



Sección patrocinada
por Laboratorios Gynea



M^a Concepción Navarro Moll
Departamento de Farmacología
Facultad de Farmacia
Universidad de Granada
Campus de Cartuja
18071 Granada
Email: cnavarro@ugr.es

Mecanismo de acción de las isoflavonas

Resumen

Los fitoestrógenos son unos principios de origen vegetal de estructura no esteroídica, con agrupaciones fenólicas, presentes en distintas especies vegetales (soja, trébol rojo, diversas legumbres, cereales, etc.). De entre los distintos tipos de fitoestrógenos destacan las isoflavonas, en particular la genisteína y la daidzeína. El interés de estos compuestos deriva de sus efectos, consecuentes en gran medida tanto de su interacción con los receptores estrogénicos (especialmente con el receptor β), como de su actuación como inhibidores enzimáticos y antioxidantes. Estos efectos estarían en relación con el tratamiento de la sintomatología asociada a la menopausia, al tiempo que permiten hipotetizar sobre un posible papel en la terapéutica o profilaxis de los procesos cancerosos.

Palabras clave: Fitoestrógenos. Isoflavonas. Genisteína. Daidzeína. Mecanismos de acción.

Summary

The phytoestrogens are non steroidal phenolic compounds of plant origin, found in different species (soy, red clover, cereals and others). Among this group, isoflavones (genistein, daidzein) are of outstanding relevance. The interest of these compounds is derived from the great extent of its effects, consequent as much of its interaction with the estrogenic receptors (especially with the receptor β), enzyme-inhibitory actions and antioxidant activity. These effects would be in relation to the treatment of the menopause associated symptoms, and suggest a possible role in the therapeutics or prophylaxis of the cancerous diseases.

Key words: Phytoestrogens. Isoflavones. Genistein. Daidzein. Mechanisms of action.

Introducción

Los fitoestrógenos (FE) son una serie de compuestos de origen vegetal, de naturaleza no esteroídica, con similitudes estructurales con los estrógenos naturales (17β-estradiol). Entre otras, presentan acciones de tipo estrogénico en los mamíferos (Navarro y Beltrán, 2002). De acuerdo con su estructura química, los FE pueden ser clasificados en 4 grupos principales: isoflavonoides, cumestanos, estilbenos y lignanos (Figura 1), todos ellos con estructura fenólica común, si bien algunos terpenoides y saponinas también pueden presentar efectos estrogénicos. Otro grupo de sustancias con acción estrogénica, es el de las lactonas del ácido resorcílico, producidas por mohos contaminantes de los cereales, por lo que son clasificados como micotoxígenos. Finalmente, se ha detectado en algunas plantas la presencia de esteroides estrogénicos, como la estrona o el β-sitosterol.

De entre las distintas categorías químicas de fitoestrógenos, la mejor conocida es la de las **isoflavonas**. Su actividad estrogénica

