

García-Martín A¹, Avilés-Pérez MA¹, Quesada Charneco M¹, Jiménez Moleón JJ², Fonollá Joya J³, Muñoz-Torres M¹

¹ Servicio Endocrinología y Nutrición - Hospital Universitario San Cecilio - Granada

² Departamento de Epidemiología y Medicina Preventiva - Facultad de Medicina de Granada - Granada

³ Departamento de Investigación - Puleva Biotech - Granada

Cambios en marcadores del metabolismo óseo y parámetros ultrasónicos en mujeres postmenopáusicas inducidos por isoflavonas de soja

Correspondencia: Antonia García-Martín - Servicio de Endocrinología y Nutrición - Hospital Universitario San Cecilio - Avda. Dr. Oloriz, 16 - 18012 Granada (España)
Correo electrónico: garciamartin_r@hotmail.com

Fecha de recepción: 18/01/2011

Fecha de aceptación: 14/05/2011

Trabajo becado por la SEIOMM para asistir al 32 Congreso de la ASBMR (Toronto, 2010)

Resumen

Introducción: Los resultados de los trabajos publicados sobre el papel de las isoflavonas en la prevención de la osteoporosis postmenopáusica son contradictorios. El objetivo de nuestro estudio es evaluar los efectos de la intervención nutricional con un producto lácteo enriquecido con isoflavonas de soja sobre el metabolismo óseo en mujeres postmenopáusicas españolas.

Sujetos y método: Estudio aleatorizado, controlado y a doble ciego, realizado en 99 mujeres postmenopáusicas que fueron distribuidas en dos grupos: el grupo S (n=48), con consumo de un producto lácteo enriquecido con isoflavonas de soja (50 mg/día), y el grupo C (n=51), con consumo de un producto lácteo control durante 12 meses. Se evaluaron basalmente y al año parámetros hormonales y marcadores del metabolismo óseo. Se utilizó ultrasonido del calcáneo (QUS, Hologic Sahara®, Carolina del Norte, EE.UU.) como técnica de evaluación de masa ósea.

Resultados: A los 12 meses, se produjo un descenso en los niveles séricos de fosfatasa ácida tartrato resistente y osteoprotegerina ($2,18 \pm 0,8$ vs. $1,76 \pm 0,54$ U/l, $p < 0,001$, y $5,21 \pm 3,36$ vs. $3,89 \pm 1,47$ pmol/L, $p = 0,007$, respectivamente) y un aumento de 25-OH-vitamina D ($24,48 \pm 9,85$ vs. $28,18 \pm 10,45$ ng/ml, $p < 0,001$), sin diferencias entre ambos grupos. No hubo cambios significativos en los parámetros hormonales y el resto de marcadores óseos. En cuanto al QUS, en la muestra total hubo un aumento de velocidad del sonido [SOS] ($1517,86 \pm 38,13$ vs. $1525,11 \pm 35,6$ m/s, $p = 0,036$), QUI ($76,37 \pm 19,87$ vs. $80,82 \pm 18,26$, $p = 0,012$), densidad mineral ósea estimada [Est. DMO] ($0,408 \pm 0,13$ vs. $0,435 \pm 0,12$ g/cm², $p = 0,013$) y T-score ($-1,55 \pm 1,12$ vs. $-1,31 \pm 1,03$, $p = 0,019$). En el grupo S se produjeron cambios positivos en QUI ($74,37 \pm 18,87$ vs. $78,83 \pm 13,68$, $p = 0,032$) y Est. DMO ($0,397 \pm 0,12$ vs. $0,423 \pm 0,09$ g/cm², $p = 0,04$), mientras que el grupo C no hubo diferencias significativas.

Conclusiones: El consumo diario de estos productos lácteos aumenta los niveles de 25-OH-vitamina D y supone un descenso de los marcadores del metabolismo óseo. La dieta rica en isoflavonas de soja puede ser una opción como medida preventiva de los efectos óseos de la menopausia.

