



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Efecto de la tibolona sobre el estrés oxidativo y los trastornos del humor en la postmenopausia

T E S I S

que para obtener el título de
Química Farmacéutica Bióloga

P R E S E N T A

Brenda Monserrat Velásquez Díaz



Directora: Dra. Martha A. Sánchez Rodríguez

Asesora: QFB. Ixel Venecia González Herrera

Ciudad de México, 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Este trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de Bioquímica Clínica y Envejecimiento de la Unidad de Investigación en Gerontología con el apoyo de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, UNAM, en su programa PAPIIT con el número de registro IN306517.

Dormí y soñé que la vida era alegría.

Desperté y vi que la vida era servicio.

Servi y descubrí que en el servicio se encuentra la alegría...

Rabindranath Tagore

Dedicatorias

A Dios, por haberme bendecido con una familia excepcional, amigos extraordinarios y privilegios que no todos llegan a tener, gracias por todo lo que me has dado.

A mis padres, Eduardo y Dolores, por haber dedicado su vida a mi crianza y crecimiento personal. Nunca habrá palabras ni actos suficientes para agradecer todo lo que me han enseñado y dado, todo lo que soy es gracias a ustedes.

A mis hermanos, Eduardo y Lizzy, por todo ese cariño, apoyo, anécdotas y peleas. Mi vida no sería igual de caótica y divertida sin ustedes, soy bendecida de tenerlos como hermanos.

A Miguel, por todo el apoyo, cariño y comprensión que me has brindado, siempre agradezco a Dios por haberte puesto en mi camino.

Agradecimientos

A la Doctora Martha, muchas gracias por toda la paciencia que me tuvo en todo este proceso, también por todo el conocimiento que compartió conmigo a lo largo de mi vida estudiantil. Usted tiene mi más grande respeto y admiración.

A mis amigas, Ale y Angy, por enseñarme el verdadero significado de la amistad, por todas esas aventuras y complicidades que vivimos juntas, me siento afortunada de tenerlas como amigas.

A todas las personas que contribuyeron de alguna u otra manera para la realización de este trabajo, mis sinodales, las señoras participantes del estudio, mis compañeros de laboratorio, y mis amigos y jefes de trabajo. Gracias por todo su apoyo.

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
MARCO TEORICO.....	3
Menopausia.....	3
Estrés oxidativo.....	7
Depresión y Ansiedad.....	10
Terapia de hormonal con estrógenos y tibolona.....	14
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
HIPÓTESIS.....	18
OBJETIVOS.....	18
General.....	18
Específicos.....	18
MATERIAL Y MÉTODOS.....	19
Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.....	20
Inclusión.....	20
Exclusión.....	20
Eliminación.....	20
Variables.....	20
Independientes.....	20
Dependientes.....	20
Intervinientes.....	20
DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO.....	22
SEGUIMIENTO DEL ESTUDIO.....	23
TÉCNICAS.....	25
Lipoperóxidos (LPO).....	25
Procedimiento:.....	25
Curva de calibración.....	26
Superóxido dismutasa (SOD).....	27
Procedimiento:.....	27

Glutación peroxidasa (GPx).....	29
Procedimiento.....	29
Capacidad sérica antioxidante (CAT)	30
Procedimiento.....	30
DISEÑO ESTADÍSTICO	31
ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES.....	32
RESULTADOS.....	32
DISCUSIÓN.....	35
PERSPECTIVAS	38
REFERENCIAS.....	38
ANEXOS	45
Anexo 1. Panfleto entregado para el reclutamiento de las participantes	45
Anexo 2. Consentimiento informado.....	46
Anexo 3. Cuestionario de estilos de vida.....	49
Anexo 4. Cuestionario de Climaterio	52
Anexo 5. Cuestionario de Salud y Polifarmacia.....	53
Anexo 6. Escala de ansiedad de Zung (ASI).....	56
Anexo 7. Escala de depresión de Zung (SDS)	58

RESUMEN

Antecedentes: La principal característica de la menopausia es la disminución de estrógenos, la cual propicia diferentes eventos adversos como el insomnio, bochornos, aumento del estrés oxidativo, entre otros. Aunado a ello hay una baja de los niveles de serotonina lo cual en conjunto propicia la aparición de trastornos del humor. Para tratar estos diferentes síntomas se recurre a la terapia hormonal, siendo la tibolona una elección cada vez más popular. El uso de este fármaco estaría otorgando un factor de protección para la depresión y ansiedad, a su vez, podría tener un efecto antioxidante, sin embargo, no existe suficiente evidencia científica que sustente esto.

Objetivo: Determinar el efecto de la terapia hormonal con tibolona sobre el estrés oxidativo y los trastornos del humor en la postmenopausia.

Metodología: Se llevó a cabo un ensayo clínico aleatorizado doble ciego en una población de 51 mujeres postmenopáusicas en la Ciudad de México y Área Metropolitana. Las participantes se dividieron en dos grupos, uno de los cuales estuvo constituido por 24 mujeres que recibieron placebo y el otro conformado por 27 participantes, las cuales fueron tratadas con Tibolona. Al inicio del estudio se midieron los siguientes marcadores de estrés oxidativo: lipoperóxidos (LPO), glutatión peroxidasa (GPX), superóxido dismutasa (SOD) y capacidad antioxidante total (AT). Asimismo, se les aplicaron los cuestionarios de escala de ansiedad de Zung (SDS) y escala de depresión de Zung (SDI). Estos parámetros fueron evaluados basal y a los 3 y 6 meses de tratamiento.

Resultados: Se observó una disminución en los lipoperóxidos y un aumento en la capacidad antioxidante total en el grupo de tratamiento contrario al grupo placebo. Además, se evidenció una mayor actividad de la enzima superóxido dismutasa en el grupo tratado con tibolona. Sin embargo, no se encontró relación estadísticamente significativa entre los trastornos del humor y la tibolona.

Conclusiones: La terapia hormonal con tibolona disminuye los niveles de estrés oxidativo en mujeres postmenopáusicas y aparentemente no tiene efecto sobre los trastornos del humor.

Palabras clave: Estrés oxidativo, trastornos del humor, depresión, ansiedad, tibolona, terapia hormonal, menopausia.

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico de la menopausia se da cuando existe un periodo de al menos doce meses de amenorrea desde el último periodo menstrual sin ninguna causa aparente.

Durante esta etapa se presentan múltiples síntomas como bochornos, sudoraciones, osteoporosis y trastornos del humor causados por una disminución de estrógenos, el cual es el responsable de la expresión de los caracteres sexuales femeninos. Asimismo, esta falta de estrógenos aumenta el daño del estrés oxidativo en el cuerpo. El estrés oxidativo es el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas y radicales libres que provocan un daño oxidativo a las biomoléculas.

