

Artículo original

Efecto del raloxifeno en la función endotelial y la hemostasia en mujeres con enfermedad coronaria

Mercè Roqué^{a,b,*}, Marta Sitges^{a,b}, Joan Sala^c, Victoria Delgado^a, Manuel Morales^c, Jaume Marrugat^d, Joan Vila^d, Isaac Subirana^d, Dolors Tàssies^e, Juan Carlos Reverter^e, Miriam Castro^a y Magdalena Duran^f

^aDepartamento de Cardiología, Instituto del Tórax, Hospital Clínic, Barcelona, España

^bInstitut d' Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Barcelona, España

^cDepartamento de Cardiología, Hospital Universitari Dr. Josep Trueta, Girona, España

^dUnidad de Lípidos y Epidemiología Cardiovascular, Institut Municipal d'Investigació Mèdica, Barcelona, España

^eDepartamento de Hemostasia, Hospital Clínic, Barcelona, España

^fDepartamento de Ginecología, Hospital Clínic, Barcelona, España

Historia del artículo:

Recibido el 5 de octubre de 2010

Aceptado el 2 de marzo de 2011

On-line el 23 de mayo de 2011

Palabras clave:

Endotelio
Enfermedad coronaria
Raloxifeno
Fibrinólisis
Trombosis
Mujer

RESUMEN

Introducción y objetivos: La modulación del tono vascular es uno de los efectos estrogénicos más relevantes. En mujeres posmenopáusicas, se ha propuesto un efecto beneficioso en la función endotelial del modulador selectivo del receptor estrogénico raloxifeno, aunque sus efectos en mujeres con cardiopatía isquémica establecida no han sido estudiados plenamente. Estudios recientes han generado controversia respecto al riesgo tromboembólico del raloxifeno. El objetivo del estudio es determinar el efecto del raloxifeno en: a) la función endotelial, y b) las vías de la coagulación y la fibrinólisis en mujeres posmenopáusicas con enfermedad coronaria.

Métodos: El estudio MERCED es un ensayo prospectivo y aleatorizado que incluye a 33 mujeres posmenopáusicas con enfermedad coronaria. Se administra raloxifeno durante 3 meses, comparado con placebo, en un diseño cruzado y a doble ciego, y se analiza de forma seriada la función vascular y los parámetros biológicos relacionados con las vías de la coagulación.

Resultados: Se ha observado una grave alteración de la vasodilatación mediada por flujo a nivel basal y el tratamiento con raloxifeno no ha modificado significativamente la función endotelial. El raloxifeno ha inducido un descenso de los valores de fibrinógeno (3,41 [3,11-3,74] frente a 3,69 [3,4-4]; $p < 0,05$), los fragmentos F₁₊₂ de la protrombina (0,93 [0,77-1,12] frente a 0,94 [0,78-1,15]; $p < 0,05$) y los complejos plasmina/antiplasmina (211 [166-267] frente a 242 [199-295]; $p < 0,01$).

Conclusiones: El tratamiento a medio plazo con raloxifeno en mujeres con enfermedad coronaria no afecta a la función endotelial. Además, se ha documentado menor actividad trombótica y fibrinolítica con raloxifeno. Será necesario determinar si el riesgo trombótico adscrito al raloxifeno en estudios previos se asocia únicamente a subgrupos específicos de mujeres posmenopáusicas con enfermedad cardiovascular. © 2011 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Effects of Raloxifene on Endothelial Function and Hemostasis in Women With Ischemic Heart Disease

ABSTRACT

Introduction and objectives: Modulation of vascular tone is one of the most relevant estrogen effects. A beneficial effect on endothelial function in postmenopausal women has also been proposed for the selective estrogen receptor modulator raloxifene. However, its effects in women with established cardiovascular disease have not been fully elucidated. In addition, recent trials have generated controversy regarding thromboembolic risk with raloxifene use. The aim of the study was to assess the effect of raloxifene on: a) endothelial function and b) coagulation and fibrinolysis pathways.

Methods: The MERCED trial was a prospective, randomized clinical trial. Thirty-three postmenopausal women with ischemic heart disease were enrolled in the study. Raloxifene treatment was administered for a 3-month period, according to a double-blind crossover design. Assessment of vascular function and biologic parameters related to coagulation pathways were conducted at various pre-established time-points.

Results: Flow-mediated dilatation was severely impaired in the study population, and raloxifene had no effect on endothelial function. Treatment with raloxifene was associated to decreased levels of fibrinogen (3.41 [3.11-3.74] vs. 3.69 [3.40-4.00], $P < .05$); prothrombin fragments F₁₊₂ (0.93 [0.77-1.12] vs. 0.94 [0.78-1.15], $P < .05$); and plasmin/antiplasmin complexes (211 [166-267] vs. 242 [199-295], $P < .01$).

Keywords:
Endothelium
Coronary disease
Raloxifene
Fibrinolysis
Thrombosis
Woman

* Autor para correspondencia: Departamento de Cardiología, Instituto del Tórax, Hospital Clínic, Villarroel 170, 08036 Barcelona, España.
Correo electrónico: mroque@clinic.ub.es (M. Roqué).

Conclusions: The present study provides evidence that in postmenopausal women with demonstrated endothelial dysfunction and ischemic heart disease, mid-term treatment with raloxifene does not affect endothelial function. In the MERCED trial, no increased thrombotic risk was observed, but a decreased thrombotic and fibrinolytic activity was observed with raloxifene. Further studies are required to determine whether thrombotic risk is associated with specific clinical characteristics or subgroups of postmenopausal women with cardiovascular disease.

