

Menopausia

Efecto de las Isoflavonas con alto contenido en Genisteína sobre los parámetros de coagulación en mujeres menopáusicas

Effect of soy isoflavones rich in genistein on coagulation parameters in menopausal women

Mira Y*, Juliá MD**, Martínez M***, Villa P*, Ruiz S***, Romeu A**

*Unidad de Trombosis y Hemostasia, Servicio de Biopatología Clínica. **Servicio de Ginecología-Reproducción. ***Unidad de Citometría de Flujo. Hospital Universitario La Fe. Valencia - España.

Resumen

Antecedentes: Las pacientes con historia previa de trombosis venosa profunda tienen contraindicado el tratamiento hormonal sustitutivo (THS) con estroprogestativos para paliar los síntomas de la menopausia, por su conocida acción sobre los parámetros de la hemostasia y sobre los eventos cardiovasculares.

Objetivo: valorar en mujeres menopáusicas, el efecto que el tratamiento con isoflavonas con alto contenido en genisteína (Fisiogen®) puede tener sobre los parámetros de hipercoagulabilidad (Factor FVII (FVII), Factor VIII (FVIII), fibrinógeno, Dímeros (DD), fibrinopéptido 1+2 (F1+2), la resistencia a la proteína C activada (RPCa), el perfil lipídico y la activación plaquetaria, dado el papel que juegan estos parámetros en los procesos aterotrombóticos.

Metodología: Se realizó un estudio longitudinal, prospectivo, en el que se reclutaron veinte mujeres con menopausia natural a las que se les administró Fisiogen® (cápsulas que contienen 80 mg de isoflavonas de soja) en dos periodos de 8 semanas con un descanso entre ambos de 4 semanas.

Determinaciones: (FVII, FVIII, fibrinógeno, DD, F1+2, RPCa), perfil lipídico y la activación plaquetaria. Todas ellas se determinaron antes del tratamiento, en la semana 8, semana 12 y semana 20.

Resultados: No se observaron cambios significativos en ninguno de los parámetros estudiados. La falta de efecto secundario nocivo del Fisiogen® sobre los parámetros de la coagulación, sugiere que las isoflavonas podrían ser una alternativa para tratar los síntomas de la menopausia en aquellas pacientes con historia previa de trombosis.

Palabras clave: Isoflavonas. Proteína de soja. Menopausia. Coagulación. Activación plaquetaria

Correspondencia: Dra. Yolanda Mira Fornés
Unidad de Trombosis y Hemostasia.
Hospital Universitario La Fe
46009 Valencia. España
E-mail: ymira12@wanadoo.es

Summary

Background: *patients with previous history of vein thrombosis have contraindicated Hormone Replacement Therapy (estrogen-progestagen treatment) for menopausal complaints, because the nocive effect on hemostasis parameters and cardiovascular events.*

Objective: *to evaluate the effect of soy isoflavones rich in genistein (Fisiogen®) on several hypercoagulability markers (factor VII(FVII), factor VIII(FVIII), fibrinogen, D dimmers(DD), prothrombin fragment 1+2(FI+2), activated protein C resistance (APC-R), lipid profile and platelet activation given the role played by platelets in the atherothrombotic process.*

Methodology: *a longitudinal prospective study in which twenty natural menopausal women were included, was realized. They received Fisiogen® (capsules containing 80 mg of soy isoflavones) in two phases of 8 weeks with a compliance break of 4 weeks.*

Laboratory methods: *FVII, FVIII, fibrinogen, DD, FI+2, APC-R, lipidic profile and platelet activation markers. There were determined on entering the study, week 8, week 12 and week 20.*

Results: *No changes were found in any of the parameters studied. The lack of harmful effects by Fisiogen®, on coagulation parameters may suggest that isoflavones are an alternative for menopausal women who have previously suffered a venous thrombosis.*

Key words: Isoflavones. Soy proteins. Menopause. Coagulation. Platelets activation.

