

Pemberian suplemen Swissoats A3® meningkatkan kadar hormon estrogen pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina menopause galur Wistar

¹Trisna A. Widhayanthi, ²Wimpie Pangkahila, ²Gde Ngurah Indraguna Pinatih

¹Program Pascasarjana Anti-Aging Medicine

²Departemen Andrologi dan Seksologi

³Bagian Gizi Klinis

Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Denpasar

E-mail: callista_qu@yahoo.com

Abstract: Aging is a physiological process that occurs in all living creatures. Swissoats A3® is an anti-aging supplement that contains phytoestrogens. This study was aimed to prove that Swiss oats A3® supplementation could increase estrogen levels in menopausal female Wistar rats (*Rattus norvegicus*). This was an experimental study with a completely randomized pretest-posttest control group design. Subjects were 20 menopausal female rats (*Rattus norvegicus*), Wistar strain, healthy, aged 15-16 months, weighing 200 g, divided into 2 groups: the control group (P0), treated with distilled water for 21 days and the treatment group (P1), treated with Swissoats A3® of 34.2 mg/rat/day for 21 days. Before and after 21 days of treatment, 1 ml venous blood was drawn through the medial canthus of orbital sinus using microcapillary tube and the estrogen levels were measured by using indirect ELISA method. The results showed that before treatment, the mean estrogen level in P0 group was 14.96 ± 2.0468 pg/ml and in P1 group was 14.21 ± 2.3905 pg/ml ($P > 0.05$). Meanwhile, after 21-day treatment, the mean estrogen level in P0 group was 15.07 ± 1.8851 pg/ml, whereas in P1 group was 28.33 ± 3.2052 pg/ml ($P < 0.01$). The analysis showed that the Swissoats A3® could elevate the estrogen levels significantly ($P < 0.01$) in group P1 (2.3905 ± 14.21 vs 28.33 ± 3.205). **Conclusion:** Swissoats A3® supplementation could increase the estrogen levels in menopausal female Wistar rats (*Rattus norvegicus*).

Keywords: Swiss oats A3®, estrogen, female Wistar rats, menopause

Abstrak: Penuaan (*aging*) merupakan suatu proses fisiologik yang dialami oleh seluruh makhluk hidup. Swissoats A3® merupakan suplemen *anti-aging* yang mengandung fitoestrogen. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa pemberian suplemen Swissoats A3® dapat meningkatkan kadar estrogen pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina menopause galur Wistar. Jenis penelitian ialah eksperimental dengan *randomized pretest-posttest control group design*. Subjek penelitian ialah 20 ekor tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur Wistar, sehat, menopause, umur 15-16 bulan, berat badan 200 gr. Tikus dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol (P0) yang diberikan aquadest secara sonde selama 21 hari dan kelompok perlakuan yang diberikan suplemen Swissoats A3® dosis 34,2mg/ekor/hari secara sonde selama 21 hari. Sebelum dan sesudah 21 hari perlakuan, darah vena diambil melalui *medial canthus* sinus orbitalis sekitar 1 ml dengan menggunakan tabung mikropipiler dan dilakukan pemeriksaan kadar estrogen menggunakan metode *indirect* ELISA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebelum perlakuan, rerata kadar estrogen kelompok P0 $14,96 \pm 2,0468$ pg/ml dan kelompok P1 $14,21 \pm 2,3905$ pg/ml ($P > 0,05$). Setelah perlakuan selama 21 hari, rerata kadar estrogen kelompok P0 $15,07 \pm 1,8851$ pg/ml dan kelompok P1 $28,33 \pm 3,2052$ pg/ml ($P < 0,01$). Analisis efek perlakuan menunjukkan terjadinya peningkatan kadar hormon estrogen yang sangat bermakna ($P < 0,01$) pada kelompok P1 ($14,21 \pm 2,3905$ vs $28,33 \pm 3,205$). **Simpulan:** Swissoats A3® dapat meningkatkan kadar estrogen pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina menopause galur wistar.

