

using soy isoflavones and consistent results from researches on isolated genistein intake. Similarly, the global positive effects on lipids profile and glycemia are presumably due to lignans and genistein respectively.

Key words

Phytoestrogens

Menopause

Vasomotor symptoms

Blood lipids profile

Bone density

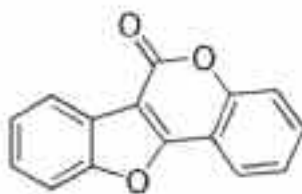
È possibile che diversi composti abbiano in realtà effetti qualitativamente e quantitativamente diversi.

Gli alimenti più ricchi di lignani sono i semi di lino e i semi di sesamo, e in misura molto minore il pane di segale integrale e le crucifere.

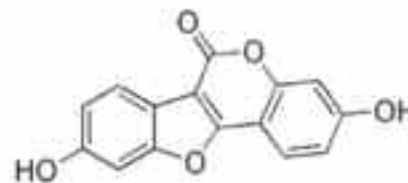
Cumestani

Si tratta principalmente del cumestrol, derivato polifenolico del cumestano, che ha attività estrogenomimetica e si ritrova in una varietà di cibi, dai legumi ai cavolini di Bruxelles, ai fagioli di soia. Anche la Pueraria Mirifica, un'erba utilizzata nella medicina tradi-

zionale cinese, ha un elevato contenuto di cumestrol. La maggiore concentrazione si rileva nel trifoglio rosso (red clover) e nella soia. Esistono infine fitoestrogeni, come il resveratrolo (un composto polifenolico presente nel vino rosso) che non ricadono nelle precedenti categorie.



cumestano



cumestrol

zionale cinese, ha un elevato contenuto di cumestrol. La maggiore concentrazione si rileva nel trifoglio rosso (red clover) e nella soia.

Esistono infine fitoestrogeni, come il resveratrolo (un composto polifenolico presente nel vino rosso) che non ricadono nelle precedenti categorie.

Metabolismo dei fitoestrogeni

In generale, il metabolismo dei fitoestrogeni presenta una grande variabilità individuale, dal momento che differenze individuali nella microflora intestinale, nei tempi di transito, nonché il polimorfismo genetico contribuiscono tutti a modificare il metabolismo. Per esempio, non tutti gli individui sono in grado di metabolizzare i lignani a enterolignani, e solo nel 30-50% degli adulti si ritrova equolo nell'urina dopo la somministrazione di daidzeina. Anche i cibi ingeriti insieme ai fitoestrogeni ne modificano il metabolismo. È possibile che anche questo aspetto contribuisca all'ampia variabilità dei risultati emersi in diversi studi.

Effetti dei fitoestrogeni

I fitoestrogeni hanno un'attività estrogenomimetica da 100 a 1000 volte più debole di quella del

17- β -estradiolo, ma si possono ritrovare nell'organismo in concentrazioni fino a 100 volte più elevate degli estrogeni endogeni. Riescono quindi a competere con essi, spiegando così anche il doppio comportamento estrogenico/antiestrogenico. L'attività estrogenica dei fitoestrogeni è in realtà piuttosto debole, e si esplica sia in senso agonista che antagonista. Molti degli effetti, potenzialmente benefici per la salute, attribuiti ai fitoestrogeni possono derivare da proprietà metaboliche che non coinvolgono i recettori degli estrogeni, come la loro influenza sugli enzimi, sulla sintesi proteica, sulla proliferazione cellulare, sull'angiogenesi, sul tra-

METODI

Gli studi candidati ad essere inclusi nella metaanalisi erano quelli pubblicati in lingua inglese su riviste indicizzate in medline, che avessero confrontato una terapia a base di soli isoflavoni con un placebo, con disegno randomizzato, in una popolazione di donne in postmenopausa, senza storia di tumore al seno. Gli studi così ritrovati dovevano poi essere selezionati tramite la lettura dell'abstract, per valutare la presenza dei parametri di interesse (sintomatologia climaterica, lipidi serici, glicemia e densità ossea).