INTRODUCCIÓN

La administración de terapia hormonal sustitutiva (THS) para el tratamiento de los síntomas propios de la menopausia, está contraindicada en las mujeres que han padecido una trombosis venosa profunda (TVP), dado los efectos nocivos que dicha terapia puede ejercer sobre el sistema hemostático y sobre los eventos cardiovasculares. La asociación entre el uso de la THS y un incremento del riesgo de TVP de hasta 3 veces ha sido descrita en numerosos estudios (1-5). Dicho riesgo está relacionado con los efectos que la THS tiene sobre el sistema hemostático. Se ha observado que al administrar THS por vía oral a mujeres sanas, se produce un aumento de la generación de trombina, liberación de fragmentos F1+2, fibrinógeno, FVII, FVIII, DD, así como un aumento de la resistencia a la proteína C activada (RPCa), definida como una disminución del Ratio PCa y disminución del PAI1 (6, 7). Sin embargo, otros estudios (7-11) no han observado cambios significativos en los niveles del fibrinógeno, incluso se ha descrito una disminución significativa del mismo (8).

En un reciente metanálisis (12) se ha confirmado la asociación que existe entre la TVP y el uso de la THS odds ratio, OR 2,14 (IC 95%; 1,64-21,81) siendo mayor especialmente en el primer año de uso OR 3,49 (IC 95%; 2,33-5,59). La incidencia de TVP entre las mujeres no usuarias de THS es de 0,4-0,8 por 10.000 mujeres/año (13) y 1,3 por 10.000 mujeres/año, pudiéndose esperar un incremento de 1 a 2 casos adicionales de TVP por 10.000 mujeres/año

cuando reciben THS (14). Los datos del estudio Women's Health Initiative (WHI) tanto en la rama con estrógenos más progesterona (15) como en la rama de solo estrógenos (16) son concordantes con este leve incremento. Estos datos indican que el riesgo absoluto para TVP asociado a THS es bajo. Sin embargo, algunos datos sugieren que las mujeres que previamente han padecido una TVP tienen un incremento del riesgo de recurrencia cuando se asocia a THS con una incidencia de TVP por 100 pacientes año de 10,7% vs 1,1% en el grupo control (17). Por otra parte, se ha constatado que la asociación entre la RPCa (Factor V Leiden) y THS incrementa el riesgo de TVP hasta 13 veces (OR 13,27; IC 95 %: 4,0-40,97) (18) y 15 veces (OR 15,5; IC 95%: 3,1-76,7) (19). El incremento de eventos trombóticos en las mujeres menopáusicas podría estar asociado a los cambios en la actividad de las plaquetas circulantes. Sin embargo, en la bibliografía consultada no parece estar bien establecida dicha relación. Entre los diversos marcadores de activación plaquetaria, el complejo GPIIb/IIIa en su conformación activa (GPIIb/IIIa*) es el responsable de la iniciación del trombo plaquetario por unión mediada por el fibrinógeno plasmático (20). El crecimiento y estabilización de este trombo inicial depende de la exposición P-selectina (CD62) en la superficie plaquetaria (21). La plaqueta activada puede exponer en su superficie fosfatidilserina (PS), que proporciona una superficie procoagulante, al formar el complejo protrombinasa (22). Cada una de las etapas de la activación plaquetaria se acompaña de cambios en la concentración del calcio libre citoplas-

mático (Ca²⁺) (23). Por este motivo consideramos de interés incluir la valoración de estos parámetros para estudiar la función plaquetaria en la menopausia y el posible efecto del Fisiogen(®) sobre la misma.

La razón más frecuente por la que las mujeres son tratadas con TSH es la reducción del síndrome vasomotor, pero las mujeres con historia previa de TVP y/o embolia pulmonar no deben recibir dicho tratamiento. Parece claro pues, que en este grupo de pacientes, se deben utilizar otras alternativas terapéuticas, como puede ser la administración de isoflavonas de soja. Las isoflavonas pertenecen a los fitoestrógenos, amplio grupo de sustancias no esteroideas de origen vegetal, de similitudes estructurales y funcionales con el estradiol, y que según su estructura química se clasifican en cuatro grupos: isoflavonas, estilbenos, lignanos y cumestanos. Las isoflavonas constituyen la categoría mejor conocida y más ampliamente estudiada. Las más importantes y conocidas son genisteína, daidzeína, gliciteína, biochamina A y formononetina. Su uso ha sido propuesto para paliar al menos uno de los síntomas más frecuentes de la menopausia: los sofocos (24, 25).