Kata kunci: Swissoats A3®, estrogen, tikus wistar betina, menopause

Menopause merupakan salah satu proses dalam siklus reproduksi alamiah yang akan dialami setiap wanita selain saat pubertas, kehamilan, dan menstruasi. Seorang wanita dikatakan sudah memasuki masa menopause apabila ia tidak mengalami periode menstruasi selama 12 bulan tanpa disertai dengan penyebab biologis atau fisiologis yang disengaja. Menopause dialami oleh wanita yang telah melewati masa subur ditandai dengan berhentinya haid secara menetap yang berhubungan dengan proses penuaan dan secara umum digunakan sebagai parameter penuaan pada wanita.¹

Dengan berkembangnya cabang ilmu *anti-aging medicine*, banyak upaya yang telah dilakukan untuk mencegah terjadinya proses penuaan, dan pada wanita sering dikaitkan dengan penundaan menopause. Banyak perusahaan yang bergerak di bidang farmasi mengembangkan suplemen berbahan dasar tanaman atau tumbuhan alami yang digunakan sebagai anti-aging. Swissoats A3® merupakan salah satu contoh suplemen *anti-aging* yang merupakan kombinasi dari tiga bahan alami, yaitu: ekstrak Swissoats (*Avena sativa*), tanaman jelatang (*Urtica dioica*), dan *Sea buckthorn* (*Hippophae rhamnoides*). Swissoats A3® telah diklaim sebagai salah satu obat *anti-aging* karena kandungan kombinasi bahan alami yang dapat mencegah dan menghambat penyakit degeneratif terkait penuaan.²

Ekstrak Swissoats (*Avena sativa*) mengandung L-dopa yang cukup sesuai yang dibutuhkan oleh tubuh sebagai prekursor sintesis dopamin yaitu salah satu neurotransmitter penting pada sistem saraf dan telah terbukti pada manusia tua (*older adult*).³ Selain itu Swissoats merupakan sumber bahan alam yang kaya serat dan diketahui dapat menurunkan risiko kejadian kanker usus pada manusia.⁴ Swissoats juga menurunkan absorpsi lemak dan gula dalam usus sehingga mencegah terjadinya diabetes dan dislipidemia pada manusia.⁵

Tanaman jelatang (*Urtica dioica*) banyak mengandung vitamin dan mineral, seperti vitamin A dan vitamin C, kalsium, magnesium, dan besi.⁶ Selain itu ekstrak

tanaman ini memiliki efek positif terhadap hormon dan protein yang dapat menunda menopause dan pada wanita dengan gejala perimenopause. *Sea buckthorn* (*Hippophae rhamnoides*) ialah salah satu buah bergizi dengan kandungan vitamin yang banyak dibandingkan dengan tanaman lainnya.⁷ Kandungan vitamin antioksidan A, C dan E membantu menetralkan efek merusak sel dari radikal bebas dan memperlambat proses penuaan. Penelitian pada mencit menunjukkan bahwa *Sea buckthorn* (*Hippophae rhamnoides*) dapat mencegah kerusakan kulit akibat stres oksidatif yang diinduksi oleh paparan sinar UVB.⁸