Parametri di ricerca

Abbiamo effettuato una ricerca nei Medical Subjects Heading Terms di MEDLINE utilizzando come termini "phytoestrogen", "flavonoids", "isoflavones", "genistein", "daidzein", "equol", "glycitein", "biochanin a", "formononetin", "coumestran", "coumestrol", "prenylnaringenin", "xanthohumol", "isoxanthohumol", "lignans", "lariciresinol", "matairesinol", "isolariciresinol", "secoisolariciresinol", "enterodiol", "enterolactone",

“resveratrol”, “quercetin”, “d56a”, “jia-wei”, “red clover”, “black cohosh”, “cimicifuga racemosa”. I risultati sono stati incrociati con il termine “menopause” anch'esso ricercato nei MeSH.

Gli stessi termini (e in più “menopausal” e “climacteric”) sono stati ricercati in testo libero.

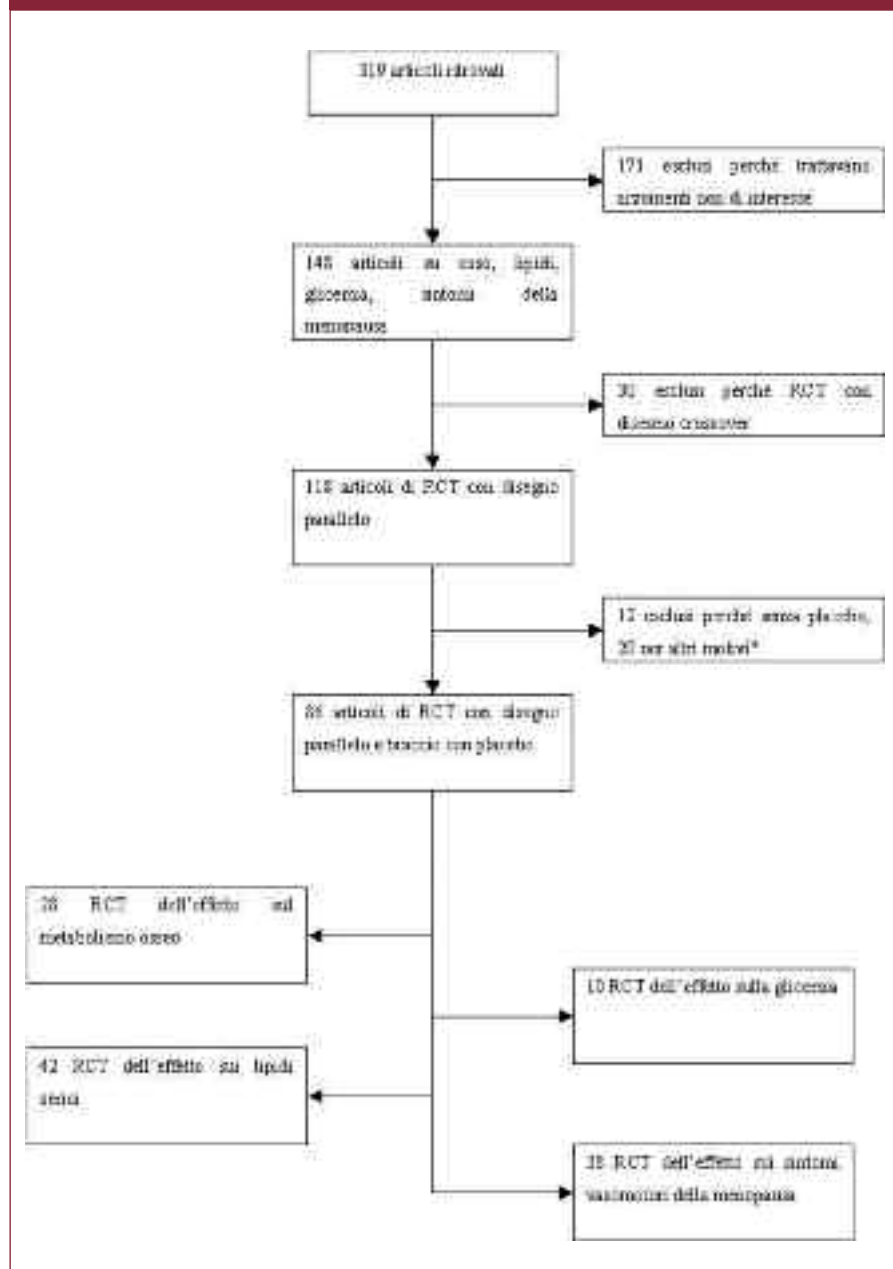
Le due ricerche sono state unite e quindi limitate ai risultati relativi a “Human”, “Randomized Controlled Trial”, “English language”, indicizzati in MEDLINE fino al 29 febbraio 2008.

