

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.

**ESTIMACIÓN DEL CONSUMO DE FITOESTRÓGENOS A
TRAVÉS DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS Y
RECORDATORIO DE 24 HORAS EN MUJERES SANAS DEL
NOROESTE DE MÉXICO**

POR:

MELISSA MARÍA CAMPA SIQUEIROS

**TESIS APROBADA POR LA
COORDINACIÓN DE NUTRICIÓN**

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS

HERMOSILLO, SONORA

ENERO DEL 2012

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis titulada "Estimación del consumo de fitoestrógenos a través de frecuencia de consumo de alimentos y recordatorio de 24 horas en mujeres sanas del noroeste de México" realizada por Melissa María Campa Siqueiros, la han encontrado satisfactoria y la aprueban para que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



Dra. Graciela Caire Juárez

Directora de tesis



Dra. María Isabel Ortega Vélez



Dra. Ana Isabel Valenzuela Quintanar

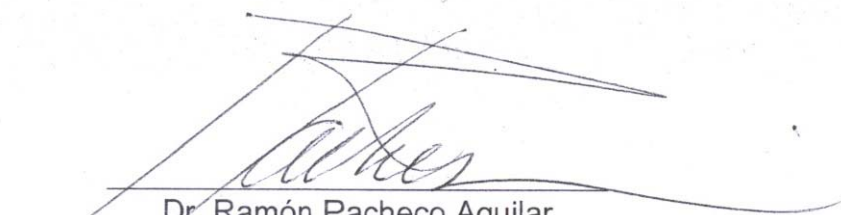


M.S.P. María del Socorro Saucedo Tamayo

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director del Centro de investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C.).

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis deberá dar los créditos al CIAD, A.C., previa aprobación del manuscrito en cuestión de la directora de tesis.



Dr. Ramón Pacheco Aguilar
Director General

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por el apoyo económico brindado a este estudio.

A CIAD A. C., por contribuir en mi formación profesional.

A todas las mujeres que participaron en este estudio, mil gracias.

A la Dra. Graciela Caire, por su apoyo y confianza, además por ser un gran ejemplo como persona a seguir. Al comité de tesis: Dra. Isabel Ortega, Dra. Ana Isabel Valenzuela y M. S. P. Socorro Saucedo, gracias por toda la ayuda y consejos brindados para la elaboración de este trabajo.

Al laboratorio de residuos tóxicos de la Coordinación de Ciencias de los Alimentos por el préstamo del equipo HPLC-MS. A la M. C. Patricia Grajeda, M.C. María del Refugio Robles y a la M.C. Lourdes Gutiérrez por el apoyo técnico recibido y por el apoyo con el cromatógrafo.

A todas las personas que de alguna manera colaboraron con el estudio. A la M. S. P. Alma Delia Contreras, por el apoyo técnico brindado y por siempre estar disponible para nosotras. A la Q. B. Diana Luna por ser una parte importante en el trabajo de campo. Al Q.B. René Valenzuela y al M.C. José Ponce. Al personal de biblioteca Luis Conde y Fernando Leyva. Al personal de computo José Luis Aguilar y Martín Peralta, por ayudarse siempre. Y al señor Héctor Cota, por su ayuda y amabilidad.

A todos mis compañeros de generación por ser para mí grandes amigos, con los cuales pasé momentos muy divertidos, en especial a Nidia Valenzuela. Agradezco a Karina Chávez y a Susana Palma, porque juntas formamos un gran equipo de trabajo y por ayudarme en todo momento.

Agradezco a mis papas Ricardo Campa y María de los Ángeles Siqueiros, a mis

hermanos Diana, Ricardo y Azael, a mi hermosa niña Paola Sofía y a mi esposo, Manuel por ayudarme en todo momento y soportar mis malos ratos. Los amo.

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo a toda mi familia. A mis papas Ricardo y María, por siempre apoyarme en todo lo que necesito y por ser grandes ejemplos a seguir.

De manera especial dedico este logro a mis más grandes amores, a mi niña hermosa Paola Sofía y a mi esposo Manuel de Jesús, por ser para un motivo para seguir adelante, por pasar con ustedes los momentos más felices de mi vida y por ser las más lindas bendiciones que me ha mandado Dios. También les pido perdón si los descuidé en algún momento.

CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE TABLAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN GENERAL.....	1
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	2
ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN.....	5
Fitoestrógenos.....	5
Definición.....	5
Tipos de fitoestrógenos y metabolismo.....	5
Principales alimentos aportadores.....	7
Actividad estrogénica y antioxidante.....	8
Fitoestrógenos y Posibles Efectos en la Salud.....	10
Síntomas de la menopausia.....	10
Osteoporosis.....	11
Enfermedades cardiovasculares.....	12
Cáncer de mama.....	13
Importancia y Evaluación del Consumo de Fitoestrógenos.....	16
Frecuencia de consumo de alimentos (FCA).....	17
Recordatorio de 24 horas (R 24 h).....	18
Calibración de encuestas dietarias.....	19
Asociación entre el método de FCA y el R 24 h para la estimación de la ingestión de fitoestrógenos.....	20
Ingestión de Fitoestrógenos a Nivel Mundial y en México.....	22
Análisis de Fitoestrógenos en Alimentos por HPLC-MS.....	26
HIPÓTESIS.....	27
OBJETIVO GENERAL.....	27
OBJETIVO PARTICULARES.....	27
BIBLIOGRAFIA.....	29

CAPITULO I	38
RESUMEN.....	39
INTRODUCCIÓN.....	40
SUJETOS Y MÉTODOS.....	42
Participantes y Marco Muestral.....	42
Cuestionario de Información General.....	43
Evaluación Antropométrica.....	43
Peso corporal.....	43
Talla.....	44
Índice de masa corporal (IMC).....	44
Evaluación Dietaria.....	44
Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos.....	45
Recordatorio de 24 horas.....	46
Análisis Estadístico.....	46
RESULTADOS.....	48
Consumo de Energía y Macronutrientes.....	49
Consumo Diario de Fitoestrógenos.....	51
Correlación entre FCA y R 24 h para la Estimación del Consumo de Fitoestrógenos.....	51
Principales Alimentos Aportadores de Isoflavonas, Lignanós y Cumes-trol.....	55
DISCUSIÓN.....	58
CONCLUSIÓN.....	64
BIBLIOGRAFIA.....	65
CAPÍTULO II	68
RESUMEN.....	69
INTRODUCCIÓN.....	70
MATERIALES Y MÉTODOS.....	72
Selección y Preparación de la Muestra.....	72
Determinación de Fitoestrógenos por HPLC-MS.....	72
Estandarización del Método de Análisis de Fitoestrógenos en Alimentos.....	75
Linealidad del Método.....	75

Aseguramiento de la Calidad de los Datos.....	76
Análisis Estadístico.....	76
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	78
Límites de Detección, Cuantificación y Porcentajes de Recuperación...	78
Alimentos más Consumidos y Análisis por HPLC-MS.....	82
CONCLUSIONES.....	100
BIBLIOGRAFÍA.....	101
LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO.....	105

LISTA DE TABLAS

	Pág.
ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	
Tabla 1. Ingestión diaria de fitoestrógenos en diferentes países.....	23
CAPITULO I	
Tabla 1. Características generales de la población de estudio (n=100).....	48
Tabla 2. Estimación de la ingestión de componentes dietarios a partir de R 24 h y de FCA.....	50
Tabla 3. Estimación del consumo de fitoestrógenos a través del R de 24 h y FCA ($\mu\text{g}/\text{día}$).....	52
Tabla 4. Coeficientes de correlación para la ingestión de fitoestrógenos entre FCA y R 24 h.....	54
Tabla 5. Rango de ingestión para la clasificación por cuartiles de consumo, según R 24 h y el cuestionario de FCA.....	56
Tabla 6. Nivel de correspondencia entre métodos dietarios para la clasificación en cuartiles de consumo.....	56
Tabla 7. Principales alimentos aportadores de isoflavonas, lignanos y cumestrol en la dieta de las mujeres del noroeste de México.....	57
CAPÍTULO II	
Tabla 1. Límites de detección y cuantificación del método de HPLC-MS para cada fitoestrógeno.....	79
Tabla 2. Porcentajes de recuperación obtenidos para cada uno de los fitoestrógenos analizados por HPLC-MS.....	80

Tabla 3. Principales alimentos consumidos según R 24 h y cuestionario de FCA.....	86
Tabla 4. Contenido de isoflavonas en frutas y verduras, expresados en $\mu\text{g}/100$ g de alimento comestible.....	88
Tabla 5. Contenido de isoflavonas en cereales, leguminosas, alimentos de origen animal y productos comerciales, expresados en $\mu\text{g}/100$ g de alimento comestible.....	90
Tabla 6. Contenido de lignanos y cumestrol en frutas y verduras, expresados en $\mu\text{g}/100$ g de alimento comestible.....	91
Tabla 7. Contenido de lignanos y cumestrol en cereales, leguminosas, alimentos de origen animal y productos comerciales, expresados en $\mu\text{g}/100$ g de alimento comestible.....	93
Tabla 8. Contenido de flavonas, flavonoles, estilbenos y fitoestrógenos totales en frutas y verduras, expresados en $\mu\text{g}/100$ g de alimento comestible.....	94
Tabla 9. Contenido de flavonas, flavonoles, estilbenos y fitoestrógenos totales en cereales, leguminosas, alimentos de origen animal y productos comerciales, expresados en $\mu\text{g}/100$ g de alimento comestible.....	96

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
ANTECEDENTES	
Figura 1. Estructura de algunos fitoestrógenos y comparación con el estradiol.....	6
Figura 2. Posibles funciones de los fitoestrógenos.....	10
CAPÍTULO II	
Figura 1. Cromatograma de una mezcla de fitoestrógenos a 2 $\mu\text{g/mL}$	81
Figura 2. Cromatograma de una muestra problema (jamón de pavo).....	82

RESUMEN GENERAL

Los fitoestrógenos son compuestos fenólicos que presentan una similitud con la hormona 17 β -estradiol, con lo cual pueden presentar actividad estrogénica y antiestrogénica, además de tener capacidad antioxidante. Es por estas propiedades, que se les ha relacionado con posibles efectos benéficos sobre el riesgo de enfermedades crónicas como las cardiovasculares y el cáncer, sin embargo, los resultados son contradictorios. Por lo tanto, calibrar los métodos dietarios y estimar el consumo de fitoestrógenos en diferentes poblaciones, podría aclarar de cierta manera el efecto de estos compuestos en la salud. Una limitación importante de los estudios donde se establece la relación entre ingestión de fitoestrógenos y salud, es la falta de información sobre el contenido de fitoestrógenos en los alimentos característicos de la dieta de cada población. Es por lo anterior, que el objetivo de este trabajo fue estimar el consumo de fitoestrógenos a través del cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos y de recordatorio de 24 horas en mujeres del noroeste de México, comparar los métodos dietarios, así como analizar el contenido de fitoestrógenos por HPLC-MS en los principales alimentos aportadores. Se entrevistó a 100 mujeres adultas aparentemente sanas del noroeste de México, se les aplicó un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos y un recordatorio de 24 horas y, para corregir el coeficiente de correlación por variación intra e interindividual, a una submuestra de 50 mujeres se les aplicó un segundo recordatorio. Se analizó un total de 39 alimentos, seleccionados en base a su frecuencia de consumo y su posible aportación de fitoestrógenos. El trabajo se presenta en dos capítulos, el primero aborda la ingestión de fitoestrógenos, la comparación entre métodos dietarios y los principales alimentos aportadores de fitoestrógenos. En el segundo capítulo, se muestran los resultados de la determinación de fitoestrógenos en alimentos por HPLC-MS. Por último, se describen las fortalezas y limitaciones del estudio.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Diversos estudios epidemiológicos indican que las menores tasas de incidencia y mortalidad por enfermedades crónicas en países de oriente en comparación con las de occidente, no solo se deben a factores genéticos sino también a factores relacionados con el estilo de vida, como es el caso de la dieta (Maskarinec *et al.*, 1998; Probst – Hensch *et al.*, 2000; Usui, 2006). En los países asiáticos, la dieta es baja en grasa saturada y alta en fitoestrógenos, los cuales pueden contribuir con este papel protector, debido a que se han relacionado con la disminución en el riesgo de enfermedades crónicas como el cáncer y enfermedades cardiovasculares (Torres *et al.*, 2000; de Kleijn *et al.*, 2001; Pérez *et al.*, 2004).

Los fitoestrógenos son compuestos con anillos fenólicos que se sintetizan en las plantas. Los principales fitoestrógenos son las isoflavonas, lignanos, cumestanos y estilbenos, los cuales se encuentran en alimentos como la soya, linaza y frijol, entre otros (Dixon *et al.*, 2004; Branca y Lorenzetti, 2005; Drago *et al.*, 2006). Poseen una ligera actividad estrogénica debido a la similitud estructural con el estradiol (Ronco y de Stefany, 1999), además de presentar capacidad antioxidante (Scalbert *et al.*, 2007).

Se ha estudiado el posible efecto de los fitoestrógenos sobre las enfermedades en humanos, sin embargo los resultados de estos estudios son contradictorios, ya que algunos han encontrado un efecto protector (Torres *et al.*, 2000; Atkinson *et al.*, 2005a), mientras que otros no han observado algún efecto (Murkies *et al.*, 1995, Atteritano *et al.*, 2007). En este sentido, la estimación de la ingestión de fitoestrógenos en diferentes poblaciones resulta relevante, ya que aclararía aspectos importantes sobre los efectos de estos compuestos en la salud humana (Hernández *et al.*, 2009). Sin embargo, uno de los aspectos más difíciles de medir es la dieta, debido a la enorme variabilidad intraindividual en el consumo de los diferentes nutrimentos (Thompson y Subar,

2009).

Las encuestas alimentarias, como el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos y el recordatorio de 24 horas, son los métodos más utilizados para la medición de la ingestión dietaria, debido a que son técnicas relativamente rápidas y baratas (Martin-Moreno y Gorgojo, 2007). Sin embargo, dada la gran variabilidad en el consumo, es importante disponer de cuestionarios calibrados que se adapten a poblaciones específicas con diferentes contextos socioeconómicos, culturales y geográficos, que podrían tener una dieta muy diversa (Fraser, 2003; Kaaks, 2006). Así, los cuestionarios calibrados para medir la ingestión de fitoestrógenos, pueden proporcionar información más fidedigna y confiable acorde a cada región (Trinidad *et al.*, 2008).

La importancia que tiene la calibración de métodos dietarios para la estimación de la ingestión de fitoestrógenos en una región en específico, también cobra valor al contar con tablas de composición de alimentos completas, ya que ésta es una de las principales limitaciones de los estudios epidemiológicos (Bhakta *et al.*, 2006). Muchas de las bases de datos utilizadas son una compilación de valores encontrados en la literatura y están creadas con un limitado número de alimentos (McCabe-Sellers y Chenard, 2008; Pennington, 2008), además de que son determinados usando diferentes técnicas de laboratorio (Horn-Ross *et al.*, 2006). Adicionalmente, se tiene que los datos analíticos obtenidos en un país, no necesariamente serán relevantes para otro país (Padovani *et al.*, 2007). Lo cual dificulta establecer el impacto real los fitoestrógenos en la salud, especialmente en países en desarrollo (Galván *et al.*, 2007). Es por ello que resulta necesaria la generación de datos que complementen el tipo y niveles presentes de fitoestrógenos en alimentos propios de las diferentes regiones o países (Morales de León *et al.*, 2005).

Es por lo anterior y por el interés que este tema tiene en la actualidad, que con este trabajo se pretendió estimar el consumo de fitoestrógenos en

mujeres sanas del noroeste de México comparando dos metodologías dietarias, como son el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos y el recordatorio de 24 horas. Adicionalmente y dada la importancia de complementar y actualizar las tablas de composición de alimentos, se analizó el contenido de fitoestrógenos en los alimentos mayormente consumidos en la región sonorenses.

La información se presenta en dos capítulos. El primero aborda la ingestión de fitoestrógenos en la dieta de las mujeres en estudio, la comparación de los métodos de recordatorio de 24 horas y cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos para la determinación de fitoestrógenos, así como los principales alimentos aportadores de estos compuestos. En el segundo capítulo, se muestran los resultados de la determinación de fitoestrógenos, por HPLC-MS, realizados en 39 de los principales alimentos consumidos en la población. Asimismo en este capítulo se presentan los resultados y discusión en una misma sección, dado que para el tema de análisis de alimentos, la información se publica de esa manera. Por último, se describen las fortalezas y limitaciones del estudio.

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Fitoestrógenos

Definición

Los fitoestrógenos son compuestos fenólicos de origen vegetal que son activos biológicamente y presentan una estructura similar al 17 β -estradiol (Duncan, 2003; Sirtori *et al.*, 2005). La definición general de fitoestrógenos, según la Food Standards Agency (2003), es cualquier planta, sustancia o metabolito que induce respuestas biológicas en vertebrados y que puede mimetizar o modular las acciones de los estrógenos endógenos, usualmente por unirse a los receptores de estrógenos. En la figura 1, se muestra una comparación de algunos de los fitoestrógenos con el estradiol.

Tipos de fitoestrógenos y metabolismo

Los fitoestrógenos se encuentran naturalmente en las plantas en forma glicosilada, conjugada con glucosa u otros carbohidratos (inactiva) (Patisaul y Jefferson, 2010). Después de ingerirlos, pierden su glucosa mediante la acción enzimática de bacterias de la microflora del intestino delgado, pero también esta hidrólisis sucede en el colon y en el hígado (Cassidy *et al.*, 2000). Al deglicosilarse los fitoestrógenos se activan, se absorben e ingresan a la circulación enterohepática. En el hígado se vuelven a conjugar pudiendo ser excretados por la bilis (López, 2002). Una vez excretados, volverán a perder la glucosa por medio de la flora intestinal, se reabsorberán y reconjugarán nuevamente por el hígado y, finalmente, excretados en la orina (Tracy *et al.*, 2005).

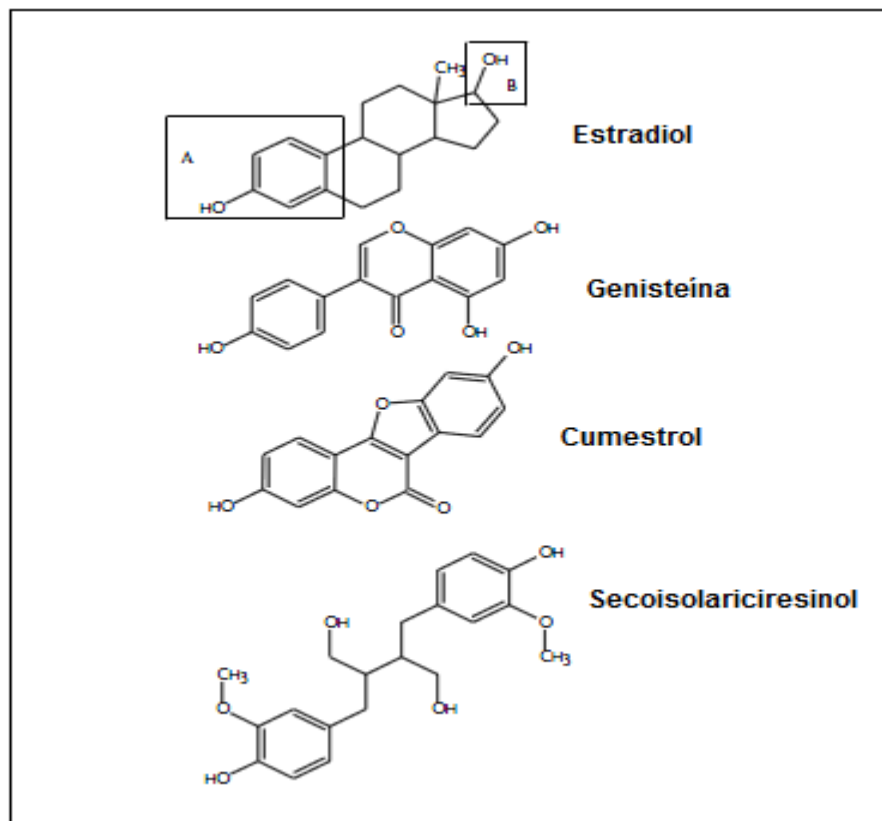


Figura 1. Estructura de algunos fitoestrógenos y comparación con el estradiol.

Fuente: Food Estandar Agency, 2003.

De acuerdo con su estructura química, los fitoestrógenos pueden ser clasificados en 6 grupos principales: flavonoles, flavonas, isoflavonas, lignanos, cumestanos y estilbenos (Ronco y de Stefany, 1999). De todos ellos, los que más se han estudiado en la nutrición y salud, son las isoflavonas y los lignanos (Navarro, 2005).

Las isoflavonas son el grupo que presenta mayor actividad estrogénica (Setchell *et al.*, 2003). Los compuestos más importantes de este grupo son la genisteína, formononetina, gliciteína, biocanina A y daidzeína (Sfakianos *et al.*, 1997). La daidzeína se metaboliza a otras dos formas: ecuol, que presenta actividad estrogénica y O-desmetilangolensina, sin actividad estrogénica (Garrido

et al., 2003). Sin embargo, solo el 30% de los humanos pueden metabolizar daidzeína a ecuol (Atkinson *et al.*, 2005b).

Los lignanos son un grupo de compuestos que se encuentran formando la pared celular de los vegetales, conocida como lignina (Arts y Hollman, 2005). Los principales tipos de lignanos son secoisolariciresinol, matairesinol, pinosresinol, lariciresinol, y están presentes en gran variedad de vegetales (Pérez *et al.*, 2004). Estos carecen de actividad estrogénica por sí mismos, aunque secoisolariciresinol y matairesinol se transforman por la flora bacteriana en compuestos con actividad estrogénica, llamados enterodiol y enterolactona, respectivamente (Milder *et al.*, 2005).

Dentro de los flavonoles, los más importantes son la quercetina y el kaempferol. Y para el caso de las flavonas, los compuestos representativos son la luteolina y la naringenina (Manach *et al.*, 2004).

Principales alimentos aportadores de fitoestrógenos

Debido a que los fitoestrógenos se encuentran en una gran variedad de plantas, sus fuentes son muy diversas, siendo su concentración un factor determinante. Las isoflavonas están presentes en mayor cantidad en frijol de soya y en los subproductos de la soya como leche, harina y tofu (Cederrot *et al.*, 2009). Sin embargo, los factores ambientales como los cambios de temperatura y la exposición a la luz, afectan el contenido de isoflavonas en la soya. El contenido de isoflavonas sin procesamiento es de aproximadamente 1 mg/g de soya, con un rango de 0.4 a 2.4 mg/g (Dixon *et al.*, 2004).

Los lignanos se encuentran en mayor concentración en cereales como la linaza, el centeno, legumbres, verduras, frutas y en bebidas como el té, café y vino (Drago *et al.*, 2006). Las fuentes más abundantes de cumestanos

(cumestrol) son frijol, trébol, alfalfa y germen de soya, mientras que el resveratrol (estilbeno) se encuentra de manera natural en uva y vinos (Branca y Lorenzetti, 2005).

La principales fuente de flavonoles son la cebolla (1.2 g/kg de alimento fresco), el vino tinto y el té. En estos últimos, se encuentra en concentraciones mayores a 45 mg/L. Las flavonas, están en menores concentraciones en los alimentos, como las frutas y verduras, en comparación con los flavonoles (Manach *et al.*, 2004).

La estructura química de los fitoestrógenos determina su estabilidad durante el procesamiento de los alimentos (Wang *et al.*, 1990). Se ha observado una mayor pérdida para daidzeína en comparación con genisteína (Mathias *et al.*, 2006).

Según un estudio realizado por Milder y colaboradores (2005), en donde se analizó el contenido de fitoestrógenos en alimentos, los valores obtenidos de lignanos en vegetales hervidos fueron un 25% más bajo que en los crudos, mientras que en alimentos fritos fueron un 30% mayor. Afirman que el incremento en la concentración de lignanos en alimentos fritos puede explicarse por el decremento del contenido de humedad.