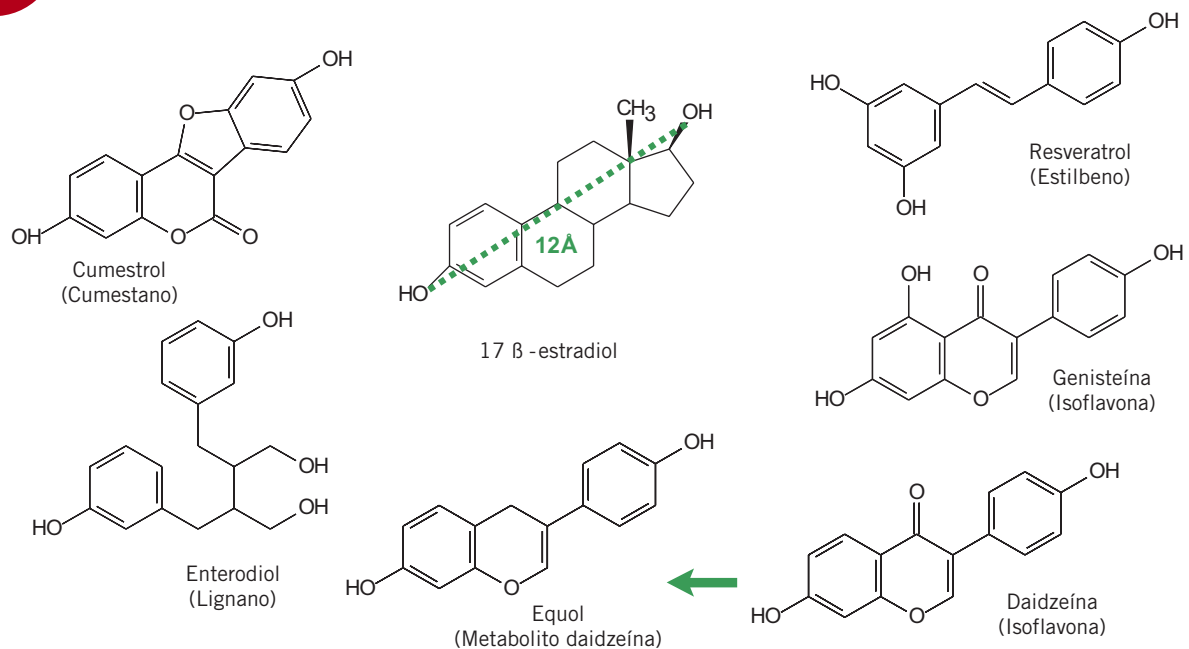
se descubrió al investigar acerca de la llamada "enfermedad del trébol", que se daba en las ovejas australianas alimentadas con esta planta; esta enfermedad se caracteriza por la aparición de trastornos que afectan al aparato genital y que producen la esterilidad en los animales afectados.

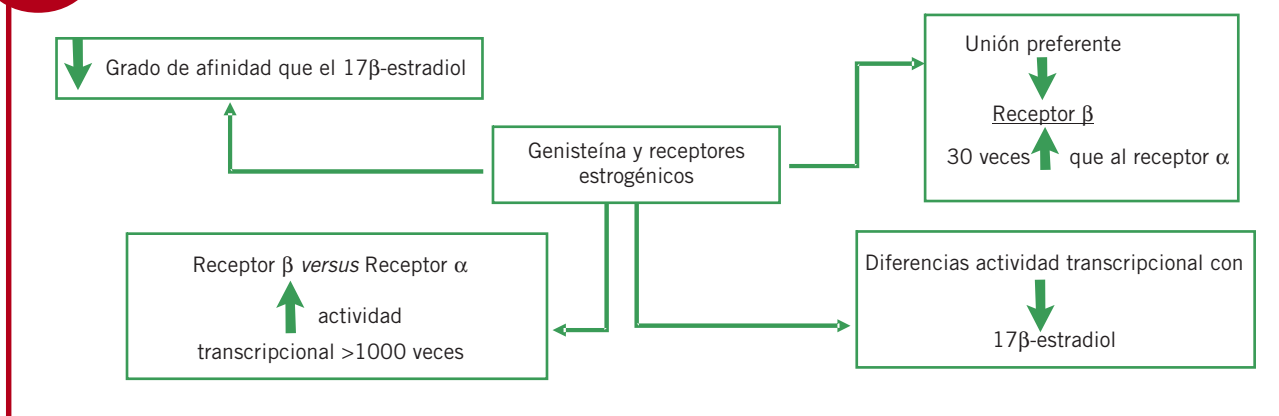
Las isoflavonas se encuentran en numerosas especies vegetales, sobre todo en la familia de las leguminosas, destacando por su alto contenido la soja (*Glycine max*, Fabaceae), y el trébol rojo (*Trifolium pratense*, Fabaceae). Los compuestos más importantes de este grupo son la genisteína y la daidzeína, agliconas presentes en las plantas en forma glicosilada o metoxilada (genistina y biochanina A para la genisteína, y daidzina y formononetina para la daidzeína). Otro compuesto isoflavónico es la gliciteína, cuyo precursor natural glicosilado es la gliciteína.

La mayor parte de los conocimientos acerca de los mecanismos de acción farmacológica de los fitoestrógenos se refieren básicamente, también, a las isoflavonas, que constituyen, en este sentido, el grupo mejor conocido.