Los mecanismos a través de los cuales actúan las isoflavonas son varios: interacción con receptores estrogénicos, interacción con receptores no estrogénicos, inhibición enzimática, y actividad antioxidante. Las isoflavonas actúan uniéndose a los receptores estrogénicos (RE) (26). Todos ellos, en particular la genisteína, presentan una mayor afinidad hacia los RE-β (1/3 de la del 17β-estradiol) que hacia los RE-α. Las isoflavonas, en particular la genisteína, pueden actuar como SERM (modulador selectivo de los receptores estrogénicos) (27- 29), ejerciendo una actividad tanto estrogénica como antiestrogénica (30). Sin embargo, son escasos los estudios publicados de mujeres menopáusicas en los que se valore el posible efecto de las isoflavonas en los parámetros de hipercoagulabilidad sanguínea tales como fibrinógeno, F1+2, DD, FVII, FVIII. Tan sólo en el estudio de Dent y col 2001 (31) se observó, en mujeres perimenopáusicas, que tras la ingesta de proteína de soja rica en isoflavonas, la tasa de fibrinógeno no se modificó pero el F VIII se incrementó de forma significativa. Más recientemente Teede y col (32) no encontraron un aumento de F1+2, FVII y DD en mujeres postmenopáusicas, tras administrarles suplemento de proteína de soja en la dieta.

El objetivo de nuestro estudio fue valorar en mujeres menopáusicas el efecto que el tratamiento con una isoflavona, Fisiogen(®) (Zambon) puede tener sobre los parámetros hemostáticos de hipercoagulabilidad, la RPCa, la glucemia, las enzimas hepáticas y

el perfil lipídico. Por otra parte, estudiar si el porcentaje de plaquetas GPIIb/IIIa* y CD62 positivas circulantes in vivo, la exposición de fosfatidilserina y la cinética del calcio en las mismas se modifica por este derivado de la soja.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes

Se incluyeron 20 mujeres menopáusicas con síntomas vasomotores, de edad comprendida entre 45 y 59 años (con amenorrea mayor de 12 meses y menor de 5 años). La edad media fue de 52,9 ± 4 años y la media del IMC 27,67±6,26 kg/m². Cuatro de ellas eran fumadoras y cuatro hipertensas.

Criterios de exclusión: Historia previa de TVP y/o embolia pulmonar, neoplasia, proceso vascular cerebral, uso de anticonceptivos orales o TSH en los 6 meses previos, tratamiento antiagregante plaquetar en los 15 días previos, cirugía reciente (3 meses previos), tratamiento farmacológico que actúe en el sistema nervioso central (antidepresivos, tranquilizantes), diabetes y toma de antibióticos.

Todas las mujeres participaron de forma voluntaria, leyeron y firmaron el consentimiento informado. Tanto el protocolo como el impreso del consentimiento informado fue aprobado por el Comité Ético del Hospital La Fe.

Fueron tratadas con Fisiogen(®) (Zambón, Barcelona, España) una cápsula (80 mg de isoflavonas de soja) al día en dos períodos, indicándoseles que no podían tomar dieta enriquecida con fitoestrógenos. Cada uno de ellos tenía una duración de 8 semanas, existiendo un descanso entre ambos de 4 semanas. Se les realizó un seguimiento con control clínico al final del primer período de 8 semanas y tras el segundo período de 8 semanas.

Las muestras de sangre fueron recogidas en ayunas a lo largo del estudio, antes del tratamiento (nivel I), semana 8 (nivel II), semana 12 (nivel III, tras cuatro semanas sin tratamiento) y semana 20 (nivel IV, 8 semanas después de haber sido iniciado el II periodo de tratamiento). En todos los controles (niveles) se recogió la información de la tensión arterial y del índice de masa corporal. Adicionalmente se realizó el estudio de la activación plaquetaria en 20 mujeres menopáusicas que no habían recibido tratamiento con fitoestrógenos considerándolas como grupo control en el estudio de estos parámetros.

Métodos de laboratorio

Los niveles funcionales de fibrinógeno, factor VII

y factor VIII fueron determinados usando reactivos de alta sensibilidad (IL, Instrumentation Laboratory, Milán, Italia). Las variaciones intra e inter ensayo fueron menores de 5%, 9% y 10%, respectivamente. La cuantificación de los DD se realizó por turbidimetría, utilizando el test de IL (33). Los valores de los coeficientes de variación intra e inter ensayo, de tres controles con diferentes concentraciones fueron de 0,54% a 3,87%. La valoración biológica de la resistencia plasmática al efecto anticoagulante de la Proteína C activada (RPCa), fue expresada como Ratio de la determinación de los tiempos de trombo-plastina parcial activado (TTPA) con y sin PCa. El Ratio normalizado resulta de la relación con el Ratio del plasma del control normal. La RPCa se define como una respuesta anticoagulante menor del plasma del paciente a la Pca, expresada como Ratio de TTPA (34). Los niveles de fragmentos de protrombina 1+2(F1+2) fueron valorados usando un ELISA comercial (Enzinger F1+2 micro, Dade Behring, Alemania). Los coeficientes de variación intra e inter ensayo fueron menores de 12%.