Palabras clave: isoflavonas de soja, metabolismo óseo, postmenopausia.

Changes in bone metabolism markers and ultrasound parameters in postmenopausal women induced by soy isoflavones

Summary

Introduction: The results of the works published on the role of isoflavones in the prevention of postmenopausal osteoporosis are contradictory. The objective of our study is to evaluate the effects of nutritional intervention with a milk product enriched with soy isoflavones on bone metabolism in Spanish postmenopausal women.

Subjects and methods: A randomised controlled double blind trial was carried out in 99 postmenopausal women who were allocated to two groups: group S (n=48), with a consumption of a milk product enriched with soy isoflavones (50mg/day), and group C (n=51), with a consumption of a control milk product over 12 months. Hormone parameters and markers for bone metabolism were assessed at the baseline and at one year. Ultrasound of the calcaneum (QUS, Hologic Sahara®, North Carolina, US.) was used as the evaluation tool for bone mass.

Results: At 12 months, a decrease in blood levels of tartrate-resistant acid phosphatase and osteoprotegerin occurred (2.18 ± 0.8 vs 1.76 ± 0.54 U/l, $p < 0.001$, and 5.21 ± 3.36 vs 3.89 ± 1.47 pmol/L, $p = 0.007$, respectively), as well as an increase in 25-OH-vitamin D (24.48 ± 9.85 vs 28.18 ± 10.45 ng/ml, $p < 0.001$) with no differences between the groups. There were no significant changes in hormone parameters and the rest of the bone markers. In terms of the QUS, in the total sample there was an increase in the sound velocity [SOS] (1517.86 ± 38.13 vs 1525.11 ± 35.6 m/s, $p = 0.036$), QUI (76.37 ± 19.87 vs 80.82 ± 18.26 , $p = 0.012$), estimated bone mineral density [Est. BMD] (0.408 ± 0.13 vs 0.435 ± 0.12 g/cm², $p = 0.013$) and T-score (-1.55 ± 1.12 vs -1.31 ± 1.03 , $p = 0.019$). In group S, positive changes occurred in QUI (74.37 ± 18.87 vs 78.83 ± 13.68 , $p = 0.032$) and Est. BMD (0.397 ± 0.12 vs 0.423 ± 0.09 g/cm², $p = 0.04$), whilst in group C there were no significant differences.

Conclusions: The daily consumption of these milk products increases levels of 25-OH-vitamin D and results in a decrease in markers for bone metabolism. A diet rich in soy isoflavones may be an option as a preventative measure against the effects of the menopause on bone.

Key words: soy isoflavones, bone metabolism, postmenopausal.

Introducción

Los períodos peri y posmenopáusico constituyen un estado fisiológico caracterizado por el cese de la secreción hormonal ovárica, dando lugar a importantes cambios fisiológicos y psicosociales en la vida de la mujer¹.

Ante los efectos adversos de la terapia hormonal sustitutiva, se ha incrementado el interés por medidas alternativas para mejorar los síntomas menopáusicos y prevenir sus complicaciones a largo plazo. Los fitoestrógenos son compuestos no esteroideos que estructural y/o funcionalmente se relacionan con los estrógenos placentarios u ováricos, y pueden tener efectos antagonistas, agonistas o parciales sobre el receptor estrogénico. Las isoflavonas son los fitoestrógenos más activos, destacando los que se encuentran en la soja.

Debido a esta similitud con el estradiol, la acción de los fitoestrógenos está mediada por los receptores estrogénicos (RE) α y β . La distribución tisular de los mismos es diferente, por lo que la acción de sus ligandos naturales o sintéticos tiene efectos específicos en cada tejido. Las isoflavonas tienen mayor afinidad por los RE β . Este hallazgo ha sido propuesto para explicar la baja incidencia de efectos clínicos asociados a la menopausia en países con alto consumo de fitoestrógenos. Asimismo,

se obtienen menores efectos estimulantes en mama y endometrio comparados con 17 β -estradiol, que desencadena la vía transcripcional RE α ².