Full English text available from: www.revespcardiol.org

© 2011 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Abreviaturas

MSRE: modulador selectivo del receptor estrogénico
PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1
PAP: plasmina/antiplasmina
TAFI: inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina
VMF: vasodilatación mediada por flujo

INTRODUCCIÓN

La modulación del tono vascular es uno de los efectos más relevantes de los estrógenos¹. Se ha demostrado que la administración intracoronaria o percutánea de estrógenos restablece la respuesta vasodilatadora a la acetilcolina, tanto en pacientes con enfermedad coronaria aterosclerótica como en pacientes con arterias coronarias angiográficamente normales pero con disfunción endotelial demostrada²⁻⁴.

Tras la publicación del estudio HERS⁵, que puso de relieve un aumento del riesgo de complicaciones tromboembólicas y de cáncer de mama en las mujeres posmenopáusicas tratadas con una combinación de estrógenos y progesterona, ha habido un interés creciente por evaluar los efectos de los moduladores selectivos de los receptores de estrógenos en el sistema cardiovascular.

Se ha propuesto también un efecto beneficioso en la función endotelial del modulador selectivo del receptor estrogénico (MSRE) raloxifeno^{6,7}. En un estudio clínico realizado en mujeres posmenopáusicas tratadas con raloxifeno durante 12 meses, se observó un aumento de la función endotelial en la arteria humeral, en comparación con las pacientes del grupo control. Por lo que respecta a la trombosis, se ha descrito que el raloxifeno modifica los parámetros de la coagulación. Por un lado, se ha observado una disminución favorable de los valores de fibrinógeno en las mujeres posmenopáusicas⁸ y, por otro, se ha documentado un aumento de los parámetros procoagulantes con raloxifeno en un tratamiento a medio plazo⁹. No hay estudios previos en los que se haya analizado las vías de la coagulación y la fibrinólisis en mujeres con enfermedad cardiovascular ya establecida.

El estudio MORE¹⁰ había demostrado una disminución del riesgo de eventos cardiovasculares en un subgrupo de mujeres posmenopáusicas con un riesgo cardiovascular elevado. El estudio RUTH tuvo como objetivo analizar el efecto del raloxifeno en mujeres con cardiopatía isquémica demostrada o con un riesgo elevado, y no logró evidenciar reducción alguna del riesgo de enfermedad coronaria. Además, se observó un exceso de ictus mortales y episodios tromboembólicos. En ese estudio no se realizó ninguna evaluación de parámetros de la coagulación y de la fibrinólisis¹¹.

El objetivo del ensayo MERCED es estudiar los efectos de raloxifeno en la función endotelial de mujeres posmenopáusicas con enfermedad coronaria. Además, para determinar el riesgo de

trombosis, realizamos un análisis detallado de las vías de la coagulación y la fibrinólisis.

MÉTODOS

Diseño del estudio

El estudio MERCED es un ensayo aleatorizado, a doble ciego, de grupos cruzados y ámbito nacional llevado a cabo en dos centros. La asignación de la secuencia de tratamiento (raloxifeno-placebo; placebo-raloxifeno) se realizó de forma aleatoria, con bloques de 4 pacientes para ambos centros participantes. Las pacientes, los médicos que las trataban y los investigadores que realizaron el análisis de la función endotelial en cada centro no conocían la asignación de la secuencia de tratamiento. El diseño del estudio se atiene a lo establecido en la declaración CONSORT para la notificación de ensayos clínicos.

La duración del estudio fue de 28 semanas, divididas en tres fases: un periodo de 12 semanas durante el cual se asignó a las pacientes aleatoriamente, mediante una tabla generada por ordenador, a la administración de raloxifeno 60 mg/día o placebo, seguido de un periodo de aclaramiento farmacológico de 4 semanas y un periodo final de 12 semanas en el que las pacientes cambiaron al otro tratamiento, placebo o raloxifeno. Se utilizó un enfoque de bloques permutados equilibrado (en bloques de 4 pacientes) para preparar las tablas de asignación aleatoria de cada centro participante. Las tablas de asignación aleatoria fueron proporcionadas por la Unidad de Ensayos Clínicos del *Hospital Clínic*, y el departamento de farmacia de nuestro centro proporcionó las medicaciones del estudio. En la [figura 1](#) se muestra el diagrama de flujo del estudio.

El protocolo fue aprobado por el comité ético local de cada centro participante y por la Agencia Española del Medicamento.

Los análisis de bioquímica y de coagulación de las muestras de sangre se llevaron a cabo centralizadamente. El análisis de la función endotelial se realizó en cada centro participante con los mismos protocolos de estudio, equipamiento sonográfico y programas informáticos. Las determinaciones de los parámetros de función endotelial se evaluaron también de forma centralizada.

Población en estudio

Se evaluó la elegibilidad de mujeres consecutivas posmenopáusicas (concentraciones plasmáticas de estradiol < 30 pg/ml y hormona foliculoestimulante > 40 UI/l), de edad ≤ 70 años, ingresadas en el departamento de cardiología de los centros participantes, con enfermedad coronaria documentada (antecedentes de infarto de miocardio o presencia de al menos una estenosis coronaria con una severidad > 70%). Los criterios de exclusión fueron los siguientes: contraindicaciones para el uso de raloxifeno (trastornos tromboticos venosos previos, hepatopatía, cáncer de mama o de endometrio), insuficiencia renal crónica (creatinina > 2 mg/dl), participación en un ensayo clínico menos de 30 días antes de la aleatorización o haber recibido terapia hormonal sustitutiva en los 6 meses previos. Todas las pacientes dieron su