El declive en el nivel de estrógenos provoca una disminución en las concentraciones de serotonina, aumentando así la posibilidad de padecer depresión y/o ansiedad. Adicionalmente, estudios han demostrado un desbalance entre las defensas antioxidantes y la producción de las especies reactivas del oxígeno en pacientes que presentan depresión. Sin embargo, los trastornos del humor que suelen presentarse durante la menopausia también son el resultado de diversos factores psicosociales y socioeconómicos aunado a los síntomas de esta etapa, los cuales impactan directamente sobre la depresión y ansiedad en un fenómeno conocido como el efecto domino.

Para tratar la sintomatología de la menopausia, se ha propuesto la terapia hormonal, siendo los estrógenos los más usados. No obstante, diversos efectos adversos, como patologías cardiovasculares y cáncer ginecológico, han disminuido su popularidad, por tal motivo se ha optado por otras alternativas, siendo la tibolona una de estas opciones. Esta hormona sintética presenta efectos parecidos a la de las hormonas gonadales: estrógenos, progestágenos y andrógenos y entre sus beneficios se encuentra la preservación de la densidad mineral ósea, la disminución de los bochornos, reducción del nivel de triglicéridos y colesterol, entre otros. A su vez, la tibolona incrementa la concentración de β -endorfinas y de triptófano hidroxilasa aunado a una mejoría en el estrés oxidativo, lo cual podría contribuir a la mejoría en el estado de ánimo en mujeres postmenopáusicas.

Ya que el uso de la tibolona en el tratamiento de la sintomatología de la menopausia es cada vez más popular, los estudios relacionados a esta hormona se enfocan en el beneficio de ésta sobre la preservación de la densidad mineral ósea, relegando otras sintomatologías tales como la depresión, ansiedad y estrés oxidativo. Por tal motivo, una investigación sobre el efecto que tiene la tibolona sobre los trastornos del humor y el estrés oxidativo resultaría de gran utilidad.

MARCO TEORICO

Menopausia

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) la menopausia se define como el cese permanente de la menstruación, resultado de la pérdida de la actividad folicular en los ovarios¹. Su diagnóstico se da a partir de al menos doce meses de amenorrea desde el último periodo menstrual sin ninguna causa aparente. Mundialmente, la edad promedio del inicio de la menopausia es alrededor de los 50 años².

La principal característica de la menopausia es la disminución de estrógenos que, un agente antioxidante natural³ responsable de la expresión de los caracteres sexuales femeninos, sin embargo esta no es la única función de los estrógenos ya que estos también incrementan la producción hepática de proteínas de unión tales como la globulina, mantienen un equilibrio apropiado de líquido corporal para la retención de agua y sal, promueven la coagulación y participan activamente en la producción de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y a su vez ayudan a la disminución de las lipoproteínas de baja densidad (LDL)⁴.

Los estrógenos se sintetizan en tres formas; estradiol, estriol y estrona (Figura 1). El 17 β -estradiol es la forma más común y potente de estrógenos que predomina en el periodo previo a la menopausia y durante la peri menopausia; mientras que en la postmenopausia es la estrona la que presenta una mayor prevalencia. La última forma de estrógeno, estradiol, es producida normalmente en los tejidos adiposos y en el hígado gracias a la conversión de la androstenediona⁴.

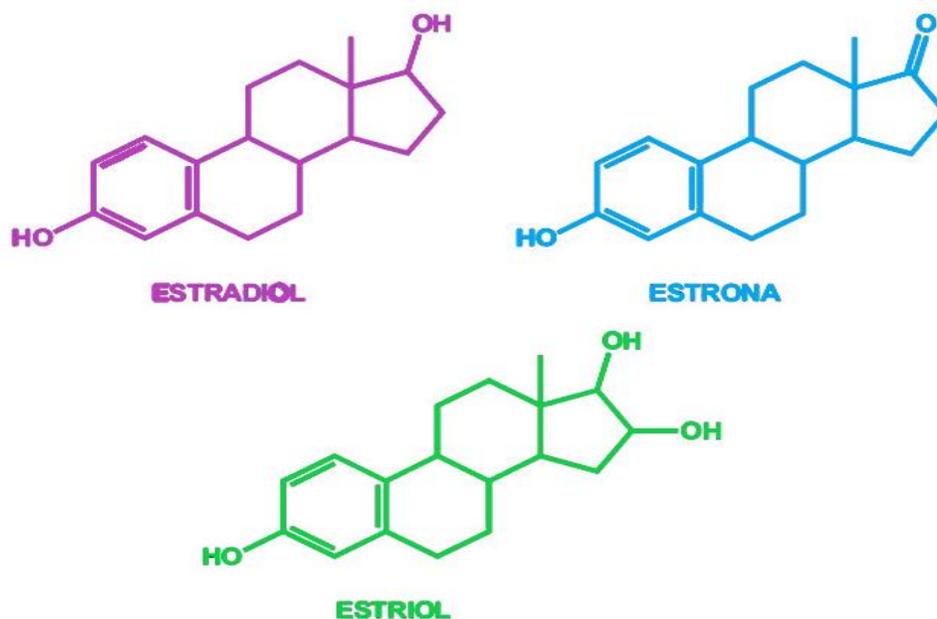


Figura 1. Estructura del estradiol, estriol y estrona. Modificado de Espinoza JL, 2013⁵

La producción de estrógenos se observa en la figura 2, la hormona leutenizante estimula la producción de androstenediona a partir del colesterol en las células de la teca. Este andrógeno se transporta a las células de la granulosa, donde se convierte en estrona. Simultáneamente, la hormona foliculo estimulante (FHS) estimula las células de la granulosa del ovario para su síntesis, la cual surge a partir de andrógenos a través de la enzima aromatasas, esta hormona promueve la conversión de estrona en 17 β -estradiol en los ovarios⁴.