Teniendo en cuenta estos datos, los alimentos enriquecidos con isoflavonas de soja podrían considerarse "alimentos funcionales" al incluir un componente que proporciona un beneficio fisiológico específico, además del puramente nutricional, y que suponen una mejora del estado de salud y contribuyen a reducir el riesgo de desarrollar enfermedades³.

El objetivo de nuestro estudio es evaluar los efectos de la intervención nutricional con un producto lácteo enriquecido con isoflavonas de soja sobre el metabolismo óseo en mujeres postmenopáusicas españolas.

Sujetos y métodos

El estudio nutricional se llevó a cabo con un diseño aleatorizado, controlado y doble ciego. Las participantes se reclutaron en la Consulta de Endocrinología del Centro de Especialidades del Hospital Universitario San Cecilio de Granada. Todas firmaron el consentimiento informado para su inclusión. El estudio se realizó con la aprobación del Comité Ético del hospital, y se ajustó a las directrices pertinentes para la investigación en humanos.

Se seleccionaron 99 mujeres postmenopáusicas entre 45 y 65 años con amenorrea fisiológica de al menos un año de evolución. Se excluyeron pacientes con: enfermedades cardiorrespiratorias, renales, hepáticas o gastrointestinales graves; antecedente de patología metabólica ósea o causas secundarias de osteoporosis; cualquier tratamiento farmacológico hormonal o que afectara a la masa ósea o el metabolismo de la vitamina D, incluidos los suplementos de calcio y/o vitamina D.

Las participantes se distribuyeron por muestreo aleatorizado en dos grupos: el grupo S, de 48 mujeres, que consumió el producto lácteo enriquecido con isoflavonas, y el grupo C, de 51 mujeres, que consumió un producto lácteo control. La cantidad diaria consumida de ambos productos fue de 500 ml durante 12 meses; en el grupo S la cantidad diaria de isoflavonas administrada fue de 50 mg diarios (tabla 1).

Al inicio del estudio se recogieron datos epidemiológicos de edad, tiempo de evolución de menopausia, hábito tabáquico y consumo de alcohol, y se realizó una exploración física básica determinando el índice de masa corporal (IMC) y las cifras tensionales sistólica (PAS) y diastólica (PAD).

Se realizaron determinaciones hormonales, bioquímicas y de marcadores del remodelado óseo basalmente y a los 12 meses. Los datos hormonales analizados fueron: hormona folículo-estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH) y 17β-estradiol. Asimismo se midieron los niveles plasmáticos de calcio, fósforo, parathormona, 25-OH-vitamina D y osteoprotegerina (OPG, ELISA BI-20402, BIO-MEDICA-GRUPPE. Wien, Austria). Los marcadores del remodelado óseo de formación recogidos fueron osteocalcina (OC, inmunoensayo de electroquimioluminiscencia, analizador Elecsys, Roche Diagnostics, IN) y fosfatasa alcalina ósea (FAO, ELISA, Tandem-R Ostase TM, Hybritech Europe, Liège, Bélgica). Los marcadores de resorción incluidos fueron fosfatasa ácida tartrato resistente 5β (TRAP5β, colorimetría, Hitachi 704 Boehringer Mannheim GmbH) y telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo 1 (CTX, inmunoensayo enzimático, analizador Elecsys CrossLaps, Roche Diagnostics SL, Barcelona, España).

