los receptores de estrógeno (SERM) pudiendo actuar sobre estos como agonistas, agonistas parciales o antagonistas¹⁶. Existen dos tipos de receptores estrogénicos:

- Receptores α (RE- α): Presentes en las mamas, útero, ovarios, testículos e hígado. Los fitoestrógenos que se unen a estos receptores evitan que los estrógenos se unan a ellos. Funcionan como bloqueadores de estos receptores y por lo tanto ayudaran potencialmente a reducir el riesgo de cáncer.
- Receptores β (RE- β): Son los responsables de los posibles efectos beneficiosos y están presentes en células de la sangre, pulmones, próstata, vejiga, huesos y timo. Los fitoestrógenos se unen a ellos cuando la cantidad de estrógenos es baja (por ejemplo, en la menopausia) y actúan imitando la acción de estos.

Las isoflavonas se unen a ambos receptores estrogénicos pero presentan una mayor afinidad por los RE- β . Por lo tanto las isoflavonas activan los RE- β , refuerzan las características estrogénicas favorables y protegen los RE- α del estrógeno.

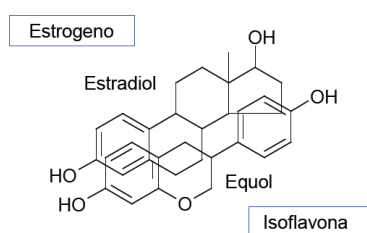


Figura 6. Comparación de la estructura química de un estrógeno con la de una isoflavona⁵.

A pesar de que los mecanismos de unión del E2 y las isoflavonas son similares, se ha observado que estas últimas presentan una menor afinidad por el receptor y tiene una actividad estrogénica más débil. Entre las isoflavonas más presentes en la soja, la genisteína, se une a ambos receptores pero se observa una mayor afinidad por el RE- β , mientras en la daidzeína al perder un grupo hidroxilo dicha afinidad se ve disminuida.

Los estudios sobre los mecanismos de acción de las isoflavonas muestran que actúan tanto en los osteoclastos como en los osteoblastos. Sugimoto y Yamaguchi¹⁷ investigaron los efectos de la daidzeína en las células osteoblásticas MC3T3-E1 y se observó que la daidzeína incrementaba la actividad de los osteoblastos, que se expresaba mediante un aumento significativo en la síntesis de ADN, el contenido de proteínas y en la actividad de la fosfatasa alcalina.

Para conocer los efectos de las isoflavonas durante la ausencia de estrógenos en la menopausia debemos saber cómo actúan los osteoclastos y osteoblastos en la remodelación ósea. Los osteoblastos expresan el ligando del receptor activador para el factor nuclear kappa B (RANKL) y secretan osteoprotegerina (OPG). El RANKL está implicado en la diferenciación de osteoclastos de una manera paracrina por unión a su receptor, en cambio el OPG neutraliza la acción del RANKL¹⁸. La interleucina-6 (IL-6) es una citocina proinflamatoria que se ha demostrado que aumenta que aumenta en osteoporosis ya que aumenta la resorción ósea y se cree que su expresión ocurre a través del factor de transcripción, factor nuclear kappa B (NF- κ B). Por lo tanto, las isoflavonas, en concreto la genisteína, aumenta la producción de OPG a partir de los osteoblastos inhibe la activación de NF- κ B e indirectamente inhibe la producción de IL6¹⁹. En definitiva, las isoflavonas a través de este mecanismo son capaces de modular el sistema RANK/RANKL/OPG vital para la homeostasis del hueso (*Figura 7*).

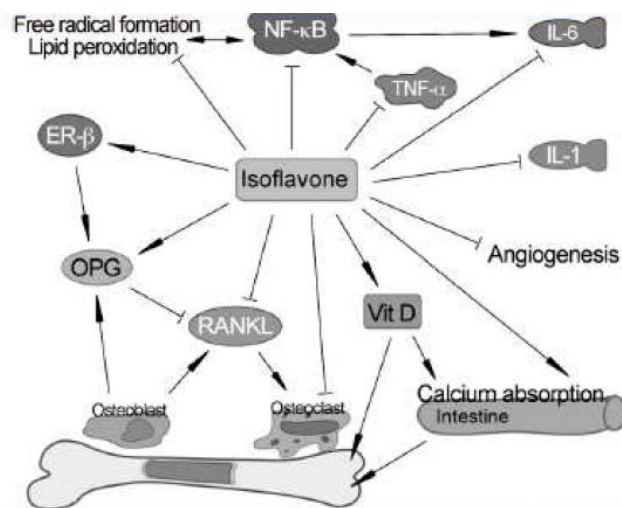


Figura 7. Mecanismos de acción de las isoflavonas¹⁶.