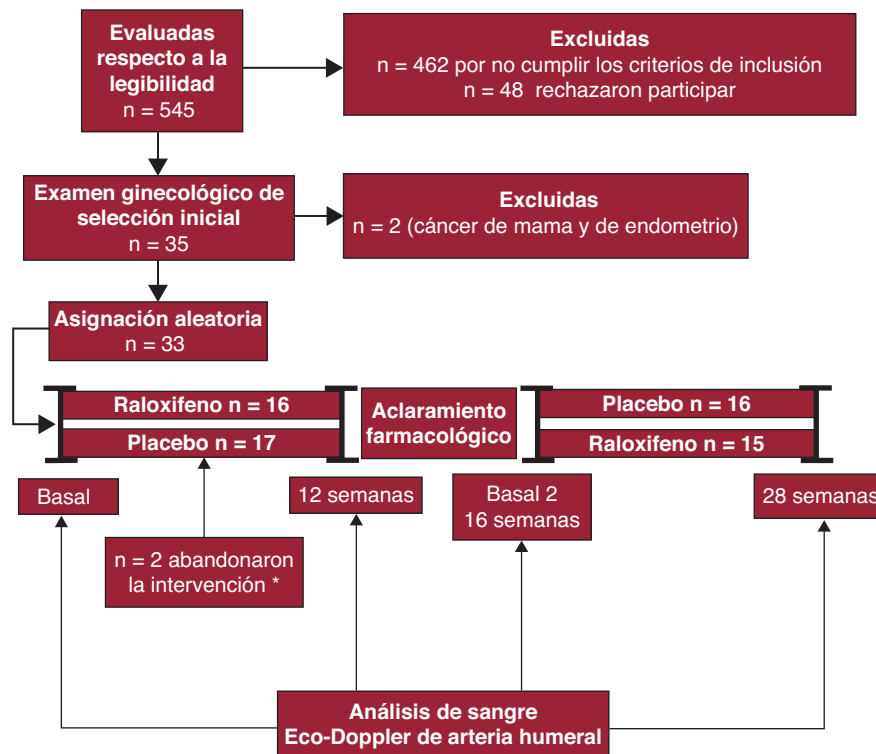


Figura 1. Diagrama de flujo del estudio. Estrategia de inclusión en el ensayo MERCED. Las pacientes elegibles presentaban evidencia de cardiopatía isquémica y debían tener un resultado normal del examen ginecológico inicial de selección. Se asignó a las pacientes aleatorizadas el empleo de placebo o raloxifeno con un diseño a doble ciego durante la primera fase del estudio, y luego cambiaron al otro grupo de tratamiento en la segunda fase, tras un periodo de aclaramiento farmacológico de 4 semanas. *2 pacientes asignadas aleatoriamente a placebo abandonaron el tratamiento a causa de una intolerancia a la medicación.

consentimiento informado por escrito. Antes de la inclusión en el estudio, se efectuó una evaluación ginecológica detallada, que incluía exploración vaginal, frotis de Papanicolaou y mamografía en todos los casos, y ecografía pélvica si estaba indicada.

Evaluación de la función endotelial

La función endotelial se estudió mediante ecografía de alta resolución de la arteria humeral, aplicando una técnica anteriormente validada^{3,12}. Un investigador que no conocía el tratamiento asignado llevó a cabo un análisis centralizado, con diseño ciego, de todas las imágenes.

Las exploraciones se realizaron en una sala silenciosa, de temperatura controlada (24 °C), con la paciente en decúbito supino, utilizando una sonda vascular de alta resolución conectada a un aparato de ecografía convencional. Todas las evaluaciones se realizaron a la misma hora del día, y las pacientes permanecieron en reposo durante al menos 10 min antes de iniciarlas.

Se examinó un corte longitudinal de un segmento no tortuoso de la arteria humeral derecha de 2 a 5 cm por encima del codo. Se identificó el centro de la arteria mediante la obtención de la imagen más clara de las paredes arteriales anterior y posterior. Cada examen consistió en una imagen longitudinal de la arteria humeral y una presentación espectral Doppler de onda pulsada del flujo de la arteria humeral. Se evaluó la vasodilatación dependiente del endotelio mediante un análisis de los cambios del diámetro de la arteria humeral en respuesta a un aumento del flujo. Se alcanzó una hiperemia reactiva mediante la liberación rápida de un manguito de presión neumático colocado alrededor del antebrazo, distal al segmento arterial examinado, hinchándolo hasta 300 mmHg durante 4-5 min. Se registró la señal de Doppler de onda pulsada del flujo de la arteria humeral e imágenes bidimensionales a los 55-65 s de la liberación del manguito.

Un investigador que no conocía el tratamiento asignado llevó a cabo un análisis centralizado, con diseño ciego, de todas las imágenes. El personal de cada centro participante recibió una formación específica para realizar el análisis de la función endotelial siguiendo un protocolo estandarizado.

Se utilizó la vasodilatación mediada por flujo (VMF) como índice de la vasodilatación dependiente del endotelio, y se calculó como porcentaje de cambio del diámetro medio de la arteria humeral tras la hiperemia reactiva respecto al obtenido en la situación basal. El flujo se estimó a partir de la integral de velocidad-tiempo de la señal de Doppler de onda pulsada y la frecuencia cardíaca. Se utilizó la vasodilatación inducida por nitroglicerina sublingual como índice de la vasodilatación independiente del endotelio.

Con el empleo de esta metodología y de un análisis de la varianza anidado, las varianzas entre observadores e intraobservador de las mediciones del diámetro de la arteria humeral en nuestro laboratorio han sido de 0,0002 (el 0,04% de la variabilidad total) y 0,001 (el 0,22% de la variabilidad total), respectivamente.