Selain dampak positif dalam mencegah penyakit-penyakit degeneratif yang disebutkan di atas, tanaman-tanaman yang merupakan kandungan utama suplemen Swissoats juga memiliki dampak terhadap hormon reproduksi. Studi menggunakan tikus menunjukkan bahwa ekstrak Swissoats (*Avena sativa*) dapat meningkatkan sekresi *luteinizing hormone* (LH) yang selanjutnya meningkatkan kadar estrogen dalam darah.⁹ Selain itu ekstrak tanaman jelatang (*Urtica dioica*) dapat meningkatkan kadar estrogen baik pada tikus betina maupun tikus jantan.¹⁰ Didukung hasil penelitian oleh Jahromi dan Jashni¹¹ yang menyebutkan bahwa ekstrak tanaman jelatang (*Urtica dioica*) dapat meningkatkan kadar estrogen dan progesteron pada tikus betina. Tanaman jelatang (*Urtica dioica*) telah terbukti mengandung *phytoestrogen*.¹² Selain itu dari hasil analisis yang dilakukan di Laboratorium Analitik Universitas Udayana tahun 2016 dengan menggunakan metode HPLC, diketahui bahwa suplemen Swissoats A3® mengandung fitoestrogen sebesar 3,19mg/100g.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini ialah eksperimental dengan *randomized pretest-posttest control group design*.¹³ Subjek yang digunakan dalam penelitian ini ialah 20 ekor tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur Wistar, kondisi tikus sehat, menopause, berumur 15-16 bulan, berat badan 200 gr.¹⁴

Semua tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari sebelum diberi perlakuan. Tikus dibagi dalam dua kelompok, yaitu kelompok kontrol (P0) dan kelompok perlakuan (P1) kemudian diambil darah dan diperiksa kadar hormon estrogen (*pretest*). Kelompok kontrol (P0) diberikan aquadest 1 ml sebagai plasebo secara oral (*force feeding*) menggunakan sonde selama 21 hari, dan kelompok perlakuan (P1) diberi suplemen Swissoats A3® 17mg/ekor/hari yang dilarutkan dalam 1 ml aquades sebagai perlakuan secara oral (*force feeding*) menggunakan sonde selama 21 hari. Setelah perlakuan 21 hari, semua tikus diambil serum darahnya sebanyak 0,5 ml melalui medial *canthus sinus orbitalis*, dengan sebelumnya dilakukan anestesi menggunakan ketamine 10% dosis 50 mg/kgBB dan zylazine 2% dosis 20 mg/kgBB disuntikkan intramuskular pada bagian paha tikus. Darah yang diambil diperiksa kadar hormon estrogen setelah perlakuan (*posttest*). Kadar estrogen darah diperiksa dengan menggunakan metode *indirect ELISA*.

HASIL DAN BAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan rerata kadar estrogen kelompok kontrol (P0) sebelum diberikan perlakuan (*pre test*) ialah $14,96 \pm 2,0468$ pg/ml, sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberi suplemen Swissoats A3® dosis 34,2mg/ekor/hari (P1) ialah $14,21 \pm 2,3905$ pg/ml ($p > 0,05$). Setelah perlakuan selama 21 hari (*posttest*) rerata kadar estrogen kelompok P0 ialah $15,07 \pm 1,8851$ pg/ml, sedangkan pada kelompok P1 ialah $28,33 \pm 3,2052$ pg/ml ($P < 0,01$) (Tabel 1).

Untuk pengamatan lanjut efek masing-masing perlakuan terhadap variabel kadar estrogen, maka dilakukan analisis efek perlakuan dengan menggunakan *t-paired test*. Hasil analisis menunjukkan tidak terjadi peningkatan kadar hormon estrogen pada kelompok P0 ($P > 0,05$) ($14,96 \pm 2,0468$ vs $15,07 \pm 1,885$), namun pada kelompok P1 terjadi peningkatan kadar hormon estrogen yang sangat bermakna ($P < 0,01$) setelah diberikan perlakuan selama 21 hari ($14,21 \pm 2,3905$ vs $28,33 \pm 3,205$) (Tabel 2, Gambar 1)).