La determinación del colesterol total (CT), colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL-c), colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL-c), colesterol unido a lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL-c), triglicéridos (TG), alanin amino transferasa (AST), aspartato amino transferasa (ALT), gamma glutamil transferasa (γ GT) y la glucemia han sido realizadas con un autoanализador AU-5400 Olympus. La Lipoproteína a (Lpa) se ha anali-

zado mediante técnica cuantitativa de inmunoturbidimetría (Sentinel Diagnostics automated on Olympus 400).

Métodos citométricos

La determinación de la exposición GPIIb/IIIa*, CD62, PS y la valoración de la movilización del Ca^{2+} libre citoplasmático se realizó mediante citometría de flujo de sangre entera, siguiendo la metodología publicada previamente por nuestro grupo (32, 33) usando el citómetro de flujo Epics-XL (Beckmann Coulter, FI, USA).

Métodos estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron mediante el sistema SPSS (versión 11). Los análisis descriptivos incluyeron la media y el desvío estándar (DS). Las medias fueron comparadas mediante el test de la t de Student y el análisis de la varianza (ANOVA). Se consideraron estadísticamente significativos los valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

A lo largo del estudio no se apreciaron cambios en el perfil bioquímico en los cuatro niveles valorados, en ninguna de las pacientes estudiadas (Tabla 1),

Los parámetros de hipercoagulabilidad valorados

Tabla 1
Parámetros bioquímicos en veinte mujeres menopáusicas tratadas con isoflavonas

	GLUCEMIA mg/dL	COLESTEROL T mg/dL	HDL mg/dL	LDL mg/dL	VLDL mg/dL	AST UI/L	ALT UI/L	γ GT UI/L	TG mg/dL	Lpa mg/dL
NIVEL I	92,73 9,74	211,71 61,02	60,94 10,59	143,29 36,57	18,06 9,24	20,38 6,37	21,81 9,61	27,44 38,33	96,65 42,81	24,40 22,93
NIVEL II	100,22 15,61	221,53 44,25	57,37 17,93	140,00 41,71	24,65 20,06	18,78 5,41	18,59 9,02	31,22 45,62	123,06 99,70	22,93 26,19
NIVEL III	97,88 12,32	215,17 62,47	61,72 11,28	145,53 35,27	23,12 21,71	20,41 3,78	21,12 8,72	31,71 41,89	115,47 108,40	22,86 26,18
NIVEL IV	97,44 12,79	203,50 53,33	60,72 12,34	127,29 37,79	21,22 17,78	22,24 7,76	23,56 15,20	34,78 47,71	108,78 86,53	20,51 24,50

Los valores representan la media \pm desvío estándar

Tabla 2*Parámetros hemostáticos y coagulativos en mujeres menopáusicas (n=20) tratadas con isoflavonas*

	FIBRINOGENO mg/dL	DD ng/mL	FV II %	FV III %	RPCa	RN-PCa	FI + 2 nmol/L
NIVEL I	283,50 42,03	164,50 75,80	122,94 27,81	85,16 26,21	3,32 0,67	1,74 1,76	1,65 1,17
NIVEL II	278,78 39,46	161,06 72,13	126,55 26,84	99,20 31,43	3,66 0,75	1,27 0,33	1,24 0,46
NIVEL III	296,44 40,70	171,50 68,80	124,54 42,19	97,98 17,73	3,59 0,66	1,23 0,17	1,16 0,33
NIVEL IV	288,89 43,12	200,94 79,05	129,44 25,03	102 33,19	3,48 0,47	1,15 0,23	1,19 0,46

Los valores representan la media \pm desviación estandar. RPCa: ratio de la proteína C activada. RN-PCa: ratio normalizado de la proteína C activada.

RPCa y RNPCa se muestran en la tabla 2. No se observaron cambios significativos en ninguno de ellos. Adicionalmente, todos los parámetros estudiados estaban dentro del rango normal.