Análisis de sangre

Se analizaron los efectos del raloxifeno en las siguientes variables: perfil lipídico (colesterol total, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad [cHDL] y colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad [cLDL], apoA, apoB, lipoproteína [a] y triglicéridos), coagulación (F₁₊₂, factor VII y factor XII activados, y curvas de generación de trombina) y fibrinolisis (inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 [PAI-1], inhibidor de la fibrinolisis activable por trombina [TAFI] antigénico y actividad, complejos de plasmina-antiplasmina (PAP) y análisis de lisis de coágulo). Se obtuvieron muestras de sangre en la situación basal (tiempo 0) y en las semanas 12, 16 y 28.

Métodos analíticos

Los análisis generales de laboratorio, incluidos la hematología y el perfil lipídico, se realizaron con una metodología estándar.

Parámetros de la coagulación

Se determinaron los tiempos de protrombina y de trombo-plastina parcial activado con un coagulómetro automático CA-1500 (Dade Behring; Marburg, Alemania) utilizando reactivos estándar (Thromboplastin IS y Actin FSL; Dade Behring) y se expresaron en forma de cocientes (tiempo de la paciente/tiempo control). La concentración de fibrinógeno se determinó con la técnica de Clauss. Los fragmentos F₁₊₂ de la protrombina se determinaron con un marcador de generación de trombina mediante ELISA (Enzygnost-F₁₊₂; Dade Behring). El factor XII activado se determinó con un inmunoanálisis directo (Shield Diagnostics; Dundee, Reino Unido) y el factor VII activado se determinó mediante ELISA (American Diagnostica; Greenwich, Connecticut, Estados Unidos). Se midieron las curvas de generación de trombina mediante el potencial de trombina endógena, utilizando un método de sustrato cromogénico (Dade-Behring) en un coagulómetro totalmente automático (BCS-XP, Dade-Behring).

Parámetros de fibrinólisis

El antígeno de PAI-1 en plasma se determinó mediante ELISA, con base en un principio de doble anticuerpo (Imulyse PAI-1, Biopool; Umea, Suecia). El antígeno de TAFI en plasma se determinó con un ELISA (Asserachrom TAFI, Stago), y la actividad plasmática relacionada con el TAFI se cuantificó con un método cromogénico (STA-Stachrom TAFI, Stago). Los valores plasmáticos de complejos plasmina- α_2 -antiplasmina se cuantificaron mediante un marcador de generación de plasmina, utilizando un ELISA (Dade Behring).

El tiempo de lisis del coágulo se estudió en un sistema plasmático en el que la fibrinólisis mediada por activador tisular del plasminógeno de un coágulo inducido por trombina se mide con el empleo de los cambios de la turbidez a 405 nm (Multiskan Ascent, Thermo Labsystems; Finlandia). El tiempo de lisis del coágulo se expresa como porcentaje del control normal.

Se compararon muestras de la población en estudio con las de controles sanos procedentes de una muestra de población representativa (99 mujeres; edad, 59 \pm 6 años) de la base de datos del laboratorio de nuestro hospital.

Tamaño muestral y análisis estadísticos

Asumiendo una desviación estándar del 2,76%, y para detectar una diferencia del 2% en la dilatación de la arteria humeral, eran necesarias 30 pacientes para alcanzar una potencia estadística $1 - \beta = 80\%$, $\alpha = 0,05$ en una prueba bilateral.

Evaluamos la normalidad de las variables examinando los gráficos de probabilidad normal. Se realizaron transformaciones logarítmicas de los datos de presión arterial sistólica en la situación basal, hiperemia reactiva, tiempo de protrombina, tiempo de trombo-plastina parcial activado, fibrinógeno, complejos PAP, F₁₊₂, cHDL, triglicéridos y glucosa para alcanzar una distribución normal.

Utilizamos la prueba de la t de Student o la prueba de la U de Mann-Whitney, según fuera apropiado, para determinar las diferencias en las características basales. Comprobamos el posible efecto *carry-over* analizando el término interacción periodo-tratamiento en los modelos mixtos. Dado que el término de interacción entre periodo y tratamiento no era estadísticamente significativo en ningún modelo, no incluimos términos de este tipo

en los modelos finales utilizados. En esos modelos se emplearon las diferencias entre los valores previos y posteriores al tratamiento como variables dependientes y se incluyeron las variables independientes del tratamiento como efecto fijo y del número de participante como efecto aleatorio¹³. En las tablas, se han revertido las variables con transformación logarítmica a los valores originales; en consecuencia, las diferencias pasan a ser cocientes y las medias son geométricas en vez de aritméticas. La significación estadística se definió como un valor de $p < 0,05$ para una prueba bilateral. Realizamos los análisis con el programa informático R (R Development Core Team 2006; R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing; Viena, Austria).

RESULTADOS

En total, se incluyó en el estudio a 33 mujeres posmenopáusicas con cardiopatía isquémica demostrada. Durante el seguimiento, 2 pacientes (asignadas a placebo) retiraron su consentimiento a causa de una intolerancia digestiva a la medicación en estudio. En general, raloxifeno fue bien tolerado, y no se observaron efectos secundarios significativos.

Las características basales de la población estudiada se resumen en la [tabla 1](#).