Tabel 1. Perbandingan kadar estrogen sebelum dan sesudah perlakuan (*pretest* dan *posttest*)

Pemeriksaan	Kelompok	n	Rerata estrogen (pg/ml)	t	P
<i>Pretest</i>	Kontrol (P0)	10	$14,96 \pm 2,0468^a$	0,754	0,461
	Perlakuan (P1)	10	$14,21 \pm 2,3905^a$		
<i>Posttest</i>	Kontrol (P0)	10	$15,07 \pm 1,8851^a$	-11,277	0,000
	Perlakuan (P1)	10	$28,33 \pm 3,2052^b$		

*Notasi (a,b) yang berbeda menunjukkan berbeda bermakna ($p < 0,05$)

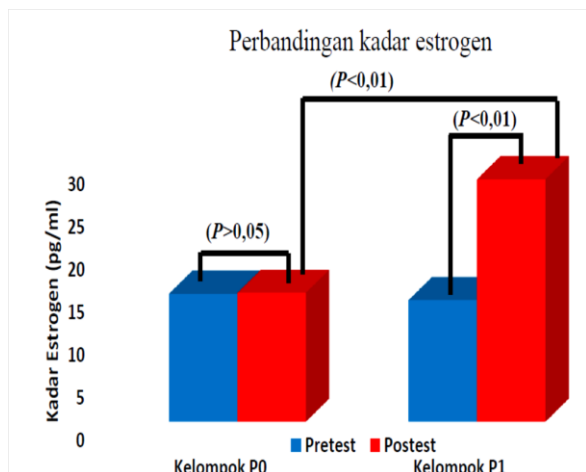
Tabel 2. Perbandingan kadar estrogen sebelum dan sesudah perlakuan (*pretest* dan *posttest*)

Kelompok subjek	Kadar estrogen (pg/ml)		Rerata Perbedaan	t	P
	<i>Pretest</i>	<i>Posttest</i>			
Kelompok kontrol (P0)	$14,96 \pm 2,0468$	$15,07 \pm 1,885$	-0,11	-0,135	0,895
Kelompok perlakuan (P1)	$14,21 \pm 2,3905$	$28,33 \pm 3,205$	-14,12	-16,195	0,000

Hasil penelitian ini didukung hasil penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa ekstrak Swissoats (*Avena sativa*) dapat meningkatkan sekresi LH yang selanjutnya dapat meningkatkan kadar estrogen dalam darah.⁹ Swissoats (*Avena sativa*) merupakan kandungan utama yang

terdapat dalam suplemen Swissoats A3®² sehingga pemberian suplemen Swissoats A3® kemungkinan dapat meningkatkan kadar estrogen melalui peningkatan sekresi LH oleh bagian anterior kelenjar pituitari.⁹ Penelitian lain juga menunjukkan bahwa kandungan terbesar kedua dalam suplemen

Swissoats A3®, yaitu tanaman jelatang (*Urtica dioica*), dapat meningkatkan kadar estrogen baik pada tikus betina maupun tikus jantan.¹⁰ Hal tersebut didukung hasil penelitian yang dilakukan oleh Jahromi dan Jashni¹¹ yang menyebutkan bahwa ekstrak tanaman jelatang (*Urtica dioica*) dapat meningkatkan kadar estrogen dan progesteron pada tikus betina.



Gambar 1. Perbandingan kadar estrogen sebelum dan sesudah perlakuan

Selain itu, hasil penelitian tidak terlepas dari kandungan senyawa fitoestrogen dalam suplemen Swissoats A3®. Pemeriksaan laboratorium yang dilakukan di Laboratorium Analitik, Universitas Udayana tahun 2016 dengan menggunakan metode HPLC, mendapatkan bahwa suplemen Swissoats A3® mengandung fitoestrogen sebesar 3,19mg/100g. Hasil pemeriksaan ini didukung oleh penelitian lainnya yang mendapatkan bahwa tanaman Swissoats (*Avena sativa*), jelatang (*Urtica dioica*), dan *Sea buckthorn* (*Hippophae rhamnoides*) mengandung fitoestrogen,^{12,15,16} yaitu senyawa non-steroid yang struktur dan fungsinya mirip dengan estrogen dan berasal dari tumbuhan.¹⁷ Dalam penelitian ini kandungan fitoestrogen dalam suplemen Swissoats berasal dari ekstrak tanaman yang terkandung di dalamnya yaitu tanaman Swissoats (*Avena sativa*), jelatang (*Urtica dioica*) dan *Sea buckthorn* (*Hippophae*

rhamnoides) dan bukan karena pada suplemen tersebut ditambahkan hormon estrogen; hal ini terbukti dari hasil analisis yang menunjukkan tidak terdeteksi estrogen, dan hanya fitoestrogen yang terdeteksi.