Sono stati ritrovati in tal modo 319 articoli, i cui abstract sono stati successivamente esaminati da due revisori (SC e ER) per valutare quali potessero contenere dati relativi agli argomenti di interesse. Sono stati considerati eleggibili per la metanalisi gli studi paralleli o gli studi crossover qualora i risultati fossero presentati divisi per periodo di trattamento.

Valutazione degli articoli

A seguito di questa prima valutazione, 171 articoli sono stati esclusi in quanto non erano relativi a nessuno degli argomenti di interesse (25 di questi erano relativi ad un isoflavone di sintesi, l'ipriflavone, non più utilizzato per dubbi relativi sia all'efficacia che alla sicurezza). Dei 148 articoli restanti, 30 sono stati esclusi in quanto erano stati svolti secondo un disegno crossover e non riportavano separatamente i dati relativi al primo periodo di trattamento, 12 sono stati esclusi in quanto confrontavano tra esse diverse dosi di fitoestrogeno senza braccio di controllo, o non utilizzavano un placebo per il confronto, ma un altro trattamento attivo. Altri 20 studi sono stati esclusi per motivi diversi, principalmente in quanto il campione era costituito da uomini e donne, o da donne pre e post menopausali, e i risultati non erano riportati separatamente per le donne in menopausa, o il fitoestrogeno non era il solo trattamento attivo assegnato ma veniva addizionato con un intervento dietetico o con attività fisica. Ogni differenza di valutazione tra i revisori è stata discussa e in caso di mancato accordo è stata decisa l'opinione di un terzo (FP). Dagli 86 articoli rimasti sono stati estratti i dati relativi ai diversi argomenti di interesse: miglioramento della sintomatologia climaterica, livelli dei lipidi serici, glicemia, variazione della densità ossea. Alcuni articoli riportavano risultati relativi a più di un argomento. L'estrazione dei dati è stata quindi effettuata per quegli studi nei quali il fitoestrogeno era stato assegnato ad almeno un braccio di trattamento come unico intervento

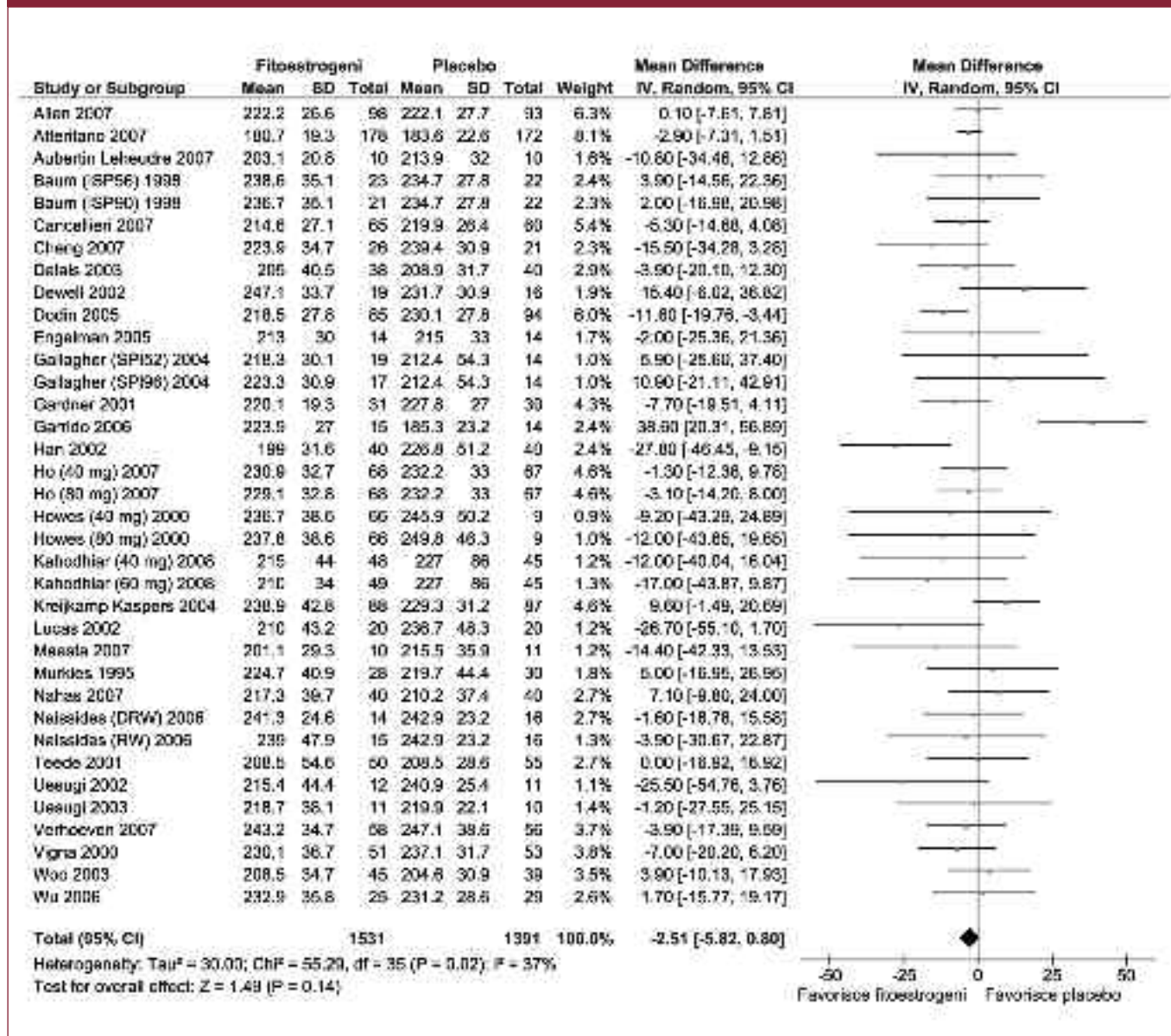
FIGURA 1. Il diagramma di flusso della ricerca bibliografica