Figura 1

Ejemplos de fitoestrógenos (entre paréntesis: grupo al que pertenecen) y comparación estructural con el 17β-estradiol





Mecanismo de acción a través de receptor estrogénico

Las isoflavonas poseen capacidad para unirse a los receptores estrogénicos, hecho del que derivan muchas de sus acciones tisulares.

Desde un punto de vista estructural, respecto a la posibilidad de unión de estos compuestos con los receptores estrogénicos, ha de tenerse en cuenta que el receptor estrogénico (RE) se liga a moléculas de distinta naturaleza, sean o no de estructura esteroide. En la capacidad de unión de cualquier ligando al RE son importantes, entre otras características, la presencia de un anillo aromático y de grupos hidroxilo, así como el carácter hidrofóbico de la estructura (Hu y Aizawa, 2003). El 17-β-estradiol contiene dos grupos hidroxilo en las posiciones 3 y 17 de un esqueleto esteroideo de carácter hidrofóbico, a una distancia aproximada entre sí de unos 1,2 nm. Como puede apreciarse en la Figura 1, existen notables similitudes estructurales de los fitoestrógenos con el 17-β-estradiol, que se traducen en la capacidad de unión de los mismos al RE, si bien con diferente grado de afinidad según el compuesto de que se trate. La actividad estrogénica se ve negativamente afectada tanto por la metilación como por la glicosilación de los hidróxilos fenólicos.

El complejo ligando-receptor que se forma resulta ser funcionalmente equivalente al formado por el 17-β estradiol, en el sentido de que es capaz de inducir actividad transcripcional (Kuiper, *et al.*, 1998). En general, presentan menor grado de afinidad por el receptor estrogénico que el estradiol, y se ligan preferencialmente al RE β: la afinidad por el RE β de las isoflavonas es del orden de 30 veces más que la que presentan con respecto al RE α. Esta diferencia de afinidad hacia ambas isoformas del receptor estrogénico, es debida probablemente a la diferente secuencia de aminoácidos de la región F del dominio de unión de ambos tipos de receptor estrogénico. Además, la actividad transcripcional es mucho más potente (hasta 1000 veces) con respecto al RE β que al RE α (Figura 2); este hecho puede ser debido a la mayor capacidad de reclutamiento de factores coactivadores para el RE β que para el RE α. El estradiol, por su parte, recluta de forma no selectiva los correguladores de ambos tipos de receptor (An, *et al.*, 2001). Dada la naturaleza selectiva de sus acciones sobre los diferentes receptores estrogénicos, se po-

dría considerar a las isoflavonas como verdaderos moduladores selectivos de dichos receptores (SERM) (Setchell, 2001), cuyas acciones se efectuarían básicamente en aquellos órganos y tejidos diana en los que los RE β se encuentran en cantidades relevantes, tales como el sistema nervioso central, hueso y pared vascular e, inversamente, no actuarían en aquellos órganos con expresión preferencial del RE α, como la mama y el endometrio.

Aunque las isoflavonas, concretamente la genisteína, se ligan al RE β con casi la misma eficiencia que el estradiol, la concentración requerida para inducir actividad transcripcional es de 10⁴ veces mayor para la genisteína que para el estradiol; algo similar sucede para la daidzeína, el equol o la gliciteína. Además, el tipo de actividad transcripcional inducido por las isoflavonas no es exactamente el mismo que el producido por el estradiol, lo que podría tener su explicación en el hecho de que la estructura conformacional del complejo isoflavona-receptor es diferente de la del complejo estradiol-receptor: concretamente, la hélice 12 de la superficie AF-2 se encuentra en una posición diferente según que el ligando sea la genisteína o el 17β-estradiol. Sin embargo, esta menor actividad transcripcional de las isoflavonas queda parcialmente compensada por el hecho de que presentan una mayor facilidad de acceso a los RE que el propio estradiol, debido a que la fracción circulante libre de este último es tan sólo de un 4-5%, en tanto que las isoflavonas pueden circular libres en más de un 50%, y además su unión a las proteínas plasmáticas es menos fuerte que la del estradiol. Por último, los niveles circulantes de fitoestrógenos son de un orden de magnitud superiores a los del estradiol (nanogramos/mL *versus* picogramos/mL), hechos todos ellos que condicionan una biodisponibilidad importante de las isoflavonas. De esta mayor facilidad de acceso al RE se desprende que, en presencia de estrógenos endógenos, las isoflavonas puedan comportarse como antagonistas estrogénicos, en tanto que, en ausencia de estrógenos, lo hacen como agonistas débiles.