Tabla 1
Características basales de la población en estudio

Edad (años)	59,7 \pm 5,91
Hipertensión	71
Diabetes mellitus	22,6
Dislipemia	74,2
Fumadores o ex fumadores \leq 1 año	19,4
Antecedentes familiares de CPI	53,3
Tratamiento médico al ser incluidas en el estudio	
Nitratos	38,7
AAS	73,3
IECA	38,7
Estatinas	87,1
Bloqueadores beta	67,7
Clopidogrel	32,3
Anticoagulantes orales	3,2
Antagonistas del calcio	38,7
ARA	3,2
PAS (mmHg)	136 \pm 22,5
PAD (mmHg)	76,5 \pm 10,7
Tipo de evento coronario	
IAMCEST	45,2
Angina e IAMSEST	54,8
Antecedentes previos de ECV	
IAM	38,7
ICP	61,3
CBAC	6,45
Angina	58,6
ACV	3,2
Enfermedad arterial periférica	10,3

AAS: ácido acetilsalicílico; ACV: accidente cerebrovascular; ARA: antagonistas del receptor AT1 de la angiotensina II; CBAC: cirugía de *bypass* arterial coronario; CPI: cardiopatía isquémica; ECV: enfermedad cardiovascular; IAM infarto agudo de miocardio; IAMCEST: infarto de miocardio con elevación del ST; IAMSEST: infarto de miocardio sin elevación del ST; ICP: intervencionismo coronario percutáneo; IECA: inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica.

Los datos se expresan en forma de porcentaje o media \pm desviación estándar.

Tabla 2
Efecto del tratamiento con raloxifeno en el perfil lipídico, la función endotelial, la trombosis y la fibrinólisis

	Antes	Después	p
<i>Lípidos/glucosa</i>			
Colesterol total (mg/dl)	174 (160-188)	177 (162-191)	NS
cHDL (mg/dl)	46,5 (40,8-53,1)	47 (40,7-54,4)	NS
cLDL (mg/dl)	102 (91,1-113)	104 (90,7-117)	NS
Triglicéridos (mg/dl)	104 (86,3-125)	104 (86,6-125)	NS
Glucosa (mg/dl)	104 (92,3-118)	102 (91-114)	NS
<i>Función endotelial</i>			
Diámetro de AH basal (mm)	3,58 (3,41-3,75)	3,57 (3,4-3,74)	NS
Diámetro de AH tras hiperemia (mm)	3,63 (3,48-3,79)	3,65 (3,49-3,8)	NS
Dilatación tras hiperemia (%)	2,16 (1,27-3,05)	2,83 (1,82-3,83)	NS
Diámetro de AH tras NTG (mm)	4,3 (4,17-4,42)	4,29 (4,16-4,43)	NS
Hiperemia reactiva (ml/min)	363 (314-420)	317 (268-375)	NS
<i>Trombosis</i>			
Fibrinógeno (g/l)	3,69 (3,4-4)	3,41 (3,11-3,74)	< 0,05
F ₁₊₂ (nmol/l)	0,94 (0,78-1,15)	0,93 (0,77-1,12)	< 0,05
Factor Xlla (ng/ml)	3,33 (2,9-3,77)	3,03 (2,62-3,44)	NS
Factor Vlla (ng/ml)	5,09 (4,47-5,71)	5,36 (4,67-6,06)	NS
Curva de generación de trombina (Me)	416 (391-441)	402 (372-432)	NS
<i>Fibrinólisis</i>			
PAI-1 (ng/ml)	45 (36,2-53,8)	50,6 (42,1-59,2)	NS
Antígeno de TAFI (μg/ml)	122 (112-132)	118 (111-125)	NS
Actividad de TAFI (%)	122 (113-130)	121 (112-130)	NS
Complejos de plasmina/antiplasmina (μg/l)	242 (199-295)	211 (166-267)	< 0,01
Ensayo de lisis de coágulo (%)	112 (102-122)	114 (103-125)	NS

AH: arteria humeral; cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; NTG: nitroglicerina; PAI-1: inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1; TAFI: inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina.

Los datos se presentan en forma de media aritmética (intervalo de confianza del 95%) de los valores antes y después del tratamiento.

Durante el seguimiento del estudio, no se observaron diferencias respecto al control de la presión arterial, la dislipemia o la diabetes mellitus con raloxifeno o con placebo. De igual modo, no hubo diferencias significativas en los eventos isquémicos agudos, la clase funcional de la angina u otros eventos clínicos entre los grupos de tratamiento.

Todos los datos relativos a los parámetros clínicos y biológicos analizados se resumen en la [tabla 2](#).

Función vascular

La mediana basal de la VMF en nuestra población en estudio fue del 1,81% (intervalo de confianza del 95%, $1,13 \pm 2,5\%$).

De los diferentes parámetros analizados para valorar la función endotelial, no hubo diferencias entre el diámetro de la arteria humeral en la situación basal o después del tratamiento con raloxifeno. El flujo sanguíneo durante la hiperemia reactiva se mantuvo inalterado antes y después de la administración de placebo o raloxifeno. El porcentaje de aumento del diámetro de la arteria humeral durante la hiperemia relativa fue mayor tras el tratamiento con raloxifeno (el 2,83 frente al 2,16%), pero no se observó una diferencia significativa. En la [tabla 2](#) se resumen todos los datos.

Además, el tratamiento con raloxifeno no tuvo efecto alguno en la vasodilatación independiente del endotelio en respuesta a la nitroglicerina ([fig. 2](#)).

Coagulación

Los valores de F₁₊₂, factor VIIa, factor Xlla y fibrinógeno estaban elevados en la situación basal en comparación con los de controles

sanos de la base de datos de laboratorio de nuestro hospital ($1,11 \pm 0,53$ frente a $0,76 \pm 0,21$ nmol/l; $5,09 \pm 1,8$ frente a $2,8 \pm 0,8$ ng/ml; $3,1 \pm 1,1$ frente a $2,7 \pm 1$ ng/ml, y $3,75 \pm 0,94$ frente a $3,1 \pm 0,9$ g/l respectivamente; $p < 0,05$ en todos los casos).