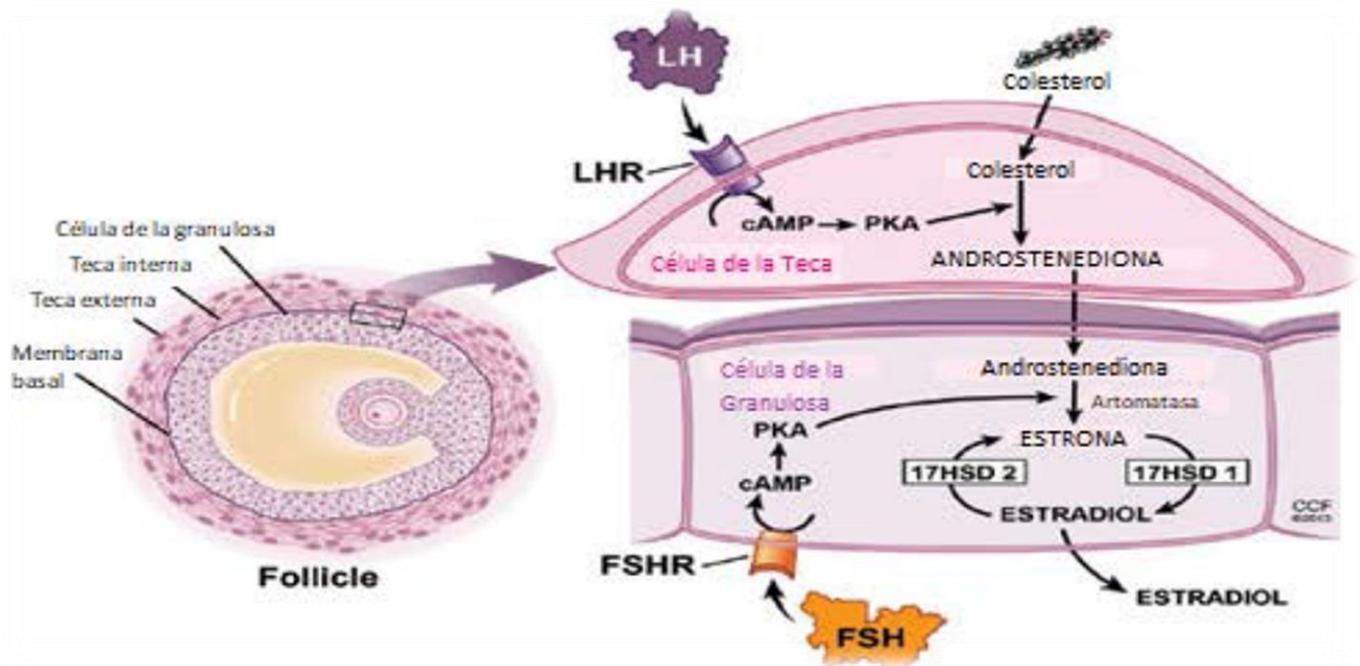


Figura 2. Teoría de dos células de la producción de estrógenos. Modificado de Dosh SB, 2013⁴.

La producción de FSH se ve incrementada al disminuir la concentración de inhibina B secretada por los folículos a consecuencia de la pérdida de oocitos⁶. Este aumento produce una acelerada pérdida folicular de manera que el ovario es incapaz de responder a los niveles altos de la hormona dando como resultado un declive en la generación de estrógenos^{7,8}. La pérdida de la actividad folicular comienza gradualmente de 2 a 4 años antes del último periodo menstrual⁹.

Desde el inicio de la menopausia hasta su asentamiento, los procesos biológicos de la mujer son muy diversos, por lo que se vuelve conveniente el uso del criterio STRAW (*Stages of Reproductive Aging Workshop* por sus siglas en inglés) (Figura 3).

Etapa	-5	-4	-3	-2	-1	0	+1	+2
Terminología	Etapa reproductiva			Transición de la menopausia		Postmenopausia		
	Temprana	Pico	Tardía	Temprana	Tardía		Temprana	Tardía
Duración de la etapa	Variable			Variable		1 año	4 años	Vida restante
Ciclo menstrual	Variable a regular	Regular		Duración del ciclo (≥ 7 días diferentes de lo normal)	≥ 2 de ciclos saltados y un intermedio de amenorrea (≥ 60 días)	Amenorrea por 12 meses	Ninguno	
Hormona	Normal FSH		Aumento de FSH	Aumento de FSH			FSH estable	

Figura 3. Etapas del envejecimiento reproductivo normal en mujeres. Modificado de Nelson HD 2008¹⁰

El criterio STRAW es un modelo desarrollado para mostrar y describir las siete fases de los años reproductivos de la mujer. Esta clasificación se divide a su vez en tres etapas: etapa reproductiva, caracterizado por ciclos menstruales regulares; etapa de transición de la menopausia con ciclos menstruales variables y altos valores de FSH y por último, etapa de la postmenopausia, empezando con el último periodo menstrual y hasta el final de la vida¹⁰.

La etapa reproductiva es dividida entre las fases -5 (temprana), -4 (pico), y -3 (tardía), con una duración variable en las tres y ciclos menstruales variables y regulares. La hormona FSH se mantiene normal en las fases -5 y -4, mientras que en la fase -3 hay un aumento en la concentración de la hormona.

La transición de la menopausia, también conocida como peri menopausia, está clasificada en dos fases, -2 (temprana) y -1 (tardía). Al igual que en la etapa reproductiva, esta tiene una duración variable, pero presenta un aumento de la hormona folículo estimulante a lo largo de la misma. La duración del ciclo menstrual en la fase -2 es variable, pero hay una diferencia mayor o igual a 7 días entre cada ciclo menstrual. Para la fase -1, hay dos o más ausencias de periodo menstrual con intermedio de amenorrea de 60 días o más. La siguiente fase es la 0, que corresponden al fin del periodo menstrual (FPM). Es en esta etapa donde los cambios menstruales y los síntomas característicos son comúnmente reportados. Esta transición dura en promedio 3.8 años¹¹.

Posteriormente a la fase 0, se encuentra la última etapa que es la postmenopausia, comprendida también en dos fases +1 (temprana) y +2 (tardía). La hormona FSH se estabiliza en esta etapa. La fase +1 tiene una duración aproximada de 5 años, en esta etapa ya se presenta la amenorrea, confirmación de la menopausia. La fase +2 estará presente durante toda la vida restante de la mujer.

Debido a la disminución en la producción de estrógeno durante la menopausia, se presentan diferentes síntomas que afectan a la mujer, los cuales se muestran en la figura 4. Entre la sintomatología habitual de la menopausia se encuentran los síntomas vasomotores, como los bochornos y sudoraciones nocturnas, los cuales sufren un incremento sustancial en la frecuencia e intensidad durante el climaterio, afectando a un 65% de las mujeres. También se presentan trastornos del humor tales como depresión y ansiedad^{12,13} y hay un aumento en la masa corporal, pérdida de cabello, adelgazamiento de la piel, etc. En la post menopausia los principales problemas son la atrofia urogenital, cambios relacionados a disfunciones sexuales, enfermedades cardiovasculares, osteoporosis y problemas musculo-articulares¹⁴, aunado a esto el estrés oxidativo se ve aumentado en la mujer menopáusica pues los niveles de estradiol, el cual es un antioxidante natural, se ve disminuido, por consiguiente, la actividad oxidativa de las especies reactivas del oxígeno (ERO) aumentan¹⁵.