3.2. Efectos no genómicos

Además de actuar como SERM, las isoflavonas pueden ejercer efectos no genómicos más rápidos, mediante la modificación de las vías metabólicas intracelulares tales como la proteína-tirosina-quinasa, fosfolipasa C y la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK). Algunas de estas enzimas son necesarias para la activación de los osteoclastos, y su inhibición produce un aumento en la apoptosis de estas células²⁰. Sin embargo para ejercer este efecto es necesaria la presencia de un nivel mínimo de estrógenos circulantes.

Además de su actividad estrogénica, Blair et al. observó que la genisteína inhibe la resorción ósea mediante la inhibición de la tirosina quinasa, enzima implicada en la actividad de los osteoclastos. Otros estudios también apoyan dicho mecanismo pero mediante la disminución de la secreción de ácido clorhídrico, colaborador de la resorción ósea. La genisteína también ha demostrado que inhibe la ADN topoisomerasa II, la progresión del ciclo celular, la angiogénesis y reacciones de oxidación.

Otros posibles efectos beneficiosos de las isoflavonas son el incremento de la expresión del receptor de la vitamina D, lo que facilita la absorción intestinal de calcio y la mineralización, la reducción de la angiogénesis, un efecto antioxidante y la inhibición de la actividad del enzima aromatasa^{21, 22, 23}.

El posible beneficio de las isoflavonas en la prevención y tratamiento de la osteoporosis viene determinada por el aumento de actividad de los osteoblastos asociado a una reducción de la resorción ósea mediada por los osteoclastos, modificándose el desequilibrio entre la formación ósea y la resorción que es responsable de la osteoporosis postmenopáusica.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo principal.

El objetivo principal de este estudio es realizar una revisión sistemática para valorar el efecto de las isoflavonas de la soja sobre el hueso en población caucásica.

4.2. Objetivos secundarios.

- Identificar el efecto de la isoflavonas sobre la masa ósea
- Identificar el efecto de las isoflavonas sobre los marcadores del remodelado óseo.
- Identificar el efecto de las isoflavonas sobre las fracturas.

5. METODOLOGÍA

La mayoría de datos cinéticos conocidos hacen referencia al uso de las isoflavonas en mujeres postmenopáusicas debido a que en esta etapa se produce una caída de los estrógenos y las isoflavonas son fitoestrógenos con actividad estrogénica.

5.1. Búsqueda bibliográfica

Las distintas publicaciones se identificaron mediante una búsqueda en las principales bases de datos. En concreto fueron consultadas las siguientes:

En español:

- **Medes** (<https://medes.com/Public/Home.aspx>): es una base de datos bibliográfica en español de acceso gratuito a través de Internet con el propósito de poner a disposición del profesional sanitario, una herramienta de consulta bibliográfica cuyas principales ventajas son su continua actualización y evaluación de sus contenidos. Es el elemento nuclear de una iniciativa denominada MEDES, que tiene como objetivo contribuir a promover la publicación científica en revistas biomédicas en español, así como favorecer su difusión nacional e internacional.

En inglés:

- **PubMed** (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>): comprende más de 24 millones de citas de literatura biomédica de MEDLINE, revistas de ciencias biológicas, y libros online. Está centrado en los campos de la biomedicina y la salud, que abarca partes de las ciencias biológicas, del comportamiento, químicas y la bioingeniería. También proporciona acceso a los sitios web relevantes adicionales y enlaces a otros recursos de biología molecular NCBI. PubMed es un recurso gratuito que está desarrollado y mantenido por el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), en la Biblioteca Nacional de Medicina (NLM), que se encuentra en los Institutos Nacionales de Salud (NIH).

Esta última base fue consultada a través de la página web de la biblioteca de la Universidad de Valladolid (<http://almena.uva.es/>).

La combinación de palabras clave utilizada ha sido la siguiente:

- En la base de datos en español: “isoflavona” más “hueso” o “osteoporosis”.
- En las bases de datos en inglés: “soy isoflavone” o “phytoestrogen” o “flavonid” más “bone” o “osteoporosis” o “menopausal”.

Además de realizar la búsqueda de la forma anterior, se identificaron otros estudios adicionales mediante el examen de la bibliografía de las publicaciones encontradas. Adicionalmente, un documento con algunos artículos fue proporcionado por el tutor de este proyecto.

5.2. Selección de artículos

Se identificaron 70 artículos diferentes utilizando la combinación de las palabras anteriores e imponiendo el tipo de artículo “ensayo clínico” pero sin ningún límite de fecha de los artículos encontrados. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: estudios en animales, estudios que no fueron ensayos clínicos, estudios que valorasen otros parámetros no relacionados con el hueso, población no caucásica y varones.

En total se revisaron y se eligieron finalmente 20 artículos, cuya lectura motivo la búsqueda de otros artículos citados en la respectiva bibliografía y que se consideran relevantes.