Actividad estrogénica y antioxidante

Los fitoestrógenos poseen capacidad para unirse a los receptores estrogénicos (RE) por su similitud con el 17- β -estradiol, debido a que también presentan un anillo aromático, grupos hidroxilo y naturaleza hidrofóbica, lo que les permite unirse al receptor (Kenneth *et al.*, 1999). El complejo ligando-receptor que se forma, es capaz de inducir actividad transcripcional (Hu y Aizawa, 2003). Sin embargo, la concentración requerida para inducir actividad

transcripcional es de 10^4 veces mayor para la genisteína que para el estradiol (Navarro, 2005).

La posición de los grupos hidroxilo en el anillo fenólico, el cual requiere para unirse a los receptores de estrógenos RE- α y RE- β , es un factor determinante en la habilidad para unirse a dichos receptores y activar el proceso de transcripción (Le Bail *et al.*, 2000). En comparación con el estradiol, el cual presenta afinidad similar con los RE- α , muchos de los fitoestrógenos tienen mayor afinidad por el RE- β (Lehmann *et al.*, 2005). Esto podría tener un efecto en la diferenciación de tumores en mama, ya que la expresión del RE- β es indicativo de tumores benignos, mientras que la expresión de RE- α es indicativo de tumores malignos y más agresivos (Shaaban *et al.*, 2003).

Los antioxidantes protegen a la célula de daños oxidativos y por lo tanto, ayudan a disminuir el riesgo de padecer enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo (Kehrer y Smith, 1994). Al ser polifenoles, el grupo fenólico de los fitoestrógenos puede aceptar un electrón, de esta manera neutraliza los radicales libres que pueden causar daños a los componentes de la célula, como los lípidos y el DNA (Scalbert *et al.*, 2007). Dentro de los fitoestrógenos, la genisteína y el resveratrol tienen mayor capacidad antioxidante, además de tener propiedades antiinflamatorias (Robb *et al.*, 2008).

Debido a la capacidad antioxidante y a la afinidad del los fitoestrógenos por el receptor de estrógenos, estos compuestos pueden presentar efectos en sistemas regulados por estrógenos incluidos el cardiovascular, metabólico, esquelético y el sistema nervioso central (Cederroth *et al.*, 2009). En la figura 2, se muestra un resumen de las posibles funciones de los fitoestrógenos.

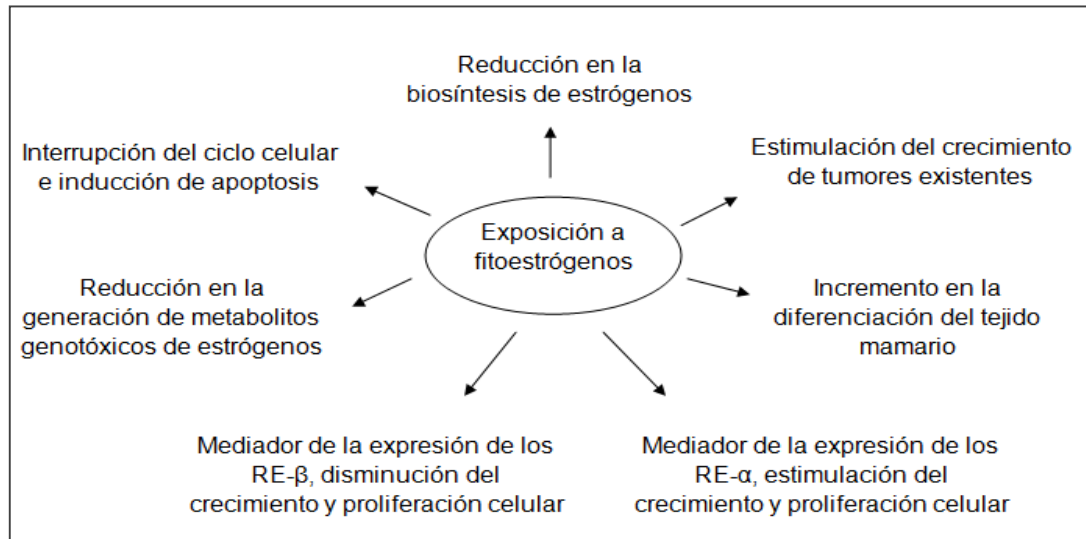


Figura 2. Posibles funciones de los fitoestrógenos.

Fuente: Mense y colaboradores, 2008.

Fitoestrógenos y Posibles Efectos en la Salud

Los estudios epidemiológicos han comprobado que una dieta rica en alimentos de origen vegetal protege de enfermedades degenerativas como el cáncer y enfermedades cardiovasculares. Estos alimentos contienen fibra, vitaminas y minerales, entre otros nutrientes (Torres *et al.*, 2000). Además, contienen fitoestrógenos, compuestos que se han estudiado ampliamente en los últimos años debido a sus posibles efectos benéficos sobre los síntomas de la menopausia y enfermedades crónicas como la osteoporosis, las enfermedades cardiovasculares y el cáncer de mama (Manach *et al.*, 2005, Patisaul y Jefferson, 2010).

Síntomas de la menopausia

El primer efecto benéfico del consumo de fitoestrógenos fue el alivio de

los síntomas de la menopausia como los bochornos y las sudoraciones nocturnas (Patisaul y Jefferson, 2010). Sin embargo, los estudios realizados en cuanto a los efectos de las isoflavonas en la reducción de los bochornos en mujeres post-menopáusicas son controversiales. Mientras que algunos autores no reportan efecto del consumo de harina de soya (Murkies *et al.*, 1995), otros mencionan una reducción de bochornos significativa al consumir diariamente proteína de soya conteniendo 76 mg (Albertazzi *et al.*, 1998) o 100 mg de isoflavonas (Han *et al.*, 2002).

Un estudio realizado por Nikander y colaboradores (2003) en mujeres, evaluó los efectos del consumo diario de isoflavonas en los síntomas climatéricos y en la calidad de vida de pacientes con historial de cáncer de mama. Para lo cual, un total de 56 mujeres fueron asignadas aleatoriamente a dos tratamientos, uno en donde se consumieron por 3 meses tabletas de 114 mg de isoflavonas y el segundo solo placebo. Después de un periodo de lavado de 2 meses, se invirtieron los tratamientos entre los dos grupos, terminando los 2 tratamientos. Se midió el impacto del consumo de isoflavonas en los síntomas de la menopausia, la capacidad de trabajo y cambios de humor. Como resultado obtuvieron que el consumo de fitoestrógenos no representó un impacto benéfico significativo. Sin embargo, según la percepción de cada mujer, el 56% de las mujeres prefirió el tratamiento con isoflavonas, 15% placebo y el resto no presentó preferencia.

Osteoporosis

Los estrógenos ayudan a mantener la densidad mineral del hueso, y se ha hipotetizado que los fitoestrógenos pueden conferir efectos similares (Patisaul y Jefferson, 2010). Por lo tanto, los fitoestrógenos pueden ejercer efectos osteoprotectores, ya que pueden igualar la función de los estrógenos e

impedir la resorción (Ishimi *et al*, 1999; Picherit *et al*, 2001), así como estimular la formación de hueso (Fanti *et al*, 1998). Otros estudios han indicado que los fitoestrógenos pueden modular la formación y activación de los osteoclastos (Viereck *et al*, 2002).

Un estudio realizado por Yamori y colaboradores (2002) en mujeres postmenopáusicas, encontró que las mujeres que consumían mayores productos de soya (clasificadas en el quintil de consumo más alto) presentaron mayor densidad ósea en la espina femoral y/o lumbar, en comparación con las que consumieron menores cantidades de alimentos derivados de la soya (quintil de consumo más bajo).

En un estudio de tipo experimental (aleatorio, doble ciego, y controlado con placebo) realizado por Atkinson y colaboradores (2005a), se suplementó diariamente por un año a mujeres de 49 a 65 años con una dosis de isoflavonas consistente en 26 mg de biocanina A, 16 mg de formononetina, 1 mg de genisteína, y 0.5 mg de daidzeína. Como resultado obtuvieron que las pérdidas de minerales del hueso de la espina lumbar y de la densidad mineral del hueso fueron significativamente menores ($p < 0.04$ y $p < 0.03$, respectivamente) en las mujeres que tomaron el suplemento en comparación con las que tomaron el placebo.

Enfermedades cardiovasculares

Algunos estudios reportan que los estrógenos ejercen efectos favorables sobre las lipoproteínas, los factores de coagulación y sobre el perfil de lípidos, además de tener efecto protector sobre las paredes arteriales, entre las cuales estaría la producción de moléculas vasoactivas, tales como óxido nítrico y prostaglandinas (Darblade *et al*, 2002; Pendaries *et al*, 2002). Se ha propuesto que los fitoestrógenos actúan como agonistas estrogénicos, pudiendo producir

efectos similares.

Es por su actividad antioxidante, que las isoflavonas pueden proteger de la oxidación al colesterol LDL, ejerciendo así un efecto preventivo ante la aterosclerosis (de Kleijn *et al.*, 2001). Sin embargo, el efecto beneficioso de los fitoestrógenos en la modificación de los niveles del colesterol sérico aún no ha sido demostrado en ensayos clínicos.

En un estudio realizado por Atteritano y colaboradores (2007), en donde se administró genisteína (54 mg/d) a un grupo de mujeres adultas italianas (n=198) y al grupo control se le dio placebo (vitamina D y calcio), se concluyó que, después de un año, la suplementación con genisteína (aunado a una vida saludable) bajaba los niveles de fibrinógeno y tuvo un pequeño impacto en los niveles de colesterol LDL y HDL, aunque los resultados no fueron significativos para los últimos.

En un meta-análisis realizado por Sacks y colaboradores (2006), se afirma que solo hay una pequeña reducción en los niveles de colesterol LDL en estudios de intervención con soya en animales y humanos. La reducción más significativa en los niveles de colesterol LDL es de menos del 3% y solo se presentó en individuos con altos niveles de colesterol que reemplazaron una porción de proteína animal con soya, consumiendo de esta manera de 40 a 318 mg de isoflavonas por día. Además, concluyen que no hay efecto significativo del consumo de soya en el colesterol HDL, triglicéridos y Lipoproteína (a).

Cáncer de mama

Las tasas de mortalidad por cáncer de mama en México, varían entre 3.5 y 13.4 por 100,000 habitantes, las cuales se concentran de manera diferencial entre el norte y el sur del país, siendo mayor la mortalidad en el norte (Registro

histopatológico de neoplasias malignas, 2002). Asimismo, el patrón dietético es contrastante en ambas regiones. Los estados del Norte se caracterizan por un alto consumo de grasa de tipo animal y alcohol, aunado a un bajo consumo de frutas y verduras, comparados con los del sur (Galván *et al.*, 2007b).

Está bien establecido que una mayor exposición a estrógenos (menarquía temprana, corto periodo de lactancia o nuliparidad) aumentan el riesgo de cáncer de mama, y debido a que los fitoestrógenos se unen al receptor de estrógenos, se ha hipotetizado que pueden aumentar el riesgo y la recurrencia de cáncer de mama (Patisaul y Jefferson, 2010). Por otro lado, también se ha establecido un posible efecto protector de los fitoestrógenos porque reemplazan a los estrógenos en dichos receptores (Kenneth *et al.*, 1999). Otras investigaciones han postulado que los fitoestrógenos tienen diferentes efectos en la proliferación celular, dependiendo de la concentración en que se encuentren, estimulando el crecimiento a bajas dosis e inhibiendo a altas dosis ($>10 \mu\text{M}$) (Schmitt *et al.*, 2002; Rice & Whitehead, 2006; Mense *et al.*, 2008). Esto podría explicar las bajas tasas de incidencia de cáncer de mama reportadas para Asia, en donde el consumo de fitoestrógenos es elevado (Adlercreutz *et al.*, 2002; Maskarinec *et al.*, 1998).

Algunos estudios han afirmado que cuando los pobladores de países asiáticos migran a países occidentales y adoptan la dieta característica de esta población, aumenta en ellos el riesgo de cáncer de mama (Dai *et al.*, 2001; Shu *et al.*, 2004). Lo cual sugiere que el estilo de vida, incluyendo cambios en la dieta y en la ingestión de fitoestrógenos, podrían explicar este aumento en el riesgo (Probst – Hensch *et al.*, 2000; Usui, 2006).

Varios estudios epidemiológicos han explorado el papel de los fitoestrógenos en el riesgo de cáncer de mama, sin embargo, los resultados han sido inconsistentes; mientras que unos estudios no han reportado ninguna relación (Horn-Ross *et al.*, 2000; Zheng *et al.*, 1999), otros indican un efecto

protector del consumo de fitoestrógenos sobre el riesgo de la neoplasia (Cotterchio *et al.*, 2008; Yamamoto *et al.*, 2004).

A nivel enzimático, los fitoestrógenos pueden ejercer un efecto protector en el inicio y progresión del cáncer mamario. Estos compuestos influyen en el metabolismo de procarcinógenos mediante la modulación de la expresión de la enzima citocromo P450 responsable de la activación de carcinogénesis (Suschetet *et al.*, 1997). Al mismo tiempo, los fitoestrógenos inhiben la actividad de ornitina descarboxilasa, enzima clave en la síntesis de poliaminas asociadas a la proliferación celular (Scheider *et al.*, 2000). Adicionalmente tienen efecto en la estimulación del DNA para su reparación, limitando la formación de células malignas (Yang *et al.*, 2001).

Las isoflavonas y los lignanos son inhibidores de la aromatasa, que es una enzima clave en la conversión de andrógenos a estrógenos. Esta enzima se sobreexpresa en un 60% más en los casos de carcinomas mamaros (Le Bail *et al.*, 2000, Lacey *et al.*, 2005, Rice y Whitehead, 2006). También se ha observado que inhiben la angiogénesis y la metástasis, además de inducir la apoptosis de las células tumorales, reduciendo el crecimiento de tumores (Schmidt *et al.*, 2005).

Algunas investigaciones realizadas en mujeres pre y postmenopáusicas demostraron que las isoflavonas aumentan la metabolización de los estrógenos a C-2-hidroxiestróna, reduciendo la concentración de C-16-hidroxiestróna (Xu *et al.*, 2000). En estudios realizados en mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama se ha encontrado una baja relación C-2 hidroxiestróna/C-16 hidroxiestróna (Kabat *et al.*, 1997). Esto es importante porque un aumento del cociente C-2/C-16 conlleva a una reducción del riesgo de cáncer mediado por estrógenos (Cóppola *et al.*, 2005).

En México, existen pocas investigaciones donde se ha evaluado el posible efecto del consumo de alimentos característicos de la dieta mexicana

sobre el riesgo de cáncer de mama. Un estudio realizado por Torres y colaboradores (2000), evaluó la ingestión de fitoestrógenos en mujeres del sur del país y su relación con el riesgo de cáncer mamario. Como resultado obtuvieron un efecto protector del consumo de más de una rebanada de cebolla al día, con una razón de momios (RM) de 0.27 (IC al 95%=0.16-0.47).

Importancia y Evaluación del Consumo de Fitoestrógenos

Diversas investigaciones epidemiológicas de diseño caso control y de cohorte en población asiática, han demostrado una reducción en el riesgo de cáncer de mama con el consumo de fitoestrógenos (Dai *et al.*, 2001; Yamamoto *et al.*, 2004). Sin embargo, la evidencia científica sobre los beneficios de estos compuestos en países de occidente es limitada e inconsistente (Keinan-Boker *et al.*, 2004; Torres *et al.*, 2000). Por lo antes mencionado, es necesario contar con métodos que nos permitan medir la exposición o el consumo de fitoestrógenos de manera exacta y precisa, sobre todo en poblaciones en donde el consumo de soya es bajo, por lo que, la fuente de fitoestrógenos proviene de otro tipo de alimentos, como es el caso de las poblaciones de occidente.

Como alternativa para estimar los niveles de fitoestrógenos en el cuerpo, diversos estudios epidemiológicos han utilizado biomarcadores como el suero (Pietinen *et al.*, 2001) y la orina de 24 horas (Ingram *et al.*, 1997). Sin embargo, debido al corto tiempo de vida (usualmente entre 72 y 96 h), los biomarcadores no necesariamente representan la ingestión habitual de fitoestrógenos, además de que son afectados por factores como la microflora intestinal, uso de antibióticos, factores genéticos que tienen influencia en su metabolismo y por el sexo (Bhakta *et al.*, 2005). Por lo tanto, las encuestas alimentarias, como el método de frecuencia de consumo de alimentos (FCA) y el recordatorio de 24 horas (R-24 h), son métodos factibles para la medición del consumo de alimentos en la población, porque es la forma más directa, rápida y barata

(Martin-Moreno y Gorgojo, 2007). Sin embargo, dado que nos enfrentamos a la evaluación de un comportamiento, no existe un método dietario que pueda evaluar la dieta sin error (Cade *et al.*, 2003).

Frecuencia de consumo de alimentos (FCA)

El cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (FCA) es una de las herramientas más utilizadas en estudios epidemiológicos donde se desea establecer la asociación entre salud y dieta o componente dietario, además de que puede aplicarse a un gran número de sujetos como lo requieren las investigaciones epidemiológicas (Bhakta *et al.*, 2005).

El FCA consiste en un listado de alimentos que sirve para cuestionar al entrevistado acerca de la frecuencia de consumo de cierto alimento durante un periodo determinado, ya sea al año, mes, semana o diario, así como la cantidad consumida y estimada (Cade *et al.*, 2003, Suverza *et al.*, 2004). Este método tiene como objetivo conocer el consumo de diferentes grupos de alimentos en el pasado, lo cual permite conocer los hábitos alimentarios del sujeto (Thompson y Subar, 2009).

Una parte crucial en la elaboración del FCA es el listado de alimentos, por lo que contar con información previa acerca de la dieta de la población nos puede ayudar a identificar alimentos comúnmente consumidos, así como recetas para poder incluirlas en el cuestionario (Tsubono *et al.*, 1996).

En cuanto al hecho de preguntar sobre el consumo de un grupo de alimentos o por un alimento en específico, Serdula y colaboradores (1992) concluyen que hay una subestimación al preguntar por grupos de alimentos, mientras Krebs-Smith y colaboradores (1995) afirman que el interrogar por algún alimento en particular tiende a proporcionar una ingestión sobreestimada. Según una revisión realizada por Cade y colaboradores (2003), el número de alimentos

que componen un FCA debe estar dentro de un rango de 5 a 350, con una mediana de 79.

Dentro de las ventajas del método de FCA está que permite clasificar a la dieta de los individuos de acuerdo a su nivel de ingestión de nutrientes en categorías de consumo (Cade *et al.*, 2003), además de que permite disminuir los sesgos asociados a la variabilidad intraindividual, así como la influencia estacional (Tee *et al.*, 2004; Harrison *et al.*, 2004).

Recordatorio de 24 horas (R 24 h)

Este método cuantitativo es una excelente alternativa para evaluar el consumo actual de nutrimentos de la persona si se aplica en ocasiones repetidas. El recordatorio de 24 horas consiste en registrar todos los alimentos y bebidas que el sujeto consumió durante las 24 horas previas a la entrevista. Para ayudar a recordar y cuantificar la cantidad de alimentos consumidos, se muestran modelos de plástico y de cartón de alimentos, así como utensilios de cocina previamente identificados con su capacidad de peso y de volumen (Linnuson *et al.*, 1974; Lechting *et al.*, 1976).

Debido a que los alimentos consumidos durante las últimas 24 horas no reflejan el consumo usual de una persona, la aplicación de dichos cuestionarios en dos o más ocasiones (no consecutivas) puede evaluar el consumo usual del individuo. Para corregir la estimación de la ingestión habitual de alimentos de una población a partir de recordatorios de 24 horas, se requiere estimar los coeficientes de variación intra e inter-individual a partir de métodos estadísticos diseñados con ese propósito. Un mínimo de dos recordatorios no consecutivos, nos permite estimar dicha variación (Thompson y Subar, 2009).

El método de recordatorio de 24 horas puede realizarse mediante

entrevista personal, por teléfono o de forma automatizada, en programas informáticos realizados para tal efecto. El propio programa de cómputo va recordando a la persona entrevistada la información que debe proporcionar sobre el recordatorio de 24 horas que se está realizando (González *et al.*, 2009; Monteiro *et al.*, 2008).

La ventaja del recordatorio de 24 horas es que puede aplicarse a personas analfabetas, con diversos grados de estado cognitivo. Por esto, el método es utilizado cuando se desea valorar la dieta de familias de diversos grupos sociales y económicos (Holmes *et al.*, 2007).

Al igual que cualquier método dietario, el recordatorio de 24-h no está exento de subestimar o sobreestimar la ingestión. Un estudio realizado por Kesgles y colaboradores (1995) en población estadounidense, determinó una subestimación del 31% en el total de energía consumida, mientras que Pryer y colaboradores (1997) calcularon una subestimación del 29% para el caso de mujeres adultas británicas. De igual manera, Lares y colaboradores (2011) afirma que existe una subestimación en las cantidades de alimentos ingeridos al utilizar el recordatorio de 24 horas, ya que al evaluar los indicadores dietéticos en la población adulta de Venezuela, se encontró una dieta con deficiencia en la adecuación calórica, clasificándose como dieta hipocalórica. Esto representa cierta contradicción con los resultados observados en la parte antropométrica, donde claramente se establece que la mayoría de los sujetos posee sobrepeso u obesidad. Por otro lado, se ha observado que la probabilidad de que un sujeto subestime las cantidades de alimentos consumidos se incrementa junto con el índice de masa corporal (IMC) (Polusna *et al.*, 2009).

Calibración de encuestas dietarias

La evaluación de la dieta en poblaciones grandes puede ser costosa y complicada, pero es necesaria en epidemiología. El instrumento más práctico

para evaluar la dieta es el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (FCA) (Jaceldo-Siegl *et al.*, 2008), por lo tanto, es importante evaluar el grado en el que el cuestionario puede estimar la ingestión verdadera (Willet, 1998). Debido a que la medición del error asociado al cuestionario puede atenuar la relación entre dieta y riesgo de presentar alguna enfermedad, la validación del método es un paso esencial en el diseño de cualquier estudio nutricional epidemiológico (Fraser, 2003; Kaaks, 2006). Esto implica la comparación de resultados obtenidos del cuestionario con un método superior, el cual es libre de errores (estándar de oro). Sin embargo al tratar de medir la dieta, definida como un comportamiento, no existe un método o encuesta dietaria libre de error sistemático. Es por esto que surge el término calibración, el cual se refiere al proceso en el cual se comparan los resultados de un método relacionado cuantitativamente con los valores obtenidos con otro método superior, considerado como referencia o estándar (Willet, 1998). Al contar con cuestionarios calibrados para medir la ingestión de un determinado componente dietario o la dieta en general, los resultados obtenidos podrán ser más confiables (Paul *et al.*, 2005; Trinidad *et al.*, 2008).

Una manera de calibrar un FCA para una población en específico es comparar los resultados obtenidos con un método de referencia, como el recordatorio de 24 horas (National Cancer Institute, 2007), estimando la asociación entre ambos métodos, mediante el cálculo de los coeficientes de correlación.

Asociación del método de FCA con el R 24 h para la estimación de la ingestión de fitoestrógenos. Tanto el FCA como el recordatorio de 24 h, se ha utilizado en estudios epidemiológicos para evaluar el consumo de fitoestrógenos en una determinada población (Milder *et al.*, 2005; Cotterchio *et al.*, 2007; Galván *et al.*, 2007; Yamamoto *et al.*, 2004; Surh *et al.*, 2006). Sin embargo, dada la

importancia de contar con métodos calibrados para estimar el consumo de fitoestrógenos en la población, diversos estudios han calibrado el FCA para dicho propósito.

Para estimar la ingestión de proteína de soya, Jaceldo-Siegl y colaboradores (2008) utilizaron como método de referencia el recordatorio de 24 horas, aplicando 6 recordatorios en dos distintas ocasiones del año y en diferentes días de la semana en 100 hombres y mujeres de Estados Unidos y Canadá. El coeficiente de correlación crudo (95% CI) entre la estimación obtenida por el FCA y por el recordatorio de 24 horas fue de 0.67 (0.46-0.81), e incrementó a 0.88 (0.57-1.00) después del ajuste por atenuación con los coeficientes de variación intraindividual, obtenidos a partir de los recordatorios de 24 horas aplicados. Los autores concluyeron que el FCA es un instrumento válido para la evaluación del consumo de proteína de soya en una población con un intervalo muy amplio de consumo de soya.