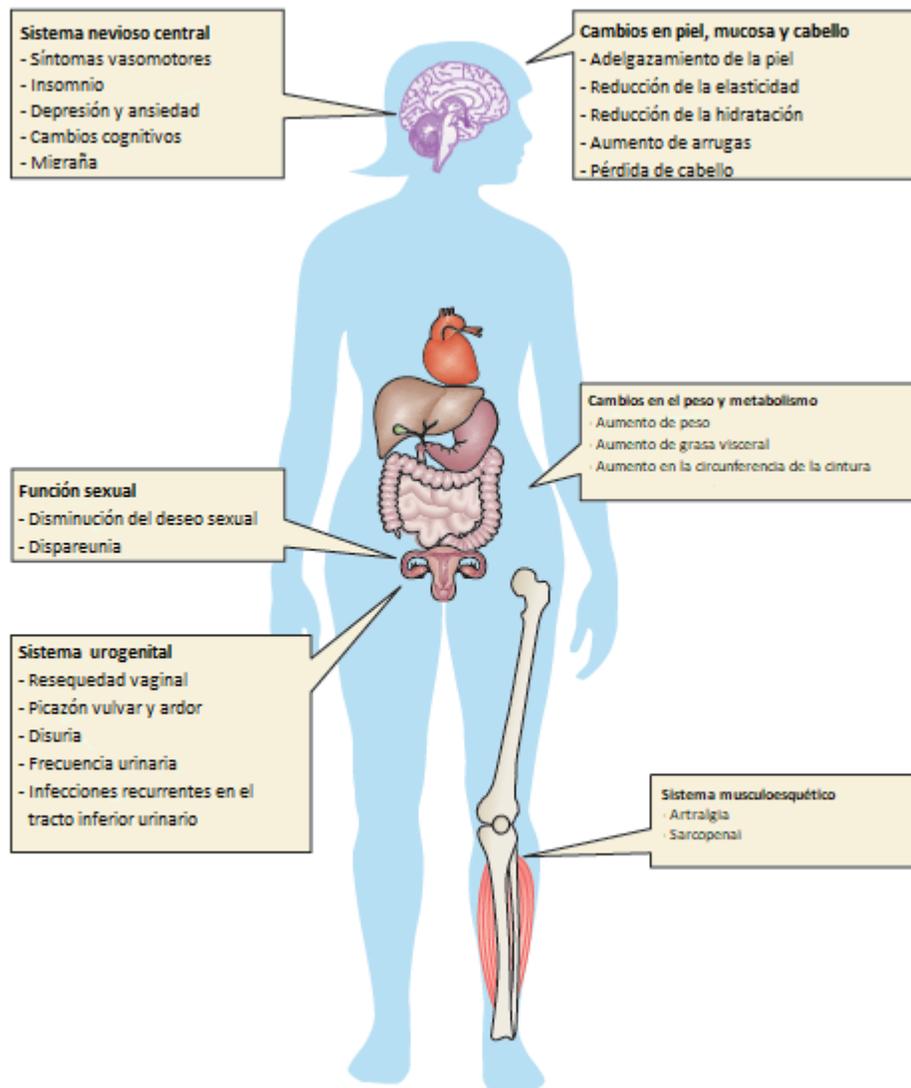


Figura. 4 Sintomatología de la menopausia. Modificado de Monteleone, 2018¹²

Por tal motivo uno de los tratamientos para esta sintomatología es la terapia hormonal, la cual no tiene un fármaco en específico, se pueden usar medicamentos como estrógenos y progesterona, moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM) o gonadomiméticos¹⁶. Además de ser la mejor opción terapéutica durante la menopausia, la terapia hormonal mejora los mecanismos de defensa de antioxidantes y disminuye los niveles de estrés oxidativo^{17,18}.

Estrés oxidativo

La definición del estrés oxidativo es el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas (ER) y radicales libres (RL) que provocan un daño oxidativo a las biomoléculas que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes¹⁹.

Un radical libre es cualquier especie química con uno o más electrones no apareados en el último orbital, capaz de reaccionar con múltiples biomoléculas a través de su oxidación²⁰. Un estado prooxidante se crea a través de los RL cuyo principal precursor es el oxígeno, molécula fundamental para la obtención de adenosin trifosfato (ATP), ya que su reducción genera intermediarios reactivos en una serie de reacciones que involucran cuatro electrones²¹.

La Figura 5 presenta a las tres especies reactivas de oxígeno (ERO); la primera es el anión superóxido (O_2^-) que posee un electrón desapareado, esta especie reactiva es la más abundante y común a nivel celular y es la primera en formarse en la primera reducción del oxígeno²². Al añadirle un segundo electrón, el producto será el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), un intermediario que reacciona fácilmente en presencia de metales de transición (principalmente el Fe_2^+), dando como resultado el radical hidroxilo (OH^\bullet), la tercera especie reactiva del oxígeno, la cual es la especie reactiva que provoca el mayor daño en el organismo. Este radical es también capaz de producir otras especies reactivas más débiles como los peróxilos (ROO^\bullet).^{20,22-24}