Los resultados relativos a la activación plaquetaria en sangre circulante se expresan en la Tabla 3, en la que se indica el porcentaje de plaquetas activadas en el grupo de mujeres menopáusicas y en el grupo control. En situación basal, las mujeres menopáusicas presentaban una tendencia significativa a expresar un mayor porcentaje de plaquetas activadas circulantes en sangre periférica que el grupo control. La fluorescencia inicial (F Inicial), directamente relacionada con la concentración de Ca^{2+} libre citoplasmático plaquetario, no mostró diferencias significativas entre el grupo de mujeres menopáusicas y el control (Tabla 4). El incremento de fluorescencia, directamente relacionado con la respuesta de la plaqueta a la acción estimuladora de la trombina, tampoco mostró diferencias entre pacientes y controles ($232,9 \pm 99,8$ vs $235,2 \pm 106,7$, ns). El valor de la pendiente m, indicador de la capacidad de la plaqueta de recuperar los valores iniciales de calcio, alterados por la acción de la trombina, tampoco evidenció diferencias significativas entre ambas poblaciones.

El tratamiento con Fisiogen® no modificó significativamente la hiperactivación plaquetaria de las mujeres menopáusicas estudiadas (Tabla 5). Tampoco se detectaron cambios en la movilización del calcio

libre citoplasmático por acción del Fisiogen® (resultados no mostrados).

DISCUSIÓN

Los fitoestrógenos se definen como compuestos estrogénicos naturales obtenidos de las plantas, lo que permite plantear la pregunta: ¿podrían los fitoestrógenos ser utilizados como alternativa en el tratamiento de los síntomas de la menopausia? Recientemente se ha producido un aumento en el número de estudios clínicos y nutricionales en los que se investiga su posible efecto beneficioso para la salud, pero son escasos los estudios que hacen referencia a su posible efecto sobre los parámetros de hipercoagulabilidad sanguínea.

En nuestro estudio, el uso de la isoflavona, el Fisiogen® (una cápsula al día) no produjo disminución de la concentración de lípidos. En relación al posible efecto hipocolesterolemizante de la proteína de soja, en el metanálisis publicado por Anderson y col (37) se observó que el consumo de genisteína y daidzeína se asoció a una disminución significativa del CT, LDL-c y TG, así como con un aumento no significativo de la concentración de HDL-c. Estos cambios estarían directamente relacionados con los niveles de colesterol previos al tratamiento, siendo más manifiesto en los pacientes con niveles de colesterol > 250 mg/dl (6,46 mmol/l). Taku et al (38) realizaron un

Tabla 3

Valor medio y desviación estandar del porcentaje de plaquetas activadas circulantes en mujeres menopáusicas y controles

	GPIIb/IIIa %	CD62 + %	PS + %
Nivel I (n= 20)	7,02± 7,82 ***	3,32± 3,08 ns	0,96± 0,70 *
G. Control (n=20)	1,58± 1,81	1,71± 0,49	0,50± 0,26

ns: no significativo vs G Control; * p<0,05 vs G Control;
*** p<0,001 vs G. Control.

Tabla 4

Valor medio y desviación estandar de la fluorescencia inicial, incremento de fluorescencia por acción de la trombina y pendiente de normalización de la fluorescencia debida a la movilización del calcio citoplasmático

	F Inicial U.A.F.	△Fluorescencia U.A.F.	m
Nivel I (n= 20)	4,19± 4,67 ns	232,9± 99,8 ns	- 41,3± 8,3 ns
G. Control (n=20)	3,23± 2,43	235,2± 106,7	- 42,14± 6,3

ns: no significativo vs G. Control
F: fluorescencia, U.A.F.: unidades arbitrarias de fluorescencia, m: pendiente

metanálisis con el objetivo de establecer si las isoflavonas son las implicadas en la mejoría del perfil lipídico obtenida por la proteína de soja. Incluyeron 11 ensayos clínicos publicados entre 1990 y concluyeron que las isoflavonas de la soja reducen significativamente el CT y LDL-c pero no modifican el HDL-c ni los TG y que la proteína de soja - con o sin isoflavonas - también mejoran en cierta medida el perfil lipídico.