En un estudio donde se analizó la ingestión de productos de soya en mujeres de Shanghai, se calibró el método de FCA por medio del recordatorio de 24 horas. Los coeficientes de correlación de Spearman entre la ingestión derivada del FCA y el promedio obtenido por recordatorio de 24 horas fueron 0.59–0.66 para macronutrientes, 0.41–0.59 para micronutrientes, 0.41 para productos de soya y 0.41–0.66 para otros grupos de alimentos (Shu et al., 2004). Como conclusión, los autores afirman que el FCA desarrollado mide de forma fiable y precisa la ingestión habitual de los principales nutrientes y grupos de alimentos (soya) entre las mujeres de Shanghai.

Bhakta y colaboradores (2005), realizaron un estudio donde calibraron un FCA para estimar la ingestión de fitoestrógenos en mujeres provenientes del sur de Asia que radicaban en el Reino Unido. A un total de 108 mujeres sanas se les aplicó un recordatorio de 24 horas cada mes por un periodo de un año, y al término del mismo completaron el FCA. Según los resultados obtenidos, el

FCA produjo una estimación ligeramente mayor en comparación con el recordatorio de 24 horas (476 vs. 304 μ /día respectivamente), tomando solo en cuenta el consumo de daidzeína, genisteína, secoisolariciresinol y matairesinol. Los coeficientes de correlación de Spearman ajustados por energía entre ambos métodos fueron de 0.55 para genisteína, 0.60 para daidzeína, 0.70 para secoisolariciresinol, y 0.63 en el caso del matairesinol ($p < 0.001$). Dichos autores concluyen que el cuestionario de FCA diseñado es una herramienta relativamente válida para estimar el consumo de fitoestrógenos en mujeres del Sur de Asia que radican en el Reino Unido.

Un estudio realizado en el 2006 por Horn-Ross y colaboradores, calibró el cuestionario de FCA para la ingestión de fitoestrógenos en mujeres norteamericanas. Para esto, se obtuvieron los coeficientes de correlación entre los resultados obtenidos por el cuestionario de FCA y 4 recordatorios de 24 horas. Los coeficientes de correlación para los fitoestrógenos daidzeína, genisteína y secoisolariciresinol oscilaron entre 0.67 y 0.81. Para el resto de los fitoestrógenos, los valores variaron de 0.43 a 0.54. Resultados similares fueron obtenidos por Yamamoto y colaboradores (2001) en donde se calibró un FCA auto administrado para el consumo de isoflavonas, utilizando como referencia el método de registro dietario, obteniendo un coeficiente de correlación de Spearman, ajustado por energía, de 0.64. Estos resultados indican que el cuestionario de FCA es una alternativa para cuantificar la ingestión de fitoestrógenos.

Ingestión de fitoestrógenos a nivel mundial y en México

En general se ha observado que el consumo de fitoestrógenos varía entre las diferentes regiones. El consumo de isoflavonas en los países de occidente es significativamente menor debido al bajo consumo de soya y sus

productos derivados (Cotterchio *et al.*, 2007). La ingestión de genisteína no excede del 2 al 4% del total de fitoestrógenos dietarios en dichos países (Scalbert y Williamson, 2000).

Para la población japonesa se ha estimado un consumo de 18.3 mg/día y 31.4 mg/día para daidzeína y genisteína, respectivamente (Yamamoto *et al.*, 2004). Ingestiones menores se han reportado para la población coreana, ya que se ha observado un consumo de 23 mg/día para el total de isoflavonas y cumestrol (Surh *et al.*, 2006). En la tabla 1 se muestra la ingestión diaria de fitoestrógenos en países de Asia, Europa y América.

Tabla 1. Ingestión diaria estimada de fitoestrógenos en diferentes países.

Autores	Año	N	Población estudiada	Ingestión estimada de fitoestrógenos (mg/día)	
Surh <i>et al.</i>	2006	220	Corea	Total de isoflavonas y cumestrol	23.3
Mulligan <i>et al.</i>	2007	11 843	Inglaterra	Isoflavonas totales	< 1
				Mujeres	0.30-0.64
				Hombres	0.39-0.82
Boker <i>et al.</i>	2002	17140	Alemania	Total de isoflavonas	0.88
				Total de lignanos	1.11
Hernández <i>et al.</i>	2008	52	España	Total de isoflavonas	0.12
				Total de lignanos	1.32
De Kleijin <i>et al.</i>	2001	964	Estados Unidos	Total de isoflavonas	0.76
				Total de lignanos	0.64
Horn-Ross <i>et al.</i>	2000	447	América latina y Afroamérica	Total de isoflavonas	2.87
				Total de lignanos	0.18

Fuente: Hernández *et al.*, 2009.

En el caso de países europeos, en un estudio realizado en Holanda por Milder y colaboradores (2005), se estimó la ingestión de lignanos en un total de 4660 adultos de 15 a 97 años de edad. Para esto se aplicaron 2 recordatorios de 24 horas no consecutivos (entre semana y fin de semana). El consumo dietario de lignanos fue de 0.979 mg/día, donde lariciresinol y pinoresinol contribuyeron con el 75% del consumo total y el resto fueron secoisolariciresinol y matairesinol. Las principales fuentes de lignanos fueron las bebidas (37%), vegetales (24%), semillas (14%), pan (9%) y frutas (7%). No se encontraron diferencias entre hombres y mujeres.

Valores bajos de consumo de fitoestrógenos también son reportados para países de Norteamérica. La ingestión dietaria de fitoestrógenos en mujeres de Ontario, Canadá se estimó a partir de un estudio realizado por Cotterchio y colaboradores (2007). Se aplicó un cuestionario de FCA, con un listado de los principales alimentos que contienen fitoestrógenos y que son característicos de la dieta de los pobladores canadienses. Se tuvo como resultado una ingestión de 1.784 mg/día, con una contribución del 29% de isoflavonas y 71 % de lignanos.

El primer estudio de consumo de fitoquímicos en mujeres mexicanas, lo realizaron Galván y colaboradores (2007), en el Estado de Morelos. Se estimó la ingestión a través de cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos. El consumo de lignanos fue de 0.116 mg/día y 1.7 mg/día de cumestrol. Las principales fuentes de fitoestrógenos fueron el frijol, naranja, salsa picante, brócoli, manzana y cebolla. Una limitación que se menciona en este estudio, es que se utilizaron tablas de composición extranjeras (USDA flavonoid database, 2003), que no incluían el análisis de todos los tipos de fitoestrógenos o el análisis en todos los alimentos consumidos en la región estudiada.

Para la población femenina de Hermosillo, no hay información del consumo de fitoestrógenos, ni del contenido de éstos en los alimentos

característicos de la dieta regional. González (2008), determinó los alimentos principales que forman parte de la dieta de la población sonorense en general. De éstos, los que aportan fitoestrógenos son el frijol (75 g/día), tomate (19 g/día), papa (16 g/día), lechuga (14 g/día), manzana (28 g/día), arroz (25 g/día) y naranja (46 g/día), y utilizando las tablas internacionales que emplearon Galván y colaboradores (2007), se puede obtener un consumo aproximado de lignanos de 71.04 µg/día para esta población. Sin embargo, los datos del consumo de alimentos que podrían ser fuente importante de fitoestrógenos en esta población como el aguacate, jugo de naranja, pasta, salsa picante y cerveza, no están estimados.

Además de la importancia que tiene la validación de métodos dietarios para la estimación de la ingestión de fitoestrógenos en una región en específico, también cobra valor el contar con tablas de composición de alimentos completas. Esto resulta ser una de las principales limitaciones de los estudios epidemiológicos en donde el consumo de fitoestrógenos puede subestimarse o sobreestimarse (Bhakta *et al.*, 2006). Muchas de las bases de datos utilizadas son una compilación de valores encontrados en la literatura y están creadas con un limitado número de alimentos y usando diferentes técnicas de laboratorio (Horn-Ross *et al.*, 2006). Dado que en México no existe información del contenido de fitoestrógenos en los alimentos que se consumen en el país, los investigadores no tienen acceso al contenido de fitoestrógenos en esos alimentos y se ven obligados a escoger alimentos a partir de tablas de composición elaboradas en otros países. Es por eso que la estimación de la cantidad de fitoestrógenos provenientes de la dieta está limitada y es muy probable que presente un sesgo importante. De ahí que se requiere el establecimiento de bases de datos que incluyan la composición de fitoestrógenos en alimentos comúnmente consumidos en el país.

Análisis de Fitoestrógenos en Alimentos por HPLC-MS

Debido al enorme incremento en el estudio del impacto de los fitoestrógenos sobre la salud del humano, es necesario el desarrollo de nuevas técnicas exactas y precisas para el análisis cuantitativo de estos compuestos. Diversos métodos cromatográficos se han desarrollado, como cromatografía de capa fina y de columna abierta (Tsao y Deng, 2004; de Rijke *et al.*, 2006; citado por de la Rosa *et al.*, 2010), cromatografía de gases acoplado a masas (CG-MS), cromatografía líquida de alta resolución simple (HPLC, por sus siglas en inglés) (Franke *et al.*, 1994) acoplado a masas (HPLC-MS) (Milder *et al.*, 2005, Kuhnle *et al.*, 2007), y electroforesis capilar (Horie *et al.*, 2000). Además, se han descrito métodos no cromatográficos como inmunoensayos y radioinmunoensayos (Wang *et al.*, 2002).

La elección del método para determinar la concentración de fitoestrógenos depende de la sensibilidad necesaria, la complejidad de la matriz del alimento, la resolución, así como el aspecto económico (Wang *et al.*, 2002). Para su caracterización, el método de HPLC acoplado a diferentes técnicas de detección como UV-Visible, de arreglo de diodos (DAD) y espectroscopia de masas (LC-MS), son los métodos más utilizados (de la Rosa *et al.*, 2010). La rapidez, simplicidad, precisión y relativamente bajo costo del método, lo hacen factible para el análisis de una gran cantidad de muestras (Franke *et al.*, 1995).

En los alimentos, los fitoestrógenos están comúnmente conjugados con glucosa o con una mezcla de carbohidratos, impidiendo su análisis directo y requiriendo un paso adicional, la hidrólisis. Sin embargo, las isoflavonas son inestables bajo condiciones ácidas, por esto, se prefiere generalmente la hidrólisis enzimática, en donde son utilizadas celulasas, glucosidasas y glucoronidasas (Kunhle *et al.*, 2007).

HIPÓTESIS

La estimación de la ingestión de fitoestrógenos en mujeres adultas sanas del noroeste de México utilizando el método de frecuencia de consumo de alimentos se asociará con la estimada mediante recordatorio de 24 horas.

OBJETIVO GENERAL

Estimar el consumo de fitoestrógenos en mujeres adultas de la región noroeste de México, a través del cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos y el recordatorio de 24 horas y comparar ambos métodos dietarios, así como determinar el contenido de fitoestrógenos por HPLC-MS en alimentos comúnmente consumidos en la región.

OBJETIVOS PARTICULARES

Analizar, por medio de HPLC-MS, el contenido de fitoestrógenos en los principales alimentos aportadores de éstos en la dieta sonoreense, seleccionados con base a las encuestas dietarias aplicadas y a la información existente de estudios anteriores en la región.

Estimar la ingestión de fitoestrógenos en un grupo de mujeres adultas sanas de Hermosillo, Sonora, utilizando el recordatorio de 24 horas y el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos.

Evaluar la relación existente entre la ingestión de fitoestrógenos obtenida por el cuestionario de FCA y la determinada por recordatorio de 24 horas.

Complementar las tablas de composición de alimentos regionales con el análisis de fitoestrógenos en los alimentos seleccionados en este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

Adlercreutz H. 2002. Phyto-oestrogens and cancer. *Lancet Oncol* 3(6):364–373.

Albertazzi P, Pansini P, Bonaccorsi G, Zanotti L, Forini E, de Aloysio D. 1998. The effect of dietary soy supplementation on hot flushes. *Obstet Gynecol*;91:6–11.

Arts I and Hollman P. 2005. Polyphenols and disease risk in epidemiological studies. *Am J Clin Nutr*;81:317-325.

Atkinson C, Compston J, Day N, Dowsett M, Bingham S. 2005a. The effects of phytoestrogen isoflavones on bone density in women: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr*;79:326–33.

Atkinson C., Frankenfeld C, Lampe, J 2005b. Gut bacterial metabolism of the soy isoflavone daidzein: exploring the relevance to human health. *Exp Biol Med (Maywood)*;230:155–170.

Atteritano M, Marini H, Minuloti L, *et al.* 2007. Effects of the phytoestrogens genistein on some predictor of cardiovascular risk in osteopenic, postmenopausal women: a two-year randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Endocrinol & Metabol*;92(8):3068-75.

Bhakta D. dos Santos I, Higgins C, *et al.* 2005. A Semiquantitative Food Frequency Questionnaire Is a Valid Indicator of the Usual Intake of Phytoestrogens by South Asian Women in the UK Relative to Multiple 24-h Dietary Recalls and Multiple Plasma Samples. *J. Nutr*; 135: 116–23.

Bhakta D, Higgins CD, Sevak L, *et al.* 2006. Phyto-oestrogen intake and plasma concentrations in South Asian and native British women resident in England. *Brit J Nutr*;95:1150–58.

Branca F, Lorenzetti S. 2005. Health effects on phytoestrogens. *Forum of Nutrition*; 55:100-11.

Cade J, Thompson R, Burley V, Warm D. 2002. Development, validation and utilisation of food-frequency questionnaires – a review. *Public Health Nutr*: 5(4); 567–87.

Cassidy, A., Hanley, B., Lamuela-Raventos R. 2000. Isoflavones, lignans and stilbenes, origins, metabolism and potencial importante to human health. *J Science Food Agric*:80;1044-62.

Cederroth C, Nef S. 2009. Soy, phytoestrogens and metabolism: A review. *Mol Cell Endocrinol*;304:30-42.

Cóppola F, Nader J, Aguirre R. 2005. Metabolismo de los estrógenos endógenos y cáncer de mama. *Rev Med Uruguay*; 21: 15-22.

Cotterchio M, Boucher B, Kreiger N, Mills C, Thompson L. 2008. Dietary phytoestrogens intake-lignans and isoflavones-and breast cancer risk (Canadá). *Cancer Cause Control*;19:259–272. doi: 10.1007/s10552-007-9089-2.

Dai Q, Shu XO, Jin F, *et al.* 2001. Population-based case-control study of soyfood intake and breast cancer risk in Shanghai. *Br J Cancer*;85:372-78.

Darblade B, Pendaries C, Krust A, *et al.* 2002. Estradiol alters nitric oxide production in the mouse aorta through the alpha-, but not beta-, estrogen receptor. *Circ Res*;90:413-419.

Dixon R. 2004. Phytoestrogens. *Annu Rev Plant Biol*;55:225-261.

de la Rosa L, Álvarez A, González G. 2010. Fruit and vegetable phytochemicals. Ed. Wiley-Blackwell. Pp: 140-3.

de Kleijn M, van der Shouw Y, Wilson P, *et al.* 2001. Intake of dietary phytoestrogens is low in postmenopausal women in the United State: The Framingham Study. *J Nutr*;131;1826-32.

Drago M, Lopez M, Saenz T. 2006. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*;37(4):59-68.

Duncan, A. 2003. Phyto-estrogens. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*;17(2):253-71.

Fanti P, Monier-Faugere MC, Geng Z, *et al.* 1998. The phytoestrogen genistein reduces bone loss in short-term ovariectomized rats. *Osteoporos Int*;8:274-81.

Food Standard Agency. 2003. COT Report-Phytoestrogens and Health. Disponible; http://www.food.gov.uk/science/ouradvisor/toxicity/COTwg/wg_phyto

Franke A, Custer L, Cerna C, Narala K. 1995. Rapid HPLC analysis of dietary phytoestrogens from legumes and from human urine. *P Soc Exp Biol Med*;208(1):18-26.

Fraser G. 2003. A search for truth in dietary epidemiology. *Am J Clin Nutr*;78:521-25.

Galván-Portillo M, Flores A, Torres L, Hernández R, López L. 2007b. Consumo de Micronutrientos y Mortalidad por Cáncer Mamario en Mujeres Premenopáusicas Mexicanas. *Cancerología*; 2:345-50.

Galván-Portillo M, Wolff M, Torres L, López M, López L. 2007a. Assesing phytochemical intake in a group of Mexican women. *Salud Pública México*;49:126-131.

Garrido A, de la Maza M, Valladares L. 2003. Fitoestrógenos dietarios y sus potenciales beneficios en la salud del adulto humano. *Rev Méd Chile*; 131: 1321-28.

González S, Puig M, Perez-Potabella A, *et al.* 2009. Patrones alimenticios y valoración del estado nutricional en población adulta atendida en la atención primaria. Publicado el 1 de octubre del 2009. Internet:http://butlleti.camfic.org/Volum_26/TO/_Patrons_Alimentaris_Adults_AP_CAST.aspx.

González S. 2008. Cambios en el patrón de consumo de alimentos y su relación con el riesgo de enfermedades crónicas en la población sonorenses. Tesis de maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Pp.18-24.

Han K, Soares J, Haidar M, Rodríguez de Lima G, Baracat E. 2002. Benefits of soy isoflavone therapeutic regimen on menopausal symptoms. *Obstet Gynecol*;99:389-94.

Harrison G. 2004. Proceedings of the workshop on food-consumption surveys in developing countries: methodologic considerations in descriptive food-consumption surveys in developing countries. *Food Nutr Bull*; 25 (4):415-9.

Hernández J, Mariscal M, Rivas A, Feriche B, Velasco J, Olea F. 2009. Estimación de la ingesta de fitoestrógenos en población femenina. *Nutr Hosp*;24(4):445-51.

Holmes B, Dick K, Nelson M. 2007. A comparison of four dietary assessment methods in materially deprived households in England. *Public Health Nutr*;3:1-13.

Horn-Ross P, Barnes S, Lee V, Collins C, Reynolds P, Lee M, Stewart S, Canchola A, Wilson L, Jones K. 2006. Reliability and validity of an assessment of usual phytoestrogen consumption (United States). *Cancer Causes and Control*;17:85–93.

Horn-Ross PL, Lee M, John EM, Koo J. 2000. Sources of phytoestrogen exposure among non-Asian women in California, USA. *Cancer Causes Control*;11:299–302.

Horie H, Kohata K. 2000. Analysis of tea components by high-performance liquid chromatography and high-performance capillary electrophoresis. *J Chromatogr A*;881:425-38.

Hu J, Aizawa. 2003. Quantitative structure–activity relationships for estrogen receptor binding affinity of phenolic chemicals. *Water Research*;37:1213-22.

Ingram D, Sanders K, Kolybaba M, López D. 1997. Case-control study of phytoestrogens and breast cancer. *Lancet*; 350: 990-94.

Ishimi Y, Miyaura C, Ohmura M, *et al.* 1999. Selective effects of genistein, a soybean isoflavone, on B-lymphopoiesis and bone loss caused by estrogen deficiency. *Endocrinol*;140:1893-1900.

Jaceldo-Siegl K, Fraser G, Chan J, Franke A, Sabaté J. 2008. Validation

of soy protein estimates from a food-frequency questionnaire with repeated 24-h recalls and isoflavonoid excretion in overnight urine in a Western population with a wide range of soy intakes. *Am J Clin Nutr*;87:1422-7.

Kaaks R, Ferrari P. 2006. Dietary intake assessments in epidemiology: can we know what we are measuring?. *Ann Epidemiol*;16:377-80.

Kabat GC, Chang CJ, Sparano JA, Sepkovic DW, Hu XP, Khalil A, *et al.* 1997. Urinary estrogen metabolites and breast cancer: a case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 6(7): 505-9.

Kehrer J and Smith C. 1994. Free radicals in biology; sources, reactivities, and roles in the etiology of human disease. In; *Natural antioxidants*. 25.26. Frei, B., ed San Diego, Academic Press.

Keinan-Boker L, van Der Schouw YT, Grobbee DE, Peeters PH. 2004. Dietary phytoestrogens and breast cancer risk. *Am J Clin Nutr*;79:282– 8.

Kenneth D, Setchell I, Cassidy A. 1999. Dietary Isoflavones: Biological Effects and Relevance to Human Health. *J Nutr*;129:758S-67S.

Klesges RC, Eck LH, Ray JW. Who underreports dietary intake in a dietary recall?. 1995. Evidence from the Second National Health and Nutrition Examination Survey. *J Consult Clin Psychol.*; 63: 438–44.

Krebs-Smith S, Heimendinger J, Subar A, Patterson B, Pivonka E. 1995. Using food frequency questionnaires to estimate fruit and vegetable intake: association between the number of questions and total intakes. *J Nutr Educ*; 27: 80–5.

Kuhnle G, Dell'Aquila C, Low Y, Kussmaul M, Bingham S. 2007. Extraction and Quantification of Phytoestrogens in Foods Using Automated Solid-Phase Extraction and LC/MS/MS. *Anal Chem*;79:9234-39.

Lacey M, Bohday J, Fonseka S, Ullah A, Whitehead S. 2005. Dose-response effects on phytoestrogens on the activity and expression of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase and aromatase in human granulosa-luteal cells. *J Steroid Biochemistry and Molecular Biology*;96:279-86.

Lares M, Velasco Y, Brito S, Hernández P, Mata C. 2011. Evaluación del estado nutricional en la detección de factores de riesgo cardiovascular en una población adulta. *Revista Latinoamericana de Hipertensión*;6:8-13.

Le Bail J, Champavier Y, Chulia A, Habrioux G. 2000. Effects on phytoestrogens on aromatase 3 β and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase activities on MCF-7 human breast cancer cells. *Life Sciences*;66:1281-91.

Lechting A, Yarbrough C, Marterrel R, Delgado H, Klein E. 1976. The one day recall dietary survey: a review its usefulness to estimate protein and calories intake. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*:24(26):243-71.

Lehmann L, Esch HL, Wagner J, Rohnstock L, Metzler M. 2005.

Estrogenic and genotoxic potential of equol and two hydroxylated metabolites of daidzein in cultured human Ishikawa cells. *Toxicol Lett* 158(1):72-86.

Linnusson E, Sanjur D, Frickson F. 1974. Validating the 24 hours recall method as a dietary survey tool. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*;24(2):277-93.

Lopez T. 2002. Fitoestrógenos. *Fitoterapia*;8(21):136-40.

Maskarinec G, Singh S, Meng L, Franke A. 1998. Dietary soy intake and urinary isoflavone excretion among women from a multiethnic population. *Cancer Epidem Biomark*;7:613-19.

Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Rémésy C. 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr*;81:230-42.

Martin-Moreno JM, Gorgojo L. 2007. Valoración de la ingesta dietética a nivel poblacional mediante cuestionario individuales: sombras y luces metodológicas. *Rev Esp Salud Publica*; 81(5):507-18.

Mathias K, Ismail B, Corvalan C, Hayes K. 2006. Heat and pH effects on the conjugated forms of genistin and daidzin isoflavones. *J Agric Food Chem*;54 (20):7495–502.

McCabe-Sellers B, Chenard C. 2008. Meeting the needs of US dietitians for food composition data. *J Food Compos Anal*; 21: 27-34.

Mense S, Hei T, Ganju R, Bhat H. 2008. Phytoestrogens and breast cancer prevention: possible mechanisms of action. *Environmental Health Perspectives*; 116 (4): 426-43.

Milder I, Freskens, Arts I, *et al.* 2005. Intake of the plant lignans secoisolariciresinol, matairesinol, laraciresinol, and pinoreesinol in dutch men and women. *J Nutr*;135:1202-7.

Monteiro C, Moura E, Jaime P, Moreira R. 2008. Validity of food and beverage intake data obtained by telephone survey. *Rev Saúde Pública*;42(4).