En cuanto a su capacidad para estimular la actividad transcripcional, el orden de potencia relativa de los diferentes fitoestrógenos, sería (Kuiper, *et al.*, 1998):

- **REα:** E₂ >> zearalenona = cumestrol > genisteína > daidzeína > apigenina = floretina > biochanina A = kaempferol-naringenina > formononetina = quercetina = crisina;

- **REβ:** E₂>> genisteína = cumestrol > zearalenona > daidzeína > biochanina A = apigenina = kempferol = naringenina > fletina = quercetina = formononetina = crisina.

Entre las consecuencias de esta interacción con los receptores estrogénicos, los fitoestrógenos, en particular la genisteína, ocasionan, al igual que ocurre tras la unión del 17β-estradiol, una disminución de la producción por las células T del TNF-α, el cual, actuando sobre el receptor p55 TNF-α, induce la osteoclastogénesis.

Por otro lado, y con independencia de la actuación sobre los receptores estrogénicos nucleares, se ha propuesto la posibilidad de actuación sobre los receptores de membrana, que mediarían algunas de las respuestas rápidas, no genómicas, como la modulación en la liberación de prolactina o de óxido nítrico a nivel de la pared vascular.

Mecanismos independientes del receptor estrogénico

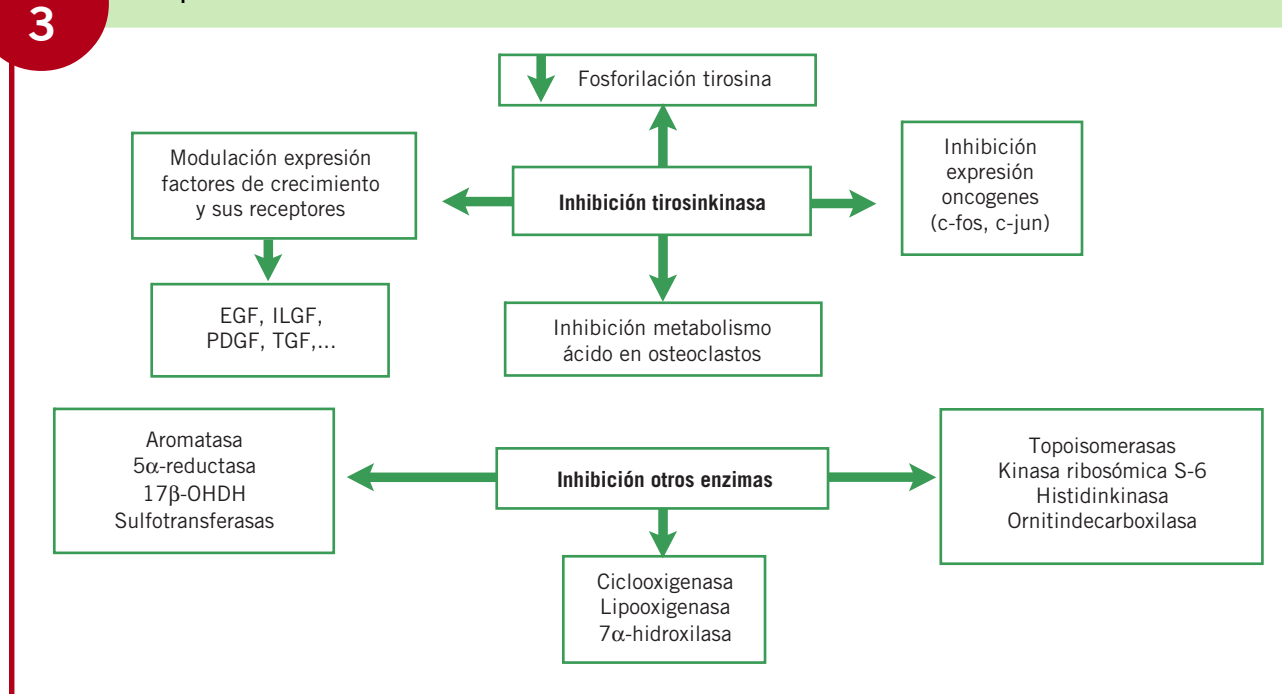
Además de los efectos derivados de su unión a los receptores estrogénicos, las isoflavonas son capaces de inhibir diversos enzimas implicados en numerosos procesos orgánicos (Figura 3).