Al inicio del estudio y a los 12 meses se realizó una estimación de la masa ósea utilizando ultrasonografía de calcáneo (QUS, Hologic® Sahara® Waltham, NC, USA). Los parámetros proporcionados son: velocidad del sonido (SOS, *speed of sound*), coeficiente de atenuación (BUA, *broadband ultrasound attenuation*), QUI [QUI = 0,41(SOS) + 0,41(BUA) - 571] y densidad mineral ósea estimada [Est. DMO = 0,002592 × (BUA+SOS) - 3,687 g/cm³]. Las determinaciones se efectuaron en el pie dominante en condiciones estandarizadas por los fabricantes ^{4,5}.

El programa estadístico utilizado fue el SPSS versión 15.0. Las variables cuantitativas se expresaron en media y desviación estándar (DE) y las dicotómicas como porcentaje. La normalidad de las variables se analizó mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Se consideró estadísticamente significativo

Tabla 1. Contenido nutricional de los productos lácteos empleados en el estudio

Composición 500 ml	Grupo C	Grupo S
Valor energético (Kcal)	232	266
Proteínas (g)	15,4	19,7
Hidratos de carbono (g)	23,6	29
Grasas (g)	8,6	8
Vitamina A (UI)	3.000	3.000
Vitamina D (UI)	152	148,8
Vitamina B12 (µg)	1,9	2,1
Calcio (ng)	600	800
Fósforo (ng)	600	630
Isoflavonas soja (mg)	---	50

un valor de p<0,05. Para la comparación de variables cualitativas se usó el test de Chi-Cuadrado. En las variables cuantitativas, se utilizó el test de comparación de medias t-student para muestras independientes (diferencias intergrupos) y muestras apareadas (diferencias intragrupos).

Resultados

Características epidemiológicas

La edad media fue de 55,8 años (DE=6,9) con un tiempo medio de evolución de menopausia de 3,9 años (DE=4,1). El 76,8% no consumía alcohol y el 79,8% no fumaba. El IMC medio fue 28,35 kg/m² (DE= 4,67); la PAS media, 126 mmHg (DE=18) y la PAD, 79 mmHg (DE=11). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Grupo C frente a Grupo S) en el tiempo de evolución de menopausia: 5,8 años (DE=3,7) frente 7,9 años (DE=4,2), p=0,008.

Evolución de marcadores de metabolismo óseo

En la tabla 2 se especifican los marcadores del metabolismo óseo en la población de estudio a lo largo del periodo de seguimiento.

En la muestra total, se produjo un aumento de la concentración plasmática de 25-OH-vitamina D (p<0,001). Asimismo, disminuyeron la OPG (p=0,007) y la TRAP (p<0,001). En el grupo C destacó el aumento de la concentración plasmática de 25-OH-vitamina D (p=0,023). Se produjo un descenso de OPG (p=0,05) y TRAP (p=0,001). En el grupo S también hubo un incremento de la concentración plasmática de 25-OH-vitamina D (p=0,001) y un descenso de OPG (p=0,037) y TRAP (p<0,001). Entre ambos grupos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el resto de determinaciones.