Morales de León J, Bourges H, Camacho M. 2005. Amino acid composition of some Mexican Foods. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*; 55:1-12.

Murkies A, Lombard C, Strauss B, Wilcox G, Burger H, Morton M. 1995. Dietary flour supplementation decreases post-menopausal hot flashes: Effect of soy and wheat. *Maturitas*;21:189–95.

National Cancer Institute. 2007. Dietary Assessment Calibration/Validation Register. <http://appliedresearch.cancer.gov/cgi-bin/dacv/index.pl>.

Navarro M. 2005. Mecanismo de acción de las isoflavonas. *Ginecología y Obstetricia Clínica*; 6(3):159-65.

Nikander E, Kilkkinen A, MSc, Metsa-Heikkilä M, Adlercreutz H, Pietinen P, Tiitinen A, Ylikorkala O. 2003. A Randomized Placebo-Controlled Crossover Trial With Phytoestrogens in Treatment of Menopause in Breast Cancer Patients. *American College of Obstetricians and Gynecologists*;101(6):1213-20.

Padovani R, Lima D, Colugnati F, Rodriguez-Amaya D. 2007. Comparison of proximate, mineral and vitamin composition of common Brazilian and US foods. *J Food Compos Anal*; 20:733-38.

Patisaul H, Jefferson W. 2010. Review. The pros and cons of phytoestrogens. *Front Neuroendocrinol*,doi:10.1016/j.yfrne.2010.03.003.

Paul D, Rhodes D, Kramer M, Baer D, Rumpler W. 2005. Validation of a food frequency questionnaire by direct measurement of habitual ad libitum food intake. *Am J Epidemiol*;162: 806-14.

Pendaries C, Darblade B, Rochaix P, *et al.* 2002. The AF-1 activation function of ERalpha may be dispensable to mediate the effect of estradiol on endothelial NO production in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*;99:2205-2210.

Pennington J. 2008. Applications of food composition data: Data sources and considerations for use. *J Food Compos Anal*; 21:3-12.

Pérez O, Domínguez B, Zumbado P. 2004. Fitoestrógenos y cáncer. *Revista Biocancer*; 2.

Picherit C, Bennetau-Pelissero C, Chanteranne B, Lebecque P, Davicco MJ, Barlet JP, Coxam V. 2001. Soybean isoflavones dose-dependently reduce bone turnover but do not reverse established osteopenia in adult ovariectomized rats. *J Nutr*;131:723-28.

Pietinen P, Stumpf K, Mannisto S, Kataja V, Uusitupa M, Adlercreutz H. 2001. Serum enterolactone and risk of breast cancer: a case-control study in eastern Finland. *Cancer Epidemiol Biomark Prev*;10: 339-44.

Polusna K, Ruprich J, de Vries J, Jakubikova M, van't Veer P. 2009. Misreporting of energy and micronutrient intake estimated by foods records and 24-hour recalls, control and adjustment methods in practice. *Br J Nutr*;101(2):73-85.

Probst-Hensch NM, Pike MC, McKean-Cowdin R, Stanczyk FZ, Kolonel LN, Henderson BE. 2000. Ethnic differences in post-menopausal plasma oestrogen levels: high oestrogen levels in Japanese-American women despite low weight. *Br J Cancer*;82(11):1867–1870.

Pryer JA, Vrijheid M, Nichols R, Kiggins M, Elliott P. 1997. Who are the low energy reporters in the dietary and nutritional survey of British adults? *Int. J. Epidemiol*;26: 146-54.

Rice S, Whitehead A. 2006. Phytoestrogens and breast cancer-promoters or protectors? *Endocr Relat Cancer*;13:995-1015. doi: 10.1677/erc. 1.01159.

Registro histopatológico de neoplasias en México. 2002. Morbilidad y mortalidad. México: Secretaría de Salud.

Robb EL, Page MM, Wiens BE, Stuart JA. 2008. Molecular mechanisms of oxidative stress resistance induced by resveratrol: specific and progressive induction of MnSOD, *Biochem Biophys Res Commun*;367:406-12.

Ronco A, de Stefani E. 1999. Fitoestrógenos y riesgo de cáncer mamario: un estudio caso-control. *Rev Med Uruguay*; 15: 94-102.

Sacks F, Lichtenstein A, Van Horn L, Harris W, Kris-Etherton P, Winston M. 2006. Soy Protein, Isoflavones, and Cardiovascular Health : An American Heart Association Science Advisory for Professionals From the Nutrition Committee. *Circulation*;113:1034-44.

Scalbert A, Manach C, Morand C, Rémésy C. 2007. Dietary Polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nut*;45:287-306. doi 10.1080/1040869059096.

Scalbert A, Williamson G. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr*;130:2073-85.

Schmidt S, Michna H & Diel P. 2005 Combinatory effects of phytoestrogens and 17 β -oestradiol on proliferation and apoptosis in MCF-7 breast cancer cells. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 94:445-49.

Schmitt E, Lehmann L, Metzler M, Stopper H. 2002. Hormonal and genotoxic activity of resveratrol. *Toxicol Lett*;136(2):133–142.

Schneider Y, Vincent F, Durantou B, *et al.* 2000. Anti-proliferative effects of resveratrol a natural component of grapes and wine, on human colonic cancer cells. *Cancer Lett*;158:85-91.

Serdula M, Byers T, Coates R, Mokdad A, Simoes E, Eldridge L. 1992. Assessing consumption of high-fat foods: the effect of grouping foods into single questions. *Epidemiology*; 3: 503–8.

Setchell K, Faughnan M, Avades T, *et al.* 2003. Comparing the pharmacokinetics of daidzein and genistein with the use of ¹³C-labeled tracers in premenopausal women. *Am J Clin Nutr*;77:411-9.

Sfakianos J, Coward L, Kirk M, Barnes S. 1997. Intestinal uptake and biliary excretion of the isoflavone genistein in rats. *J Nutr*; 127: 1260-8.

Shaaban A, O'Neill P, Davies M, Sibson R, West CR, Smith PH, *et al.* 2003. Declining estrogen receptor-beta expression defines malignant progression of human breast neoplasia. *Am J Surg Pathol*;27(12):1502–12.

Shu X, Yang G, Jin F, *et al.* 2004. Validity and reproducibility of the food frequency questionnaire used in the Shanghai Women's Health Study. *Eur J Clin Nutr*;58:17–23.

Sirtori C, Arnoldi A, Johnson S. 2005. Phytoestrogens: end of a tale?. *Ann Med* 37(6):423-38.

Surh J, Kim MJ, Koh E, Kim YK, Kwon H. 2006. Estimated intakes of isoflavones and coumestrol in Korean population. *Int J Food Sci Nutr*; 57: 325-44.

Suschetet M, Siess M, Le Bon A, Canivenc M. 1997. Anticarcinogenic properties of some flavonoids. In: polyphenols; 96:165-204.

Suverza A, Salinas A, Perichart O. 2004. Historia clinico nutricional. Universidad Iberoamericana. Registro en Tramite. http://www.uia.mx/campus/publicaciones/clinica_nutric/pdf/Documentonormativo.pdf.

Tee E, Dop M, Winichagoon P. 2004. Proceedings of the workshop on food-consumption surveys in developing countries: future challenges. *Food Nutr Bull*;25 (4):407-14.

Thompson F, Subar A. 2009. Dietary Assessment Methodology Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease. 2nd ed. Capítulo 1.

Torres L, López L, López M, Rueda C, Wolff M. 2000. Food sources of phytoestrogens and breast cancer risk in Mexican women. *Nutr Cancer*;37:134-9.

Trinidad I, Fernández J, Cuco G, Biarnés E, Arija V. 2008. Validación de un cuestionario de frecuencia de consumo alimentario corto: reproducibilidad y validez. *Nutr Hosp*;23: 242-52.

Tracy D, Boersma-Maland B, Prasain J, Patel R, Darley V, Botting U, Barnes S. 2005. Metabolism of phytoestrogen conjugates. *Methods in Enzymology*; 400(19):316-42.

Tsao R, Deng Z. 2004. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *J Chromatogr B*;5:85-99

Tsubono Y, Takamori S, Kobayashi M, Takahashi T, Iwase Y, Litoi Y, *et al.* 1996. A data-based approach for designing a semiquantitative food frequency questionnaire for a population-based prospective study in Japan. *J Epidemiol*;6: 45-53.

Usui T. 2006. Pharmaceutical prospects of phytoestrogens. *Endocr J*; 53:7-20.

Viereck V, Grundker C, Blaschke S, Siggelkow H, Emons G, Hofbauer L. 2002. Phytoestrogen genistein stimulates the production of osteoprotegerin by human trabecular osteoblasts. *J Cell Biochem*;84:725-35.

Wang C, Prasain J, Barnes S. 2002. Review of the methods used in the determination of phytoestrogens. *J Chromatogr B*;777:3-28.

Wang G. 1990. A simplified HPLC method for the determination of

phytoestrogens in soybean and its processed products. *J Agric Food Chem*;30:185-90.

Willett W, Lenart E. 1998. Reproducibility and validity of food-frequency questionnaires. In: Willett W, ed. *Nutritional epidemiology*. 2nd ed. New York, NY: Oxford University Press:101-47.

Willett, 1998. *Nutritional epidemiology*, Second edition. Cap 6. Pg:101.

Xu X, Duncan A, Wangen K, Kurzer M. 2000. Soy consumption alters endogenous estrogen metabolism in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomark Prev*;9(8):781-6.

Yamamoto S, Sobue T, Sasaki S, *et al.* 2001. Validity and reproducibility of a self-administered food-frequency questionnaire to assess isoflavone intake in a Japanese population in comparison with dietary records and blood and urine Isoflavones. *J Nutr*; 131:2741-47.

Yamamoto S, Sobue T, Kobayashi M, Sasaki S, Tsugane S. 2004. Soy, isoflavones, and breast cancer risk in Japan. *J Natl Cancer Inst*;95:906-13.

Yamori Y, Moriguchi E, Teramoto T, Miura A, Fukui Y, Honda K, Fukui M, Nara Y, Taira K, Moriguchi Y. 2002. Soybean isoflavones reduce postmenopausal bone resorption in female Japanese immigrants in Brazil: a ten-week study. *J Am Coll Nutr*;21:560-63.

Yang C, Landau J, Huang M, Newmark H. 2001. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annu Rev Nutr*;21:381-406.

Zheng W, Chow W-H, Yang G, *et al.* 2005. The Shanghai Women's Health Study: rationale, study design, and baseline characteristics. *Am J Epidemiol*; 165:1123-31.

CAPITULO I

**Estimación de la ingestión de fitoestrógenos en mujeres sanas del
noroeste de México utilizando el cuestionario de frecuencia de consumo
de alimentos y el recordatorio de 24 horas**

RESUMEN

Los fitoestrógenos son compuestos que se han relacionado con efectos benéficos sobre enfermedades crónicas, siendo los resultados contradictorios. La ingestión de fitoestrógenos en las mujeres de la región noroeste de México, no ha sido evaluada, por lo que el objetivo de este trabajo fue estimar la ingestión de fitoestrógenos en mujeres sanas de la región noroeste de México, además de comparar el consumo de fitoestrógenos obtenido por 2 metodologías dietarias. Se entrevistó a 100 mujeres adultas a las cuales se les aplicó un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos y un recordatorio de 24 horas. Para ajustar por coeficientes de variación intra e interindividual, se aplicó a una submuestra de 50 mujeres un segundo recordatorio. El consumo de isoflavonas totales utilizando el recordatorio de 24 horas fue de 200.2 µg/día, de lignanos totales 204.3 µg/día, de cumestrol de 10.61 µg/día y de fitoestrógenos totales de 2357.5 µg/día. Los coeficientes de correlación de Spearman ajustados fueron mayores para secoisolariciresinol (0.27, $p < 0.05$), cumestrol (0.47, $p < 0.001$), quercetina (0.24, $p < 0.05$) y para fitoestrógenos totales (0.27, $p < 0.05$), encontrándose para el resto de los fitoestrógenos coeficientes entre 0.04 a 0.19. La obtención de coeficientes de correlación menores a los obtenidos en otros estudios se puede deber a la aplicación de un solo recordatorio de 24 horas. Por lo tanto, el cuestionario desarrollado puede ser una herramienta útil para la estimación del consumo de secoisolariciresinol, cumestrol, quercetina y fitoestrógenos totales, pudiéndose utilizar en estudios epidemiológicos donde se desee relacionar la exposición a fitoestrógenos en esta región con el riesgo de padecer alguna enfermedad crónica.

INTRODUCCIÓN

Diversos estudios epidemiológicos indican que las tasas menores de incidencia y mortalidad por enfermedades crónicas en países de oriente en comparación con las encontradas en los países de occidente, no solo se deben necesariamente a factores genéticos sino también a factores relacionados con el estilo de vida, como es el caso de la dieta (Maskarinec *et al.*, 1998; Probst – Hensch *et al.*, 2000; Usui, 2006). En los países asiáticos, la dieta es baja en grasa saturada y alta en fitoestrógenos, los que puede contribuir con su papel protector, debido a que se han relacionado con la disminución en el riesgo de enfermedades crónicas como el cáncer y enfermedades cardiovasculares (Torres *et al.*, 2000; de Kleijn *et al.*, 2001).

Los fitoestrógenos son compuestos con anillos fenólicos que se sintetizan en las plantas. Los principales fitoestrógenos son las isoflavonas, lignanos, cumestanos y estilbenos, que se encuentran en alimentos como la soya, linaza y frijol, entre otros (Dixon *et al.*, 2004; Branca y Lorenzetti, 2005; Drago *et al.*, 2006). Poseen una leve actividad estrogénica debido a la similitud estructural con el estradiol (Ronco y de Stefany, 1999), además de presentar capacidad antioxidante (Scalbert *et al.*, 2007).

Se ha estudiado el posible efecto de los fitoestrógenos sobre las enfermedades en humanos, sin embargo los resultados de estos estudios han sido inconsistentes, ya que algunos han encontrado un efecto protector (Torres *et al.*, 2000; Atkinson *et al.*, 2005a), mientras que otros no han observado el mismo efecto (Atteritano *et al.*, 2007). Es por esto, que existe la necesidad de contar con instrumentos que estimen de manera válida y confiable el consumo de fitoestrógenos en poblaciones de diferente estado socioeconómico, geográfico, cultural y social.

El cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (FCA) es una de las herramientas más utilizadas en estudios epidemiológicos donde se desea

establecer la asociación entre un evento de salud y la dieta o componente dietario (Bhakta *et al.*, 2005). Sin embargo, debido a que la medición del error asociado al cuestionario puede atenuar la relación entre dieta y riesgo de presentar alguna enfermedad, la validación del método es un paso esencial en el diseño de cualquier estudio nutricional epidemiológico (Fraser, 2003; Kaaks, 2006). Esto implica que los resultados obtenidos con el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos se comparen con los obtenidos a través de un método de referencia, que puede ser el recordatorio de 24 h aplicado en más de una ocasión.

No se han realizado estudios sobre el consumo de fitoestrógenos en esta región. La ingestión de dichos compuestos es muy difícil de medir, debido a que se encuentran muy concentrados en pocos alimentos como la soya, que es escasamente consumida por la población. Una característica común en los países de occidente, es que la ingestión total de fitoestrógenos está dada por una gran variedad de alimentos que aportan una pequeña cantidad de estos compuestos.

Por lo anterior y por el gran interés que el tema de los fitoestrógenos presenta en la actualidad, el objetivo de este trabajo fue estimar la ingestión de fitoestrógenos en mujeres sanas de la región noroeste de México, utilizando el recordatorio de 24 horas y el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos, además de comparar el consumo de fitoestrógenos obtenido por ambas metodologías dietarias.

SUJETOS Y MÉTODOS

Participantes y Marco Muestral

El presente trabajo es un estudio de tipo transversal que incluyó a 100 participantes del sexo femenino. Los criterios de inclusión fueron: mujeres sanas, mayores de 25 años de edad, con residencia mínima de 5 años en Hermosillo, Sonora, sin antecedentes de enfermedades cardiovasculares, cáncer o diabetes. Dentro de los criterios de exclusión se tiene que las mujeres no debieron estar embarazadas o lactando al momento del estudio o en el año previo al mismo.

Para establecer el tamaño de muestra, se consideró una correlación mínima de $r=0.30$ entre los fitoestrógenos obtenidos por recordatorio de 24 horas y los obtenidos por el método de frecuencia de consumo de alimentos. Se estableció un poder de la prueba del 80%, y se consideró una confiabilidad del 95% ($p<0.05$).

Las mujeres se seleccionaron aleatoriamente de la población según el Marco Muestral Maestro (MMM), el cual es la base muestral de viviendas para las encuestas que conforman el Sistema de Encuestas Nacionales de Salud. Este programa contiene información de las áreas geoestadísticas básicas (AGEBs) en cada estado, la cual es proporcionada por el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). Las AGEBs son divisiones geográficas mínimas empleadas con fines estadísticos y censales por el INEGI, por lo tanto, esta clasificación suele ser valiosa cuando se quieren hacer muestreos poblacionales.

El presente trabajo fue aprobado por el comité de ética del CIAD, A.C. A las mujeres se les explicó de qué trataba el estudio, su importancia, los riesgos y los beneficios y se les pidió que firmaran una carta de consentimiento informado si decidían participar.

Cuestionario de Información General

Se utilizó un cuestionario para coleccionar información sobre el estado socioeconómico, historia de salud, uso de anticonceptivos, medicamentos, hormonas o suplementos y algunas variables de tipo reproductivo, como la edad de la menarquia, de la menopausia y número de hijos. Las entrevistas se llevaron a cabo en la casa de la participante.

Para la clasificación por nivel socioeconómico (NSE), se utilizaron los puntos de corte establecidos por Camberos (2006). Para NSE bajo, familias con ingresos menores a 5 salarios mínimos; NSE medio, familias con 5 a 10 salarios mínimos de ingreso; y NSE alto, ingresos superiores a los 10 salarios mínimos.

El objetivo de este cuestionario fue explorar, además de las variables demográficas y socioeconómicas, algunos factores relacionados con la salud y estilos de vida de las participantes, para tener una descripción general de algunas de estas características y considerarlas, si fuera necesario, al momento del análisis de los datos.

Evaluación Antropométrica

Peso Corporal

A cada participante se le pesó con el mínimo de ropa posible y sin zapatos. Se utilizó una balanza electrónica digital con capacidad de 150 Kg \pm 50 g (AND FV-18 150 KA1, fabricada por A&D Co. LTD, Japón). Para tomar la lectura, la persona encargada de examinar a la mujer se colocó frente a la balanza. El procedimiento se llevó a cabo de acuerdo a lo descrito por Jelliffe y Jelliffe (1989).

Talla

Para la medición de la talla se utilizó un estadiómetro portátil marca SECA modelo 225. A la participante se le pidió que se quitara los zapatos y que se colocara con la espalda, glúteos y cabeza pegados a la pared. Los brazos debieron caer naturalmente hacia los costados del cuerpo y la cabeza tenía que estar en posición recta (plano Frankfurt) (Jellife y Jelliffe, 1989).

Índice de masa corporal (IMC)

Con los resultados obtenidos de peso y talla, se calculó el índice de masa corporal ($IMC = kg/m^2$). Para describir a las mujeres de acuerdo a su IMC, se utilizó la clasificación recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2003). Así, cuando el valor obtenido es menor de 18.5, la persona se clasifica de bajo peso; si el IMC se encuentra entre 18.5 a 24.99 su peso es normal; valores de 25.00 a 29.99 es sobrepeso; de 30.00 a 34.99 es Obesidad tipo I; mayor de 35 es obesidad tipo II y valores de IMC mayores de 40 indican obesidad tipo III.

Evaluación Dietaria

Para cuantificar el consumo de fitoestrógenos se llevó a cabo una evaluación dietaria. Los métodos que se utilizaron fueron el cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (FCA) validado, según la metodología descrita por Quizán-Plata y Ortega (2000) y modificado para este estudio, y el recordatorio de 24 horas según Linnuson y colaboradores (1974) y Lechting y colaboradores (1976).

En ambas encuestas dietarias se recopiló información sobre el consumo de manteca vegetal y/o animal y de aceites vegetales. Adicionalmente, se

evaluó la forma de preparación de los alimentos preguntando a la mujer si utilizaba métodos de asado, cocido o frito. Los datos obtenidos a partir del cuestionario de FCA y del recordatorio de 24 horas se codificaron y analizaron individualmente para estimar la ingestión de los componentes dietarios, utilizando el procedimiento descrito por Ortega y colaboradores (1999). Así, para calcular el contenido de nutrientes en las dietas se utilizaron los datos obtenidos de un diccionario de alimentos basado en el banco de datos de alimentos de la USDA, del Instituto Nacional de Nutrición y la base de composición de alimentos del Centro de Investigación en Investigación y Desarrollo (CIAD A.C.) (Grijalva *et al.*, 1995).

Adicionalmente, a este diccionario se le agregó el contenido de fitoestrógenos de los alimentos más consumidos en la región, cuyo análisis se llevó a cabo en CIAD A.C., y se explicará a profundidad en el capítulo 2. La información que se agregó al diccionario fue el contenido de 13 fitoestrógenos: daidzeína, genisteína, ecuol, gliciteína, biocanina A, formononetina, secoisolarisiresinol, matairesinol, pinoresinol, lariciresinol, enterolactona, enterodiol y cumestrol. Además, la información se complementó con los datos de 11 diferentes tablas de composición reportadas por Kunhle y colaboradores, (2008a), Kunhle y colaboradores, (2008b), Kunhle y colaboradores, (2009a), Kunhle y colaboradores, (2009b), Milder y colaboradores, 2005; Thompson y colaboradores, 2006; USDA, 2008; USDA, 2007, Horn-Ross y colaboradores, 2000a; Keinan-Boker y colaboradores, 2002; Galván-Portillo y colaboradores, 2007; Pillow, 1999.

Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (FCA)

El cuestionario de FCA fue validado y aplicado por Quizán-Plata y Ortega (2000) en mujeres de bajo ingreso de Hermosillo, para consumo de alimentos en general. En el presente trabajo se modificó con el fin de que

incluyera los alimentos aportadores de fitoestrógenos de la dieta de la región, según las bases de datos existentes.

El cuestionario consistió en pedirle al entrevistado la frecuencia y cantidad de consumo de 168 alimentos (frutas, jugos, verduras, leguminosas, productos lácteos, huevo, platillos preparados, carnes, embutidos, aceites, salsas, cereales, panes, pescados, mariscos, dulces, postres, bebidas, frutos secos y semillas). Para cada alimento se consideró el tamaño de una porción predeterminada, así como la frecuencia de consumo clasificada en 10 categorías que van de “nunca” hasta “6 veces al día”. Se hizo énfasis en que las participantes proporcionaran información sobre sus hábitos dietéticos 1 año antes de la fecha de entrevista.

Recordatorio de 24 horas (R 24 h)

En el R 24 h, se le pidió a la entrevistada que señalara el tipo y la cantidad de alimentos que consumió durante las 24 horas anteriores a la entrevista. Para ayudar a recordar y cuantificar la cantidad de alimentos consumidos, se mostraron a las entrevistadas modelos de plástico y de cartón de alimentos, así como utensilios de cocina previamente identificados con su capacidad de peso y de volumen. Con el fin de corregir el error de solo aplicar un recordatorio de 24 horas, a una submuestra de 50 mujeres se les aplicó un segundo recordatorio, para calcular los coeficientes de variación intraindividual (CV_{intra}) e interindividual (CV_{inter}) y corregir el coeficiente de correlación (Willet, 1998).

Análisis Estadístico

Se realizó una revisión de la base de datos constante, como parte importante del control de calidad en el manejo de la información. Se realizaron

análisis descriptivos para las características de la población en estudio y las variables dietarias, utilizando la media y desviación estándar, la mediana y los intervalos intercuartiles y la media geométrica con intervalos de confianza al 95%. Se utilizó la suma de rangos de Wilcoxon (pareada, no paramétrica) para comparar la ingestión de macronutrientes, micronutrientes y fitoestrógenos entre métodos dietarios.