5.3. Variables recogidas

Las variables de contenido recogidas son:

- Tamaño y características de la muestra: mujeres, estatus menopáusico, presencia o no de osteoporosis.
- Diseño y duración del estudio: doble ciego o no, aleatorizado o no, controlado o no con placebo, paralelo o cruzado.
- Tipos de intervención: Comprimidos o capsulas de isoflavonas, proteínas con isoflavonas incluidas en alimentos, suplementos dietéticos (barritas, galletas, snacks, etc.), producto lácteo enriquecido con isoflavonas
- Tipo/s de isoflavonas utilizados y dosis media administrada: genisteína, daidzeína, gliciteína, β -glucósidos.
- Fuente de las isoflavonas de la soja: proteína aislada de soja que contiene isoflavonas, leche de soja, isoflavonas puras, Isoflavonas de kudzu, de trébol rojo, cotiledón de soja o de germen de soja, etc.
- Tipo de parámetros estudiados para valorar los cambios (resultados): DMO, marcadores metabolismo óseo, niveles de isoflavonas en plasma y orina, recambio óseo según ^{41}Ca en orina, etc.
- Resultados observados: en referencia a cambios en los parámetros medidos.

6. RESULTADOS

6.1. Estudios seleccionados

Del total de artículos revisados, inicialmente se seleccionaron 70 estudios. Se rechazaron 50 trabajos (por los motivos y criterios de exclusión explicados anteriormente). Finalmente en esta revisión se han incluido 20 artículos, todos ellos ensayos clínicos (*Figura 8*).

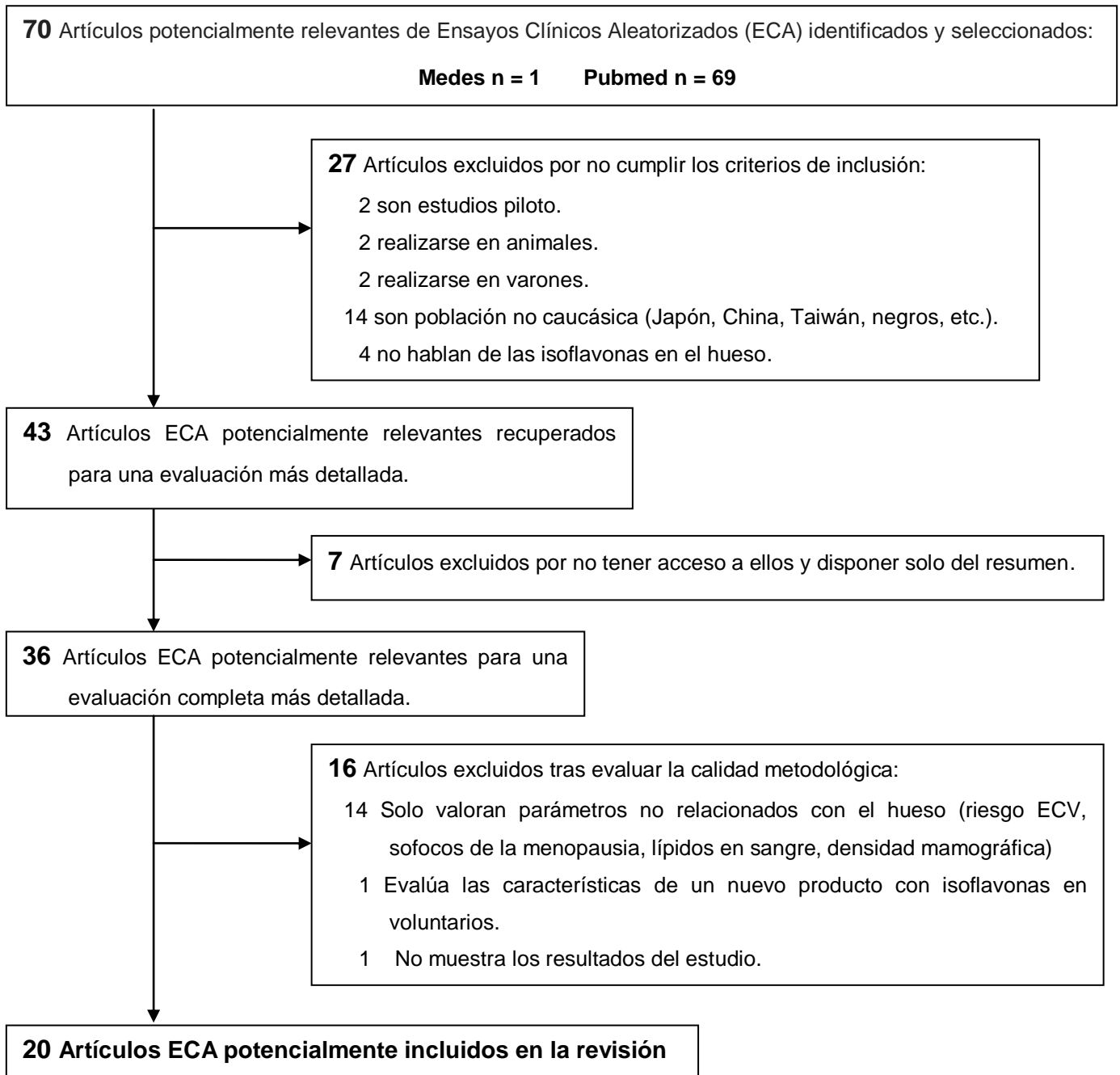


Figura 8. Diagrama de flujo del proceso de selección de los estudios.