Inhibición de tirosinkinasa

La actividad de las tirosinkinasa es inhibida por la genisteína (Nakashima, *et al.*, 1990), vía interacción con el sitio de unión con el ATP. Esta familia de enzimas juega un papel fundamental en una serie de eventos relacionados entre otros con la división celular y la carcinogénesis: inhibición de la expresión de oncogenes (c-fos, c-jun) y modulación de la expresión de diversos factores de crecimiento y sus receptores (TNF, EGF, PDGF, ILGF, TGF, Ets 1 TF, etc.). Como resultado de la reducción del número de receptores inducido por las isoflavonas a través de la inhibición de las tirosinkinasa, se reduce la actividad de los factores de crecimiento correspondientes, con la consiguiente inhibición del crecimiento tumoral. Estos factores de crecimiento se encuentran también implicados en los procesos de angiogénesis (Fotsis, *et al.*, 1995), fundamentales en el desarrollo tumoral y la aparición de metástasis. Por otra parte, los inhibidores de la tirosinkinasa como la genisteína, antagonizan la contractilidad vascular en respuesta a un amplio rango de agentes contracturantes y reducen la resistencia en distintas arterias, con el consiguiente beneficio vascular. Esta actuación sobre el músculo liso vascular incluye la inhibición reversible del incremento de Ca²⁺ intracelular y la regulación del efecto del Ca²⁺ en el aparato contráctil de las células de dicho músculo. Además,

Figura 3

Principales mecanismos de acción de las isoflavonas relacionados con inhibición enzimática





Soja (*Glycine max*, Fabaceae)

las tirosinas actúan en los procesos de agregación plaquetaria y en el metabolismo osteoclastico (Gao y Yamaguchi, 2000; Kajiya, *et al.*, 2000), por lo que su inhibición por las isoflavonas se traduciría en efectos positivos sobre la trombogénesis y la osteoporosis menopáusica.

Acción sobre enzimas implicados en el ciclo celular

Las isoflavonas son capaces de actuar sobre otras muchas enzimas, tales como las topoisomerasas I y II, que catalizan cambios topológicos en el ADN, y que son necesarias en la replicación del mismo. En este caso, las isoflavonas actúan sobre el complejo topoisomerasa-ADN induciendo la apoptosis o muerte celular programada, tal y como se ha observado en líneas celulares de cáncer de mama. Asimismo presentan acción inhibitoria sobre otras enzimas involucradas en el ciclo celular, como la quinasas ribosómica S-6, histidinkinasa u ornitindecarboxilasa. Hay que advertir, sin embargo, que muchas de estas acciones no mediadas por receptores hormonales no se dan sino a altas concentraciones, difícilmente observables *in vivo*.

Acción sobre el metabolismo y transporte de estrógenos y andrógenos

La aromatasa, enzima implicada en la formación del 17- β estradiol a partir de sus precursores androgénicos, es también inhibida por la genisteína, con la consiguiente reducción en la producción de esta hormona, lo que puede tener una especial importancia en los tumores hormono-dependientes, como el de mama. Algo parecido sucede con las familias enzimáticas de las 17- β esteroide dehidrogenasas y las sulfotransferasas, implicadas asimismo en el metabolismo de los estrógenos (Le Bail, *et al.*, 2000), así como con la 5- α reductasa, enzima convertidora de la testosterona en dihidrotestosterona e implicada en el cáncer de próstata.