Hingga saat ini, belum jelas bagaimana mekanisme kerja fitoestrogen dalam meningkatkan kadar estrogen endogen dalam tubuh walaupun telah terdapat banyak penelitian yang mendukung teori ini. Aryani¹⁸ dalam laporannya menyatakan bahwa pemberian bahan makanan yang mengandung fitoestrogen dapat meningkatkan kadar estrogen di dalam darah. Hasil penelitian tersebut menyebutkan bahwa pemberian susu suplemen tinggi protein *whey* yang mengandung mengandung fitoestrogen (0,092mg/100g) dapat meningkatkan kadar estrogen.¹⁸ Selain itu, mekanisme kerja fitoestrogen dalam meningkatkan estrogen endogen yang paling memungkinkan ialah dengan meningkatkan sekresi LH oleh bagian anterior kelenjar pituitari.⁹

Fitoestrogen merupakan komponen yang berasal dari tumbuhan dan memiliki struktur dan fungsi yang serupa dengan estrogen yang ditemukan dalam tubuh mamalia sehingga dapat memainkan peranan yang penting dalam pencegahan kanker, penyakit jantung, gejala menopause dan osteoporosis.^{19,20} Estrogen memengaruhi proses pertumbuhan dan fungsi organ reproduksi baik pada wanita maupun pria, menjaga integritas sistem muskuloskeletal dan sistem saraf, melindungi fungsi jantung, dan menghambat terjadinya kanker kolon serta penuaan kulit.^{21,22}

Dalam kaitannya dengan menopause, penggunaan fitoestrogen sebagai alternatif untuk *hormone replacement therapy* (HRT) pada studi epidemiologi menunjukkan bahwa beberapa gejala menopause atau rendahnya estrogen pada sirkulasi dapat dicegah.²³ Studi epidemiologis lainnya menunjukkan bahwa populasi Asia memiliki insiden kanker prostat yang rendah dibandingkan di Eropa karena konsumsi bahan makanan yang mengandung fitoestrogen yang tinggi.²⁴

Sehubungan dengan gejala menopause, pemberian fitoestrogen telah menunjukkan hasil yang memuaskan dalam menurunkan gejala *hot flashes* dan berkeringat malam,²⁵ namun, peran fitoestrogen pada gejala menopause lainnya masih belum banyak dilaporkan.²⁶

Mengingat banyaknya fungsi fisiologis hormon estrogen bagi tubuh, maka potensi pemanfaatan fitoestrogen bagi kesehatan tubuh manusia perlu dikembangkan. Dengan berkembangnya ilmu pengetahuan, khususnya *Anti Aging Medicine*, maka masyarakat mulai mencari alternatif praktis untuk kesehatan yang lebih alamiah. Oleh karena itu, pemanfaatan fitoestrogen merupakan alternatif terhadap HRT dan *estrogen replacement therapy* (ERT) konvensional yang memiliki efek samping yang tidak diinginkan seperti meningkatkan risiko kanker payudara dan endometrium.^{15,27}

Secara garis besar, efek pemberian fitoestrogen dalam tubuh masih banyak diperdebatkan karena beberapa penelitian terpisah nampaknya memberikan hasil yang bervariasi dan tidak konsisten. Zhao et al.¹⁶ menyebutkan bahwa efek pemberian fitoestrogen dapat bersifat pro-estrogenik atau anti-estrogenik tergantung pada konsentrasi yang diberikan. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian dosis suplemen Swissoats A3® pada penelitian ini, yaitu sebesar 34,2mg/ekor/hari, bersifat pro-estrogen dan meningkatkan estrogen endogen, sehingga untuk penanganan masalah rendahnya hormon estrogen pasca menopause, dosis suplemen yang mengandung 1900 mg ekstrak tumbuhan untuk manusia merupakan dosis yang tepat.