En la *tabla 2* se resumen las principales características y los resultados principales de los estudios realizados en mujeres, principalmente postmenopáusicas, que se han revisado e incluido en el presente trabajo.

6.2. Resultados de los estudios

Del total de artículos revisados sólo 6 mostraron efectos positivos de la suplementación con soja y/o isoflavonas de soja sobre el hueso (marcadores óseos y densidad mineral ósea), y 4 evidenciaron un ligero efecto positivo solo en determinados parámetros. El resto de los estudios incluidos en esta revisión no evidenciaron ningún tipo de efecto (neutros), es decir no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en las variables analizadas.

Algunos de los resultados observados en determinados estudios, se quieren destacar ya que pueden ser importantes para la realización de futuros estudios en este campo.

Se observó que la combinación de isoflavonas de la soja y ejercicio no produce ningún efecto sinérgico o aditivo aparente en los marcadores de recambio óseo ni en la DMO²⁴. En cambio, la intervención combinada de progesterona y soja tiene una interacción negativa, la cual produce una pérdida ósea mayor que cualquiera de los tratamientos por si solos, aunque no tan pronunciado como en el grupo control²⁹.

Aquellos artículos que no han obtenido evidencias significativas por no observarse diferencias entre los grupos de tratamiento o dentro de ellos; sí evidenciaron, a pesar de ello, efectos ligeramente positivos en la DMO de determinadas zonas como cuello femoral²⁵ y en la cadera³⁶. Además, hay que destacar que el hecho de que las isoflavonas modulen positivamente los marcadores de formación no implica evitar la pérdida ósea, ya que los valores en la DMO no muestran cambios y por lo tanto esto puede estar influenciado por la dosis de isoflavonas administrada³⁴.

En resumen, no hay homogeneidad en los estudios encontrados; el número y las características de la muestra son diferentes en cada uno de los artículos, al igual que el periodo de intervención. Por lo tanto, la variabilidad en el diseño del estudio de cada artículo, dificulta la obtención de resultados concluyentes.

Tabla 2. Resumen de las características principales de los estudios incluidos.

Autor	N	Edad	Tipo estudio	Duración	Dosis administrada	Variables estudiadas	Resultados
Evans et al 2007 ²⁴	43	50-65	Doble ciego, aleatorizado controlado con placebo	9 meses	91,2 mg/día	DMO y marcadores de recambio óseo	Efecto neutro
Alekel et al 2010 ²⁵	216	45-65	Doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo	36 meses	80 mg/día 120 mg/día	DMO y marcadores de recambio óseo	Efecto neutro
Wong et al 2009 ²⁶	403	40-60	Doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo, multicéntrico	24 meses	80 mg/día 120 mg/día	DMO y marcadores de recambio óseo	Efecto neutro
Alekel et al 2000 ²⁷	69*	-	Doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo	6 meses	4,4 mg/día 80,4 mg/día	DMO y marcadores de recambio óseo	Efecto beneficioso
Chiechi et al 2002 ²⁸	187	39-60	Aleatorizado, controlado	6 meses	47 mg/día	DMO y marcadores de recambio óseo	Efecto beneficioso
Lydeking-Olsen et al 2004 ²⁹	89	<75	Doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo	24 meses	76 mg/día	DMO y marcadores de recambio óseo	Efecto beneficioso
Marini et al 2007 ³⁰	389	49-67	Doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo	24 meses	54 mg/día	DMO y marcadores de recambio óseo	Efecto beneficioso
Weaver et al 2009 ³¹	11	52-65	Ciego, cruzado, aleatorizado	50 días	(no hay datos)	Marcadores de recambio óseo	Efecto beneficioso
García-Martin et al 2012 ³²	99	45-65	Doble ciego, aleatorizado, controlado	12 meses	50 mg/día	Marcadores de recambio óseo	Efecto beneficioso
Kenny et al 2009 ³³	97	>60	Doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo	12 meses	35 mg/día	DMO y marcadores de recambio óseo	Efecto neutro