attivo, ed era confrontato con un placebo. Degli studi con disegno fattoriale sono stati inseriti i dati delle pazienti che assumevano solo placebo o solo fitoestrogeno. A seconda della modalità di somministrazione del fitoestrogeno, il placebo era costituito da capsule identiche a quelle del trattamento attivo o da alimenti analoghi per aspetto e contenuto calorico, lipidico e proteico a quelli contenenti fitoestrogeni. Da alcuni articoli non erano estraibili i dati necessari all'inclusione nella metanalisi. Infatti

poteva mancare il dato medio iniziale per gruppo, oppure il dato medio finale di almeno uno dei due; i risultati erano talora espressi unicamente come differenza inizio-fine all'interno di ciascun braccio. Si potevano quindi ricalcolare i valori puntuali delle medie finali (a meno che, come in pochi casi è successo, l'analisi non fosse effettuata utilizzando le mediane o la media geometrica per ovviare alla non normalità della distribuzione dei dati) ma non le deviazioni standard. Ancora, i risultati dello stu-

FIGURA 2 – Profilo metabolico: colesterolo totale



dio potevano essere riportati unicamente in grafico, senza indicazione del valore puntuale di media (o differenza media) e deviazione o errore standard.

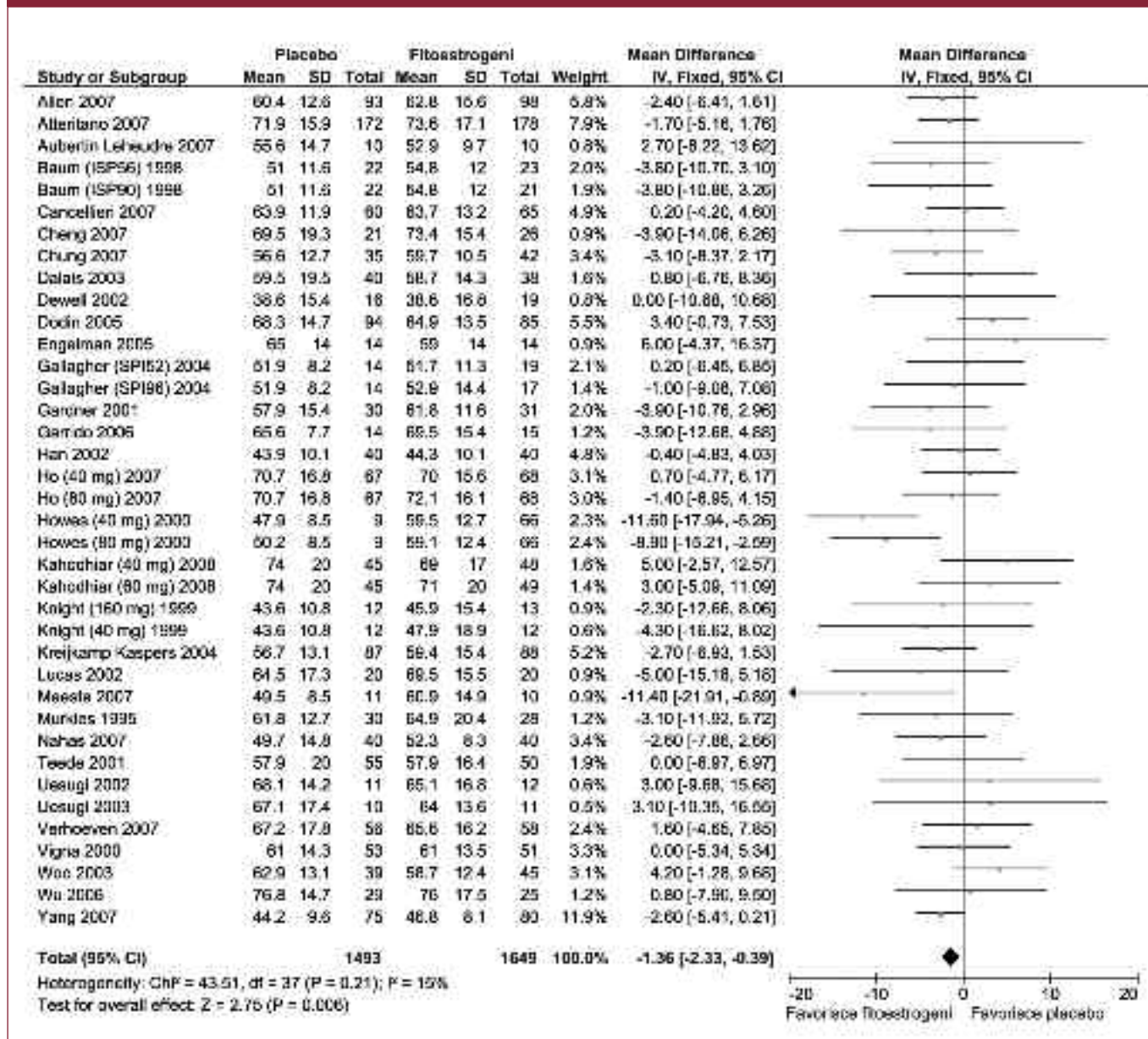
Analisi statistica