Más recientemente otros estudios (39, 40) avalan estas conclusiones con relación al CT y a la LDL-c colesterol, pero no detectan una disminución de HDL-c o de los TG. En nuestro estudio, la concentración de CT, HDL-c, LDL-c, TG, Lpa y glucosa no se ha visto modificada por este tratamiento, lo que es acorde con estudios previos, en los cuales no se habi-

Tabla 5

Seguimiento del porcentaje de plaquetas activadas circulantes en mujeres menopáusicas tratadas con isoflavonas

	GPIIb/IIIa * %	CD62 + %	PS + %
Nivel I (n=20)	7,02± 7,82	3,32± 3,08	0,96± 0,70
Nivel II (n=20)	6,49± 11,56 ns	6,01± 7,07 ns	1,52± 1,28 ns
Nivel III (19)	4,73± 3,53 ns	3,45± 2,56 ns	1,22± 0,80 ns
Nivel IV (19)	9,48± 8,21 ns	2,65± 3,14 ns	0,79± 0,52 ns

Ns: no significativo vs Basal

an observado cambios significativos en el perfil lipídico tras el uso de isoflavonas en mujeres peri o postmenopáusicas (30, 41, 42), aunque podría ser debido al número de pacientes incluidas. De acuerdo con otros autores (40, 43) no se han detectado cambios en la Lpa. Incluso no se han observado cambios en las mujeres en las que existía hipercolesterolemia antes del tratamiento. Estas diferencias podrían ser debidas a los diferentes características de los estudios realizados así como al número de pacientes incluidas, a la clasificación utilizada de las mujeres (peri o postmenopáusicas), la composición de las diferentes isoflavonas y los niveles iniciales en la concentración de lípidos (37). Nuestros resultados no son acordes con otros estudios (31) en los que ha sido observada una disminución significativa del FVII y de la actividad F1+2. Por otra parte, en otro estudio (30) ha sido descrito un significativo aumento del FVII. Sin embargo, nuestros resultados son concordantes con Teede y col (32) respecto a los DD, ya que no se ha observado ninguna modificación de sus niveles. Estos estudios han sido diseñados con diferentes pautas y dosis de tratamiento lo que podría explicar la variabilidad de las respuestas observadas.

En cuanto a los parámetros de hipercoagulabilidad estudiados, no se han encontrado modificaciones significativas.

El presente estudio muestra que, desde el punto de vista plaquetario, las mujeres menopáusicas constituyen un grupo de riesgo de eventos aterotrombóticos, ya que presentan un mayor porcentaje de plaquetas activadas circulantes. En relación a la acción del Fisiogen® (una cápsula al día) sobre la activación

plaquetaria, nuestros resultados indican que dicho producto no parece ejercer ningún efecto apreciable. Se ha descrito que la genisteína disminuye la activación plaquetaria estimulada por agonistas tales como ADP, colágeno (44) y tromboxano A2 (45). Sin embargo estos estudios se realizaron *in vitro*, por lo que no son comparables a los del presente trabajo. En cuanto a la cinética del Ca²⁺ libre citoplasmático, Sargeant et al (46) sugieren que la genisteína ejerce una cierta inhibición de la entrada de dicho ión en el espacio intraplaquetario. Dado que dicho trabajo se realizó *in vitro*, y con concentraciones muy elevadas de genisteína, no podemos comparar este dato con los resultados de nuestro estudio, en el que no hemos detectado ningún efecto significativo del Fisiogen(®) sobre la movilización del Ca²⁺.