*Mujeres perimenopáusicas sanas

Autor	N	Edad	Tipo estudio	Duración	Dosis administrada	Variables estudiadas	Resultados
Arjmandi et al 2005 ³⁴	62	<65	Doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo	12 meses	60 mg/día	DMO y marcadores de recambio óseo	Efecto neutro
Dalais et al 2003 ³⁵	106	50-75	Doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo	3 meses	118 mg/día	Marcadores de recambio óseo	Efecto neutro
Kreijkamp-Kasper et al 2004 ³⁶	175	60-75	Doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo	12 meses	99 mg/día	DMO y marcadores de recambio óseo	Efecto neutro
Brooks et al 2004 ³⁷	46	53	Doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo	4 meses	41,9 mg/día	Marcadores de recambio óseo	Efecto neutro
Brink et al 2008 ³⁸	237	53±3	Doble ciego, aleatorizado controlado con placebo, multicéntrico	12 meses	110 mg/día	DMO y marcadores de recambio óseo	Efecto neutro
Shedd-Wise et al 2011 ³⁹	171	46-63	Doble ciego, aleatorizado controlado con placebo, multicéntrico	36 meses	80mg/día 120 mg/día	DMO y marcadores de recambio óseo	Efecto neutro
Chilibeck et al 2013 ⁴⁰	298	55-56	Doble ciego, aleatorizado controlado con placebo	24 meses	165 mg/día	DMO	Efecto neutro
Cheong et al 2007 ⁴¹	13	-	Doble ciego, cruzado, aleatorizado	-	97,5 mg/día 135,5 mg/día	Marcadores de recambio óseo	Efecto neutro
Levis et al 2011 ⁴²	248	45-60	Doble ciego, aleatorizado controlado con placebo	24 meses	20 mg/día	DMO y marcadores de recambio óseo	Efecto neutro
Wangen et al 2000 ⁴³	31**	26,5±5 57,1±6	Doble ciego, aleatorizado, cruzado	3 meses	8 mg/día 65 mg/día 130 mg/día	Marcadores de recambio óseo	Efecto neutro

** Mujeres pre y postmenopáusicas

7. DISCUSIÓN

La menopausia es un estado fisiológico caracterizado por la disminución de los niveles de estrógeno, que conduce a una pérdida de la masa ósea, dando lugar a la “osteoporosis postmenopáusica”. Uno de los tratamientos disponibles para la osteoporosis postmenopáusica es la terapia de reemplazo hormonal (TRH); pero las evidencias recientes demuestran que esta terapia se asocia con determinados efectos adversos (*p. ej. ECV, cáncer, ACV*) que incrementan el interés por la búsqueda de nuevas terapias alternativas. Además, el conocimiento de que las mujeres del sureste asiático manifiestan una menor incidencia de osteoporosis hace pensar que los fitoestrógenos de la soja, podrían ser una de estas alternativas y por lo tanto un sustituto de la TRH. Por ello, se llevó a cabo esta revisión cuyo objetivo principal fue valorar el efecto de las isoflavonas de la soja en el hueso.

En la actualidad, pese a los numerosos ensayos clínicos que se han realizado en los últimos años para determinar la efectividad de las isoflavonas de la soja sobre el hueso, sus resultados han sido contradictorios.

Resulta difícil discutir estos resultados ya que los estudios realizados son muy variables en cuanto a su diseño, teniendo en cuenta la duración de la suplementación, la dosis prescrita y recibida, la fuente de soja utilizada o las características epidemiológicas de la población. A pesar de ello, en términos generales los resultados obtenidos evidenciaron que en la mayoría de estudios los efectos de isoflavonas de la soja sobre el hueso son neutros y muy pocos mostraron efectos beneficiosos.

Los estudios más recientes no han evidenciado efectos favorables en las isoflavonas de la soja. Kenny et al³³ no encontraron ningún efecto sobre la densidad mineral ósea en el fémur proximal, columna lumbar, la muñeca o cuerpo entero en mujeres postmenopáusicas proporcionando proteínas de soja e isoflavonas, ya sea solas o conjuntamente, durante un año. Brink et al³⁸ tampoco encontraron ningún efecto de los alimentos de soja enriquecidos con isoflavonas sobre los cambios en DMO en la columna lumbar o cuerpo entero durante año en mujeres posmenopáusicas. Del mismo modo, Wong et al²⁶ encontró que la suplementación diaria con 120 mg/d de isoflavonas del hipocotilo (germen) de soja durante dos años reducía la pérdida ósea de todo el cuerpo, pero no de los sitios de fractura más comunes en las mujeres postmenopáusicas sanas. Igualmente, Alekel et al²⁵ no encontraron un efecto ahorrador de hueso en isoflavonas extraídas de la soja a excepción de un efecto ligeramente positivo sobre el cuello del fémur en un ensayo clínico multicéntrico de tres años con las mujeres posmenopáusicas.

No obstante a pesar de los estudios donde no se evidenciaron cambios, también existen trabajos donde se obtuvieron resultados favorables.

Los parámetros más empleados para evaluar los efectos de la isoflavonas habitualmente son la DMO de las diferentes regiones del cuerpo, junto con los principales marcadores del remodelado óseo, con los que Chiechi et al²⁸ observó como el consumo de una dieta rica en soja durante 6 meses en mujeres postmenopáusicas, con alimentos que contiene isoflavonas provocó un aumento significativo de las concentraciones de osteocalcina (*marcador de la formación de hueso nuevo*) y por lo tanto indica la estimulación de la actividad osteoblástica y sugiere un efecto beneficioso de la dieta. Del mismo modo, García-Martin et al³² coincide con estos resultados, en este caso con la administración de un producto lácteo enriquecido con isoflavonas de la soja durante 12 meses con el cual se produjo un aumento de los valores de 25-OH-vitamina D y una disminución de algunos marcadores del metabolismo óseo en mujeres postmenopáusicas en este caso españolas. Este aumento de la vitamina D puede deberse al contenido de calcio y 25-OH-vitamina D en los preparados lácteos empleados.