Per condurre una metanalisi, ovvero per sintetizzare quantitativamente i risultati degli studi selezionati, è necessario poter esprimere tali risultati in modo omogeneo, avendo lo stesso tipo di stima dell'ampiezza dell'effetto (effect size). La stima dell'effetto può essere espressa in diversi modi, i più frequenti es-

sendo l'odds ratio (OR) o le medie, che indicano in termini quantitativi la differenza tra gli esiti degli interventi sanitari in studio. Se la misura dell'effetto è poco maneggevole nella forma in cui si trova, può subire le trasformazioni matematiche necessarie a rendere il calcolo possibile (alla fine del procedimento di sintesi quantitativa, verrà effettuata la trasformazione inversa per riportare la stima alla forma iniziale). Qualunque parametro utilizzato per esprimere la stima dell'effetto dell'intervento in studio può essere sottoposto a metanalisi. È necessario inoltre dis-

porre di una misura del "peso" del singolo studio. Infatti i risultati non vengono utilizzati come se avessero tutti la stessa importanza: è intuitiva l'opportunità che la stima proveniente da uno studio che ha coinvolto 200 pazienti entri nel calcolo della stima globale in misura più "pesante" rispetto a quella che proviene da uno studio che ha coinvolto 20 pazienti. La misura del peso può essere anche, semplicemente, il numero dei pazienti coinvolti; l'approccio qui adottato utilizza come indicatori di precisione della stima la varianza.