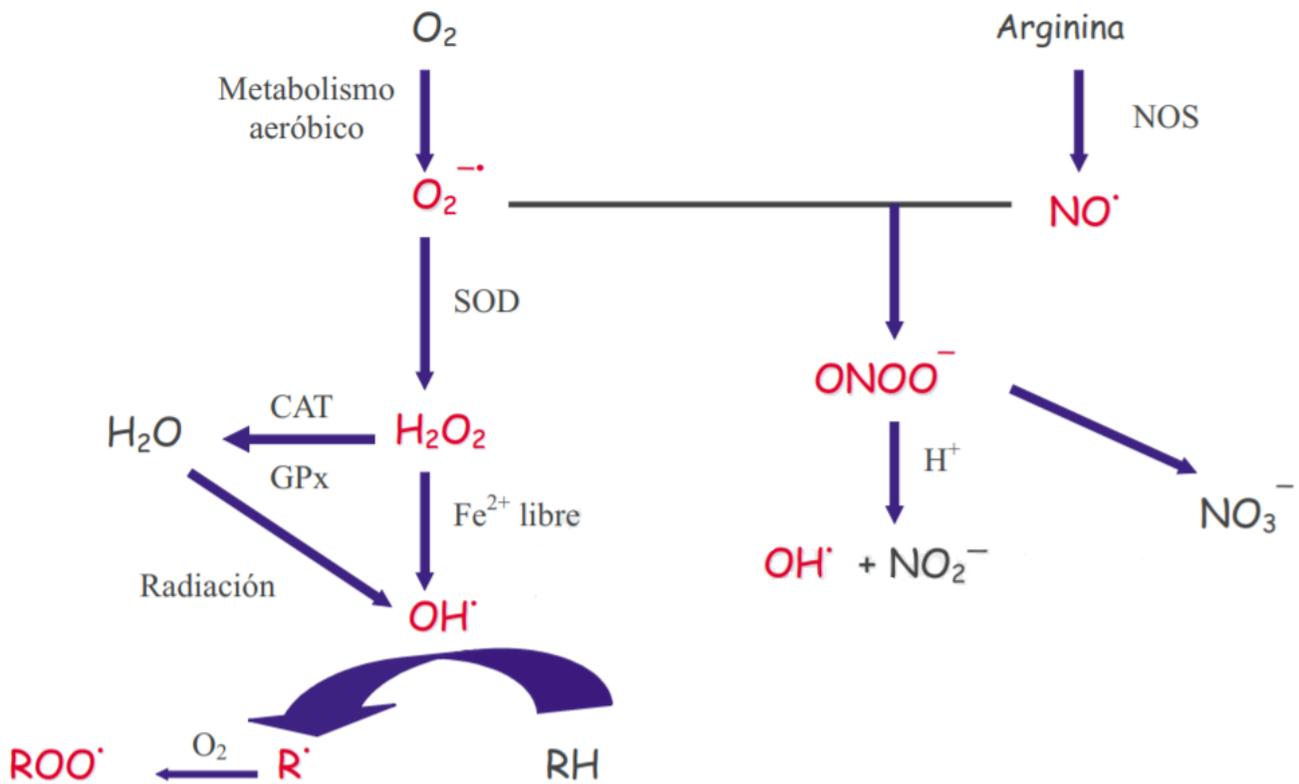


Figura 5. Formación intracelular de especies reactivas de oxígeno (EROs). Modificado de Sánchez-Rodríguez MA, 2004²⁴. O₂^{•-}: ión superóxido; OH•: radical hidroxilo; R•: radical peroxi, ROO•: radical peroxilo; NO•: óxido nítrico; NOO⁻: peroxinitrilo; SOD: superóxido dismutasa; CAT: catalasa; GPx: glutatión peroxidasa; NOS: óxido nítrico sintetasa.

Aparte de las especies reactivas del oxígeno, hay otras moléculas que también producen radicales libres, tal es el nitrógeno, que forma dos óxidos: el óxido nítrico (NO•) y dióxido nítrico (NO₂•), mejor conocidos como especies reactivas del nitrógeno (ERNs)²⁴. Al combinarse con las especies reactivas del oxígeno, aumentan el daño oxidativo en el cuerpo.

Los radicales libres provenientes de las especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno se producen de manera endógena, sin embargo, factores externos también favorecen la formación de estas moléculas dañinas, tales son el sedentarismo, alimentación, medicamentos, radiación, ingesta de cafeína, ejercicio extremo, enfermedades, tabaquismo, contaminación, entre otros²².

El estrés oxidativo presenta diversos efectos negativos entre los que destacan las alteraciones oxidativas acumuladas en el colágeno, la elastina y el ADN, la ruptura de mucopolisacáridos mediante la degradación oxidativa y ataque a biomoléculas, poniendo de ejemplo a los lípidos en un proceso denominado lipoperoxidación o peroxidación lipídica^{25,26}. Los lipoperóxidos (LPO) formados de esta oxidación pueden reaccionar con los centros nucleofílicos de la célula, o unirse a los ácidos nucleicos (ADN y ARN) dando un resultado de citotoxicidad, mutagénesis o carcinogénesis, por mencionar algunos^{27,28}. Estas alteraciones celulares son los precursores para el desarrollo de diversas patologías, poniendo de ejemplo la enfermedad de Parkinson, artritis reumatoide, Alzheimer, entre otros²². En el caso específico de la mujer, el estrés oxidativo se acentúa debido a la disminución de estrógenos como parte del proceso menopáusico, generando un estado pro-oxidante en el cuerpo de la mujer^{29,30}.

Para contrarrestar este efecto, el cuerpo cuenta con antioxidantes naturales que son moléculas que retardan o previenen la oxidación de lípidos, proteínas, hidratos de carbono, ADN, entre otros^{31,32} (ver figura 6). Los estrógenos son unos de estos protectores ya que poseen un anillo fenol el cual puede actuar como un barrido de radicales libres y, a su vez, permite donar un átomo H^+ , intervenir en diferentes etapas de la oxidación lipídica e incluso se ha mostrado una disminución de lesiones inducidas por radicales libres en cadenas de ADN³³. Otra actividad antioxidante de los estrógenos es atribuida a su capacidad de aumentar los niveles de estradiol, el cual es un antioxidante de las ERO³⁴. Además, se ha demostrado una relación inversamente proporcional entre los niveles de estrógenos y de estrés oxidativo, es decir, a menor nivel de estrógenos, mayor evidencia de lesión oxidativa³⁵.

Entre los distintos antioxidantes naturales con los que cuenta el organismo, los estrógenos no son los únicos capaces de cumplir con la función antioxidante. Existen además, otras sustancias que llevan a cabo la misma función tales como la enzima superóxido dismutasa (SOD), la cual cataliza la dismutación del radical superóxido para formar peróxido de hidrógeno, el cual es menos reactivo y puede ser degradado por otras enzimas como la catalasa y la glutatión peroxidasa (GPx), esta selenoproteína se encarga de la reducción de hidroperóxidos intracelulares, peróxido de hidrógeno y grandes moléculas de peróxidos lipídicos; por último esta la enzima catalasa (CAT), la cual es una hemoproteína catalizadora de la reacción de reducción del peróxido de hidrógeno y la glutatión, que dona un equivalente de reducción ($H^+ + e^-$) a moléculas inestables, tales como especies oxigenadas reactivas^{36,22}. Las glicoproteínas transferrina y lactoferrina se encargan de reaccionar con los metales de transición para evitar que estos reaccionen con el peróxido de hidrógeno y a su vez generen radicales hidroxilos. La bilirrubina también presenta una actividad antioxidante al inhibir la peroxidación lipídica junto con la los tocoferoles o mejor conocidos como vitamina E^{37,38}.