El ajuste de las variables dietarias por energía total consumida se realizó utilizando los residuales de energía, obtenidos de un modelo de regresión lineal simple de los errores normales del nutrimento (Willet, 1998). Se realizó la clasificación por cuartiles de consumo de isoflavonas, lignanos, cumestrol y fitoestrógenos totales para determinar el nivel de correspondencia entre los métodos dietarios, para lo cual se calculó el porcentaje de mujeres que fueron clasificadas en el mismo cuartil, en el adyacente (± 1), o en el opuesto (cuartil 1 al 4).

Para evaluar la asociación entre el consumo de fitoestrógenos estimado por el cuestionario de FCA con lo estimado por recordatorio de 24 h, se utilizó el análisis de correlación de Spearman como prueba no paramétrica, ya que las variables presentaron un comportamiento anormal. Se calcularon los coeficientes de variación (CV) intraindividual e interindividual y se utilizaron para ajustar el coeficiente de correlación de acuerdo a la metodología descrita por Willet y colaboradores (1998).

Todos los análisis estadísticos se realizaron en el paquete estadístico STATA versión 8.0 (StataCorp LP, College Station, TX) con un nivel de significancia de 0.05.

RESULTADOS

Un total de 100 mujeres fueron las que integraron este estudio, con un rango de edad de 25 a 78 años. Las características generales de las participantes se presentan en la tabla 1. La media de escolaridad fue de 10.4 años. De las mujeres participantes, el 21% tuvo nivel de licenciatura, el 42% cursó secundaria o alguna carrera técnica, 11% estudiaron preparatoria y el 25% de la población llegó hasta algún grado de primaria.

Tabla 1. Características generales de la población de estudio (n=100).

Variable	Media \pm DE
Edad (años)	44.85 \pm 12.88
Años de escolaridad	10.35 \pm 4.43
Peso (kg)	74.93 \pm 15.80
Talla (cm)	159.41 \pm 6.06
IMC (kg/m ²)	29.61 \pm 6.12
Edad de la menarquía (n=100)	12.77 \pm 1.42
Edad del primer embarazo (n=97)	22 \pm 4.5
Número de embarazos (n=97)	3.66 \pm 1.94
Número de hijos (n=97)	3.14 \pm 1.60
Edad de la menopausia n=43 (años)	46.54 \pm 5.87

DE=Desviación estándar

Con respecto al estado civil, la mayoría de las mujeres eran casadas (75%), seguidas de las viudas (8%), unión libre (6%) y el resto (11%) son solteras, separadas o divorciadas. En cuanto a la clasificación por nivel socioeconómico, más de la mitad de la población de estudio (62%) se encuentra dentro de la clasificación de nivel socioeconómico bajo, el 20% correspondieron a nivel medio, el 13% a alto y el resto (4%) no contestó o desconoce sus ingresos.

La talla media de las mujeres del estudio fue de 159.4 cm, el peso de 74.9 kg y un promedio de Índice de Masa Corporal (IMC) de 29.6 kg/m², lo cual ubica a muchas de estas mujeres en la clasificación de sobrepeso. En la misma tabla 1, también se muestran algunas características reproductivas de las mujeres, observándose que la mayoría de ellas (97%) ha estado embarazada al menos 3 veces y tiene el mismo número de hijos, siendo la media de edad del primer embarazo de 22 años. El promedio de la edad para la menarquia fue menor a los 13 años, mientras que la edad media de la menopausia no rebasó los 50 años.

Consumo de Energía y Macronutrientes

En la tabla 2, se puede observar el consumo diario de los diferentes componentes de la dieta determinados por los métodos dietarios de recordatorio de 24 horas (R-24 h) y el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (FCA). Según los resultados obtenidos por R-24 h, el 52.4% del total de energía consumida proviene de carbohidratos, 32.4 % de grasa y 15.2% de proteínas, mientras que para el caso del cuestionario de FCA la estimación fue mayor para el caso de los carbohidratos (57.5%) y menor para grasa y proteína, 29.1% y 13.4% respectivamente. Para todos los componentes de la dieta la estimación por el FCA fue mayor ($p < 0.01$), que la obtenida por el R 24 h.

La ingestión diaria de energía, carbohidratos, proteína, grasa total, grasa saturada, colesterol, fibra y vitaminas, fue mayor en el cuestionario de FCA que en lo obtenido por el R 24 h siendo las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.01$).

Tabla 2. Estimación de la ingestión de componentes dietarios a partir de R 24 h y de FCA.

Componente	R 24 h	FCA	p**
	Media Geométrica (95% de IC)*	Media Geométrica (95% de IC)*	
Energía (Kcal/día)	1578.60 (1455.15-1702.05)	2399.21 (2230.61-2580)	0.00
Carbohidratos (g/día)	202.40 (190.79-214.73)	364.98 (352.45-377.95)	0.00
Proteína (g/día)	52.77 (48.97-56.87)	81.77 (78.13-85.58)	0.00
Grasa Total (g/día)	53.74 (49.63-58.18)	79.01 (74.22-84.09)	0.00
Grasa Saturada (g/día)	17.21 (15.45-19.17)	20.30 (17.76 – 23.19)	0.00
Colesterol (mg/día)	200.83 (175.60-229.67)	244.27 (217.09-274.86)	0.00
Fibra (g/día)	15.90 (13.63-18.55)	40.56 (37.89-43.42)	0.00
Vit C (mg/día)	82.94 (65.53-104.9)	248.34 (227.01-271.68)	0.00
Vit A (µg RAE/día)	3.74 (3.18-4.39)	2021.13 (1754.13-2328.78)	0.00

IC=Intervalo de confianza.

*Ajustada por energía total.

**Nivel de significancia de 0.05, suma de rangos de Wilcoxon.

RAE= Equivalentes de retinol.

Consumo Diario de Fitoestrógenos

En la tabla 3, se muestra la ingestión de fitoestrógenos estimados a partir de los métodos dietarios de frecuencia de consumo de alimentos y de recordatorio de 24 horas. El consumo de lignanos totales fue ligeramente mayor al consumo de isoflavonas totales en ambos métodos dietarios. Las isoflavonas más consumidas fueron la genisteína y la daidzeína, y los lignanos fueron el secoisolariciresinol y el matairesinol. Sin embargo, la estimación obtenida del cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos en cuanto al consumo diario de isoflavonas totales y lignanos totales, fue mayor a la estimada por el recordatorio de 24 horas ($p < 0.0001$).

Para el consumo de cumestrol, el cuestionario arroja el doble de la ingestión que el recordatorio ($p < 0.001$). Del grupo de los flavonoles y de las flavonas, el de mayor consumo fue la quercetina seguido de la naringenina según el recordatorio de 24 horas, y tomando en cuenta el cuestionario de frecuencia, el consumo de naringenina fue 3 veces mayor que el de la quercetina. Para fitoestrógenos totales parece haber una sobreestimación del cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos ($p < 0.0001$), o una subestimación del recordatorio de 24 h, ya que el FCA estima una ingestión de 7.89 mg/día, mientras que lo obtenido del recordatorio de 24 horas fue de 2.36 mg/día.

Correlación entre Frecuencia de Consumo de Alimentos y Recordatorio de 24 Horas para la Estimación de la Ingestión de Fitoestrógenos

Los coeficientes de correlación de Spearman entre la ingestión de cada uno de los fitoestrógenos por el FCA y el recordatorio de 24 h, ajustados por variabilidad intraindividual e interindividual, se encuentran en la tabla 4. De los

Tabla 3. Estimación del consumo de fitoestrógenos a través del R de 24 h y FCA ($\mu\text{g}/\text{día}$).

Fitoestrógeno	R24 h	FCA	p**
	Media geométrica (95% de IC)*	Media geométrica (95% de IC)*	
Daidzeína	72.67 (51.57-102.48)	180.63 (147.42-221.33)	0.00
Genisteína	72.35 (50.88-102.89)	218.26 (178.71-266.57)	0.00
Gliciteína	18.56 (13.56-25.41)	26.13 (20.41-33.45)	0.00
Biocanina A	2.56 (1.86-3.54)	12.44 (10.79-14.35)	0.00
Formononetina	1.68 (1.36-2.07)	6.98 (5.51-8.83)	0.00
Secoisolariciresinol	28.43 (21.88-36.93)	163.11 (34.5-197.82)	0.00
Matairesinol	6.09 (4.63-8.02)	14.52 (12.92-16.32)	0.00
Lariciresinol	45.57 (37.25-55.76)	133.01 (118.22-149.65)	0.00
Pinoresinol	12.95 (9.8-17.13)	63.23 (56.03-71.35)	0.00
Cumestrol	10.61 (6.95-16.19)	21.88 (16.73-28.61)	0.00
Naringenina	664.03 (440.8-1000.14)	3859.9 (3020.5-5932.78)	0.00
Luteolina	90.1 (56.5-143.68)	363.38 (287.23-459.71)	0.00
Kaempferol	177.87 (116.77-270.94)	953.1 (789.69-1150.32)	0.00
Quercetina	795.33 (525-1204.25)	1369.91 (1160.25-1617.45)	0.00

Continuación

Fitoestrógeno	R24 h	FCA	p**
	Media geométrica (95% de IC)*	Media geométrica (95% de IC)*	
Resveratrol	0.03 (0.02-0.05)	0.11 (0.09-0.12)	0.00
Isoflavonas totales *	200.21 (148.9-269.2)	484.69 (403.26-582.57)	0.00
Lignanos totales *	204.37 (200.53-208.28)	485.10 (405.88-517.03)	0.00
Fitoestrógenos totales*	2357.5 (1748.84-3177.87)	7889.9 (6557.7-9492.8)	0.00

*Ajustado por energía total consumida.

* Isoflavonas totales: suma de la ingestión de daidzeína, genisteína, ecuol, biocanina A y formononetina.

*Lignanos totales: suma de la ingestión de secoisolariciresinol, matairesinol, lariciresinol, pinosresinol, enterodiol y enterolactona.

* Fitoestrógenos totales: suma de la ingestión de daidzeína, genisteína, ecuol, biocanina A, formononetina, secoisolariciresinol, matairesinol, lariciresinol, pinosresinol, enterodiol, enterolactona, cumestrol, naringenina, luteolina, kaempferol, quercetina y resveratrol.

**Nivel de significancia de 0.05, suma de rangos de Wilcoxon.

fitoestrógenos que presentaron mayor correlación significativa ($p < 0.05$), fueron los obtenidos para formononetina (isoflavona), secoisolariciresinol (lignano), cumestrol (cumestano), quercetina (flavonol) y fitoestrógenos totales.

Tabla 4. Coeficientes de correlación para la ingestión de fitoestrógenos entre FCA y R 24 h.

Fitoestrógeno	CC crudo	CC ajustado *	p
Daidzeína	0.076	0.085	0.450
Genisteína	0.042	0.047	0.650
Gliciteína	0.046	0.052	0.647
Biocanina A	0.157	0.176	0.119
Formononetina	0.187	0.210	0.062
<i>Total de Isoflavonas</i>	0.090	0.101	0.372
Secoisolariciresinol	0.249	0.274	0.013
Matairesinol	-0.150	-0.167	0.138
Lariciresinol	0.082	0.092	0.417
Pinoresinol	-0.005	-0.005	0.963
<i>Total de Lignanos</i>	0.067	0.074	0.510
Cumestrol	0.425	0.475	0.000
Kaempferol	0.192	0.214	0.056
Quercetina	0.211	0.237	0.035
Resveratrol	0.052	0.058	0.609
<i>Fitoestrógenos totales</i>	0.216	0.241	0.031

CC=Coeficientes de correlación de Spearman.

*Ajustados por la variación intra e interindividual.

La tabla 5 muestra los rangos de ingestión para la clasificación por cuartiles por las 2 diferentes metodologías dietarias, mismos que sirvieron para estimar el nivel de correspondencia entre métodos. Se observa que los intervalos de ingestión de fitoestrógenos en cada cuartil son muy diferentes en el recordatorio de 24 h con respecto al cuestionario de FCA, con valores muy superiores en éste

último.

La Tabla 6, muestra el nivel de correspondencia para la clasificación en cuartiles de consumo de fitoestrógenos entre métodos dietarios. Se puede observar que la mayoría de las mujeres se clasificaron en el mismo cuartil o en un cuartil adyacente por los 2 métodos para isoflavonas totales, lignanos totales, cumestrol y fitoestrógenos totales, siendo muy bajo el porcentaje de mujeres (5-7%) que se clasificaron en cuartiles extremos u opuestos (cuartil 1 al cuartil 4).

Principales Alimentos Aportadores de Isoflavonas, Lignanos y Cumestrol

Los principales alimentos aportadores de isoflavonas, lignanos y cumestrol en la dieta se muestran en la tabla 7. Los alimentos se seleccionaron a partir de la información dietaria de 100 recordatorios de 24 horas y enlistados según el orden de importancia, que se obtuvo multiplicando el aporte de fitoestrógenos del alimento por la frecuencia de consumo del mismo

De los alimentos aportadores de fitoestrógenos en la dieta y en los que se analizó el contenido de fitoestrógenos (Capítulo II) están el jamón de pavo, jugo de soya saborizado, pastel comercial, papa cocida, naranja, pepino, repollo, frijol y tomate cocido. Los valores obtenidos se incorporaron en la base de datos para estimar el consumo de fitoestrógenos.

Dentro de los principales alimentos aportadores de isoflavonas destacan los productos derivados de la soya y los alimentos que son fortificados con ésta, como el jamón y los productos de panificación. El principal alimento aportador de lignanos en la dieta fue el pan multigrano, debido a que los lignanos se encuentran en la cáscara de los granos. Destacaron como principales alimentos aportadores de cumestrol en la dieta, las bebidas (café y cerveza), frijol y vegetales como brócoli y tomate.

Tabla 5. Rango de ingestión para la clasificación por cuartiles de consumo, según el R 24 h y el cuestionario de FCA.

Fitoestrógenos	Rango de ingestión (µg/día)			
	Cuartil 1	Cuartil 2	Cuartil 3	Cuartil 4
R 24 h				
Isoflavonas Totales	0-44.8	44.9-182.1	182.2-455.1	455.2-6926.3
Lignanos totales	0-45.6	45.7-92.2	92.3-185.4	185.5-2959.66
Cumestrol	0-0.7	0.8-2.1	2.2-4.1	4.2-447.1
Fitoestrógenos totales	0-599.5	599.6-1468.5	1468.6-3672.7	3672.8-110131.5
FCA				
Isoflavonas Totales	0-267.1	267.2-401.5	401.6-771.5	771.6-10213.4
Lignanos totales	0-320.1	320.2-402.0	402.1-638.8	638.9-2584.6
Cumestrol	0-9.40	9.41-14.58	14.59-40.7	40.8-341.7
Fitoestrógenos totales	0-3970.9	3971.0-6091.1	6091.2-11150.5	11150.4-68672.8

Tabla 6. Nivel de correspondencia entre métodos dietarios para la clasificación en cuartiles de consumo.

	Mismo cuartil	± 1 cuartil	Cuartil Opuesto
Isoflavonas totales	33	27	7
Lignanos totales	32	29	12
Cumestrol	36	43	7
Fitoestrógenos totales	31	33	5

Tabla 7. Principales alimentos aportadores de isoflavonas, lignanos y cumestrol en la dieta de las mujeres del noroeste de México

Aportadores de Isoflavonas		Aportadores de lignanos		Aportadores de Cumestrol	
Alimento	*	Alimento	*	Alimento	*
Polvo para preparar una bebida de soya	3	Pan multigrano	2	Café	21
Leche de soya	1	Pera	4	Frijol germinado	1
Jamón de pavo	23	Repollo	9	Leche	57
Jugo de soya Saborizado	3	Té sabor limón	7	Frijol	66
Pan blanco	12	Pepino	23	Cereal de caja	4
Café	21	Cerveza	1	Brócoli cocido	3
Pan integral	9	Cacahuates	6	Carne molida	16
Dona comercial	1	Naranja	9	Yogurt de frutas	7
Pastel comercial	6	Papa cocida	44	Cerveza	1
Pan virginia	7	Café	62	Tomate cocido	28

*Número de personas que consumieron el alimento.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio muestran que la población de mujeres del noroeste de México tiene un consumo bajo de isoflavonas, lignanos, cumestrol y algunos flavonoides, en comparación con los países de oriente. También se observó que la ingestión de fitoestrógenos obtenida por el recordatorio de 24 h mostró correlación con la obtenida por el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos para los fitoestrógenos secoisolariciresinol, cumestrol, quercetina y para fitoestrógenos totales, no así para el resto de los fitoestrógenos.

Al consultar los datos de consumo de fitoestrógenos reportados para otros países, se observó que el consumo de fitoestrógenos en este estudio es muy inferior al consumo reportado para países de oriente, el cual varía en un rango de 23.3 a 49.7 mg/día de fitoestrógenos totales. Para la población de Corea, Surh y colaboradores (2006), estimaron un consumo de isoflavonas y cumestrol de 23.3 mg/día, que fue constituido por 14.2 mg de daidzeína, 6.7 mg de genisteína, 0.9 mg de gliciteína, 1.0 mg de formononetina, 0.2 mg de biocanina A, y de 0.3 mg de cumestrol. Mientras que el consumo de isoflavonas en la población estudiada es de solo 0.2 mg/día y de cumestrol de 0.01 mg/día, estimada por el método de recordatorio de 24 horas.

El consumo de fitoestrógenos en nuestra población es similar a lo reportado en mujeres que radican en el Reino Unido. Bhakta y colaboradores (2006) estimaron una mediana de consumo de isoflavonas de 0.184 mg/día para las mujeres originarias del sur de Asia que radican en el reino Unido, y de 0.334 mg/día para las mujeres nativas de este país. Para el caso de lignanos, el consumo de las mujeres de nuestro estudio fue mayor (0.2 mg/día) que el reportado para las mujeres de oriente radicando en el Reino Unido (0.111 mg/día) y el de las británicas (0.149 mg/día). De hecho el consumo de

isoflavonas y lignanos en las mujeres británicas del estudio mencionado, fue significativamente más bajo que el reportado para las mujeres originarias de Asia ($p < 0.001$, $p < 0.05$ respectivamente). En el estudio mencionado, se corrobora que las mujeres asiáticas, caracterizadas por consumir gran cantidad de soya, al migrar a otro país cambian su dieta, ya que disminuyen el consumo de fitoestrógenos.

Horn Ross y colaboradores (2006) estimaron el consumo de fitoestrógenos en mujeres norteamericanas aplicando 4 recordatorios de 24 horas no consecutivos, obteniendo ingestiones promedio de isoflavonas de 1.6 mg/día, proveniente principalmente de daidzeína y genisteína, de cumestrol y de lignanos de 0.157 mg/día y de 0.16 mg/día, respectivamente. Valores similares se obtuvieron en el presente estudio en cuanto a la ingestión de lignanos (0.2 mg/día), sin embargo, difieren de los obtenidos para isoflavonas y cumestrol (0.2 mg/día y 0.01 mg/día, respectivamente).

En mujeres mexicanas, Galván-Portillo y colaboradores (2007), estimaron el consumo de lignanos a través de la aplicación de 2 cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos, aplicados con una diferencia de un año. Se obtuvo un promedio de consumo de secoisolariciresinol de 0.12 mg/día, de matairesinol de 0.013 mg/día, 0.205 mg/día de lariciresinol, 0.087 mg/día de pinosresinol y para cumestrol de 1.7 mg/día. Resultados semejantes se obtuvieron para el consumo de lignanos totales en nuestro estudio, pero fueron muy inferiores para cumestrol, el cual fue de 0.01 mg/día. Una diferencia importante entre ambos estudios es el uso de valores diferentes en lo que se refiere al contenido de cumestrol en frijol, uno de los principales alimentos consumidos por la población sonoreense y mexicana. En el estudio de Galván-Portillo y colaboradores, se tiene que el frijol aporta 1.18 mg por cada 100 g (con base en tablas de composición internacionales), mientras en este estudio el frijol pinto (que es el más consumido en la región) aportó solo 0.35 µg/100 g de frijol (dato determinado a partir de su análisis, Capítulo II).

La estimación del consumo de isoflavonas, lignanos, cumestrol, flavonas, flavonoles, estilbenos y fitoestrógenos totales a partir de frecuencia de consumo de alimentos fue mayor a la estimada a partir de recordatorio de 24 horas. Los valores mayores obtenidos se pueden deber a que el cuestionario de frecuencia representa la ingestión diaria promedio en un año, cubriendo las variaciones entre temporadas, por lo contrario el recordatorio solo es la ingestión de un día. Además, el cuestionario de FCA por su naturaleza misma (lista de alimentos), tiende a sobreestimar los consumos promedios. Por ello, solo es útil para mostrar niveles de consumo.

Resultados similares obtuvieron Bhakta y colaboradores (2005) para mujeres del sur de Asia que radican en el Reino Unido, ya que el cuestionario de frecuencia sobreestimó el consumo de genisteína, daidzeína, secoisolariciresinol y matairesinol, en comparación con lo obtenido por promedio de 12 recordatorios, aplicados uno cada mes. Dicho autor menciona que una fuente de error que pudo ocasionar la sobrestimación por parte del cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos, es el número de alimentos enlistados y la separación de un grupo de alimentos en alimentos individuales. En el caso de nuestro estudio, por ejemplo, se separó el grupo de panes en integrales y blanco, así como tostado o natural, debido al diferente aporte de fitoestrógenos. Además, Krebs-Smith (1995), afirma que puede ser mejor preguntar por alimentos individuales y no por grupos de alimentos, pero que al incrementar el número de alimentos puede resultar en una sobreestimación de la ingestión. Otro motivo de error que puede explicar la variación, es que para la mayoría de los alimentos enlistados en el cuestionario de frecuencia se tienen datos sobre el aporte de fitoestrógenos, no así para algunos alimentos que aparecieron en el recordatorio de 24 horas.

En cuanto a la asociación entre métodos dietarios para la estimación del consumo de fitoestrógenos, un estudio realizado en mujeres asiáticas residentes en el Reino Unido, realizado por Bhakta y colaboradores (2005),

estimó el consumo de fitoestrógenos a través de la aplicación de un cuestionario de frecuencia y de 12 recordatorios, obteniendo coeficientes de correlación de Spearman superiores a los establecidos en este estudio. El coeficiente de correlación para isoflavonas (daidzeína y genisteína) fue de 0.53 y, ajustado por energía total, aumentó a 0.57. Para lignanos (secoisolariciresinol y matairesinol) se estimó un coeficiente de correlación crudo de 0.66 y ajustado de 0.70.

Los resultados obtenidos en cuanto a los coeficientes de correlación, son muy inferiores a los reportados por Horn Ross y colaboradores (2006) para la población femenina que radica en el estado de California, E.U.A. Los coeficientes de correlación ajustados por energía total entre frecuencia de consumo de alimentos y el promedio obtenido a partir de la aplicación de 4 recordatorios, fueron de 0.71, 0.49 y 0.75 para isoflavonas, cumestrol y lignanos, respectivamente.

No existen referencias acerca de los coeficientes de correlación para la estimación del consumo entre FCA y recordatorio de 24 horas para los fitoestrógenos quercetina, y kaempferol, ya que en los estudios donde hacen esa relación no los incluyen.

Los resultados de los estudios anteriormente mencionados (Bhakta *et al.*, 2005; Horn Ross *et al.*, 2006) apoyan la conclusión de que el FCA es una herramienta útil y válida para estimar el consumo de fitoestrógenos en la población estudiada, y que de esta manera se convierte en un método que puede utilizarse en estudios epidemiológicos donde se requiere establecer la relación entre la ingestión de fitoestrógenos y la presencia de cierta enfermedad. Cabe destacar que en dichos estudios, los resultados arrojados por el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos son correlacionados con los obtenidos por múltiples recordatorios (de 4 a 12 recordatorios). Así, el aplicar más de un recordatorio nos permite minimizar el efecto de la temporada, además de que se puede tener una estimación más representativa de lo

consumido en un año, y por lo tanto, lo hace comparable a lo obtenido en el cuestionario.