Tabla 2. Evolución de marcadores de metabolismo óseo

		0 meses media (DE)	12 meses media (DE)	P
Calcio (mg/dl)	Total	9,25 (0,33)	9,17 (0,33)	0,388
	Grupo C	9,22 (0,32)	9,14 (0,35)	0,095
	Grupo S	9,29 (0,34)	9,37 (0,43)	0,336
Fósforo (mg/dl)	Total	3,37 (0,45)	3,60 (0,43)	0,219
	Grupo C	3,4 (0,39)	3,6 (0,44)	0,776
	Grupo S	3,35 (0,5)	3,61 (0,97)	0,098
PTH intacta (pg/ml)	Total	47,22 (16,84)	45,91 (16,51)	0,16
	Grupo C	47,83 (15,98)	47,27 (15,71)	0,582
	Grupo S	46,58 (17,86)	44,45 (17,39)	0,118
25-OH-vitamina D (ng/ml)	Total	24,48 (9,85)	28,18 (10,45)	<0,001*
	Grupo C	23,56 (10,16)	26,48 (10,69)	0,023*
	Grupo S	25,46 (9,51)	29,91 (10,02)	0,001*
OPG (pmol/L)	Total	5,21 (3,36)	3,89 (1,47)	0,007*
	Grupo C	5,68 (4,05)	4,1 (1,83)	0,05*
	Grupo S	4,72 (2,35)	3,69 (0,95)	0,037*
OC (ng/ml)	Total	15,46 (7,1)	17,13 (7,36)	0,096
	Grupo C	14,46 (7,15)	16,21 (6,84)	0,803
	Grupo S	16,31 (7,02)	18,1 (7,82)	0,083
FAO (µg/ml)	Total	15,47 (9,25)	16,03 (6,43)	0,068
	Grupo C	15,52 (11,63)	15,51 (7,01)	0,946
	Grupo S	15,42 (5,86)	16,59 (5,76)	0,092
TRAP5β (U/l)	Total	2,18 (0,8)	1,76 (0,54)	<0,001*
	Grupo C	2,15 (0,81)	1,74 (0,5)	0,001*
	Grupo S	2,21 (0,79)	1,78 (0,59)	<0,001*
CTX (ng/ml)	Total	0,47 (0,21)	0,42 (0,2)	0,064
	Grupo C	0,44 (0,19)	0,41 (0,19)	0,122
	Grupo S	0,52 (0,22)	0,42 (0,23)	0,335

PTH intacta: parathormona intacta; OPG: osteoprotegerina; OC: osteocalcina; FAO: fosfatasa alcalina ósea; TRAP5β: fosfatasa ácida tartrato resistente 5β; CTX: telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo 1.

*p: diferencias estadísticamente significativas intragrupo (p<0,05)

Evolución de masa ósea estimada por ultrasonografía de calcáneo

En la tabla 3 y la figura 1 se muestran los parámetros medidos mediante QUS.

En la muestra total se produjo un incremento significativo de SOS (p=0,036), QUI (p=0,012), DMO estimada (p=0,013) y T-score (p=0,019) entre el inicio y los 12 meses del estudio. En el grupo C estos cambios no fueron significativos, mientras que en el grupo S existieron cambios favorables en el QUI (p=0,032) y la DMO estimada (p=0,04). Entre ambos grupos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Discusión

Uno de los problemas centrales relacionados con los alimentos funcionales es establecer una base científica que apoye las propiedades beneficiosas que se atribuyen a sus componentes. Las evidencias epidemiológicas sugieren que el consumo de productos de soja está relacionado con beneficios sobre problemas asociados con la menopausia. En este contexto, nos planteamos evaluar los efectos de la intervención nutricional con un producto lácteo enriquecido con isoflavonas de soja sobre el metabolismo óseo en un grupo de mujeres postmenopáusicas españolas. En nuestro estudio, el consumo de isoflavonas de soja supuso cambios favorables en la masa ósea.

La osteoporosis postmenopáusica clínicamente se traduce en un incremento del riesgo de fractura, y constituye un problema de salud pública⁶. La observación de que las mujeres del sureste asiático manifiestan una menor incidencia de osteoporosis propició la hipótesis de que los fitoestrógenos de la soja podrían ser una alternativa para prevenir la pérdida de masa ósea asociada a la menopausia.

El papel de los estrógenos *in vitro* es la inhibición del desarrollo de los osteoclastos, favoreciendo su apoptosis por estímulo de la producción del factor de crecimiento transformante beta (TGF-β) por los osteoblastos, además de inhibir la producción de interleucina 6 (IL-6), el principal estímulo para la resorción. Previenen también la apoptosis osteoblástica. La deficiencia estrogénica incrementa además la apoptosis de los osteocitos, lo que altera la función mecanosensora del sistema canalicular de reparación de microdaños, contribuyendo a la fragilidad ósea⁷. El mecanismo de acción por el que las isoflavonas protegen frente a la pérdida ósea no es del todo conocido, sugiriéndose que modulan el sistema Osteoprotegerina/ligando de receptor activador para el factor nuclear κB (OPG/RANKL). Con la deficiencia estrogénica la producción de OPG baja y existe una respuesta energética de los precursores del osteoclasto al RANKL⁸. Las isoflavonas, y concretamente las genisteínas, estimulan la actividad de la osteoprotegerina. Esta actividad moderada puede ser suficiente para estimular la formación ósea^{9,10}.