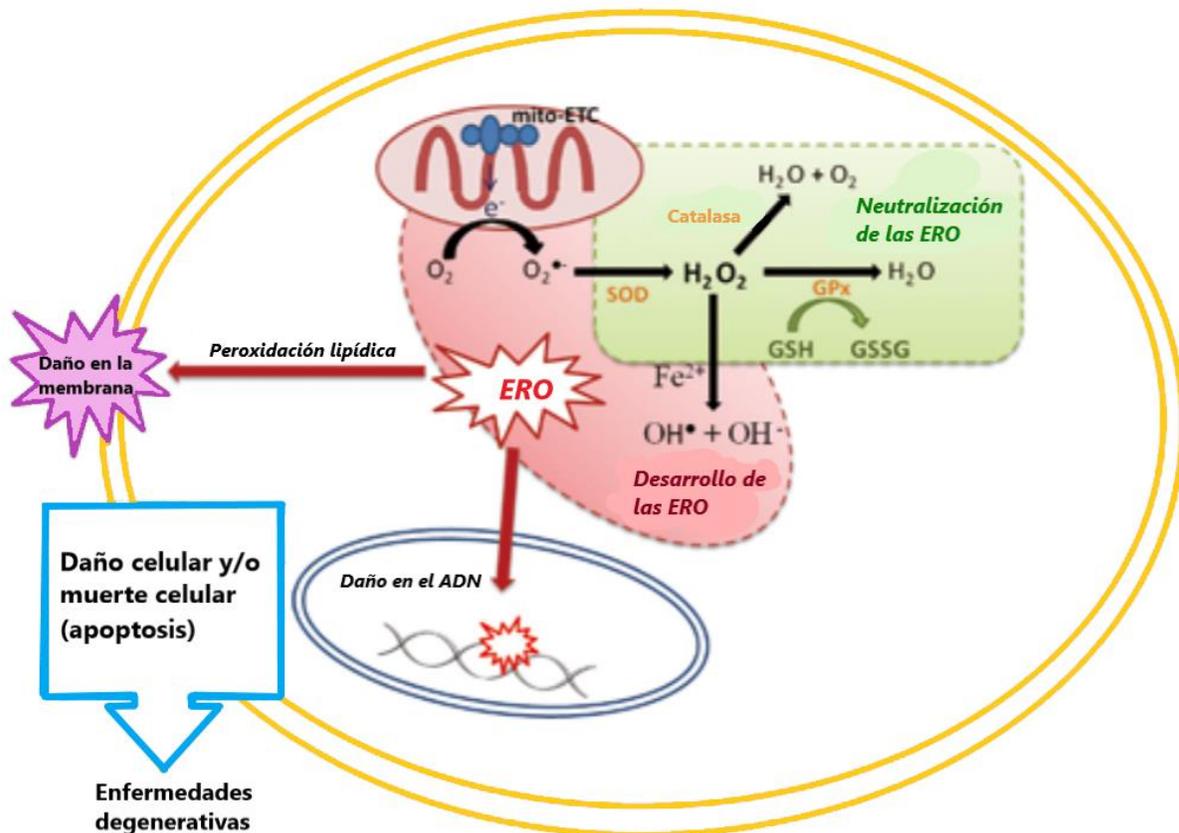


Figura. 6. Desarrollo y neutralización de las especies reactivas del oxígeno en la célula. Modificado de Othman B, 2015³⁹. Mito-ETV: cadena transportadora de electrones mitocondrial; SOD: superóxido dismutasa; GPx: glutatión peroxidasa; GSH: glutatión reducido; GSSG: glutatión disulfuro

Depresión y Ansiedad

La depresión es un trastorno mental que se caracteriza por la presencia de tristeza, pérdida de interés o placer, sentimientos de culpa o falta de autoestima, trastorno del sueño o del apetito, sensación de cansancio o falta de concentración, Irritabilidad e inquietud y pensamientos negativos^{40,41}. Este trastorno se clasifica en Trastorno depresivo mayor, mejor conocido como depresión y Trastorno depresivo persistente o distimia. El trastorno depresivo mayor es diagnosticado cuando el paciente presenta 5 síntomas o más de los anteriormente mencionados durante al menos dos semanas y uno de ellos debe ser la pérdida de interés o placer. El trastorno depresión persistente se caracteriza por una duración de más de dos años sin remisión de los síntomas depresivos que a menudo fluctúa por encima y por debajo del umbral del episodio depresivo mayor⁴¹⁻⁴³.

La causa exacta de los trastornos depresivos no es clara, sin embargo, se asocia a diferentes factores como la herencia, ya que hay un 50% de posibilidades de padecer depresión si un familiar directo sufrió este trastorno, personas que han tenido un episodio de depresión mayor en el pasado también tienden a presentar un riesgo mayor a sufrir otro episodio en el futuro. A su vez cambios en las concentraciones de neurotransmisiones como la noradrenalina y una depleción en la serotonina y dopamina también se han asociado a trastornos depresivos⁴¹⁻⁴³.

La depresión es un problema que afecta al 12% de población mundial, siendo las mujeres más afectas con respecto a los hombres, en una relación de 2:1⁴⁴. Actualmente, este trastorno ocupa el cuarto sitio entre las diez causas de morbilidad a nivel mundial⁴⁴, así mismo, se ha observado un aumento de trastorno depresivo recurrente en las mujeres entre los 30-49 años, dando un aumento sustancial entre los 50-59, edades que corresponden al inicio de la menopausia⁴⁵. En México se ha observado que la depresión produce mayor discapacidad que enfermedades crónicas como la diabetes, artritis o enfermedades cardíacas y se ha identificado que es la principal causa de pérdida de años de vida ajustados por discapacidad para las mujeres⁴⁶.

Por otro lado, la ansiedad se define como un sentimiento desagradable y de temor anticipando un daño o peligro donde frecuentemente se desconoce la amenaza^{47,48,50,51}. Entre los trastornos mentales más comunes, los trastornos de ansiedad son los que tienen más prevalencia, estimándose que un 28.8% de la población mexicana lo padecerá en alguna etapa de su vida. Al igual que los trastornos depresivos, las mujeres son más susceptibles a padecer estos trastornos en comparación con los hombres en un 50%. Los trastornos de ansiedad se caracterizan por la presencia de preocupación, miedo o temor excesivo, tensión o activación que provoca un malestar notable o un deterioro clínicamente significativo de la actividad del individuo^{51,52}.

Los trastornos de ansiedad se dividen en: trastorno de ansiedad por separación, fobia específica, trastorno de ansiedad social (fobia social), trastorno de pánico (TP), agorafobia, trastorno de ansiedad generalizada (TAG), trastorno de ansiedad inducido por sustancias/medicamentos y trastorno de ansiedad debido a otra afección médica. Específicamente en las mujeres, el trastorno de ansiedad generalizada y el trastorno de pánico son los más comunes⁵¹⁻⁵³. Entre los síntomas comunes de la ansiedad están: tensión muscular, inquietud, fatiga, dificultad de concentración, irritabilidad e insomnio^{51,53}. La etiología de la ansiedad está relacionada con los niveles elevados de los metabolitos de la norepinefrina y la baja concentración de serotonina aunado a la disminución de los receptores de benzodiazepinas^{51,54}.