Conviene considerar que en ambos estudios se realizó una intervención a corto plazo y se administraron las principales isoflavonas de las soja (daidzeína, genisteína, gliciteína y sus β -glucósidos) conjuntamente. Ambos factores pueden influir en los efectos de las isoflavonas, por lo que Weaver et al³¹ en un estudio cruzado administró suplementos dietéticos con isoflavonas de diferentes fuentes durante un periodo de solo 50 días en 11 mujeres postmenopáusicas, observando que el tratamiento con isoflavonas del germen y del cotiledón de soja suprimieron significativamente la resorción ósea neta medida por la excreción de ⁴¹Ca en orina (una técnica rápida y novedosa). Pero se observaron diferencias entre la eficacia de ambas; el suplemento comercial del germen de soja era menos efectivo. Esto puede deberse a que la dosis en el cotiledón fue mayor (220 vs 153mg/día) y a las diferencias en el perfil de las isoflavonas de los productos, ya que el germen contenía mucha menos genisteína (12%), siendo este el motivo por el que era menos efectivo.

Por lo tanto parece que la genisteína es la isoflavona más eficaz, Marini et al³⁰ lo corroboraron en un estudio muy completo con un tamaño muestral mayor, un periodo de intervención de 2 años para observar los efectos a largo plazo y administrando comprimidos de un 98% de pureza de genisteína. Determinando así que la genisteína disminuyó los niveles de los marcadores de resorción y aumento los de formación. Uno de los aspectos que llama la atención de este estudio fueron los efectos

secundarios gastrointestinales observados en ambos grupos, especialmente en el tratado con isoflavonas.

Otro estudio a largo plazo²⁹ también obtuvo una disminución de la pérdida ósea con isoflavonas pero evidencio que la combinación de estas con progesterona transdérmica tiene una interacción negativa que provoca una mayor pérdida que cualquiera de los tratamientos por separado, aunque no tan pronunciada como en el grupo placebo.

No solo los estudios en mujeres postmenopáusicas muestran efectos positivos, Alekel et al²⁷ evidenciaron una disminución de la pérdida ósea, afectando significativamente la DMO en la columna lumbar en mujeres perimenopáusicas con dosis alta de isoflavonas (80,4mg/día).

Por último se deben considerar las limitaciones y factores de confusión:

- Reducido tamaño muestral: no permite generalizar los resultados.
- Seguimiento a corto plazo: Un ciclo completo de recambio óseo son aproximadamente 3 meses, por lo tanto para probar cambios clínicamente relevantes, se requieren estudios de al menos 2 años de duración. Además permiten evaluar la seguridad de las intervenciones, manifestando así efectos adversos o secundarios.
- Tipo de isoflavona: genisteína más efectiva que el resto.
- Dosis administrada: dosis a partir de 80-90 mg/día son las más favorables.
- Tipo de estudio: el estudio cruzado permite eliminar los factores de confusión asociados a los diferentes grupos y permite una comparación directa de diferentes perfiles de isoflavonas; en cambio el paralelo no.
- Heterogeneidad en la biodisponibilidad y metabolismo de isoflavonas: en estudios con alimentación de isoflavonas.

Por lo tanto, estos resultados tan discordantes no permiten asegurar que la administración de isoflavonas en mujeres, especialmente postmenopáusicas, pueda reducir la pérdida ósea postmenopáusica, ya que depende de diversos factores como la dosis y tipo de isoflavona administrada, el estatus menopáusico y la biodisponibilidad y metabolismo de las isoflavonas.

Para avanzar en el conocimiento básico y allanar el camino en la búsqueda de alternativas a la terapia de hormonas esteroideas para las mujeres posmenopáusicas, se necesitan más estudios de dosis-respuesta a largo plazo en humanos diseñados para corroborar estos resultados y examinar los posibles mecanismos.