El consumo de fitoestrógenos de la población presenta una amplia variación, debido a que están en grandes cantidades en tan solo algunos alimentos que no son frecuentemente consumidos en Sonora, como la soya y la linaza. Willet (1990), menciona la necesidad de aplicar múltiples recordatorios no consecutivos cuando se requiere conocer la variación del consumo de nutrimentos que se encuentren muy concentrados en pocos alimentos. Es a partir de esto, que se puede concluir que el tener coeficientes de correlación menores que lo obtenido por otros investigadores, puede deberse a que solo se aplicó un recordatorio, ya que éste no alcanza a cubrir las variaciones en un año.

Se puede decir que el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos es una herramienta útil para la estimación del consumo de algunos de los fitoestrógenos (secoisolariciresinol, cumestrol, quercetina y fitoestrógenos totales) ya que los valores de los coeficientes de correlación fueron mayores a 0.21 y son significativos ($p < 0.05$), no así para el resto de los fitoestrógenos.

A pesar de los bajos coeficientes de correlación obtenidos, al clasificar por cuartiles de consumo de fitoestrógenos entre el cuestionario y el recordatorio de 24 h aplicados a la población del estudio, una alta proporción de mujeres clasificaron en el mismo cuartil, o la diferencia fue de ± 1 cuartil. La clasificación por cuartiles o quintiles de consumo es muy utilizada en estudios epidemiológicos para clasificar la exposición y relacionarla con la probabilidad de presentar riesgo de cierta de enfermedad. De hecho, Willet y colaboradores (1998) mencionan que el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos, es sumamente útil para poder establecer asociaciones entre la dieta y el riesgo de enfermedad, más que para describir el consumo de nutrimentos en una población. Por lo tanto, el cuestionario diseñado en este trabajo, aunado a una calibración utilizando más recordatorios de 24 horas pudiera utilizarse, afinando

los detalles necesarios, para el estudio de la relación consumo de fitoestrógenos-salud.

Los resultados obtenidos para los principales alimentos aportadores de fitoestrógenos en la dieta, coinciden con lo reportado por Galván-Portillo y colaboradores (2007), en donde se identificó también como aportadores a la naranja, brócoli, salsa picante y frijol.

Las isoflavonas en la dieta resultaron de productos derivados de la soya, como los jugos y la leche, que a pesar de ser escasamente consumidos por la población, la elevada concentración de isoflavonas los hace la principal fuente. Además, también los alimentos que son fortificados con harina o proteína de soya, como el jamón y los productos de panificación, fueron una fuente importante de isoflavonas. En el caso del jamón, la soya es utilizada como un sustituto de carne, especialmente en productos económicos.

El principal alimento aportador de lignanos en la dieta fue el pan multigrano, esto debido a que los lignanos se encuentran en la cáscara de los granos. Resultados similares son reportados para las mujeres que radican en Gran Bretaña, donde se identificó como las principales fuentes de lignanos al pan y a los vegetales (Bhakta *et al.*, 2006). Debido al gran consumo de frijol en la población, este destaca dentro de los principales alimentos aportadores de cumestrol.

El café debido a su alto consumo y por su contenido de isoflavonas (40 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) y de cumestrol (30 $\mu\text{g}/100\text{g}$) (USDA, 2008), es un aportador importante de fitoestrógenos en la dieta de la población. De igual manera, Horn-Ross y colaboradores (2000b) en la población norteamericana (latinas, afroamericanas y americanas), estimó que una de las mayores fuentes de daidzeína, lignanos y cumestrol, era el café.

CONCLUSIÓN

El consumo de fitoestrógenos en esta población es bajo, similar a lo consumido por mujeres europeas y de Estados Unidos, y muy inferior a la ingestión reportada para la población asiática. Debido a que el consumo de fitoestrógenos se ha relacionado con la disminución del riesgo de enfermedades como las cardiovasculares y cáncer, la población sonoreNSE pudiera presentar mayor riesgo de padecer dichas enfermedades crónicas. Sin embargo, cabe aclarar que el consumo de fitoestrógenos es uno de los múltiples factores que pueden estar influyendo en el riesgo de presentar la enfermedad.

El FCA sobreestimó el consumo de todos los macronutrientes y los fitoestrógenos, comparado con los resultados obtenidos por el recordatorio de 24 horas. Esto se pudiera deber a la cantidad de alimentos incluidos en el cuestionario, ya que los alimentos de un mismo grupo se separaron para cuestionar de manera individual por su diferente contenido de fitoestrógenos. La tendencia del cuestionario a sobreestimar la ingestión de alimentos y nutrientes se ha reportado en otros estudios.

La estimación del consumo de fitoestrógenos totales, secoisolariciresinol, cumestrol y quercetina obtenida por el cuestionario de FCA se correlacionó con lo obtenido por el método de recordatorio de 24 horas, no así para el resto de los fitoestrógenos.

La aplicación del cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos, haciendo algunos ajustes, pudiera ser de gran utilidad en estudios de tipo epidemiológico para clasificar por el grado de exposición a fitoestrógenos en la población y relacionarla con un evento de salud, en mujeres de la región noroeste de México. Sin embargo, se recomienda mayor investigación para calibrar/validar el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos, para estimar el consumo de cada uno de los fitoestrógenos de manera confiable.

BIBLIOGRAFIA

Atkinson C, Compston J, Day N, Dowsett M, Bingham S. 2005a. The effects of phytoestrogen isoflavones on bone density in women: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr*;79:326–33.

Atteritano M, Marini H, Minuloti L, *et al.* 2007. Effects of the phytoestrogens genistein on some predictor of cardiovascular risk in osteopenic, postmenopausal women: a two-year randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Endocrinol & Metabol*;92(8):3068-75.

Bhakta D, dos Santos I, Higgins C, *et al.* 2005. A Semiquantitative Food Frequency Questionnaire Is a Valid Indicator of the Usual Intake of Phytoestrogens by South Asian Women in the UK Relative to Multiple 24-h Dietary Recalls and Multiple Plasma Samples. *J Nutr*;135:116–23.

Bhakta D, Higgins CD, Sevak L, *et al.* 2006 . Phyto-oestrogen intake and plasma concentrations in South Asian and native British women resident in England. *Brit J Nutr*; 95: 1150–58.

Branca F, Lorenzetti S .2005. Health Effects on Phytoestrogens. *Forum of Nutrition*, 55:100-11.

Camberos M. 2008. La pobreza regional de Sonora de cara al siglo XXI, *Revista Sonarida, SEC-Sonora-Comisión Sonora-Arizona, Hermosillo, Son.*, pp. 21-24. ARBITRADA.

de Kleijn M, van der Shouw Y, Wilson P, *et al.* 2001. Intake of dietary phytoestrogens is low in postmenopausal women in the United State: The Framingham Study. *J Nutr*;131;1826-32.

Dixon R. 2004. Phytoestrogens. *Annu Rev Plant Biol*;55:225-61.

Drago M, Lopez M, Saenz T. 2006. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*;37(4):59-68.

Fraser G. 2003. A search for truth in dietary epidemiology. *Am J Clin Nutr* ;78:521-25.

Galván-Portillo M, Wolff M, Torres L, López M, López L. 2007a. Assessing phytochemical intake in a group of Mexican women. *Salud Pública Mexico*;49:126-131.

Grijalva M, Caire G, Sánchez A, Valencia M. 1995. Composición química, fibra dietética y contenido de minerales en alimentos de consumo frecuente en el noroeste de México. *Arch Latinoam Nutr*;45:145-150.

Horn-Ross P, Barnes S, Lee M, *et al.* 2000. Assessing phyto-estrogen exposure in epidemiologic studies: development of a database. *Cancer Cause*

Control;11:289-98.

Horn-Ross P, Lee M, John E, Koo J. 2000 b. Sources of phytoestrogen exposure among non-Asian women in California, USA. *Cancer Cause Control*; 11:299-302.

Horn-Ross P, Barnes S, Lee V, Collins C, *et al.* 2006. Reliability and validity of an assessment of usual phytoestrogen consumption (United States). *Cancer Cause Control*;17:85–93.

Jelliffe D, Jelliffe P. 1974. *Community nutritional assessment*. Oxford Medical publications. N Y pp 263.

Kaaks R, Ferrari P. 2006. Dietary intake assessments in epidemiology: can we know what we are measuring?. *Ann Epidemiol*;16:377– 80.

Keinan-Boker LK, Van der Schouw YT, De Kleijn MJ, Jacques PF, Grobbee DE, Peeters PH. 2002. Intake of Dietary Phytoestrogens by Dutch Women. *J Nutr*; 132: 1319–28.

Krebs-Smith SM, Heimendinger J, Subar AF, Patterson BH, Pivonka E. 1995. Using food frequency questionnaires to estimate fruit and vegetable intake: association between the number of questions and total intakes. *J Nutr Educ*; 27: 80–5.

Kuhnle G, Dell'Aquila C, Aspinall S, Runswick S. 2009b. Phytoestrogens content of cereals and cereal-based foods consumed in the UK. *Nutr Cancer*; 61:302-9.

Kuhnle G, Dell'Aquila C, Aspinall S, *et al.* 2009a. Phytoestrogens content of fruits and vegetables commonly consumed in the UK based on LC-MS and 13 C-labelled satandars. *Food Chem*; doi:10.1016/j.foodchem.2009.03.002.

Kuhnle G, Dell'Aquila C, Aspinall S, *et al.* 2008a. Phytoestrogens content of food of animal origin: dairy products, eggs, meat, fish, and seafood. *J Agric Food Chem*;56:10099-104.

Kuhnle G, Dell'Aquila S, Aspinall S, *et al.* 2008b. Phytoestrogen Content of Beverages, Nuts, Seeds, and Oils. *J Agric Food Chem*;56:7311-15.

Lechting A, Yarbrough C, Marterrel R, Delgado H, Klein E. 1976. The one day recall dietary survey: a review its usefulness to estimate protein and calories intake. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*;24(26):243-71.

Linnusson E, Sanjur D, Frickson F. 1974. Validating the 24 hours recall method as a dietary survey tool. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*:24(2):277-93.

Maskarinec G, Singh S, Meng L, Franke A. 1998. Dietary soy intake and urinary isoflavone excretion among women from a multiethnic population. *Cancer Epidem Biomark*;7:613-19.

Milder I, Arts I, van de Putte B, Venema D, Hollman P. 2005. Lignan

contents of Dutch plant foods: a database including lariciresinol, pinoresinol, secoisolariciresinol and matairesinol. *Brit J Nutr*; 93: 393-402

OMS Technical Report Series. 2003. Diet, nutrition and prevention of chronic disease. Report of joint WHO/FAO expert consultation. Documento.. http://www.who.int/hpr/NPH/docs/who_fao_expert_report.pdf

Pillow P, Duphorne C, Chang S, Contois J, Strom S, Spitz M, Hursting S. 1999. Development of a database for assessing dietary phytoestrogens intake. *Nutr Cancer*; 33(1):3-19.

Probst-Hensch NM, Pike MC, McKean-Cowdin R, Stanczyk FZ, Kolonel LN, Henderson BE. 2000. Ethnic differences in post-menopausal plasma oestrogen levels: high oestrone levels in Japanese-American women despite low weight. *Br J Cancer*;82(11):1867-70.

Quizán-Plata T, Ortega M. 2000. Diseño y validación de una herramienta para identificar riesgo dietario en mujeres adultas de bajo ingreso. *Nutrición Clínica. Octubre-Noviembre*;3(4).

Ronco A, de Stefani E. 1999. Fitoestrógenos y riesgo de cáncer mamario: un estudio caso-control. *Rev Med Uruguay*; 15: 94-102.

Scalbert A, Manach C, Morand C, Rémésy C. 2007. Dietary Polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci*;45:287-306. doi 10.1080/1040869059096.

Surh J, Kim MJ, Koh E, Kim YK, Kwon H. 2006. Estimated intakes of isoflavones and coumestrol in Korean population. *Int J Food Sci Nutr*;57 (5-6): 325-44.

Torres L, López L, López M, Rueda C, Wolf M. 2000. Food sources of phytoestrogen and breast cancer risk in Mexican women. *Nutr Cancer*;37:134-9.

Thompson L, Boucher B, Liu Z, Cotterchio M, Kreiger N. 2006. Phytoestrogen Content of Foods Consumed in Canada, Including Isoflavones, Lignans, and Coumestan. *Nutr Cancer*; 54 (2):184-201.

USDA. 2008. Database for the isoflavone content of selected foods. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>.

USDA. 2007. Database for the flavonoid content of selected foods. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>.

Usui T. 2006. Pharmaceutical prospects of phytoestrogens. *Endocr J* 53(1):7-20.

Willet W. 1990. *Nutritional Epidemiology*. New York; Oxford University Press. Pp3-19, 69-91, 92-126, 245-271.

Willet, W. 1998 *Nutritional Epidemiology*, 2nd ed., Oxford University Press, New York, NY.

CAPITULO II

**Análisis de fitoestrógenos en alimentos comúnmente consumidos en el
noroeste de México utilizando cromatografía líquida de alta resolución
acoplada a masas (HPLC-MS)**

RESUMEN

Los fitoestrógenos son compuestos fenólicos de origen vegetal que presentan actividad estrogénica y antioxidante, por lo que se han relacionado con posibles efectos benéficos sobre enfermedades crónicas; sin embargo los resultados son contradictorios. Una de las principales limitaciones es la falta de información sobre el contenido de fitoestrógenos en los alimentos. El objetivo de este trabajo fue analizar, mediante HPLC-MS, el contenido de fitoestrógenos en 39 alimentos característicos de la dieta sonorensis. Con el método empleado se logró tener una sensibilidad de 0.001 a 0.2 μg por cada 100 gramos de alimento. Los porcentajes de recuperación de 14 fitoestrógenos estuvieron dentro de los valores 65.75% a 112.82%. Dentro de los alimentos que presentaron mayor concentración de isoflavonas están el jamón de pavo, el pastel comercial y el jugo de soya, y para lignanos, la linaza, moringa, pan birote y frijol pinto presentaron mayor contenido. El cumestrol fue detectado en bajas concentraciones en los alimentos, siendo las principales fuentes el frijol pinto y mayocoba, así como la papa frita. Y para el caso del aporte de flavonas y flavonoles, destacó el aporte de la moringa. El método empleado ofrece la ventaja de que es muy sensible, lo cual permite detectar fitoestrógenos en alimentos que están en muy bajas concentraciones. El desarrollo de metodologías más sensibles es necesario sobre todo en los países de occidente, donde la ingestión diaria de fitoestrógenos está dada por gran número de alimentos que contribuyen con una pequeña cantidad.

INTRODUCCIÓN

Los fitoestrógenos son compuestos con anillos fenólicos que se sintetizan en las plantas y poseen una leve actividad estrogénica debido a la similitud estructural con el estradiol (Ronco y de Stefany, 1999), además de presentar capacidad antioxidante (Scalbert *et al.*, 2007). Dentro de los principales fitoestrógenos están las isoflavonas, lignanos, cumestanos, estilbenos, flavonas y flavonoles, los cuales se encuentran en alimentos como la soya, linaza, frijol y frutas y verduras en general (Dixon *et al.*, 2004; Branca y Lorenzetti, 2005; Drago *et al.*, 2006).

Las tasas de incidencia y mortalidad por enfermedades crónicas en países de oriente son bajas en comparación con las de occidente; diversos estudios epidemiológicos indican que puede deberse, entre otros factores, a la dieta (Maskarinec *et al.*, 1998; Probst-Hensch *et al.*, 2000; Usui, 2006). En los países asiáticos, la dieta es baja en grasa saturada y alta en fitoestrógenos, los cuales se han relacionado con la disminución en el riesgo de enfermedades crónicas como el cáncer y enfermedades cardiovasculares, aunque los resultados han sido inconsistentes (Torres *et al.*, 2000; de Kleijn *et al.*, 2001; Atkinson *et al.*, 2005a; Atteritano *et al.*, 2007).

Una de las principales limitaciones de los estudios epidemiológicos que han relacionado la ingestión de fitoestrógenos con efectos en la salud, es la falta de información sobre el contenido de fitoestrógenos en los alimentos (Bhakta *et al.*, 2006). Muchas de las bases de datos que existen son una compilación de valores encontrados en la literatura y están creadas con un número limitado de alimentos (McCabe-Sellers y Chenard, 2008; Pennington, 2008), que además son determinados usando diferentes técnicas de laboratorio (Horn-Ross *et al.*, 2006). Adicionalmente, se tiene que los datos analíticos obtenidos en un país, no necesariamente serán relevantes para otro país (Padovani *et al.*, 2007). Todo esto dificulta el estudio del impacto de los

fitoestrógenos en la salud, especialmente en países en desarrollo (Galván-Portillo *et al.*, 2007a). Es por ello que resulta necesaria la generación de datos de composición de fitoestrógenos en alimentos propios de las diferentes regiones o países (Morales de León *et al.*, 2005).

El método más utilizado en los últimos años para el análisis de fitoestrógenos ha sido la cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS) (Milder *et al.*, 2004; Thompson *et al.*, 2006; Kuhnle *et al.*, 2007). Esto es debido a que es un método rápido, sensible, simple, preciso, automatizado y de costo relativamente bajo, lo cual lo hace factible para el análisis de una gran cantidad de muestras (Franke *et al.*, 1995).

El objetivo de este estudio fue analizar un total de 16 fitoestrógenos en alimentos comúnmente consumidos en la región noroeste de México utilizando HPLC-MS. Para poder utilizar la información del análisis de fitoestrógenos en estudios relacionados con la nutrición y salud, los datos obtenidos contribuyeron para actualizar las tablas de composición de alimentos que actualmente se tienen en la región.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección y Preparación de la Muestra

Los alimentos que se analizaron en este estudio se seleccionaron de acuerdo a la información que se obtuvo de las encuestas dietéticas (Capítulo I), con base en tres criterios principales: la frecuencia con que se consumió el alimento, su posible contenido de uno o varios de los fitoestrógenos de interés y si el alimento era regional. Además, se consideró la preparación del alimento, de tal manera que se pudo escoger un mismo alimento con dos o tres formas de preparación diferentes (ej. crudo, cocido, frito). Se analizaron un total de 39 alimentos. Las muestras como las frutas y verduras se obtuvieron de 3 diferentes supermercados, se cortaron en pequeños cubos y se mezclaron para obtener así una muestra representativa. En el caso de alimentos regionales (queso fresco regional, queso cocido, tortillas de harina de trigo y de maíz) la selección se realizó comprando el alimento en diferentes establecimientos tratando de cubrir las zonas norte, centro y sur de la ciudad de Hermosillo, Sonora. En el caso de productos empacados como el puré de tomate, jamón de pavo y el empanizador, se hizo una mezcla de todas las marcas existentes en el mercado. Las muestras se congelaron a -70°C y liofilizaron en un liofilizador marca Virtis BenchTop a una temperatura de -50°C al vacío. Una vez liofilizadas se almacenaron a -20°C , hasta su análisis.

Determinación de Fitoestrógenos por HPLC-MS

Para el análisis de fitoestrógenos en los alimentos se siguieron dos metodologías: para su extracción se utilizó la cromatografía en fase sólida descrita por Kuhnle y colaboradores (2007) y para su cuantificación la descrita por Wyns y colaboradores (2010); cabe mencionar que ambas

técnicas fueron modificadas en base a las condiciones de trabajo de nuestros laboratorios.

Para llevar a cabo la extracción de los fitoestrógenos se pesaron 100 mg de alimento liofilizado, el cual fue mezclado con 1 mL de metanol al 10% en acetato de sodio 0.1 M a pH=5, se mezcló en un vortex y se sonicó por 30 minutos. Posteriormente la mezcla se centrifugó por 30 min a 3000 rpm, el sobrenadante fue colectado y el precipitado se resuspendió de nuevo con 1 mL de metanol al 10% en acetato de sodio (0.1M, pH=5) y se centrifugó nuevamente. Los dos sobrenadantes se combinaron. A los 2 mL de sobrenadante colectados, se les agregó 3 mL del agente de hidrólisis, el cual contenía las enzimas β -glucuronidasa de *Helix pomatia*, β -glucosidasa proveniente de almendras y celulasa de *Trichoderma reesi*, a una concentración de 10 U/mL cada una. La extracción en fase sólida se llevó a cabo en cartuchos Strata C-18 (50 mg/mL), los cuales previamente fueron lavados con 1 mL de metanol al 100% y activados con 1 mL de metanol al 5%. Se agregó la mezcla de incubación, se lavó con 2 mL de metanol al 5% y se eluyó con 3 mL de metanol al 100%. El eluato fue secado con nitrógeno, una vez seco se lavaron las paredes del tubo con 500 μ L de metanol al 100%, se volvió a evaporar y posteriormente a esto, se reconstituyó con 200 μ L de una mezcla de metanol: solución inicial (65% de ácido fórmico al 0.025% y 35% de una solución de metanol/acetonitrilo (80:20) con ácido fórmico al 0.025%), en una proporción 40:60.

Las modificaciones realizadas a la técnica descrita por Kuhnle y colaboradores (2007), fue en la extracción en fase sólida, ya que en primer lugar, se agregó toda la mezcla de incubación al cartucho (aproximadamente 5 mL) y se eluyó con 3 mL de metanol, en vez de utilizar solo 1 mL como lo indica la técnica. En segundo lugar una vez llevado a sequedad el eluato, se procedió a un lavado con 500 μ L de metanol para asegurar que no hubiera quedado muestra en las paredes. Se evaporó a sequedad de nuevo y se reconstituyó,

como ya se indicó previamente. Con estas modificaciones se obtuvieron mejores resultados en cuanto a los porcentajes de recuperación. Además, la reconstitución fue hecha con una mezcla de metanol-solución inicial (65% de ácido fórmico al 0.025% y 35% de una solución de metanol/acetoniitrilo (80:20) con ácido fórmico al 0.025%), en una proporción de 40:60, mejorando con ello la resolución de los picos cromatográficos.

Las enzimas utilizadas fueron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) y el metanol grado cromatográfico de J. T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA). Los estándares de fitoestrógenos daidzeína, genisteína, eucol, gliciteína, biocanina A, formononetina, secoisolariciresinol, matairesinol, enterodiol, enterolactona y resveratrol fueron suministrados por Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), quercetina, luteolina y naringenina fueron adquiridos a través de INDOFINE Chemical Company, Inc (Hillsborough, NJ, USA) grado HPLC, GC y TLC.

La determinación de los fitoestrógenos en los alimentos se hizo por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), para lo cual se utilizó un equipo Agilent 1100 serie LC/MSD acoplado a un espectrómetro de masas con cuadrupolo simple G1946A, modelo VL, con software Chemstation (Rev B.03.02) (Agilent Technologies, Inc., Palo Alto, Ca, USA). El HPLC contaba con una bomba de gradiente cuaternario, auto-muestreador, horno de columna con termostato y un detector UV de arreglo de diodos. Se utilizó una columna de C18 Water Xbrindge (3.5 μm , 3 mm DI x 150 mm), a una temperatura de 52°C y con un flujo de 0.6 mL/min.

La elusión de los compuestos se llevó a cabo utilizando un gradiente de agua con ácido fórmico al 0.025% (solvente A) y metanol/acetoniitrilo (80:20) con ácido fórmico al 0.025% (solvente B). El gradiente fue programado de la siguiente manera: 0–5 min: 35% del solvente B, 5.01-16 min: 40% del solvente B, 16.01–19 min: 100% solvente B, 19.01–22 min: 35% del solvente B. Los compuestos eluidos fueron detectados a diferentes longitudes de onda: 260, 280, 290, 310 y 360 nm. La identificación de los fitoestrógenos en esta parte, se

hizo mediante los tiempos de retención y con los espectros de absorción de 190 a 500 nanómetros.