En la mujer menopáusica estos trastornos del humor son el resultado de diversos factores tanto físicos como psicosociales y socioeconómicos^{48,55} aunado a la propia sintomatología de la menopausia, ya que durante esta etapa se presentan síntomas como bochornos e insomnio, los cuales propician

trastornos del sueño que, a su vez, impacta sobre los trastornos del humor en un fenómeno conocido como efecto dominó^{56,57}. Otro factor importante que resaltar es que debido a los bajos niveles de estrógenos, hormona cuya concentración disminuye notablemente durante la menopausia, provoca una disminución en las concentraciones de endorfina, dopamina, norepinefrina y serotonina^{58,57}, aumentando las probabilidades de padecer depresión y/o ansiedad.

En la figura 7 se observa la relación entre el estradiol y la serotonina. La 5-hidroxitriptamina (5-HT) o mejor conocida como serotonina, estimula a los receptores 5-HT_{2A}R, que a su vez aumentan la actividad de la aromatasa, enzima fundamental en la síntesis de estrógenos. El 17 β -estradiol aumenta la producción de la enzima triptófano hidroxilasa (TPH), la cual participa en la síntesis de la 5-hidroxitriptamina. Al mismo tiempo, el 17 β -estradiol inhibe al transportador de serotonina (SERT), cuya función es transportar la serotonina de los espacios sinápticos al interior de la célula^{59,60}.

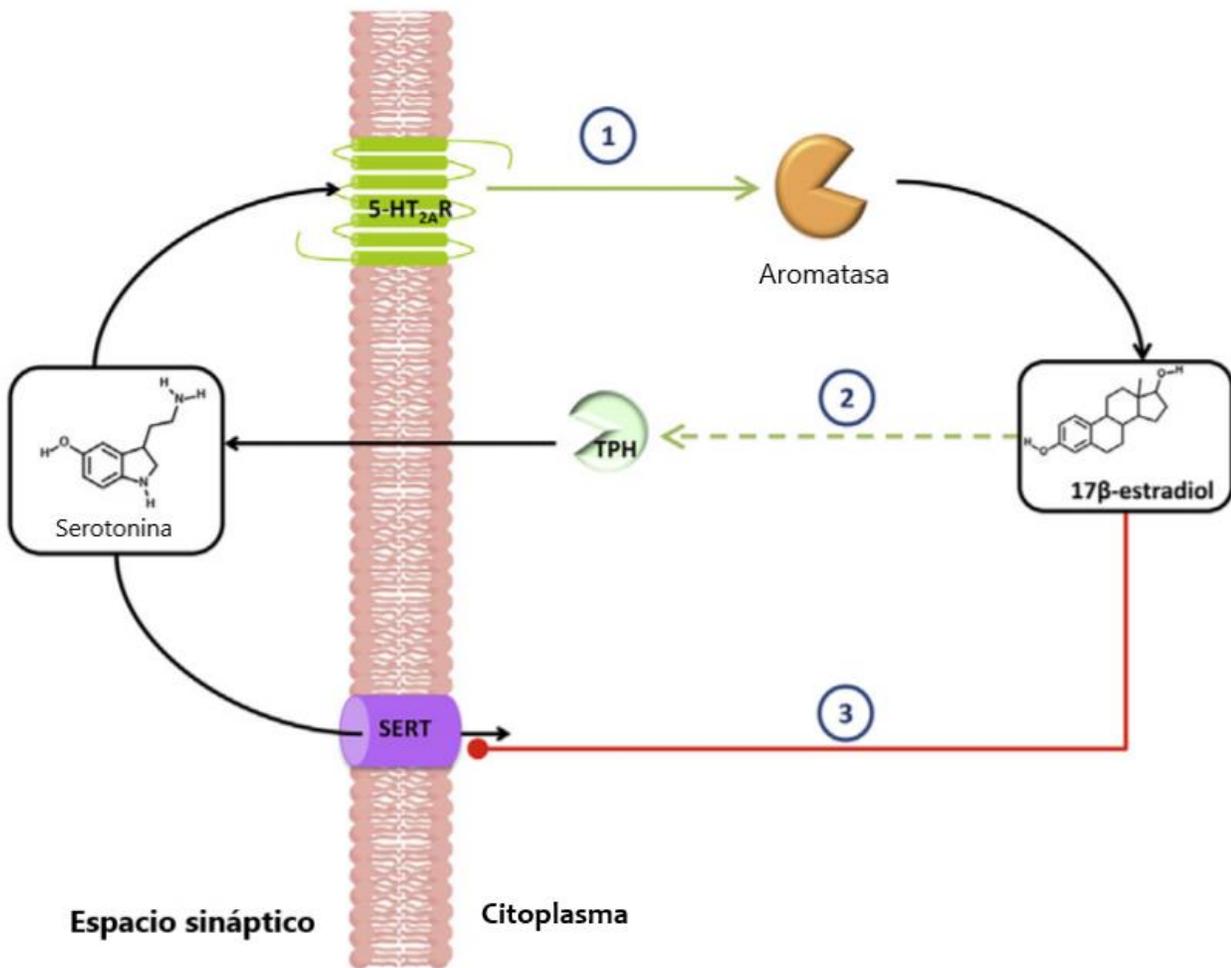


Figura 7. Interacción entre serotonina y estradiol. Modificado de Hudon Thibeault, 2019⁵⁹.

Debido a la gran cantidad de consumo de oxígeno (aproximadamente un 20% del total), la alta demanda energética, la disposición de metales de transición y su composición rica en ácidos grasos poliinsaturados y lípidos, el cerebro es muy susceptible al estrés oxidativo. Diversos estudios han demostrado que los pacientes con trastornos de ansiedad y depresión poseen un desbalance entre las defensas antioxidantes y la producción de las EROs, lo que resulta en estrés oxidativo^{56,61-63}, tal como se observa en la figura (8). Este desbalance se puede deber a la baja concentración de ácidos grasos omega-3, debido a que los lípidos son las biomoléculas más afectadas durante el estrés oxidativo, propiciando un desbalance en los mecanismos antioxidantes del cuerpo⁶⁴ y ocasionando un daño en el funcionamiento de las vías de neurotransmisores y el deterioro de las neuronas⁶¹⁻⁶³.