8. CONCLUSIONES

Las conclusiones de este trabajo de revisión sistemática son:

1. Pese a que aún no se ha llegado a una evidencia científica irrefutable sobre los efectos de las isoflavonas de la soja en el hueso, se puede decir que a dosis altas durante un periodo determinado de tiempo las isoflavonas pueden tener efectos positivos en el hueso.
2. No hay acuerdos sobre la eficacia de los suplementos con isoflavonas de la soja sobre la densidad mineral ósea.
3. Los resultados de los distintos estudios revisados sobre el efecto de las isoflavonas sobre los marcadores del remodelado óseo son heterogéneos.
4. En cuanto al efecto de las isoflavonas sobre las fracturas no existe evidencia alguna ya que la mayor parte de estudios no lo evalúan.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Mateos Aparicio I, Redondo Cuenca A, Villanueva-Suarez MJ, Zapata-Revilla MA. Soybean, a promising health source. *Nutr Hosp*. 2008; 23:305-12.
2. De Luis DA, Pérez Castrillón JL, Aller R, Culebras J. Influencia del consumo de soja sobre la masa ósea. *An Med Interna*. 2007; 24:361-64.
3. Messina MJ. Legumes and soybeans: Overview of their nutritional profiles and health effects. *Am J Clin Nutr*. 1999; 70 Suppl 3: 439-50.
4. Fernández-Escoba A. Características de la soja como alimento. *Rev Esp Nutr Comunitaria*. 2012; 18 Supl 2:6-10.
5. Mendoza Meza DL, Ahumada Barraza C, Roa Mercado C. Efecto de las isoflavonas de la soja en la salud ósea de adultos y niños. *Salud Uninorte*. 2015; 31:138-52.
6. Craig WJ. Phytochemicals: Guardians of our health. *J Am Diet Assoc*. 1997; 97(Suppl 2):199-204.
7. Rowland I, Faughnam M, Hoey L, Wähälä K, Williamson G, Cassidy A. Bioavailability of phyto-oestrogens. *Br J Nutr*. 2003; 89 Suppl 1:45-58.
8. Setchell KD, Cassidy A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. *J Nutr*. 1999; 129: 758S-767S.
9. Fajardo-Martin V, Varela-Moreiras G. Beneficios de la soja en la menopausia. *Rev Esp Nutr Comunitaria*. 2012; 18 Supl 2:19-34.
10. Valdivia-Cabrera G, Szot-Meza J. Epidemiología de la Osteoporosis. *Boletín de la Escuela de Medicina*. 1999; 28 (1-2). Disponible en: <http://escuela.med.puc.cl/publ/boletin/osteoporosis/epidemiologiaosteoporosis.html>
11. Sosa-Henríquez M, Gómez-Díaz J. La osteoporosis. Definición. Importancia. Fisiopatología y clínica. *Rev Osteoporos Metab Miner*. 2010; 2 Suppl 5:3-7.
12. Sosa-Henríquez M, Díez-Pérez A. Osteoporosis. Concepto. Etiopatogenia. Clínica. *Rev Clin Esp*. 2009; 209 Suppl 1:3-9.
13. Grupo de trabajo de la Sociedad Española de Investigación Ósea y Metabolismo Mineral (SEIOMM). Osteoporosis postmenopáusica. Guía de práctica clínica. *Rev Clin Esp*. 2003; 203:496-506.
14. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis and Therapy. *JAMA*. 2001; 285:785-95.

15. Chapman – Novakofsi K. Nutrición y salud ósea. En: Mahan LK, Escott-Stump S, L. Raymond J. Krause Dietoterapia. 13ª Edición: España. Elsevier; 2012; 531-546.
16. Atmaca A, Kleerekoper M, Bayraktar M, Kucuk O. Soy isoflavones in the management of postmenopausal osteoporosis. *Menopause*. 2008; 15:748-57.
17. Yamaguchi M, Sugimoto E. Stimulatory effect of genistein and daidzein on protein synthesis in osteoblastic MC3T3-E1 cells: activation of aminoacyl-tRNA synthetase. *Mol Cell Biochem*. 2000; 214:97-102.
18. Crisafulli A, Altaville D, Squadrito G, Romeo A, Adamo EB, Marini R et al. Effects of the phytoestrogen genistein on the circulating soluble receptor activator of nuclear factor κ B ligand-osteoprotegerin system in early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89:188-92.
19. Chen XW, Garner SC, Anderson JBB. Isoflavones regulate interleukin-6 and osteoprotegerin synthesis during osteoblast cell differentiation via an estrogen-receptor- dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002; 295:417-22.
20. Migliaccio S, Anderson JJ. Isoflavones and skeletal health: are these molecules ready for clinical application? *Osteoporos Int*. 2003; 14:361-8.
21. Fotsis T, Pepper M, Adlercreutz H, Fleischmann G, Hase T, Montesano R et al. Genistein, a dietary-derived inhibitor of in vitro angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90:2690-4.
22. Ruiz-Larrea M, Mohan AR, Paganga G, Miller NJ, Bolwell GP, Rice-Evans CA. Antioxidant activity of the phytoestrogenic isoflavones. *Free Radic Res*. 1997; 26:63-70.
23. Campbell DR, Kurzer MS. Flavanoid inhibition of aromatase enzymes activity in human preadipocytes. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1993; 46 :381-8.
24. Evans EM, Racette SB, Van Pelt RE, Peterson LR, Villareal DT. Effects of soy protein isolate and moderate exercise on bone turnover and bone mineral density in postmenopausal women. *Menopause*. 2007; 14: 481-8.
25. Alekel DL, Van Loan MD, Koehler KJ, Hanson LN, Stewart JW, Hanson KB et al. The soy isoflavones for reducing bone loss (SIRBL) study: a 3-y randomized controlled trial in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 2010; 91: 218-30.