Los estudios clínicos realizados son muy variables en cuanto a su diseño, teniendo en cuenta la duración de la suplementación, las dosis prescrita y recibida, las fuentes de soja utilizada o las características epidemiológicas de la población. En un metaanálisis que revisó diez ensayos clínicos se concluyó que la intervención nutricional con isoflavonas puede atenuar la pérdida ósea en columna de mujeres postmenopáusicas¹¹, coincidiendo con los hallazgos de Marini y cols. que comprobaron cómo el tratamiento durante dos años con genesteína tuvo efectos positivos en la DMO de mujeres postmenopáusicas con osteopenia¹². El estudio del efecto sobre ultrasonidos de calcáneo obtuvo resultados similares¹³. No obstante, a pesar de los resultados favorables también existen trabajos donde no se evidencian cambios¹⁴. Un reciente estudio de intervención en mujeres premenopáusicas que evaluó el estatus de diversos iones, marcadores del metabolismo óseo y función tiroidea, no encontró diferencias en estos parámetros tras la incorporación en la dieta durante diez semanas de isoflavonas de soja¹⁵.

Se puede afirmar que, aunque hay algunas evidencias experimentales que sugieren una relación entre el consumo de isoflavonas y la mejora de las condiciones óseas, éstas se consideran poco concluyentes¹⁶.

Tabla 3. Evolución de masa ósea estimada por QUS

		0 meses media (DE)	12 meses media (DE)	P
SOS (m/s)	Total	1517,86 (38,13)	1525,11 (35,6)	0,036*
	Grupo C	1520,2 (40,9)	1527,72 (42,51)	0,161
	Grupo S	1515,66 (35,59)	1522,66 (27,85)	0,120
BUA (dB/MHZ)	Total	61,6 (15,71)	64,38 (14,99)	0,057
	Grupo C	63,29 (15,73)	67,21 (16,89)	0,180
	Grupo S	60,18 (15,68)	61,72 (12,58)	0,182
QUI	Total	76,37 (19,87)	80,82 (18,26)	0,012*
	Grupo C	78,5 (20,87)	82,94 (22,1)	0,143
	Grupo S	74,37 (18,87)	78,84 (13,68)	0,032*
DMO (g/cm ²)	Total	0,407 (0,13)	0,435 (0,12)	0,013*
	Grupo C	0,419 (0,13)	0,449 (0,14)	0,135
	Grupo S	0,397 (0,12)	0,423 (0,09)	0,040*
T-score	Total	-1,55 (1,12)	-1,31 (1,03)	0,019*
	Grupo C	-1,44 (1,17)	-1,19 (1,25)	0,144
	Grupo S	-1,64 (1,07)	-1,43 (0,79)	0,056