FIGURA 3 – Profilo metabolico: colesterolo HDL



Calcolo della stima globale

Una volta estratta dai singoli studi la “misura di effetto” desiderata, si è affrontato il problema di come costruire da esse una stima globale. Esistono due approcci diversi per il calcolo della stima globale e del suo intervallo di confidenza, modelli che si basano su assunzioni differenti. Il modello a effetti fissi (“fixed effects model”) assume che tutta la variabilità tra i risultati (effect size) sia dovuta all’errore casuale, ovvero a differenze nella popolazione dei pazienti; il modello ad effetti casuali (“random effects

model”) assume invece che, oltre all’errore casuale, sia presente una variabilità nella popolazione degli effetti. Questo secondo modello, che generalmente fornisce stime poco diverse dal primo, calcola però limiti di confidenza più ampi, quindi è più conservativo.

Analisi di sensibilità

Una volta calcolata la stima globale, bisogna anche valutare quanto questa stima è robusta, ovvero quanto varia al variare delle assunzioni che sono state fatte al momento delle analisi: a que-

sto scopo si effettua l’analisi di sensibilità. Ripetere il calcolo della stima globale per sottogruppi e ottenere variazioni minime rassicura sulla forza e attendibilità del risultato. In questo lavoro il calcolo della stima globale è stato ripetuto per tipo e per dosi di fitoestrogeni. Inoltre, le analisi sono state ripetute eliminando gli outlier emersi dalla valutazione del funnel plot (vedi oltre).

Controllo del bias di pubblicazione

Gli studi con risultati negativi hanno probabili-

tà molto minori di venire pubblicati, e anche quando lo sono, spesso hanno un tempo di "latenza" tra lo svolgimento e la pubblicazione, che mette a disposizione della comunità scientifica l'informazione negativa con molto ritardo. Le possibilità di pubblicazione sono ancora inferiori se gli studi negativi sono di piccole dimensioni, mentre esiste una quantità di studi pubblicati, con risultati positivi, che includono pochi pazienti. La ricerca dei lavori pubblicati avviene quindi con maggiore facilità un certo numero di piccoli studi con risultati positivi, piuttosto che negativi. Questo introduce ovviamente una distorsione.

Come cautelarsi da questo errore? Per il passato, è stata elaborata una metodica che consente di verificare la presenza di bias di pubblicazione (12,13). Comunemente, il metodo grafico è utile per esplorare visivamente la possibilità di tale bias: in ordinata si riporta l'errore standard (funzione in parte della dimensione dello studio) della stima, in ascissa la stima dell'effetto. L'assenza di bias di pubblicazione dà origine ad una serie di punti che delineano una piramide o un imbuto rovesciato (da cui il nome "funnel plot"), simmetrico attorno alla stima globale dell'effetto.

Forest plot

I risultati della metanalisi sono stati espressi in termini di stima globale e mostrati in grafico sotto la forma di forest plot, modalità non obbligatoria ma consueta. Ogni risultato viene presentato come un quadrato la cui dimensione è proporzionale all'informatività dello studio, quindi inversamente proporzionale alla varianza della singola stima. L'informatività dipende, in questo lavoro, dalla numerosità dei pazienti inclusi; ogni studio peserà nella stima globale in proporzione alla sua informatività. Ad un quadrato di maggior superficie corrisponde uno studio di maggior peso. La posizione dipende dalla differenza tra le medie dei soggetti in trattamento e dei soggetti che hanno assunto placebo, rilevate alla fine dello studio.

Una linea orizzontale, per ognuna delle stime, rappresenta l'intervallo di confidenza al 95% della stima. Se tale linea interseca lo zero, ovvero il punto di non effetto, la differenza tra trattamenti stimata nel singolo studio non sarà significativa. La stima globale viene rappresentata in questo lavoro come un rombo (detto diamante) la cui area è proporzionale all' informatività

del risultato globale, e la cui diagonale orizzontale indica i limiti di confidenza della stima. Come per i singoli studi, una sovrapposizione con la linea del non effetto (uguaglianza dei risultati) indica che l'analisi non dimostra differenze statisticamente significative tra i trattamenti.