Terkait dengan kemampuannya berikatan dengan reseptor estrogen, fitoestrogen sering disebut sebagai *selective estrogen receptor modulators* (SERMs).²⁸ Fitoestrogen diketahui memberikan efek yang berbeda jika berikatan dengan afinitas yang berbeda pada reseptor estrogen dengan distribusi yang berbeda pada suatu jaringan (reseptor estrogen α , reseptor estrogen β , dan reseptor estrogen γ).^{15,29} Selain itu aktivitas biologis fitoestrogen

tergantung pada jaringan, estrogen reseptor dan kadar estrogen endogen dalam sirkulasi.^{15,21} Pada penelitian ini, hewan coba yang digunakan ialah tikus wistar betina menopause yang memiliki kadar estrogen endogen dalam sirkulasi yang rendah sehingga pemberian suplemen Swissoats A3® yang mengandung fitoestrogen memberikan efek agonis estrogen dan meningkatkan kadar estrogen dalam darah.

Secara garis besar, fitoestrogen memiliki aktivitas biologis yang luas, yaitu dapat bertindak sebagai agonis estrogen dan antagonis estrogen. Sebagai agonis estrogen, fitoestrogen bersifat sama seperti estrogen endogen dalam tubuh; dan sebagai antagonis estrogen, fitoestrogen dapat memblokir dan merubah struktur reseptor estrogen sehingga mencegah aktivitas estrogen endogen.¹⁵

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian suplemen Swissoats A3® dapat meningkatkan kadar estrogen pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina menopause galur Wistar.

DAFTAR PUSTAKA

1. **Nirmala N.** Menopause dan Andropause. Jakarta: Tridasa Printer, 2003; p. 13-26
2. **Swissoats A3.** 2000. [cited 2016 Nov 17]. Available from: <http://www.arco-plant-cells.com/swissoats.html>.
3. **Wong RHX, Howe PRC, Bryan J, Coates AM, Buckley JD, Berry NM.** Chronic effects of a wild green oat extract supplementation on cognitive performance in older adults: A randomised, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *Nutrients*. 2012;4(5):331-42.
4. **Thies F, Masson LF, Boffetta P, Kris-Etherton P.** Oats and bowel disease: a systematic literature review. *Br J Nutr*. 2014;112(Suppl 2):S31-43.
5. **Hou Q, Li Y, Li L.** The metabolic effects of oats intake in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2015;7(12):10369-87.