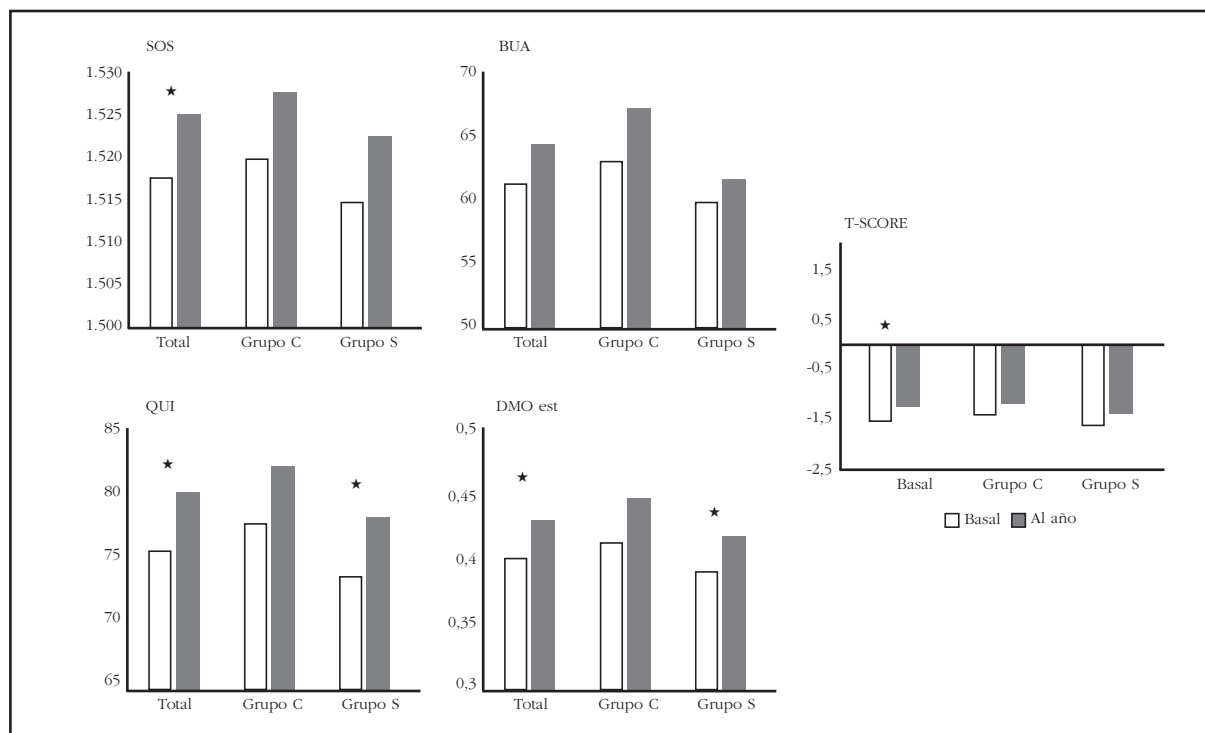
QUS: ultrasonidos de calcáneo; SOS: *speed of sound*, velocidad del sonido; BUA: *broadband ultrasound attenuation*, coeficiente de atenuación; QUI= 0,41 (SOS) + 0,41 (BUA) - 571; DMO: densidad mineral ósea estimada [Est. DMO=0,002592 × (BUA+SOS)-3,687, g/cm²].

*p: diferencias estadísticamente significativas intragrupo (p<0,05)

En relación a nuestros resultados, se produjo un descenso de las concentraciones séricas de TRAP y OPG y un aumento de los niveles de vitamina D sin diferencias entre grupos, que puede explicarse por el contenido en calcio y 25-OH-vitamina D de los preparados lácteos utilizados. En lo que respecta a la evaluación de masa ósea mediante ultrasonografía de calcáneo, se observó un incremento global de todos los parámetros al año de seguimiento, aunque destacando de forma significativa los cambios en el QUI y la DMO estimada del grupo con consumo de isoflavonas de soja.

Nuestro trabajo adolece de algunas limitaciones metodológicas que no permiten asegurar que las diferencias encontradas sean sólo debidas a la suplementación con isoflavonas de soja. No obstante, los modelos de contraste de hipótesis de una sola vía utilizados son válidos como método estadístico de comparación de grupos.

Figura 1. Cambios en parámetros de ultrasonido de calcáneo (QUS)



QUS: ultrasonidos de calcáneo; SOS: *speed of sound*, velocidad del sonido; BUA: *broadband ultrasound attenuation*, coeficiente de atenuación; QUI= 0.41 (SOS) + 0.41 (BUA) – 571; DMO: densidad mineral ósea estimada [Est. $DMO=0.002592 \times (BUA+SOS)-3.687$, g/cm³].