La confirmación de los fitoestrógenos se realizó mediante el detector de masas simple cuadrupolo, el cual consta de una fuente de ionización por Electrospray en modo negativo, la temperatura de secado utilizada es de 350°C, la presión del nebulizador fue de 60 Psi, con un voltaje del capilar de 3.5 kV y flujo de gas de secado a 11 L/min. La confirmación y cuantificación de los fitoestrógenos en los alimentos analizados se hizo a través de las siguientes relaciones masa-carga (m/z): resveratrol 227.1, gliciteína 163.1 y 283.0, naringenina 271.0, kaempferol 285.1, biocanina A 283.1, secoisolariciresinol 361.1, luteolina 285.1, ecuol 241.1, cumestrol 267.1, daidzeína 253.1, matairesinol 357.0, genisteína 269.0, quercetina 151.1 y 301.1, enterodiol 253.1, enterolactona 297.1 y para formononetina 267.1.

Estandarización del Método de Análisis de Fitoestrógenos en Alimentos

Previo al análisis de las muestras de alimentos, se estandarizó la técnica de extracción de fitoestrógenos en fase sólida, para lo cual se fortificaron las muestras a diferentes concentraciones (16, 40 y 60 ng/mL) utilizando un tejido blanco o libre de fitoestrógenos, se realizó la extracción y se calcularon los porcentajes de recuperación y los coeficientes de variación. Se consideró que la técnica estaba estandarizada una vez que se obtuvieron del 60 al 110% de los porcentajes de recuperación de cada uno de los fitoestrógenos, y coeficientes de variación menores al 20% (FDA, 2001).

Linealidad del Método

La linealidad del método se determinó a partir de la extracción de muestras fortificadas, con los fitoestrógenos de interés para el estudio, a

diferentes concentraciones: 1200, 800, 80, 8, 0.8, 0.08 y 0.008 ng/mL. Tanto los estándares de fortificación como las muestras fortificadas, fueron inyectados por triplicado el mismo día que fueron realizadas las extracciones. Los coeficientes de correlación se calcularon para las mezclas de los estándares y para las muestras fortificadas.

Aseguramiento de la Calidad de los Datos

Como parte del aseguramiento de la calidad de los datos y debido a que las enzimas utilizadas vienen contaminadas con fitoestrógenos, cada día que se analizaron las muestras se realizaron blancos (cristalería, reactivo y muestra). Las interferencias se restaron a las muestras. Se utilizó como estándar interno la 4-hidroxibenzofenona, agregando 100 μ L de una solución de 20 μ g/mL a cada muestra realizada. Además se realizaron muestras fortificadas a 100 ng/mL para los cálculos de los porcentajes de recuperación en cada corrida de muestras.

Para confirmar que la hidrólisis enzimática se llevara a cabo de manera completa, se analizaron alimentos ricos en isoflavonas, como el jugo de soya (control positivo para isoflavonas) y en lignanos, como la linaza (control positivo para lignanos).

Análisis Estadístico

Los porcentajes de recuperación se fueron calcularon a partir de la comparación entre el área obtenida del estándar de fortificación y el área de la muestra fortificada para cada fitoestrógeno.

El contenido de fitoestrógenos en las muestras se determinó a partir del área del estándar, considerando el volumen de reconstitución y el porcentaje de humedad de cada alimento. Los límites de detección y de cuantificación fueron

calculados a partir de la señal de ruido de cada fitoestrógeno y multiplicada por 3 y 10, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Límites de Detección, Cuantificación y Porcentajes de Recuperación

Los límites de detección y cuantificación del método empleado fueron diferentes para cada uno de los fitoestrógenos, siendo el menor para enterolactona y el mayor para ecuol (Tabla 1). Dichos valores corresponden a una concentración en el alimento de 0.001 a 0.2 $\mu\text{g}/100$ gramos de alimento fresco, la cual varía dependiendo de la humedad de éste.

Los límites de detección del método, fueron menores a los establecidos para el método desarrollado por Milder y colaboradores (2004) para la cuantificación de lignanos donde se utilizó HPLC-MS/MS. Dichos valores fluctúan de 1.6 a 3.6 ng/mL, que corresponden a 0.2-10 μg de fitoestrógenos por 100 g de muestra húmeda. También el límite de detección en este estudio resultó menor al método desarrollado por Kunhle y colaboradores (2007) en donde se utilizó HPLC-MS/MS, y se logró detectar menos de 1 ng/mL (1.5 $\mu\text{g}/100\text{g}$ muestra fresca).

El método modificado en nuestros laboratorios, al contar con límites de detección y cuantificación muy bajos, permite detectar fitoestrógenos que están en concentraciones muy bajas en los alimentos de consumo regional. La implementación de metodologías más sensibles es necesario sobre todo en los países de occidente, donde la ingestión diaria de fitoestrógenos está dada por gran número de alimentos que contribuyen con una muy pequeña cantidad, debido al bajo consumo del principal aportador de fitoestrógenos, la soya.

En la Tabla 2, se muestran los porcentajes de recuperación obtenidos para cada uno de los fitoestrógenos, así como los coeficientes de variación estimados a partir de la curva de calibración realizada. Los porcentajes de recuperación muestran que 14 fitoestrógenos se encuentran en un rango de 66

Tabla 1. Límites de detección y cuantificación del método de HPLC-MS para cada fitoestrógeno.

Fitoestrógeno	Límites (ng/mL)	
	Detección	Cuantificación
Resveratrol	0.025	0.084
Gliciteína	0.212	0.709
Naringenina	0.014	0.041
Kaempferol	0.008	0.029
Biocanina A	0.006	0.022
Secoisolariciresinol	0.023	0.078
Luteolina	0.009	0.033
Ecuol	1.061	3.541
Cumestrol	0.003	0.117
Daidzeína	0.011	0.037
Enterodiol	0.043	0.144
Matairesinol	0.012	0.041
Genisteína	0.021	0.006
Quercetina	0.011	0.036
Enterolactona	0.002	0.008
Formononetina	0.007	0.023

a 113%. Bajas recuperaciones fueron obtenidas para kaempferol, luteolina y resveratrol (15 a 44%), estos bajos porcentajes de recuperación podrían deberse a que esta metodología no fue desarrollada originalmente para el análisis de flavonas y flavonoles. Los coeficientes de variación fueron menores a 18 y la linealidad del método fue de 0.98 (rango de coeficientes de correlación de 0.97 a 0.99).

Kuhnle y colaboradores (2007), utilizando HPLC-MS/MS, obtiene recuperaciones de 89 a 107%, rango más estrecho a lo obtenido en este estudio (66-113%). Sin embargo y debido a la gran variedad de matrices analizadas, dichos autores utilizaron un buffer, fortificando antes y después de

la extracción en fase sólida. Los porcentajes de recuperación se calcularon a partir del radio entre el área antes y después de la fortificación. Valores similares obtuvieron Liggins y colaboradores (2000), para daidzeína y genisteína, fluctuando entre 70% y 109%.

Tabla 2. Porcentajes de recuperación obtenidos para cada uno de los fitoestrógenos analizados por HPLC-MS*.

Fitoestrógeno	% de recuperación	CV
Daidzeína	67	12
Genisteína	113	8
Ecuol	94	6
Gliciteína	92	9
Formononetina	78	1
Biocanina A	74	7
Secoisolariciresinol	66	6
Matairesinol	87	13
Enterolactona	85	3
Enterodiol	72	18
Cumestrol	88	10
Naringenina	70	10
Luteolina	20	5
Kaempferol	15	9
Quercetina	80	8
Resveratrol	44	4

CV=Coficiente de variación.

*Calculados a partir de la curva de calibración.

Milder y colaboradores (2004) desarrollaron una metodología para la cuantificación de lignanos utilizando cromatografía líquida acoplada a

espectrometría de masa en tándem (HPLC-MS/MS) y obtuvieron porcentajes de recuperación mayores para secoisolariciresinol (73-82%) y menores para matairesinol (51-55%), que lo obtenido con el método aquí utilizado.

En las figuras 1 y 2, se pueden apreciar los cromatogramas correspondientes a la mezcla de fitoestrógenos a una concentración de 2 µg/mL y una muestra de jamón de pavo, en la que se identificaron 7 fitoestrógenos: gliciteína, naringenina, kaempferol, secoisolariciresinol, daidzeína, genisteína y enterodiol.

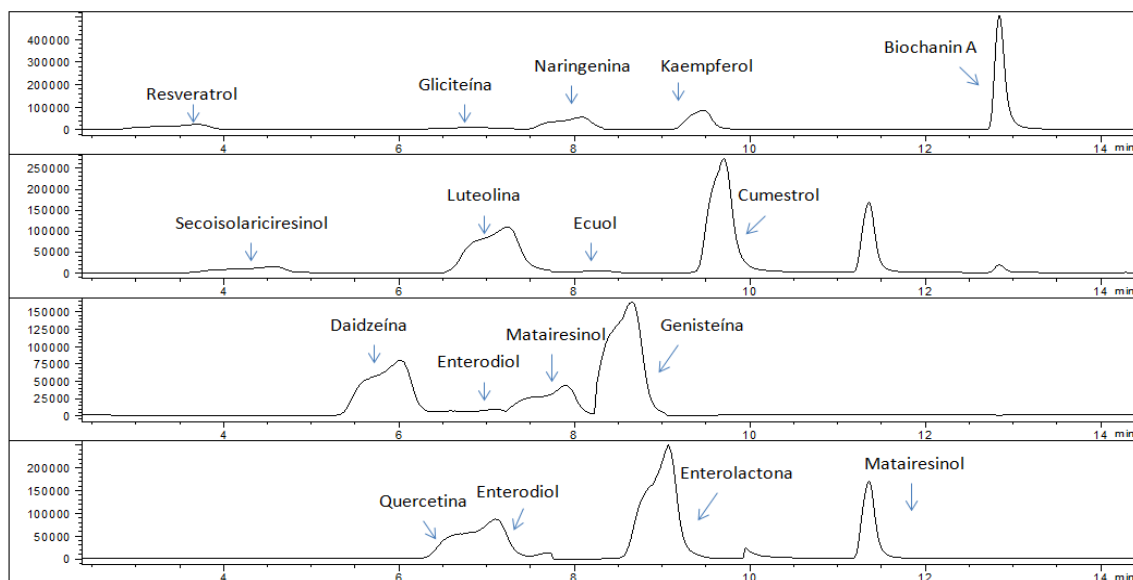


Figura 1. Cromatograma de una mezcla de fitoestrógenos a 2 µg/mL.

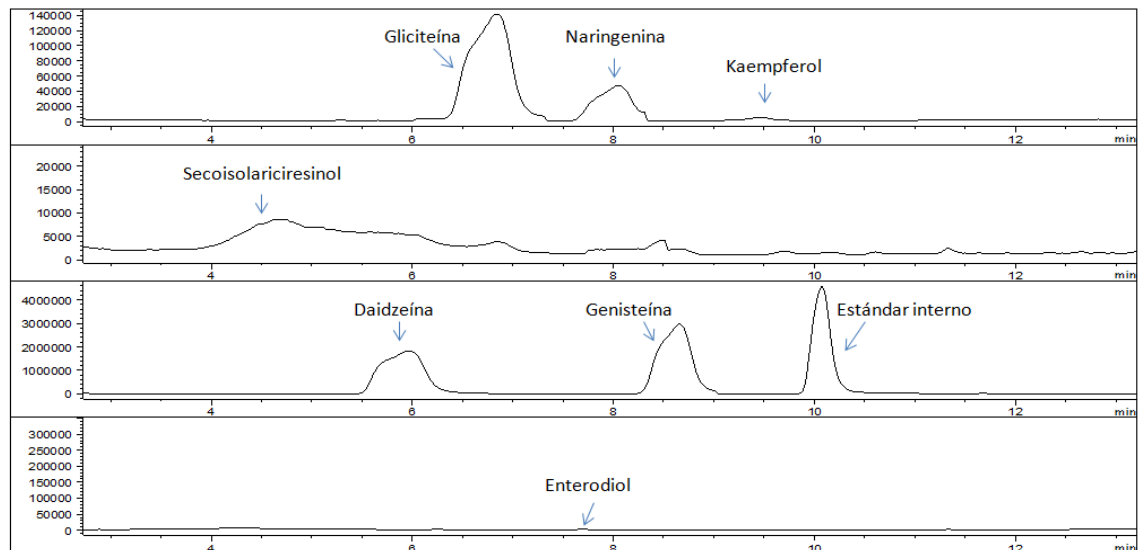


Figura 2. Cromatograma de una muestra problema (Jamón de pavo).

Alimentos más Consumidos y Análisis de Fitoestrógenos por HPLC-MS

En la Tabla 3, se presentan los alimentos más consumidos por las mujeres adultas de Hermosillo, según el método dietario de recordatorio de 24 horas y frecuencia de consumo de alimentos (Capítulo I). Según los resultados obtenidos, dentro de los 15 alimentos más consumidos por la población estudiada, se encontraron los frijoles guisados, tortillas de maíz, papa, huevo y verduras como la lechuga y el tomate, entre otros. Y como las bebidas más consumidas se encontraron el café y el refresco de cola.

Dentro de las frutas y verduras analizadas que tienen una mayor concentración de isoflavonas están la mandarina, manzana, chile serrano y chile verde (Tabla 4). Dentro de cereales y leguminosas se encontró que el empanizador, el pan birote y el frijol pinto cocido, tuvieron mayor concentración de isoflavonas y el huevo resultó ser el principal aportador del grupo de alimentos de origen animal. Los alimentos procesados, como el jamón de pavo y el pastel comercial, presentaron una elevada concentración de isoflavonas en

comparación con los demás alimentos. También se encuentra el puré de tomate y como era de esperarse el jugo de soya fue el principal aportador de isoflavonas (Tabla 5).

Para el jamón consumido en Canadá, Thompson y colaboradores (2006) reportan 0.8 y 0.6 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de alimento para daidzeína y genisteína, valores muy inferiores a los obtenidos en este estudio (395.2 y 356.2 $\mu\text{g}/100\text{g}$ respectivamente). Esto puede deberse al uso de soya para fortificar o para sustituir la carne, sobre todo en las marcas comerciales más económicas que se expenden en la región. Concentraciones mayores fueron obtenidas para daidzeína (125.8 $\mu\text{g}/100\text{g}$) y genisteína (461.2 $\mu\text{g}/100\text{g}$) en pastel comercial en comparación con las reportadas por Thompson y colaboradores (2006) y por la USDA (2008), los cuales reportan mismas concentraciones para genisteína y daidzeína (100 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de pastel). Lo cual podría deberse al tipo de harina utilizada en la elaboración de estos productos (preparada comercialmente) y también, al grado de fortificación con soya. El uso en alimentos de aditivos como la proteína y la harina de soya, han contribuido en gran manera a la ingestión total de isoflavonas en los países occidentales (Horn-Ross *et al.*, 2000).

En el caso del puré de tomate, Kuhnle y colaboradores (2009a) encontraron valores similares a los obtenidos en el presente estudio para la concentración de daidzeína, genisteína y matairesinol (0.5, 4 y 0.5 $\mu\text{g}/100\text{g}$, respectivamente) en este alimento. Aunque la naringenina en el puré de tomate no ha sido reportada en otras tablas de composición, en este estudio sí se obtuvo el mencionado fitoestrógeno, probablemente porque el tomate contiene 680 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de alimento de naringenina, por lo que la concentración aquí encontrada podría ser aportada por el tomate que pudiera tener el puré. El empanizador, según la USDA (2008), es una fuente de las isoflavonas daidzeína y genisteína, conteniendo 400 y 300 $\mu\text{g}/100\text{g}$ respectivamente, sin embargo, valores muy por debajo se detectaron en el análisis del empanizador

en este estudio. Las diferencias en cuanto al contenido de las mencionadas isoflavonas en el empanizador se puede deber a que el analizado en este estudio, no indica que está adicionado con soya, solo indican que el producto se elaboró en equipos que procesan alimentos como la soya, por lo que su presencia tan baja se puede deber a la contaminación. La presencia de lignanos en el empanizador se debe a que están presentes en la cáscara de los granos (Dixon *et al.*, 2004).

El ecuol se detectó en huevo y en queso fresco, no así para el caso de queso cocido, por lo que se puede decir que este fitoestrógeno pudo ser afectado por el calentamiento que tiene el queso cocido. Kuhnle y colaboradores (2008) reportan una concentración de 4 µg de ecuol por cada 100 g de queso procesado. Al igual que dichos autores, en este estudio también se detectó formononetina, biocanina A y los lignanos secoisolariciresinol y enterolactona en queso cocido.

En las Tablas 6 y 7, se muestra el contenido de lignanos y cumestrol en alimentos, presentando la mayor concentración de lignanos la mandarina, naranja, calabacitas guisadas, moringa, nopalitos, pepino y el tomate guisado. Para cumestrol, los alimentos de mayor aporte fueron la papa frita, el frijol mayocoba cocido y el frijol pinto cocido. Los alimentos que presentaron mayor contenido de flavonas y flavonoles fueron la mandarina, naranja, moringa, tomate, frijoles, jugo de soya y el puré de tomate (Tablas 8 y 9).

Las frutas como la naranja, mandarina, manzana y plátano no son una fuente importante de isoflavonas y de los lignanos secoisolariciresinol y matairesinol, ya que estos fitoestrógenos se encuentran en una concentración menor de 1 µg/100 g. Sin embargo, los alimentos mencionados son fuente de enterodiol y enterolactona (Thompson *et al.*, 2006; Keinan-Boker *et al.*, 2002; Milder *et al.*, 2005; Kuhnle *et al.*, 2009a). Según los resultados obtenidos, la manzana es un aportador importante de gliciteína y biocanina A, y la naranja y mandarina de ecuol. Sin embargo, no se esperaría encontrar ecuol en

alimentos de origen vegetal, solo en los de origen animal, ya que el ecuol es producto de la conversión de daidzeína realizada por la microflora intestinal (Setchell *et al.*, 2002). Los fitoestrógenos enterodiol y enterolactona también son productos de la metabolización realizada por la microflora y otros autores han reportado estos metabolitos en frutas y verduras, por lo tanto, de igual manera se puede encontrar ecuol en alimentos de origen vegetal

El contenido de cumestrol y de biocanina A en frijol pinto fue muy inferior a lo reportado por Pillow y colaboradores (1999) aunque el secoisolariciresinol presentó valores similares. Dichos autores reportaron una concentración de cumestrol en frijol pinto refrito de 1263.5 μg , de biocanina A de 196 μg y de secoisolariciresinol de 27.7 μg por cada 100 g de frijol cocido. Sin embargo, las concentraciones de cumestrol en frijol se obtuvieron a partir de un análisis hecho en 1995 por Franke y colaboradores, en donde se utilizó solo HPLC con detector de fluorescencia y el análisis se realizó en frijol crudo y seco, por lo que hicieron un ajuste por cocimiento, pudiendo ser este procedimiento una fuente de error adicional.

Al contrario de lo obtenido por Franke y colaboradores (1995) mediante HPLC para la cuantificación de cumestrol, lo detectado en este estudio, en donde se utilizó HPLC-MS, fue mucho menor (0.1 $\mu\text{g}/100\text{ g}$). Thompson y colaboradores (2006), determinaron el contenido de cumestrol en frijol negro también por HPLC-MS y se obtuvo una concentración todavía menor (0.025 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ de frijol) que lo obtenida en el presente estudio. La utilización de la espectrometría de masas ofrece una ventaja, ya que permite confirmar y cuantificar con mayor precisión los compuestos que se están analizando, por lo que se puede concluir que existe una sobreestimación al utilizar solo HPLC con detección por fluorescencia. Adicionalmente, se observó que el contenido de cumestrol entre variedades de frijol es diferente, siendo mayor para frijol pinto (0.59 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), seguido por el frijol mayocoba (0.35 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) y menor para frijol negro (0.1 $\mu\text{g}/100\text{ g}$).

Tabla 3. Principales alimentos consumidos según R 24 h y cuestionario de FCA.

Alimento	R-24 h		Alimento	FCA	
	Frecuencia de consumo* (%)	Consumo (g/día)		Frecuencia de consumo* (%)	Consumo (g/día)
Café preparado	83	366.49	Lechuga	100	23.54
Tortilla de Maíz	66	74.86	Pasta cocinada	100	18.72
Huevo	54	57.92	Tortilla de Maíz	99	85.15
Tortilla de harina	52	51.56	Puré de tomate	99	18.36
Lechuga	47	53.85	Papas cocidas	99	13.51
Tomate fresco	46	62.80	Media crema	99	6.93
Papa cocida	44	89.78	Tamales de carne	99	4.63
Leche entera	44	166.07	Frijoles guisados	98	136.74
Frijoles guisados	42	57.33	Pepino	98	26.54
Cebolla cocinada	41	20.03	Tomate fresco	98	21.18
Azúcar morena	36	9.11	Aguacate	98	12.46
Azúcar blanca	35	8.99	Elote cocido	98	8.76
Soda de cola	34	329.22	Soda de cola	97	229.25
Mayonesa	32	10.61	Plátano fresco	97	40.38
Aceite de maíz y canola	31	4.60	Huevos fritos	97	38.04
Queso regional	29	33.01	Calabacitas cocidas	97	11.73
Aceite de soya	29	1.65	Carne aldilla	97	11.44
Aguacate	28	52.29	Carne asada	97	8.90

Continuación

Alimento	R-24 h		Alimento	FCA	
	Frecuencia de consumo* (%)	Consumo (g/día)		Frecuencia de consumo* (%)	Consumo (g/día)
Cebolla blanca cruda	27	22.04	Mayonesa	97	3.51
Puré de tomate enlatado	25	41.28	Naranja	96	54.54
Jugo de limón	25	15.47	Manzana	96	39.29
Plátano	25	101.08	Brócoli cocido	96	12.29
Frijoles cocidos	24	75.69	Jugo de limón	96	8.18

*Definido como número de personas (en porcentaje) que consumieron el alimento.

Tabla 4. Contenido de isoflavonas en frutas y verduras, expresados en $\mu\text{g}/100\text{ g}$ de alimento comestible.

Alimento	Daidzeína	Genisteína	Ecuol	Gliciteína	Formononetina	Biocanina A	Isoflavonas totales
Frutas							
Mandarina	0	0	11.60	0.53	0.06	0.04	12.23
Manzana	0.06	0	0	16.24	0	1.23	17.54
Naranja	0	0	4.81	0.58	0.23	0.13	5.76
Plátano	0	0	0	0	0	0	0
Verduras							
Calabacitas guisadas	2.43	0.03	0	0.70	0	0	3.17
Cebolla cruda	0	0	0	0	0.01	0.02	0.03
Cebolla guisada	0	0	0	0.50	0.07	0.05	0.62
Chile serrano	0.02	0	11.61	0.06	0.02	0	11.71
Chile verde	0	0	43.41	0.02	0.03	0.01	43.47
Lechuga	0.04	0.03	0	0	0	0	0.08
Moringa	0	0	0	0	0	0	0
Nopalitos	0	0	0	0	0	0	0
Papa cocida	0.91	0.33	0	0	0	0	1.24
Papa frita	2.05	1.55	0	2.15	0.01	0.28	6.05
Pepino	0	0	0	0	0.02	0.05	0.07
Repollo crudo	0	0	0	0	0	0.04	0.04
Tomate bola crudo	0	0.07	0	0	0	0	0.07
Tomate bola guisado	0	0.24	0	0	0	0.41	0.65

Continuación.

Alimento	Daidzeína	Genisteína	Ecuol	Gliciteína	Formononetina	Biocanina A	Isoflavonas totales
Tomate saladett crudo	0	0	0	0	0.03	0.02	0.05
Tomate saladett guisado	0	0.39	0	0	0.15	0.14	0.68
Zanahoria cocida	0	0	0	0	0	0	0
Zanahoria cruda	0	0.23	0	0	0.02	0.02	0.27

Tabla 5. Contenido de isoflavonas en cereales, leguminosas, alimentos de origen animal y productos comerciales, expresados en $\mu\text{g}/100\text{ g}$ de alimento comestible.