26. Wong WW, Lewis RD, Steinberg FM, Murray MJ, Cramer MA, Amato P et al. Soy isoflavone supplementation and bone mineral density in menopausal women: a 2-y multicenter clinical trial. *Am J Clin Nutr.* 2009; 90: 1433-9.
27. Alekel DL, Germain AS, Peterson CT, Hanson KB, Stewart JW, Toda T. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72: 844-52.
28. Chiechi LM, Secreto G, D'Amore M, Fanelli M, Venturelli E, Cantatore F et al. Efficacy of a soy rich diet in preventing postmenopausal osteoporosis: the Menfis randomized trial. *Maturitas.* 2002; 42 : 295-300.
29. Lydeking-Olsen E, Beck-Jensen JE, Setchell KD, Holm-Jensen T. Soy milk or progesterone for prevention of bone loss--a 2 year randomized, placebo-controlled trial. *Eur J Nutr.* 2004; 43: 246-57.
30. Marini H, Minutoli L, Polito F, Bitto A, Altavilla D, Atteritano M et al. Effects of the phytoestrogen genistein on bone metabolism in osteopenic postmenopausal women: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2007; 146: 839-47.
31. Weaver CM, Martin BR, Jackson GS, McCabe GP, Nolan JR, McCabe LD et al. Antiresorptive effects of phytoestrogen supplements compared with estradiol or risedronate in postmenopausal women using (41) Ca methodology. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94: 3798-805.
32. García-Martín A, Quesada Charneco M, Álvarez, Jiménez Moleón JJ, Fonollá Joya J, Muñoz-Torres M. Effect of milk product with soy isoflavones on quality of life and bone metabolism in postmenopausal Spanish women: randomized trial. *Med Clin.* 2012; 138: 47-51.
33. Kenny AM, Mangano KM, Abourizk RH, Bruno RS, Anamani DE, Kleppinger A et al. Soy proteins and isoflavones affect bone mineral density in older women: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2009; 90: 234-42.
34. Arjmandi BH, Lucas EA, Khalil DA, Devareddy L, Smith BJ, McDonald J et al. One year soy protein supplementation has positive effects on bone formation markers but not bone density in postmenopausal women. *Nutr J.* 2005; 4: 8.
35. Dalais FS, Ebeling PR, Kotsopoulos D, McGrath BP, Teede HJ. The effects of soy protein containing isoflavones on lipids and indices of bone resorption in postmenopausal women. *Clin Endocrinol.* 2003; 58: 704-9.

36. Kreijkamp-Kaspers S, Kok L, Grobbee DE, de Haan EH, Aleman A, Lampe JW et al. Effect of soy protein containing isoflavones on cognitive function, bone mineral density, and plasma lipids in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2004; 292: 65-74.
37. Brooks JD, Ward WE, Lewis JE, Hilditch J, Nickell L, Wong E et al. Supplementation with flaxseed alters estrogen metabolism in postmenopausal women to a greater extent than does supplementation with an equal amount of soy. *Am J Clin Nutr*. 2004; 79: 318-25.
38. Brink E, Coxam V, Robins S, Wahala K, Cassidy A, Branca F et al. Long-term consumption of isoflavone-enriched foods does not affect bone mineral density, bone metabolism, or hormonal status in early postmenopausal women: a randomized, double-blind, placebo controlled study. *Am J Clin Nutr*. 2008; 87: 761-70.
39. Shedd-Wise KM, Alekel DL, Hofmann H, Hanson KB, Schiferl DJ, Hanson LN et al. The soy isoflavones for reducing bone loss study: 3-yr effects on pQCT bone mineral density and strength measures in postmenopausal women. *J Clin Densitom*. 2011; 14:47-57.
40. Chilibeck PD, Vatanparast H, Pierson R, Case A, Olatunbosun O, Whiting SJ et al. Effect of exercise training combined with isoflavone supplementation on bone and lipids in postmenopausal women: a randomized clinical trial. *J bone Miner Res*. 2003; 28: 780-93.
41. Cheong JM, Martin BR, Jackson GS, Elmore D, McCabe GP, Nolan JR et al. Soy isoflavones do not affect bone resorption in postmenopausal women: a dose-response study using a novel approach with ⁴¹Ca. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92: 577-82.
42. Levis S, Strickman-Stein N, Ganjei-Azar P, Xu P, Doerge DR, Krischer J. Soy isoflavones in the prevention of menopausal bone loss and menopausal symptoms: a randomized, double-blind trial. *Arch Intern Med*. 2011; 171: 1363:9.
43. Wangen KE, Duncan AM, Merz-Demlow BE, Xu X, Marcus R, Phipps WR et al. Effects of soy isoflavones on markers of bone turnover in premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85: 3043-8.