RISULTATI

Lipidi serici

Sono stati selezionati gli articoli nei quali era riportato il livello serico di colesterolo totale (CT), colesterolo HDL (C-HDL), colesterolo LDL (C-LDL), trigliceridi (TGL). Sono stati estratti 42 articoli che contenevano almeno uno dei suddetti valori. Non è stato possibile includere tutti gli articoli, poichè alcuni esprimevano i risultati come differenza delle misurazioni all'interno del braccio di trattamento, tra fine e inizio, oppure riportavano le variazioni delle lipidemie in grafico di medie dei valori assoluti o di differenze medie. La descrizione delle caratteristiche principali degli articoli inclusi nella metanalisi sono riportate rispettivamente nelle tabelle 1, 2, 3 e 4. La verifica della presenza di bias di pubblicazione è stata effettuata tramite il funnel plot, che è un metodo visuale. Non si rileva presenza di bias di pubblicazione, per quanto esistano studi "outliers" di cui si terrà conto nella metanalisi. Là dove gli studi siano troppo pochi per effettuare questa prova (in genere si valuta che con meno di 10 studi non sia opportuno), non si verificherà la presenza di bias di pubblicazione.

Colesterolo totale

Il CT era misurato in 39 articoli, 30 dei quali inseriti nella metanalisi (6 analizzavano più di una dose di fitoestrogeno), per un totale di 2749 donne, 91 in media per studio (tabella 1).

L'analisi dei dati basali non mostrava eterogeneità tra i diversi studi ritrovati ($P=0.94$), i cui risultati potevano quindi essere utilizzati per la metanalisi.

In figura 2 sono riportati i risultati e il forest plot relativi al livello di CT alla fine dello studio. Da notare che la somma delle numerosità dei due gruppi riportata in figura non corrisponde al valore sopra espresso per la presenza dei lavori che utilizzano due dosi di fitoestrogeno, per i quali viene contato due volte il gruppo di controllo. Una stima puntuale di -2.51 mg/dL risultava favorevole al trattamento, ma non in ma-

niera significativa (intervallo di confidenza, IC, al 95% da -5.8 a 0.8 mg/dL). Il metodo utilizzato per il calcolo della stima globale e dell'intervallo di confidenza è stato, data l'eterogeneità dei risultati, quello a effetti random.

Colesterolo HDL

C-HDL era considerato un outcome interessante, venendo riportato in 39 articoli. Di questi, 32 articoli, su 2973 soggetti (93 in media), riportavano i dati necessari per la metanalisi (tabella 2); tra questi, 6 prevedevano due bracci di trattamento con dosi diverse di fitoestrogeno. Gli esclusi sono riportati in tabella 8.

L'analisi basale non mostra alcuna significativa eterogeneità tra i livelli di HDL iniziali nei diversi studi ($P=0.24$), nè si evidenzia alcuna tendenza ad una variazione sistematica nel tempo (dato non mostrato). I risultati della metanalisi sono presentati in figura 3. La stima complessiva dell'effetto della terapia mostra una diminuzione di -1.3 mg/dL (con IC al 95% tra -2.33 e -0.39 e $P=0.006$, modello a effetti fissi data l'assenza di eterogeneità) della concentrazione serica di HDL nelle pazienti che assumevano il placebo rispetto alle donne assegnate al trattamento attivo. Per gli studi che usano gli isoflavoni l'effetto complessivo era una diminuzione di -1.24 nelle donne non trattate (IC al 95% da -2.42 a -0.06 , $P=0.039$). Le stime di effetto per dose di isoflavoni, come del resto già evidenziato negli stessi lavori inseriti in analisi, non fornivano alcuna conferma di una risposta correlata alla dose di fitoestrogeno assunta.

Colesterolo LDL

36 articoli riportavano il valore del C-LDL, ma solo 28 (tabella 3) presentavano i dati necessari per eseguire la metanalisi, per cui sono state complessivamente considerate per questo esito 2753 pazienti, in media 98 per articolo. I risultati della metanalisi sono mostrati in figura 4. Degli articoli selezionati, 5 prevedevano due dosi diverse di fitoestrogeno.

Mentre al basale non si rivelava eterogeneità significativa tra gli studi ($P=0.16$), i livelli di LDL al follow-up erano positivi al test per l'eterogeneità. Abbiamo quindi effettuato la metanalisi con il metodo degli effetti random, calcolando una stima pooled della variazione del C-LDL pari a -3.2 mg/dL (IC al 95% da -6.7 a 0.3 , $P=0.08$).

L'analisi per anno di pubblicazione non mostra-