Las isoflavonas y lignanos también modulan la producción de globulina transportadora de hormonas sexuales (*sex hormone binding globulin*, SHBG), estimulando su síntesis por parte de los hepatocitos, e incrementando sus niveles plasmáticos en humanos, sobre todo en aquellos sujetos con valores previos bajos de SHBG (Pino, *et al.*, 2000), con la consiguiente reducción de los valores de estradiol libre circulante.

Acción sobre enzimas implicados en procesos inflamatorios

Algunos fitoestrógenos (lignanos, isoflavonas) se comportan también como inhibidores de enzimas relacionados con los procesos inflamatorios, como la ciclooxigenasa o la lipooxigenasa, así como de otras enzimas, como la colesterol-7 α -hidroxilasa, implicada en la formación de ácidos grasos biliares a partir del colesterol, y la α -glucosidasa, que interviene en el metabolismo de la glucosa y otros procesos (Pino, *et al.*, 2000). Su actuación enzimática se extiende también a la regulación de la colinacetyltransferasa, enzima implicado en el metabolismo de la Ach (acetilcolina); esta regulación se extiende, en diferentes áreas cerebrales (cortex frontal e hipocampo), a distintos factores de crecimiento: factor neurotrófico cerebral (BDNF) y factor de crecimiento nervioso (NGF) (Lephart, *et al.*, 2005). Otra acción de interés sobre el sistema nervioso central es la relativa a un descenso en la fosforilación de la proteína τ , asociada con el mal de Alzheimer.

Actividad antioxidante y sobre la pared vascular

El grupo de los polifenoles, al que pertenecen las isoflavonas, presenta propiedades antioxidantes más o menos marcadas, dependientes, al menos en parte, de su interacción con las agrupaciones polares de los fosfolípidos de membrana. La isoflavona con mayor actividad en este sentido es la genisteína, conjuntamente con el equol, producto metabólico de la daidzeína, el cual ejerce su actividad antioxidante mediante la inhibición de la expresión de la NADPH oxidasa p22phox, que se traduce en un descenso en la producción de radical peroxinitrito a expensas del NO (óxido nítrico), incrementando la biodisponibilidad de este agente relajante de la musculatura lisa vascular (Walter, *et al.*, 2001). Este descenso en el ONOO $^-$ determina una disminución en la oxidación de las LDL. Por otra parte, los resultados descritos por Yousef, *et al.* (2004) sugieren que la genisteína aumenta la actividad de distintas enzimas antioxidantes (catalasa, superóxido dismutasa y glutatión reductasa), no afectando la actividad de la glutatión transferasa (GST). Dicha actividad antioxidante, evidenciada tanto *in vitro* como *in vivo* (Fritz, *et al.*, 2003), da lugar a un decrecimiento de las llamadas especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, como consecuencia de lo cual cabe esperar, entre otros beneficios sobre patologías producidas o agravadas por estrés oxidativo [enfermedad de



Trébol rojo (*Trifolium pratense*)

Alzheimer, por ejemplo (Zeng, *et al.*, 2004)], efectos protectores de la pared vascular por disminución de los procesos de oxidación del LDL-colesterol, etc.

Además de estos efectos, las isoflavonas son capaces de inhibir la unión del tromboxano A₂ a su receptor plaquetario (Nakashima, *et al.*, 1990), con la consiguiente reducción de los procesos de agregación plaquetaria. Por otra parte, la genisteína favorece la relajación del músculo liso vascular por diversos mecanismos: bloqueo de los canales de Ca⁺⁺, (Fitgree, *et al.*, 2000), modulación de la producción de NO tanto por la NOS inducible como por la NOS constitutiva, inhibición del receptor de la angiotensina II y descenso de la producción del péptido vasoconstrictor endotelina-1 (Squadrito, *et al.*, 2002). Esta reducción de la endotelina-1 podría jugar además un cierto papel protector en determinados procesos neoplásicos, puesto que dicho péptido está implicado en los procesos de crecimiento, migración, invasión y angiogénesis tumoral. Además, las isoflavonas incrementan la eficacia del hígado en lo que se refiere a la metabolización del LDLc, ya que incrementan la expresión de sus receptores y la actividad de los mismos. Estas acciones, que interesan al perfil lipídico, se encuentran acompañadas por una disminución en la proliferación y migración de las células del músculo liso vascular (Dubey, *et al.*, 1999), pudiendo conferir efectos cardioprotectores en el sistema cardiovascular mediante inhibición del remodelado vascular y la formación de la neointima.