CONCLUSIÓN

Este estudio sugiere que el uso de las isoflavonas (con alto contenido en genisteína) puede ser una terapia alternativa para mujeres con síntomas climatéricos, en las cuales está contraindicado el uso de THS por haber sufrido o tener riesgo de padecer una TVP, ya que no se evidenciaron cambios significativos en ninguno de los parámetros estudiados, y no se observó efecto secundario nocivo del Fisiogen(®) sobre los parámetros de la coagulación. Sería necesario realizar estudios posteriores que confirmaran la eficacia y seguridad de esta terapia alternativa (y cuyo objetivo principal sean los eventos cardiovasculares- tromboembolismo). Otro aspecto que sería conveniente evaluar más ampliamente, sería los cambios que podrían producirse en los parámetros de hipercoagulabilidad como respuesta a las diferentes isoflavonas y pautas de tratamiento utilizados.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Daly E, Vessey M.P, Hawkins MM, et al.:** Risk of venous thromboembolism in users of hormone replacement therapy. *Lancet* 1996; 348: 977.
2. **Grodstein F, Stampfer MJ, Goldhaber SZ, et al.:** Prospective study of exogenous hormones and risk of pulmonary embolism in women. *Lancet* 1996; 348: 983.
3. **Jick H, Derby LE, Wald Myers M, et al.:** Risk of hospital admission for idiopathic venous thromboembolism among users of postmenopausal oestrogens. *Lancet* 1996; 348: 981.
4. **Grady D, Wenger NK, Kerrington D, et al.:** Postmenopausal hormone therapy increases risk for venous thromboembolic disease. *Annals of venous thromboembolic disease. Ann Intern Med* 2000; 132: 689.
5. **Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators.** Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women. *Jama* 2000; 288: 321.
6. **Kroon UB, Silfverstolpe G, Tengborn L.:** The effects of transdermal estradiol and oral conjugated estrogens on haemostasis variables. *Thromb Haemost* 1994; 71: 420.
7. **Scarabin PY, Albenc-Gelas M, Plu-Bureau G.:** Effects of oral and transdermal estrogen/progesterone regimens on blood coagulation and fibrinolysis in postmenopausal women. A randomized controlled trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 3071.
8. **Andersen LF, Gram J, Skouzy SO, et al.:** Effects of hormone replacement therapy on hemostatic cardiovascular risk factors. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 283.
9. **Teede HJ, Mc Grath B.P, Smolich JJ. et al.:** Postmenopausal hormone replacement therapy increases coagulation activity and fibrinolysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1404.
10. **Gottsäter A, Rendell M, Hulthen UL, et al.:** Hormone replacement therapy in healthy postmenopausal women in a randomized, placebo controlled study of effects on coagulation and fibrinolytic factors. *J Int Med* 2001; 249: 237.
11. **Hoibraaten E, Mowinckel MC, Ronde H, et al.:** Hormone replacement therapy and acquired resistance to activated protein C: results of a randomized, double blind, placebo controlled trial. *B J Haemat* 2001; 115: 415.
12. **Miller J, Chan BKS, Nelson HD.:** Postmenopausal estrogen replacement and risk for venous thromboembolism: a systematic review and meta-analysis for the US preventive services task force. *Ann Intern Med* 2002; 136: 680.
13. **Vanderbroucke JP, Koster T, Brief E, et al.:** Increased risk of venous thrombosis in oral contraceptive users who are carriers of factor V Leiden mutation. *Lancet* 1994 ; 344 : 1453.
14. **Pérez S, Garcia IA, Castellsague J, et al.:** Hormone replacement therapy and risk of venous thromboembolism: population based case control study. *BMJ* 1997; 314: 796.
15. **Writing Group for the Women's Health Initiative. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women.** Principal results from the Women's Health Initiative. *JAMA* 2002;288:321-321.
16. **The Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial.** Effects of Conjugated Equine