*p: diferencias estadísticamente significativas intragrupo (p<0,05)

En conclusión, el consumo diario de estos productos lácteos aumenta los niveles de 25-OH-vitamina D y supone un descenso de los marcadores de remodelado óseo. La dieta rica en isoflavonas de soja puede ser una opción como medida preventiva de los efectos óseos de la menopausia.

Conflicto de intereses: JFC pertenece al Departamento de de Investigación de Puleva Biotech. Granada. España.

Bibliografía

- Martin KA, Manson J. Approach to the patients with menopausal symptoms. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:4567-75.
- Lorraine A, Fitzpatrick MD. Phytoestrogens-mechanism of action and effect on bone markers and bone mineral density. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2003;32:233-52.
- De Luis DA, Pérez Castrillón JL, Aller R, Culebras J. Influencia del consumo de soja sobre la masa ósea. *An Med Interna* 2007;24:361-4.
- López-Rodríguez F, Mezquita-Raya P, de Dios Luna J, Escobar-Jiménez F, Muñoz-Torres M. Performance of quantitative ultrasound in the discrimination of prevalent osteoporotic fractures in a bone metabolic unit. *Bone* 2003;32:571-8.
- Sosa Henríquez M, Saavedra SP, Alegre López J, Gómez Alonso C, González Macías J, Guañabens Gay N, et al. Prevalencia de osteoporosis en la población española por ultrasonografía de calcáneo en función del criterio diagnóstico utilizado. Datos del estudio GIUMO. *Rev Clin Esp* 2003;203:329-33.
- Muñoz-Torres M, Alonso G et al. Prevención y tratamiento de la osteoporosis. *Endocrinol Nutr* 2003;50:1-7.
- Dempster DW. The pathophysiology of bone loss. *Clin Geriatr Med* 2003;19:259-74.
- Riggs BL, Khosla S, Melton LJ 3rd. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev* 2002;23:279-302.
- Morris C, Thorpe J, Ambrosio L, Santin M. The soybean isoflavone genistein induces differentiation of MG63 human osteosarcoma osteoblasts. *J Nutr* 2006;36:1166-70.
- Crisafulli A, Altavilla D, Squadrito G. Effects of the phytoestrogen genistein on the circulating soluble receptor activator of nuclear factor kappa₂ ligand osteoprotegerin system in early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:188-92.
- Ma DF, Qin LQ, Wang PY, Katoh R. Soy isoflavones intake increases bone mineral density of menopausal women: Meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Nutr* 2008;27:57-64.
- Marini H, Manutoli L, Polito F, Bitto A, Altavilla D, Atteritano M, et al. Effects of the phytoestrogen genistein of bone metabolism in osteopenic postmenopausal women. *Ann Inter Med* 2007;146:839-47.
- Atteritano M, Mazzaferro S, Frisina A, Cannata ML, Bitto A, D'Anna R, et al. Genestein effects on quantitative ultrasound parameters and bone mineral density in osteopenic postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2009;20:1947-54.
- Horiuchi T, Onouchi T, Takahashi M, Ito H, Orimo H. Effect of soy protein on bone metabolism in postmenopausal Japanese women. *Osteoporos Int* 2000;11:721-4.
- Zhou Y, Alekel DL, Dixon PM, Messina M, Reddy MB. The effect of soy food intake on mineral status in premenopausal women. *J Womens Health* 2011 Apr 12. [Epub ahead of print].
- Cassidy A, Albertazzi P, Lise Nielsen I, Hall W, Williamson G, Tetens I, et al. Critical review of health effects of soybean phytoestrogens in post-menopausal women. *Proc Nutr Soc* 2006;65:76-92.