Otros mecanismos

En cuanto a los efectos metabólicos de las isoflavonas, (Solanky, *et al.*, 2005) han demostrado que la ingesta de soja rica en isoflavonas da lugar a cambios en distintas aminas endógenas, entre los que destaca la disminución de trimetilamina-*N*-óxido (TMAO), que conduce a variaciones en el balance de distintos osmolitos (colina, creatinina, creatina y betaína): los cambios en los niveles de estas sustancias, serían indicativos de un efecto positivo de las isoflavonas en la función renal.

Finalmente, las isoflavonas favorecen los procesos de diferenciación celular, al tiempo que son capaces de inducir la apoptosis de las células cancerosas.

Conclusión

Como consecuencia de los mecanismos de acción referidos, los fitoestrógenos pueden ser considerados, desde el punto de vista farmacológico, como unos compuestos de indudable potencial en la terapéutica de los trastornos de la menopausia y de posible aplicación en la lucha contra las enfermedades neoplásicas (Beltrán, 2003). Su acción agonista estrogénica explicaría el alivio de los síntomas vegetativos climatéricos, así como sus posibles efectos beneficiosos en la prevención de la osteoporosis postmenopáusica mediante diversos mecanismos: modulación de citokinas y factores de crecimiento mediada por receptores estrogénicos (Chen, *et al.*, 2002; Heim, *et al.*, 2004), actuación como inhibidores enzimáticos.

También influirían favorablemente sobre los factores de riesgo cardiovascular a través de distintas vías de actuación sobre el patrón lipídico, tales como actividad antioxidante, vasodilatación e inhibición de la agregación plaquetaria mediada por el bloqueo del receptor plaquetario del TxA₂, impidiendo de esta forma la agregación inducida por el colágeno.

En cuanto a su efecto beneficioso sobre la piel, parece estar en relación con la capacidad de las isoflavonas de incrementar la producción de ácido hialurónico, a la vez que producen un aumento en la expresión del gen responsable de la producción de colágeno.

Por último, su acción como antagonistas estrogénicos débiles, sus efectos sobre las globulinas transportadoras de hormonas sexuales, su papel como inhibidores enzimáticos o de la angiogénesis (Kiriakidis, *et al.*, 2005), o sus acciones antioxidantes, entre otras, permiten explicar su acción positiva frente a distintas líneas celulares cancerosas.