6. **Rutto LK, Xu L, Ramirez E, Brandt M.** Mineral properties and dietary value of raw and processed stinging nettle (*Urtica dioica* L.). *International Journal of Food Science*. 2013;2013. Article ID 857120, 9 pages.
7. **Arentz S, Abbott JA, Smith CA, Bensoussan A.** Herbal medicine for the management of polycystic ovary syndrome (PCOS) and associated oligo/amenorrhoea and hyperandrogenism; a review of the laboratory evidence for effects with corroborative clinical findings. *BMC Complement Altern Med*. 2014;14:511. doi:10.1186/1472-6882-14-511.
8. **Hwang IS, Kim JE, Choi SI, Lee HR, Lee YJ, Jang MJ, et al.** UV radiation-induced skin aging in hairless mice is effectively prevented by oral intake of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) fruit blend for 6 weeks through MMP suppression and increase of SOD activity. *Int J Mol Med*. 2012;30:392-400.
9. **Al-Snafi AE.** Therapeutic properties of medicinal plants: A review of their effect on reproductive systems. *Indian J Pharm Sci Res*. 2015;5(4):240-8.
10. **Mahmoud AH, Sherbiny ME, Ebrahim AY.** Assessment of *Urtica dioica* extract on humeral immune response and hormones. *RRBS*. 2013;7(6):220-5.
11. **Jahroni HK, Jashni HK.** Effect of nettle root extract on folliculogenesis and estrogen and progesterone hormones in rats. *IJBR*. 2016;7(4):533-8.
12. **Pourahmadi M, Bagheri M, Jashni HK, Jahromi HK, Zarei S.** The effect of hydroalcoholic extract *urtica dioica* on concentrations of sex hormones in adult male rats. *J Jahrom Univ Med Sci*. 2012;10(4):25-9.
13. **Pocock SJ.** *Clinical Trial: A Practical Approach*. Chichester: John Wiley and Sons, 2008; p. 127-8.
14. **Sengupta P.** The laboratory rat: relating its age with human's. *Int J Prev Med*. 2013;4(6):624-30.
15. **Ososki AL, Kennelly EJ.** Phytoestrogens: a review of the present state of research. *Phytother Res*. 2003;17(8):845-69.
16. **Zhao W, Chen X, Yan C, Liu H, Zhang Z, Wang P, et al.** Effect of sea buckthorn leaves on inosine monophosphate and adenylosuccinatelyase gene expression in broilers during heat stress. *Asian-Australasian J Anim Sci*. 2012;25(1): 92-97. doi:10.5713/ajas.2011.11175.
17. **Boué SM, Wiese TE, Nehls S, Burow ME, Elliott S, Carter-Wientjes CH, et al.** Evaluation of the estrogenic effects of legume extracts containing phytoestrogens. *J Agric Food Chem*. 2003;51(8):2193-9.
18. **Aryani S.** Pemberian susu suplemen tinggi protein whey (L-Men Platinum) dapat meningkatkan kadar testosteron dan estrogen pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dengan aktivitas fisik sedang [Tesis]. Denpasar: Program Pascasarjana Magister Biomedik Universitas Udayana; 2016.
19. **Adlercreutz H.** Phyto-oestrogens and cancer. *Lancet Oncol* 2002;3:364-73.
20. **Kronenberg F, Fugh-Berman A.** Complementary and alternative medicine for menopausal symptoms: a review of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med*. 2002;137: 805-13.
21. **Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC.** Production and actions of estrogens. *N Engl J Med*. 2002;346:340-52.
22. **Ruggiero RJ, Likis FE.** Estrogen: physiology, pharmacology, and formulations for replacement therapy. *J Midwifery Womens Health*. 2002;47:130-8.
23. **Gencel VB, Benjamin MM, Bahou SN, Khalil RA.** Vascular effects of phytoestrogens and alternative menopausal hormone therapy in cardiovascular disease. *Mini Rev Med Chem*. 2012;12(2):149-74.
24. **Adjakly M, Ngollo M, Boiteux JP, Bignon YJ, Guy L, Gallon DB.** Genistein and daidzein: different molecular effects on prostate cancer. *Anticancer Res*. 2013;33(1):39-44
25. **Cheng G, Wilczek B, Warner M, Gustafsson JA, Landgren BM.** Isoflavone treatment for acute menopausal symptoms. *Menopause*. 2007;14(3 Pt 1):468-73.
26. **Moreira AC, Silva AM, Santos MS, Sardão VA.** Phytoestrogens as alternative hormone replacement therapy in menopause: What is real, what is

- unknown. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;143:61-71.
27. **Wagner JD, Anthony MS, Cline JM.** Soy phytoestrogens: research on benefits and risks. *Clin Obstet Gynecol.* 2001;44:843-52.
28. **Riggs BL, Hartmann LC.** Selective estrogen-receptor modulators—mechanisms of action and application to clinical practice. *N Engl J Med.* 2003;348: 618-29.
29. **Hawkins MB, Thornton JW, Crews D, Skipper JK, Dotte A, Thomas P.** Identification of a third distinct estrogen receptor and reclassification of estrogen receptors in teleosts. *Proc Natl Acad Sci.* 2000;97:10751-6.