Alimento	Daidzeína	Genisteína	Ecuol	Gliciteína	Formononetina	Biocanina A	Isoflavonas totales
Cereales y leguminosas							
Arroz blanco cocido	0	0	0	0	0	0	0
Empanizador	4.51	0	0.83	6.25	0.03	0.53	12.16
Frijol mayocoba cocido	0	0.11	0	0	0	0	0.11
Frijol negro cocido	1.25	0.66	0	0	0	0	1.90
Frijol pinto cocido	3.50	1.96	0	0	0.04	0	5.51
Linaza	0.34	0	0	0	0.70	0	1.05
Pan birote	8.73	1.33	0	5.53	0	1.19	16.77
Tortilla de harina	0	0	0	0	0	0	0
Tortilla de maíz	1.42	1.33	0	0	0	0	2.76
Alimentos de origen animal							
Huevo guisado	3.50	1.33	0.52	2.35	0.03	0.26	7.99
Queso cocido	0	0	0	0.09	0.03	0.39	0.52
Queso fresco	0	0.16	0.47	0.99	0.02	0	1.64
Productos comerciales							
Jamón de pavo	395.24	356.24	0	172.39	0	0	923.86
Jugo de soya	757.64	430.82	0	275.70	0.07	0.17	1464.40
Pastel comercial	125.87	461.23	0.39	28.76	0.09	0.23	616.58
Puré de tomate	0.70	0.89	0	0	0	0.36	1.96
Sabritas Tostitos	0	0	0.90	2.66	0.24	0	3.80

Tabla 6. Contenido de lignanos y cumestrol en frutas y verduras, expresados en $\mu\text{g}/100\text{ g}$ de alimento comestible.

Alimento	Secoiso- lariciresinol	Matairesinol	Enterolactona	Enterodiol	Lignanos totales	Cumestrol
Frutas						
Mandarina	2.51	0.02	0.03	4.87	7.43	0.02
Manzana	0	0	0.02	0	0.02	0
Naranja	1.12	0	0	0	1.12	0
Plátano	0	0	0.03	0	0.03	0.04
Verduras						
Calabacitas guisadas	1.69	6.95	0	0	8.64	0
Cebolla cruda	0	0	0.02	0	0.02	0.15
Cebolla guisada	0	0	0.01	0	0.01	0.10
Chile serrano	0	0	0	0	0	0.01
Chile verde	0	0	0	0.09	0.09	0.03
Lechuga	0.64	0	0	0.21	0.84	0
Moringa	29.69	0	0	0	29.69	0
Nopalitos	1.96	0	0	0	1.96	0
Papa cocida	0.81	0	0	0.01	0.82	0.04
Papa frita	0.26	0	0.04	0.51	0.81	0.36
Pepino	1.90	0	0.01	0.02	1.92	0
Repollo crudo	0	0	0	0	0	0
Tomate bola crudo	0	0	0	0	0	0.05

Continuación

Alimento	Secoiso- lariciresinol	Matairesinol	Enterolactona	Enterodiol	Lignanos totales	Cumestrol
Tomate bola guisado	0	1.32	0	0	1.32	0.18
Tomate saladett	0	0	0	1.01	1.01	0.03
Tomate saladett guisado	0	1.25	0	0.01	1.25	0.10
Zanahoria cocida	7.10	0	0	0.01	7.52	0.01
Zanahoria cruda	0	0	0.01	0	0.01	0.03

Tabla 7. Contenido de lignanos y cumestrol en cereales, leguminosas, alimentos de origen animal y productos comerciales, expresados en $\mu\text{g}/100\text{ g}$ de alimento comestible.

Alimento	Secoiso- lariciresinol	Matairesinol	Enterolactona	Enterodiol	Lignanos totales	Cumestrol
Cereales y leguminosas						
Arroz blanco cocido	0	0	0	0	0	0.05
Empanizador	0	17.33	0	0	17.33	0.17
Frijol mayocoba cocido	3.91	0	0	0	3.91	0.35
Frijol negro cocido	4.53	0	0	1.28	5.81	0.10
Frijol pinto cocido	14.24	0	0	0	14.24	0.59
Linaza	68.37	3.46	0	0	71.83	0
Pan birote	11.08	0	0.21	0	11.29	0.18
Tortilla de harina	0	0	0	0	0	0
Tortilla de maíz	0.36	0	0	0	0.36	0.06
Alimentos de origen animal y productos comerciales						
Huevo guisado	0	0	0.14	0	0.14	0.02
Queso cocido	0.31	0	3.55	0	3.86	0.09
Queso fresco	0	0.27	2.18	0	2.45	0.03
Jamón de pavo	0	0	0.09	0	0.09	0
Jugo de soya sabor mango	4.29	0	0.02	0	4.31	0.05
Pastel comercial	0	0	0.75	1.49	2.25	0.03
Puré de tomate	0	1.91	0.02	0	1.92	0.05
Sabritas Tostitos	1.24	0	0.10	0	1.34	0.28

Tabla 8. Contenido de flavonas, flavonoles, estilbenos y fitoestrógenos totales en frutas y verduras, expresados en $\mu\text{g}/100\text{ g}$ de alimento comestible.

Alimento	Naring	Luteo	Kaemp	Querc	Resve	Fitoestrógenos totales
Frutas						
Mandarina	83.90	0.10	0	0.99	0	104.66
Manzana	0.29	0	0.24	1.24	0	19.33
Naranja	55.53	0.22	0	4.94	0	67.56
Plátano	1.99	0	0.28	0	0	2.34
Verduras						
Calabacitas guisadas	0.55	0.06	0.51	0.11	0.06	13.11
Cebolla cruda	0	0.01	0	0.11	0	0.32
Cebolla guisada	0.41	0	0.81	0.09	0	2.06
Chile serrano	0.47	0.23	0	0.16	0	12.58
Chile verde	0.68	1.19	0.15	1.41	0	47.02
Lechuga	0.06	0	0.01	0.02	0	1.02
Moringa	0.27	10.30	2386.2	2049.6	41.38	4517.48
Nopalitos	0.30	0	0.31	0	0	2.57
Papa cocida	0.11	0	0	0.11	0	2.33
Papa frita	0.03	0.21	0	0	0.34	7.80
Pepino	0	0	0	0.03	0.19	2.21
Repollo crudo	0.04	0.01	0	0.20	0	0.28
Tomate bola crudo	38.17	0	0	0.27	0	38.57

Continuación.

Alimento	Naring	Luteo	Kaemp	Querc	Resve	Fitoestrógenos totales
Tomate bola guisado	140.60	0.15	0.07	0.33	0	143.30
Tomate saladett	18.20	0	0	0.20	0.11	20.61
Tomate saladett guisado	130.94	0.18	0.25	0.38	0	133.78
Zanahoria cocida	0.06	0.02	0	0.02	0	7.62
Zanahoria cruda	0.02	0	0	0	0	0.33

Naring=Naringenina, Luteo=Luteolina, Kaemp=Kaempferol, Querc=Quercetina, Resve=Resveratrol

Tabla 9. Contenido de flavonas, flavonoles, estilbenos y fitoestrógenos totales en cereales, leguminosas, alimentos de origen animal y productos comerciales, expresados en µg/100 g de alimento comestible.

Alimento	Naring	Luteo	Kaemp	Querc	Resve	Fitoestrógenos totales
Cereales y leguminosas						
Arroz blanco cocido	0.07	0	0	0	0	0.12
Empanizador	0.47	0.27	0	0	0	30.40
Frijol mayocoba cocido	3.61	0.21	803.43	0	0	811.62
Frijol negro cocido	84.40	0	28.24	1.50	0	121.96
Frijol pinto cocido	81.97	0	406.41	1.00	0	509.72
Linaza	5.45	3.15	5.34	0	0	86.82
Pan birote	0	0.24	0.05	0	1.99	30.51
Tortilla de harina	0.18	0	0	0	0	0.18
Tortilla de maíz	0.43	0	0	0	0	3.61
Alimentos de origen animal						
Huevo guisado	0.35	0	0	0	0	8.50
Queso cocido	0	0	0	0	0	4.46
Queso fresco	0	0	0	0.05	0	4.17
Productos comerciales						
Jamón de pavo	13.17	0	0.64	0	0	937.77
Jugo de soya sabor mango	25.93	0	4.37	0	0	1499.06
Pastel comercial	3.74	0	0	0.86	0	623.46
Puré de tomate	322.39	0.60	1.95	16.50	0	345.37
Sabritas Tostitos	7.14	1.47	0	0	0	14.02

El frijol también es aportador de las isoflavonas daidzeína y genisteína, variando entre las variedades de frijol analizadas y coincidiendo con los resultados obtenidos por Thompson y colaboradores en el 2006. Además de ser el frijol fuente de daidzeína, genisteína, secoisolariciresinol y de cumestrol, también es fuente importante de kaempferol. Un estudio realizado por Martínez y colaboradores (datos sin publicar) en la Cd. de Guadalajara, Jalisco determinó el contenido de flavonoides en frijol, obteniendo como compuesto mayoritario a kaempferol en frijol mayocoba, sin embargo no fue cuantificado. En el presente estudio, el contenido de kaempferol fue también mayor en el frijol mayocoba, seguido del pinto y después el negro.

En alimentos característicos de la dieta mexicana, como la tortilla de harina y de maíz, no hay información en cuanto al contenido de fitoestrógenos, por este motivo se seleccionaron para su análisis. Se obtuvo que la tortilla de harina no es fuente de fitoestrógenos, ya que está elaborada con harina de trigo refinada y, por ejemplo, los lignanos están principalmente en la cáscara de los cereales. En contraste, la tortilla de maíz es fuente de daidzeína (1.42 µg/100 g), genisteína (1.33 µg/100 g) y secoisolariciresinol (0.36 µg/100 g).

La quercetina es un flavonol que se encuentra en frutas y verduras en general, siendo la cebolla y el tomate de los alimentos más ricos en este fitoestrógeno (USDA, 2007). Los resultados aquí obtenidos para quercetina en cebolla cruda y guisada (0.11 y 0.09 µg/100 g de cebolla respectivamente) fueron inferiores a los reportados por Crozier y colaboradores (2007a; 2007b), ya que los autores reportan una concentración de quercetina en cebolla fresca de 7.29 mg/100g y para cebolla cocida de 24.36 mg/100g, sin embargo el análisis se hizo utilizando solo HPLC y detector de UV-Vis.

La concentración de quercetina en tomate obtenida en este estudio fue menor a la cuantificada en tomate crudo, la cual es de 590 µg/100 g (USDA, 2008), y en tomate cocido de 700 µg/100 g (Franke *et al.*, 2004; y Harnly *et al.*, 2006). Sin embargo una similitud entre lo encontrado en este estudio y las

referencias antes mencionadas, es que la concentración de quercetina es mayor en la cebolla y el tomate cocidos que crudos. Esta diferencia puede deberse a la pérdida de agua de estos alimentos, provocando que se concentre la quercetina en el alimento. Resultados opuestos son reportados por Crozier y colaboradores (1997b), en donde la pérdida de quercetina en tomate y cebolla es del 75% al 80% después de hervir por 15 minutos, 65% de pérdida al cocer en horno de microondas y alrededor del 30% al freír los alimentos.

La naringenina se detectó en la mayoría de los alimentos aquí analizados. Sin embargo, no existen estudios que hayan analizado esta flavona en alimentos diferentes a las frutas y verduras, como el huevo, jamón de pavo y frijoles y alimentos procesados. En estos últimos alimentos se encontró la naringenina probablemente por el uso de condimentos (chiles, cebolla, tomate entre otros) o de aditivos como el ácido ascórbico, el cual es utilizado como fortificador o como conservador.

La moringa oleífera es una planta tropical que se ha relacionado con efectos benéficos contra el riesgo de enfermedades crónicas como las cardiovasculares. Dicha planta se ha comercializado en esta región debido a la gran demanda que se ha presentado por parte de la población. Según los resultados mostrados en la tabla 6 y 8, la moringa destaca por su aporte de secoisolariciresinol y de compuestos antioxidantes como luteolina, kaempferol, quercetina y resveratrol, pudiendo ser estos compuestos los responsables de los efectos benéficos que se le han atribuido a la planta. Resultados similares son reportados por Siddhuraju y Becker (2003), en donde se encontraron la quercetina y el kaempferol como compuestos fenólicos mayoritarios en extractos de moringa.

Las diferencias en cuanto a las concentraciones de fitoestrógenos en un mismo alimento reportada en otros países, pudieran explicarse en parte debido a que diversos factores afectan la concentración de fitoestrógenos en los alimentos, principalmente los factores ambientales. La exposición a la luz tiene

un efecto considerable en muchos de los fitoestrógenos. También se ha observado que los vegetales producidos de manera orgánica o en agricultura sustentable tienen un contenido de fitoestrógenos mayor a los producidos bajo condiciones de estrés, como pasa en la agricultura convencional o por la falta de agua (Asami *et al.*, 2003). Los diferentes tipos de variedades de un mismo alimentos pueden afectar el contenido de fitoestrógenos y además, el almacenamiento los hace fácilmente oxidables (Manach *et al.*, 2004). Los métodos de cocción e industrialización también presentan un efecto marcado en el contenido de fitoestrógenos en los alimentos (Crozier *et al.*, 1997b).

Los resultados en este estudio confirman la necesidad de elaborar las tablas de composición de alimentos propias de cada región o país, ya que se presentan muchas diferencias en la concentración de nutrimentos dentro de un mismo alimento entre distintas regiones.

CONCLUSIONES

Dentro de los alimentos mayormente consumidos por la población de estudio y que son una fuente importante de isoflavonas están la mandarina, manzana, chile serrano, chile verde, frijol pinto cocido y el pastel comercial. Dentro del grupo de alimentos de origen animal destacan por su contenido de isoflavonas el jamón de pavo y el huevo. A pesar de consumirse poco, pero por su gran aporte de isoflavonas, el jugo de soya es el principal aportador de este grupo de fitoestrógenos.

La mayor concentración de lignanos se encontró en la mandarina, naranja, calabacitas guisadas, nopalitos, pepino y tomate guisado. Para cumestrol, los alimentos de mayor aporte fueron la papa frita, frijol mayocoba cocido y frijol pinto cocido. Los alimentos que presentaron mayor contenido de flavonoles y flavonas fueron la mandarina, naranja, moringa, tomate, frijoles, jugo de soya y puré de tomate.

El método empleado presentó una sensibilidad mayor en comparación con otros métodos que se han desarrollado. Por lo tanto, nos permite detectar fitoestrógenos que están en muy bajas concentraciones. El desarrollo de metodologías más sensibles, es de gran utilidad sobre todo en los países de occidente, donde la ingestión diaria de fitoestrógenos proviene de un gran número de alimentos que contribuyen con una pequeña cantidad. Los factores ambientales, el tiempo de almacenamiento, los métodos de cocción, así como los diferentes tipos de variedades, afectan el contenido de fitoestrógenos en alimentos. Por esto, se resalta la importancia de analizar y complementar las tablas de composición de alimentos para su uso en estudios epidemiológicos, ya que la falta de información o el uso de tablas de composición de otros países pueden llevar a errores al momento de evaluar la relación entre fitoestrógenos y salud.

BIBLIOGRAFÍA

Asami D, Hong Y, Barrett D, Mitchell A. 2003. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. *J Agric Food Chem*;51:1237–41.

Atkinson C, Compston J, Day N, Dowsett M, Bingham S. 2005a. The effects of phytoestrogen isoflavones on bone density in women: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr*;79:326–33.

Atteritano M, Marini H, Minuloti L, et al. 2007. Effects of the phytoestrogens genistein on some predictor of cardiovascular risk in osteopenic, postmenopausal women: a two-year randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Endocrinol & Metabol*;92(8):3068-75.

Bhakta D, Higgins CD, Sevak L, et al. 2006 . Phyto-oestrogen intake and plasma concentrations in South Asian and native British women resident in England. *Brit J Nutr*; 95: 1150–58.

Branca F, Lorenzetti S .2005. Health Effects on Phytoestrogens. *Forum of Nutrition*, 55:100-11.

Crozier A, Jensen E, Lean M, McDonald M. 1997a. Quantitative analysis of flavonoids by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*; 761:315-21.

Crozier A, Lean, McDonald M, Black, C. 1997b. Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce, and celery. *J Agric Food Chem*; 45: 590-95.

de Kleijn M, van der Shouw Y, Wilson P, et al. 2001. Intake of dietary phytoestrogens is low in postmenopausal women in the United State: The Framingham Study. *J Nutr*;131;1826-32.

Dixon R. 2004. Phytoestrogens. *Annu Rev Plant Biol*;55:225-261.

Drago M, Lopez M, Saenz T. 2006. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*;37(4):59-68.

FDA US. 2001. Guidance for Industry. Bioanalytical Method Validation. Rockville, MD:CDER.

Franke A, Custer L, Arakaki C, Murphy S. 2004. Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii. *J Food Comp Anal*;17:1-35.

Franke A, Custer L, Cerna C, Narala K. 1995. Rapid HPLC analysis of dietary phytoestrogens from legumes and from human urine. *P Soc Exp Biol Med*;208(1):18-26.

Galván-Portillo M, Wolff M, Torres L, López M, López L. 2007a. Assesing

phytochemical intake in a group of Mexican women. *Salud Pública México*;49:126-131.

Harnly, J, Doherty R, Beecher G, Holden J, Haytowitz D, Bhagwat S. 2006. Flavonoid content of U.S. fruits, vegetables, and nuts. *J Agric Food Chem*;54:9966-77.

Horn-Ross P, Barnes S, Lee V, Collins C, Reynolds P, Lee M, Stewart S, Canchola A, Wilson L, Jones K. 2006. Reliability and validity of an assessment of usual phytoestrogen consumption (United States). *Cancer Causes and Control*;17:85–93.

Keinan-Boker LK, Van der Schouw YT, De Kleijn MJ, Jacques PF, Grobbee DE, Peeters PH. 2002. Intake of Dietary Phytoestrogens by Dutch Women. *J. Nutr*;132: 1319–28.

Kuhnle G, Dell'Aquila C, Aspinall S, Runswick S. 2009b. Phytoestrogens content of cereals and cereal-based foods consumed in the UK. *Nutr Cancer*; 61:302-9.

Kuhnle G, Dell'Aquila C, Aspinall S, et al. 2009a. Phytoestrogens content of fruits and vegetables commonly consumed in the UK based on LC-MS and 13 C-labelled standards. *Food Chem.* Article in press. doi:10.1016/j.foodchem.2009.03.002.

Kuhnle G, Dell'Aquila C, Aspinall S, et al. 2008. Phytoestrogens content of food of animal origin: dairy products, eggs, meat, fish, and seafood. *J Agric Food Chem*; 56:10099-104.

Kuhnle G, Dell'Aquila C, Low Y, Kussmaul M, Bingham S. 2007a. Extraction and Quantification of Phytoestrogens in Foods Using Automated Solid-Phase Extraction and LC/MS/MS. *Anal Chem*;79:9234-39.

Liggins J, Bluck L, Runswick S, Atkinson C, Coward A, Bingham S. 2000. Daidzein and genistein content of fruits and nuts. *J Nutr Biochem*; 11:326-31.

Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Lilliana Jimenez H. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*;79:727–47.

Martínez A, Naranjo A, Nungaray J. (datos sin publicar). Antocianinas, flavonoides y ácidos fenólicos presentes en frijol negro, querétaro y mayocoba y su estabilidad durante el cocimiento industrial. Departamento de Ingeniería Química, CUCEI-Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.

Maskarinec G, Singh S, Meng L, Franke A. 1998. Dietary soy intake and urinary isoflavone excretion among women from a multiethnic population. *Cancer Epidem Biomark*;7:613-19.

McCabe-Sellers B, Chenard C. 2008. Meeting the needs of US dietitians for food composition data. *J Food Compos Anal*; 21: 27-34.

Milder I, Arts I, van de Putte B, Venema D, Hollman P. 2005. Lignan contents of Dutch plant foods: a database including lariciresinol, pinoresinol,

secoisolariciresinol and matairesinol. *Brit J Nutr*; 93: 393-402

Milder I, Arts I, Venema D, Lasaroms J, Wahala K, Hollman P. 2004. Optimization of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for quantification of the plants lignans secoisolariciresinol, matairesinol, lariciresinol, and pinoresinol in foods. *J Agric Food Chem*; 52:4643-51.

Morales de León J, Bourges H, Camacho M. 2005. Amino acid composition of some Mexican Foods. *Archivos latinoamericanos de Nutrición*; 55:1-12.

Padovani R, Lima D, Colugnati F, Rodriguez-Amaya D. 2007. Comparison of proximate, mineral and vitamin composition of common Brazilian and US foods. *J Food Compos Anal*; 20:733-38.

Pennington J. 2008. Applications of food composition data: Data sources and considerations for use. *J Food Compos Anal*; 21 :3-12.

Pillow P, Duphorne C, Chang S, Contois J, Strom S, Spitz M, Hursting S. 1999. Development of a database for assessing dietary phytoestrogens intake. *Nutr Cancer*; 33(1):3-19.

Probst-Hensch NM, Pike MC, McKean-Cowdin R, Stanczyk FZ, Kolonel LN, Henderson BE. 2000. Ethnic differences in post-menopausal plasma oestrogen levels: high oestrone levels in Japanese-American women despite low weight. *Br J Cancer* 82(11):1867-70.

Ronco A, de Stefani E. 1999. Fitoestrógenos y riesgo de cáncer mamario: un estudio caso-control. *Rev Med Uruguay*; 15: 94-102.

Scalbert A, Manach C, Morand C, Rémésy C. 2007. Dietary Polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr*;45:287-306. doi 10.1080/1040869059096.

Setchell K, Brown N, Lydeking-Olsen E. 2002. The clinical importance of the metabolite equol-a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *J Nutr*;132:3577–84.

Siddhuraju P, Becker K. 2003. Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts of Total Phenolic Constituents from Three Different Agroclimatic Origins of Drumstick Tree (*Moringa oleifera* Lam.) Leaves. *J Agric Food Chem*; 51:2144–55.

Torres L, López L, López M, Rueda C, Wolff M. 2000. Food sources of phytoestrogens and breast cancer risk in mexican women. *Nutr Cancer*;37:134-9.

Thompson L, Boucher B, Liu Z, Cotterchio M, Kreiger N. 2006. Phytoestrogen Content of Foods Consumed in Canada, Including Isoflavones, Lignans, and Coumestan. *Nutr Cancer*;54(2): 184-201.

USDA Flavonoide database. 2008. Database for the isoflavone content of selected foods. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>.

USDA. 2007. Database for the flavonoide content of selected foods.

<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>.

Usui T. 2006. Pharmaceutical prospects of phytoestrogens. *Endocr J* 53(1):7–20.

Wyns C, Bolca S, Keukeleire D, Heyerick A. 2010. Development of a high-throughput LC/APCI-MS method for the determination of thirteen phytoestrogens including gut microbial metabolites in human urine and serum. *J Chromatogr B*; 878: 949–56.

LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO

Una de las principales limitaciones del presente estudio fue que solo se aplicó un recordatorio de 24 horas para comparar la ingestión de fitoestrógenos con el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos. Lo ideal sería aplicar múltiples recordatorios (al menos 4), para poder cubrir las variaciones entre temporadas como lo hace el cuestionario, de esta manera se obtendrían mayores coeficientes de correlación. Además, otra limitación es que se agregaron más alimentos al listado del cuestionario de FCA, que causó una sobreestimación del consumo de fitoestrógenos en comparación con el recordatorio de 24 horas.

A pesar de que se analizó el contenido de fitoestrógenos en algunos de los alimentos más consumidos por la población de estudio, una limitante importante es la falta de información del contenido de fitoestrógenos en muchos otros alimentos que se consumen en la región noroeste del país, pero que no pudieron ser analizados. Lo cual hace necesario continuar con el análisis de fitoestrógenos en alimentos, en futuras investigaciones.

La principal fortaleza del estudio fue que se analizó el contenido de fitoestrógenos en alimentos característicos de la dieta mexicana y sonoreense, como las tortillas, para los cuales no existían reportes. El incorporar estos datos en las tablas de composición, disminuye el error que se genera al utilizar tablas de composición de otros países. Además, el método analítico empleado (HPLC-MS), fue muy sensible, lo cual permitió detectar y cuantificar a los fitoestrógenos en concentraciones muy bajas.

Otra fortaleza del estudio fue el tamaño de la muestra y la selección de las mujeres de forma aleatoria, lo que permitió tener una muestra representativa y homogénea de la población.