Bibliografía

- An J, Tzagarakis-Foster C, Scharschmidt TC, Lomri N, Leitman DC. Estrogen receptor β -selective transcriptional activity and recruitment of coregulators by phytoestrogens. *J Biol Chem* 2001;276:17808-14.
- Beltrán E. Interés terapéutico de los fitoestrógenos en Ginecología: una revisión de las evidencias. *Rev Fitoter* 2003;4:23-40.
- Chen XW, Garner SC, Anderson JJ. 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.
- Dubey RK, Gillespie DG, Imthurn B, Rosselli M, Jackson EK, Keller PJ. Phytoestrogens inhibit growth and MPA kinase activity in human aortic smooth muscle cells. *Hypertensión* 1999;33:177-82.
- Figtree GA, Griffiths H, Lu YQ, Webb CM, McLeod K, Collins P. Plant-derived estrogen relax coronary artery in vitro by a calcium antagonist mechanism. *Am J Coll Cardiol* 2000;35:1977-85.
- Fotsis T, Pepper M, Adlercreutz H, Hase T, Montesano R, Schweigerer L. Genistein, a dietary ingested isoflavonoid, inhibits cell proliferation and in vitro angiogenesis. *J Nutr* 1995;125(3 Suppl):790s-7s.
- Fritz KL, Seppanen CM, Kurzer MS, Csallany AS. The in vivo antioxidant activity of soybean isoflavones in human subjects. *Nutr Res* 2003;23:479-87.
- Gao YH, Yamaguchi M. Suppressive effect of genistein on rat bone osteoclasts: involvement of protein kinase inhibition and protein tyrosine phosphatase activation. *Int J Mol Med* 2000;5:261-7.
- Heim M, Frank O, Kampmann G, Sochoky N, Pennimpede T, Fuchs P, Hunziker W, Weber P, Martin I, Bendik I. The phytoestrogen genistein enhances osteogenesis and represses adipogenic differentiation of human primary bone marrow stromal cells. *Endocrinology* 2004;145:848-59.
- Hu JY, Aizawa T. Quantitative structure-activity relationships for estrogen receptor binding affinity of phenolic chemicals. *Water Res* 2003;37:1213-22.
- Kajiya H, Okabe K, Okamoto F, Tsuzuki T, Soeda H. Protein tyrosine kinase inhibitors increase cytosolic calcium and inhibit actin organization as resorbing activity in rat osteoclasts. *J Cell Physiol* 2000;183:83-90.
- Kiriakidis S, Hogemeier O, Starcke S, Dombrowski F, Hahne JC, Pepper M, Jha HC, Wernert N. Novel tempeh (fermented soybean) isoflavones inhibit in vivo angiogenesis in the chicken chorioallantoic membrane assay. *Br J Nutr* 2005;93:317-23.
- Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, van der Saag PT, van der Burg B, Gustafsson JA. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology* 1998;139:4252-63.
- Le Bail JC, Champavier Y, Chulia AJ, Habrioux G. Effects of phytoestrogens on aromatase, 3 beta and 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activities and human breast cancer cells. *Life Sci* 2000;66:1281-91.
- Lephart ED, Setchell KDR, Lund TD. Phytoestrogens: hormonal action and brain plasticity. *Brain Res Bull* 2005;65:193-8.
- Nakashima S, Koike T, Nozawa Y. Genistein, a protein kinase inhibitor, inhibits thromboxane A2-mediated human platelet responses. *Mol Pharmacol* 1990;39:745-80.
- Navarro MC, Beltrán E. Fitoestrógenos: Posibilidades terapéuticas. *Rev Fitoter* 2001;1:165-80.
- Pino AM, Valladares LE, Palma MA, Mancilla AM, Yáñez M, Albala C. Dietary isoflavones affect sex hormone-binding globulin levels in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2797-800.
- Setchell DR. Soy isoflavones. Benefits and risks form nature's selective estrogen receptor modulators (SERMs). *J Am Coll Nutr* 2001;20:354s-62s.
- Solanky KS, Bailey NJ, Beckwith-Hall BM, Bingham S, Davis A, Holmes E, Nicholson JK, Cassidy A. Biofluid 1H NMR-based metabolomic techniques in nutrition research: metabolic effects of dietary isoflavones in humans. *J Nut Biochem* 2005;16:236-44.
- Squadrito F, Altavilla D, Morabito N, Crisafulli A, D'Anna R, Corrado F, et al. The effect of the phytoestrogen genistein on plasma nitric oxide concentrations, endothelin-1 levels and endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women. *Atherosclerosis* 2002;163:339-47.
- Walker HA, Dean TS, Sanders TA, Jackson G, Ritter JM, Chowienczyk PJ. The phytoestrogen genisteina produces acute nitric oxide-dependent dilation of human forearm vasculature with similar potency to 17beta-estradiol. *Circulation* 2001;16:258-62.
- Yousef MI, Kamel KI, Esmail AM, Baghdadi HH. Antioxidant activities and lipid lowering effects of isoflavone in male rabbits. *Food Chem Toxicol* 2004;42:1497-503.
- Zeng H, Chen Q, Zhao B. Genistein ameliorates β -amyloid peptide (25-35)-induced hippocampal neuronal apoptosis. *Free Radic Biol Med* 2004;36:180-8.