- Estrogen in Postmenopausal women with hysterectomy. *JAMA* 2004; 291: 1701.
17. **Hoibraaten E, Quigstad E, Arnesen H, et al.:** Increased risk of recurrent venous thromboembolism during hormone replacement therapy. Results of the randomized, double blind, placebo controlled estrogen in venous thromboembolism trial (EVTET) *Thromb Haemost* 2000; 84: 961.
 18. **Lowe G, Woodward M, Vessey M, et al.:** Thrombotic variables and risk of idiopathic venous thromboembolism in women aged 45-64 years. *Thromb Haemost* 2000; 83: 530.
 19. **Rosendaal FR, Vessey M, Rumley A, et al.:** Hormonal replacement therapy, prothrombotic mutation and the risk of venous thrombosis. *B J Haemat* 2002; 116: 851.
 20. **Hirsh J, Salzman EW, Marder VJ, et al.:** Overview of the thrombotic process and its therapy. In: Colman RW et al Eds. *Hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice*. Philadelphia, JB Lippincott 1994; 1224.
 21. **Palabrica T, Lobb R, Furie BC, et al.:** Leukocyte accumulation promoting fibrin deposition is mediated in vivo by P-selectin on adherent platelets. *Nature* 1992; 359:848.
 22. **Ruf A, Patscheke H.:** Flow cytometric detection of activated platelets: Comparison of determining shape change, fibrinogen binding and P-selectin expression. *Sem Thromb Hemostasis* 1995; 21: 146.
 23. **Weiss HJ, Lages B.:** Platelet prothrombinase activity and intracellular calcium responses in patients with storage pool deficiency, glycoprotein IIb/IIIa deficiency, or impaired platelet coagulant activity-a comparison with Scott syndrome. *Blood* 1997; 89 :1599.
 24. **Albertazzi P, Pansini F, Bonaccorsi G, et al.:** The effect of dietary soy supplementations on hot flushes. *Obstet Gynecol* 1998; 91: 6.
 25. **Albert A, Altabre C, Baró F, et al.:** Efficacy and safety of a phytoestrogen preparation derived from glycine max (L). *Merr in climateric symptomatology; a multicentric, open, prospective and non-randomized trial*. *Phytomedicine* 2002; 9: 85.
 26. **Kuiper GJM, Lemmen JG, Carlsson B, et al.:** Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor (α). *Endocrinology* 1998; 139: 4252.
 27. **Kostelac D, Rechkemmer G, Briviba K.:** Phytoestrogens modulate binding response of estrogen receptors alpha and beta to the estrogen response element. *J Agric Food Chem*. 2003; 51: 7632.
 28. **Wang SF, Jiang Q, Ye YH, et al.:** Genistein derivatives as selective estrogen receptor modulators: sonochemical synthesis and in vivo antiosteoporotic action. *Biorg Med Chem*. 2005; 13: 4880.
 29. **Setchell KD.:** Assessing risks and benefits of genistein and soy. *Environ Health Perspect*. 2006; 114: A332.
 30. **Collins BM, Lachlan JA, Arnold SF.:** The estrogenic and antiestrogenic activities of phytochemicals with the human estrogen receptor expressed in yeast. *Steroids*. 1997; 62: 365.
 31. **Dent SB, Peterson CT, Brace LD, et al.:** Soy protein intake by perimenopausal women does not affect circulating lipids and lipoproteins or coagulation and fibrinolytic factors. *J Nutr* 2001; 131: 2280.
 32. **Teede HJ, Dalais FS, Kotsopoulos D, et al.:** Dietary soy containing phytoestrogens does not activate the hemostatic system in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 1936.
 33. **Villa P, Ferrando F, Serra J, et al.:** Quantification of D-dimer using a new fully automated assay: its application for the diagnosis of deep vein thrombosis. *Haematologica* 2000; 85: 520.
 34. **Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ.:** Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:1004.
 35. **Labiós M, Martínez M, Gabriel F, et al.:** Flow cytometric analysis of platelet activation in hypertensive patients. Effect of doxazosin. *Thromb Res* 2003;110:203.
 36. **Labiós M, Martínez M, Gabriel F, et al.:** Effect of eprosartan on cytoplasmic free calcium mobilization, platelet activation and microparticle formation in hypertension. *Am J Hypertens* 2004; 17:757.
 37. **Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME.:** Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Engl J Med* 1995; 333: 276.
 38. **Taku, K., Umegaki, K., Sato, Y. et al.:** Soy isoflavones lower serum total and LDL cholesterol in humans: a meta-analysis of 11 randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*, 2007, 85: 1148.
 39. **Crouse JR, Morgan T, Terry JG, et al.:** A randomized trial comparing the effect of casein with that of soy protein containing varying amounts of isoflavones on plasma concentrations of lipids and lipoproteins. *Arch Intern Med* 1999; 159: 2070.
 40. **Vigna GB, Pansini F, Bonaccorsi G, et al.:** Plasma lipoproteins in soy-treated postmenopausal women: a double-blind, placebo-controlled trial. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2000; 10: 315.
 41. **Nestel PJ, Pomeroy S, Kay S, et al.:** Isoflavones from red clover improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 895.
 42. **Simons LA, von Königsmark M, Simona J, et al.:** Phytoestrogens do not influence lipoprotein levels or endothelial function in healthy, postmenopausal wo-

- men. *Am J Cardiol* 2000; 85: 1297.
43. **Wangen KE, Duncan AM, Xu X, et al.:** Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 225.
44. **Wilcox JN, Blumenthal BF.:** Thrombotic mechanisms in atherosclerosis: potential impact of soy proteins. *J Nutr* 1995; 125: 631S.
45. **Nakashima S, Koike T, Nozawa Y.:** Genistein: a protein tyrosine kinase inhibitor, inhibit thromboxane A₂-mediated human platelet responses. *Mol Pharmacol* 1991 ; 39 : 475.
46. **Sargeant P, Farndales RW, Sage SO.:** ADP- and Thapsigargin-evoked Ca²⁺ entry and protein-tyrosine phosphorylation are inhibited by the tyrosine kinase inhibitors genistein and methyl-2,5-dihydroxycinnamate in Fura-2-loaded human platelets. *J Biol Chem* 1993; 268:18151