Raloxifeno indujo una disminución de la concentración de fibrinógeno en comparación con placebo ($p < 0,05$) ([tabla 2](#)).

La generación de trombina, evaluada mediante los valores de F₁₊₂, se redujo con el tratamiento de raloxifeno en comparación con placebo ($p < 0,05$) ([tabla 2](#)).

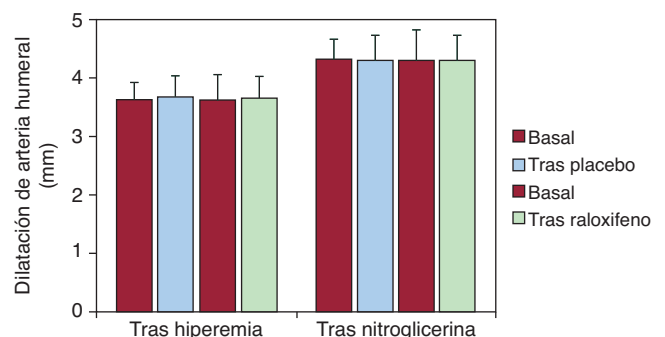


Figura 2. Función vascular. Evaluación del diámetro de la arteria humeral tras hiperemia y después de nitroglicerina sublingual. Dilatación mediada por flujo de la arteria humeral tras hiperemia en condiciones basales, y tras el tratamiento de placebo y raloxifeno, así como dilatación mediada por flujo tras la administración de nitroglicerina.

Fibrinolisis

Las cifras basales de PAI-1, antígeno de TAFI y actividad de TAFI estaban elevadas en comparación con las de los controles sanos (50 ± 23 frente a $22,8 \pm 12,4$ ng/ml; $12,4 \pm 2,6$ frente a $11,1 \pm 1,9$ μ g/ml, y $123 \pm 23\%$ frente a $111 \pm 10\%$ respectivamente; $p < 0,05$ en todos los casos).

Se observó una disminución de los complejos de PAP en respuesta al tratamiento con raloxifeno en comparación con placebo ($p < 0,01$) (tabla 2), lo cual indicaba una reducción de la actividad fibrinolítica.

DISCUSIÓN

El ensayo MERCED no mostró efecto beneficioso alguno de raloxifeno en la función endotelial de mujeres posmenopáusicas con cardiopatía isquémica. Además de la función endotelial, como objetivo secundario, el presente estudio evaluó detalladamente los efectos del raloxifeno en la trombosis y la fibrinolisis, y mostró una disminución de varios marcadores del riesgo trombótico.

Raloxifeno y función endotelial

La disfunción endotelial es un factor de riesgo de futuros eventos cardiovasculares. En mujeres sanas sin enfermedad coronaria obstructiva, se ha demostrado que la presencia de una disfunción endotelial predice la cardiopatía isquémica¹⁴. La mejora de la función endotelial es uno de los mecanismos mejor estudiados por los que los estrógenos y los MSRE ejercen los efectos favorables que se han descrito en la modulación del tono vascular.

En nuestro estudio, el tratamiento con raloxifeno no tuvo efecto alguno en la vasodilatación dependiente o independiente del endotelio.

La mediana basal de VMF en nuestra población en estudio fue inferior a la observada en estudios previos de mujeres posmenopáusicas con enfermedad coronaria¹⁵, lo cual indica una disfunción endotelial más grave en nuestra población. Un porcentaje elevado de nuestra población presentaba dislipemia e hipertensión, junto con antecedentes de larga enfermedad coronaria en la mayoría de las pacientes, y este perfil de riesgo muy probablemente explique el deterioro grave de la VMF que se observó.

Por lo que respecta a los efectos del raloxifeno en la función endotelial, en estudios anteriores se han descrito conclusiones divergentes. En un estudio llevado a cabo en mujeres posmenopáusicas sanas, con una respuesta vasodilatadora basal del 8%, la VMF dependiente del endotelio en la arteria humeral aumentó después de 6 meses de tratamiento con raloxifeno en el mismo grado que con los estrógenos¹⁶. A diferencia de ese estudio anterior, la población del nuestro incluía a mujeres con enfermedad coronaria y una carga de factores de riesgo elevada. Una explicación probable de las diferencias observadas entre uno y otro estudio sería que el raloxifeno no fuera capaz de mejorar la VMF en presencia de una disfunción endotelial grave. De manera similar a lo observado en nuestro trabajo, un estudio llevado a cabo en mujeres posmenopáusicas con enfermedad coronaria conocida y deterioro de la VMF (el 2,84% en situación basal) no observó ningún efecto favorable del raloxifeno en la función endotelial¹⁵. Varias observaciones de ese estudio previo concuerdan con las nuestras: corta duración del tratamiento (8 y 12 semanas respectivamente), carga de factores de riesgo de la población en estudio y enfermedad coronaria demostrada. En presencia de una aterosclerosis avanzada, con enfermedad coronaria demostrada, pueden reducirse los efectos beneficiosos de la modulación de los receptores de estrógenos a través del

aumento de la producción de NO, puesto que la concentración de eNOS está reducida en la aterosclerosis¹⁷. Considerados conjuntamente, los resultados de estudios previos y del nuestro indican claramente que el raloxifeno no es capaz de mejorar la función endotelial en las mujeres posmenopáusicas con una cardiopatía isquémica establecida. Este hecho podría explicar también el fracaso de la terapia sustitutiva y del raloxifeno en esta población en ensayos anteriores^{5,11}.

En relación con la función endotelial, en el estudio MERCED no se observaron cambios del perfil lipídico con el uso de raloxifeno. Todas las pacientes estaban en tratamiento con estatinas y los valores medios de colesterol total y cLDL estaban dentro de lo recomendado, lo cual indica que, en una población que recibe un tratamiento adecuado con estatinas, el raloxifeno no induce una reducción adicional de las concentraciones de colesterol. Esta observación concuerda también con los resultados del estudio comentado anteriormente, que se llevó a cabo en mujeres con enfermedad coronaria que recibían un tratamiento médico óptimo¹⁵.

Raloxifeno y trombosis

Las implicaciones clínicas del ensayo RUTH¹¹ en cuanto al aumento del riesgo de muerte por ictus y tromboembolia venosa no son favorables al uso de raloxifeno, aun cuando no se produjo un aumento de la incidencia de eventos coronarios. En el ensayo RUTH no se realizó ninguna evaluación de parámetros biológicos relacionados con la trombosis, como sí hicimos en el presente estudio. En nuestro estudio, no se observaron acontecimientos adversos cardiovasculares con el tratamiento de raloxifeno, aunque el estudio tuvo un periodo de seguimiento corto y un tamaño muestral pequeño.

Anteriormente se han descrito diferentes alteraciones de las vías de coagulación/fibrinolisis en pacientes con cardiopatía isquémica¹⁸⁻²⁰. Los valores de PAI-1, F₁₊₂, factor VIIa, factor XIIIa, fibrinógeno, antígeno y de actividad de TAFI fueron mayores en nuestra población en estudio en comparación con una población sana.

El tratamiento con raloxifeno produjo una disminución de los valores de fibrinógeno. Anteriormente se ha descrito que el raloxifeno reduce la concentración plasmática de fibrinógeno en mujeres posmenopáusicas sanas⁸. En nuestro estudio, se observó una reducción sustancial del fibrinógeno (0,92 g/l en promedio) con raloxifeno. El seguimiento preestablecido para nuestro estudio fue de 7 meses; en consecuencia, no podemos determinar si la disminución observada en los valores de fibrinógeno podría traducirse en una reducción de los eventos cardiovasculares futuros.

Las cifras de F₁₊₂, que son un indicador de la generación de trombina, estaban aumentadas en la situación basal de nuestra población y se redujeron con el tratamiento de raloxifeno. En estudios previos realizados en mujeres posmenopáusicas sanas, se ha demostrado ausencia de cambios o un aumento de los valores de F₁₊₂ en respuesta al raloxifeno^{8,9}. La asociación de cifras de fibrinógeno elevadas con un aumento del riesgo trombótico se ha relacionado en parte con una alteración de la generación de proteína C activada²¹. Los valores aumentados de fibrinógeno pueden deteriorar la activación de la proteína C y, por lo tanto, la generación de trombina. Este mecanismo puede aportar un vínculo entre la disminución observada en el fibrinógeno y la generación de trombina, evaluada mediante los valores de F₁₊₂, tal como se observó en nuestro estudio.

Raloxifeno y fibrinolisis

La concentración de reguladores de la fibrinolisis se correlaciona con los eventos cardiovasculares en los pacientes con factores de

riesgo^{18,19}. Más recientemente, el TAFI se ha relacionado con la presencia de factores de riesgo cardiovascular, lo cual plantea la posibilidad de que el aumento de actividad o de antígeno TAFI pueda desempeñar un papel en la enfermedad coronaria^{20,22}.

El presente estudio pone de manifiesto la presencia de un estado protrombótico e hipofibrinolítico en la situación basal en esta población de mujeres posmenopáusicas con cardiopatía isquémica.

La determinación de los complejos PAP en nuestro estudio tuvo como objetivo examinar con mayor profundidad el sistema fibrinolítico en el contexto de la cardiopatía isquémica. El aumento de los valores de PAP se ha asociado a un mayor riesgo de infarto de miocardio y muerte cardiovascular²³. Que nosotros sepamos, este es el primer estudio en que se evalúa el efecto del raloxifeno en los PAP. El tratamiento con raloxifeno produjo una reducción de los complejos de PAP. Nuestra hipótesis es que la disminución de los complejos PAP observada en nuestro estudio puede no reflejar una reducción de la actividad fibrinolítica en sí, y en cambio puede ser más probablemente una consecuencia de la disminución de la generación de trombina, puesto que es paralelo a la disminución observada en las F₁₊₂.

Limitaciones del estudio

Dado el pequeño tamaño muestral y la corta duración del tratamiento, no pudimos detectar cambios de las variables clínicas durante el seguimiento. Es posible que el efecto observado del raloxifeno esté influido por las medicaciones concomitantes que las pacientes estaban tomando. Sin embargo, dado el diseño aleatorizado y de grupos paralelos del estudio, el posible efecto de factor de confusión producido por el tratamiento médico se distribuye aleatoriamente en los grupos. Serían necesarios una mayor duración del tratamiento y un seguimiento ampliado para poder evaluar los efectos a largo plazo de los resultados observados en la trombosis.

CONCLUSIONES

En general, el presente estudio aporta indicios de que, en las mujeres posmenopáusicas con disfunción endotelial demostrada y cardiopatía isquémica, el tratamiento a medio plazo con raloxifeno no afecta a la función endotelial. Además, se observó una disminución de la actividad trombótica. Los resultados del presente estudio son contradictorios respecto a la evidencia previa sobre el aumento de riesgo trombótico asociado al uso de raloxifeno. En futuros estudios deberá determinarse si el riesgo trombótico aumenta en determinados subgrupos específicos de población posmenopáusica.

AGRADECIMIENTOS

Estamos en deuda con la Dra. Magda Heras por su participación en el diseño del estudio y su revisión crítica de los datos y del manuscrito; con I. Ramió y T. Martorell por su ayuda en el reclutamiento y el seguimiento de las pacientes; con E. Martí por su ayuda en el análisis estadístico; con E. Lilly por su ayuda editorial, y con L. González por su ayuda de secretaría.

FINANCIACIÓN

Este trabajo fue financiado por la subvención de la Red HERACLES (RD06/0009/0008), del Fondo de Investigaciones Sanitarias, Ministerio de Sanidad y Consumo (España).

CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

BIBLIOGRAFÍA

- Mendelson ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med*. 1999;340:1801-11.
- Roqué M, Heras M, Roig E, Masotti M, Rigol M, Betriu A, et al. Short-term effects of transdermal estrogen replacement therapy on coronary vascular reactivity in postmenopausal women with angina pectoris and normal results on coronary angiograms. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31:139-43.
- Sitges M, Heras M, Roig E, Duran M, Masotti M, Zurbano P, et al. Acute and mid-term combined hormone replacement therapy improves endothelial function in postmenopausal women with angina and angiographically normal coronary arteries. *Eur Heart J*. 2001;22:2116-24.
- Herrington DM, Braden GA, Williams JK, Morgan TM. Endothelial-dependent coronary vasomotor responsiveness in postmenopausal women with and without estrogen replacement therapy. *Am J Cardiol*. 1994;73:951-2.
- Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. *JAMA*. 1998;280:605-13.
- Sumino H, Ichikawa S, Kasama S, Takahashi T, Sakamoto H, Koizumi A, et al. Effects of raloxifene on brachial arterial endothelial function, carotid wall thickness, and arterial stiffness in osteoporotic postmenopausal women. *Int Heart J*. 2010;51:60-7.
- Wong CM, Yung LM, Leung FP, Tsang SY, Au CL, Cheng CH, et al. Raloxifene protects endothelial cell function against oxidative stress. *Br J Pharmacol*. 2008;155:326-34.
- Walsh BW, Kuller LH, Wild RA, Paul S, Farmer M, Lawrence JB. Effects of raloxifene on serum lipids and coagulation factors in healthy postmenopausal women. *JAMA*. 1998;279:1445-51.
- Sgarabotto M, Baldini M, Dei Cas A, Manotti C, Barilli A, Rinaldi M. Effects of raloxifene and continuous combined hormone therapy on haemostasis variables: A multicenter, randomized, double-blind study. *Thromb Res*. 2007;119:85-91.
- Barrett-Connor E, Grady D, Sashegyi A, Anderson PW, Cox DA, Hozowski K, et al. Raloxifene and cardiovascular events in osteoporotic postmenopausal women: four-year results from the MORE (Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation) randomized trial. *JAMA*. 2002;287:847-57.
- Barrett-Connor E, Mosca L, Collins P, Geiger MJ, Grady D, Kornitzer M, et al. Raloxifene Use for The Heart (RUTH) Trial Investigators. Effects of raloxifene on cardiovascular events and breast cancer in postmenopausal women. *N Engl J Med*. 2006;355:125-37.
- Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Thomas O, et al. Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. *Br Heart J*. 1995;74:247-53.
- Senn S. *Cross-over trials in clinical research*. 2.^a ed. Chichester: John Wiley; 2002.
- Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sugamura K, Nozaki T, Ohba K, Konishi M, et al. Digital assessment of endothelial function and ischemic heart disease in women. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:1688-96.
- Griffiths KA, Sader MA, Skilton MR, Harmer JA, Celermajer DS. Effects of raloxifene on endothelium-dependent dilation, lipoproteins, and markers of vascular function in postmenopausal women with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42:698-704.
- Saitta A, Altavilla D, Cucinotta D, Morabito N, Frisina N, Corrado F. Randomized, double-blind, placebo-controlled study on effects of raloxifene and hormone replacement therapy on plasma NO concentrations, endothelin-1 levels, and endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:1512-9.
- Oemar BS, Tschudi MR, Godoy N, Brovkovich V, Malinski T, Lüscher TF. Reduced endothelial nitric oxide synthase expression and production in human atherosclerosis. *Circulation*. 1998;97:2494-8.
- Ridker PM, Vaughan DE, Stampfer MJ, Manson JE, Hennekens CH. Endogenous tissue-type plasminogen activator and risk of myocardial infarction. *Lancet*. 1993;341:1165-8.
- Tomiyama H, Kimura Y, Mitsuhashi H, Kinouchi T, Yoshida H, Kushiro T, et al. Relationship between endothelial function and fibrinolysis in early hypertension. *Hypertension*. 1998;31:321-7.
- Tàssies D, Roqué M, Monteagudo J, Martorell T, Sionis A, Arzamendi D, et al. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor genetic polymorphisms as markers of the type of acute coronary syndrome. *Thromb Res*. 2009;124:614-8.
- Diez N, Montes R, Alonso A, Medina P, Navarro S, España F, et al. Association of increased fibrinogen concentration with impaired activation of anticoagulant protein C. *J Tromb Haemost*. 2006;4:398-402.
- Schroeder V, Wilmer M, Buehler B, Kohler HP. TAFI activity in coronary artery disease: A contribution to the current discussion on TAFI assays. *Thromb Haemost*. 2006;96:236-7.
- Morange PE, Bickel C, Nicaud V, Schnabel R, Rupprecht HJ, Peetz D, et al.; AtheroGene Investigators. Haemostatic factors and the risk of cardiovascular death in patients with coronary artery disease. The AtheroGene Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:2793-9.