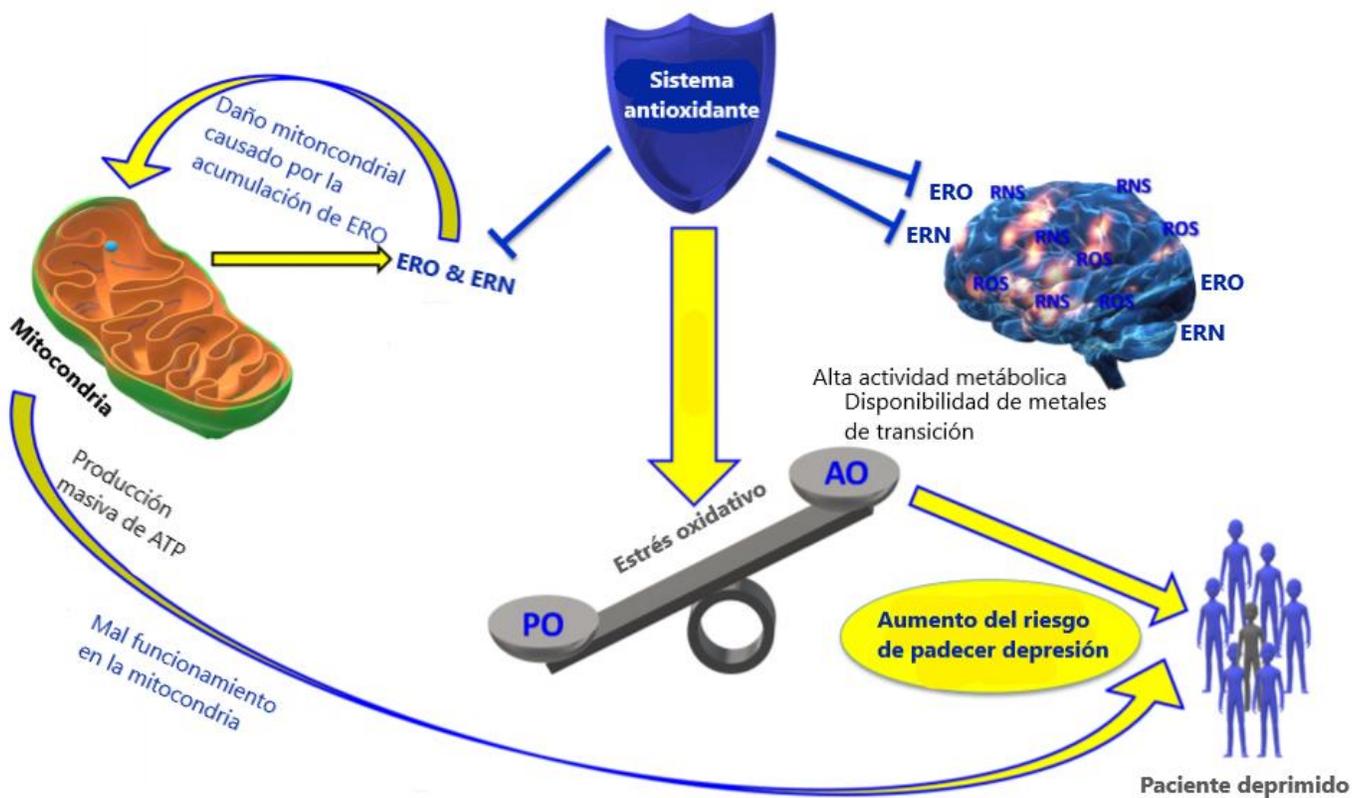


Figura 8 Relación del estrés oxidativo y trastornos del humor. Modificado de Caruso, 2019⁶⁵. ERO: especies reactivas del oxígeno; ERN: especies reactivas del nitrógeno. AO: antioxidantes; PO: pro oxidantes

Uno del instrumento para medir estas patologías, es la Escala de Autoevaluación para de la depresión de Zung (SDS) y Escala de autoevaluación para la ansiedad de Zung (ASI), las cuales fueron diseñadas por W. W. Zung para evaluar el nivel de depresión y ansiedad respectivamente.⁶⁶.

Estas herramientas se auto administran para valorar el estado de depresión o ansiedad del paciente mediante el llenado de una encuesta de 20 preguntas. La escala indica las cuatro características más comunes de estos trastornos; el efecto dominante, los equivalentes fisiológicos, otras perturbaciones y las actividades psicomotoras⁶⁶.

Entre los reactivos se encuentran diez preguntas elaboradas de forma positiva y diez de forma negativa, los cuales se evalúa en una escala de 1-4, donde 1 es el valor mínimo y 4 es el máximo. El resultado final se obtiene de la suma de puntos acumulados en un rango de 20-80, cuya interpretación se da de la siguiente manera:

Puntos obtenidos	Interpretación
25-49	Rango normal
50-59	Ligeramente deprimido / Ansiedad leve
60-69	Moderadamente deprimido / Ansiedad moderada
70 o más	Severamente deprimido / Ansiedad severa

Terapia de hormonal con estrógenos y tibolona

La terapia de hormonal (TH) se ha propuesto para tratar la sintomatología propia de la menopausia, ya que su uso se ha asociado con una mejoría en la arterosclerosis⁶⁷, disminución de la presión sanguínea y las lipoproteínas de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés), tratamiento para síntomas vasomotores⁶⁸, atrofia genital y prevención de la osteoporosis^{68,69}, además mejora los mecanismos de defensa de antioxidantes y disminuye los niveles de estrés oxidativo^{17,18,70}.

El tratamiento hormonal más conocido es con estrógenos, solos o combinados. Si la mujer esta histerectomizada, puede tomar estrógenos solos, pero si tiene útero se deben de combinar con progestágenos para disminuir el riesgo de padecer cáncer de endometrio. Como cualquier tratamiento, el uso de estrógenos, presentan efectos adversos como: cáncer endometrio, trombosis venosa profunda, embolia pulmonar, accidente cerebrovascular, cáncer de mama y enfermedad vesicular^{71,72,73}.

Otras alternativas a los estrógenos son los moduladores selectivos del receptor de estrógeno (SERM), los cuales son capaces de proteger el útero sin la necesidad de un progestano, y los estranos⁷⁴, entre los que se encuentra la tibolona, la cual es también clasificada como un regulador selectivo de la actividad estrogénica del tejido (STEAR por sus siglas en inglés)⁷⁵.

La tibolona es un derivado de la noretisterona y tiene actividad gonadomimética, pues presenta efectos parecidos a la de las hormonas gonadales: los estrógenos, progestágenos y andrógenos^{16,71}, gracias a sus metabolitos: 3 α -hydroxy-tibolona (3 α -OH-tibolona), 3 β -hydroxy-tibolona (3 β -OH-tibolona) y la isoforma de Δ^4 -tibolona (Δ^4 -tibolona)⁷⁶, los cuales se pueden observar en la figura 9. Los primeros dos metabolitos de la tibolona, tienen una alta afinidad por los receptores del estrógeno (ER), mientras que el último la tiene por los receptores adrenérgicos (AR) y los receptores progestágenos (PR)^{75,77}.

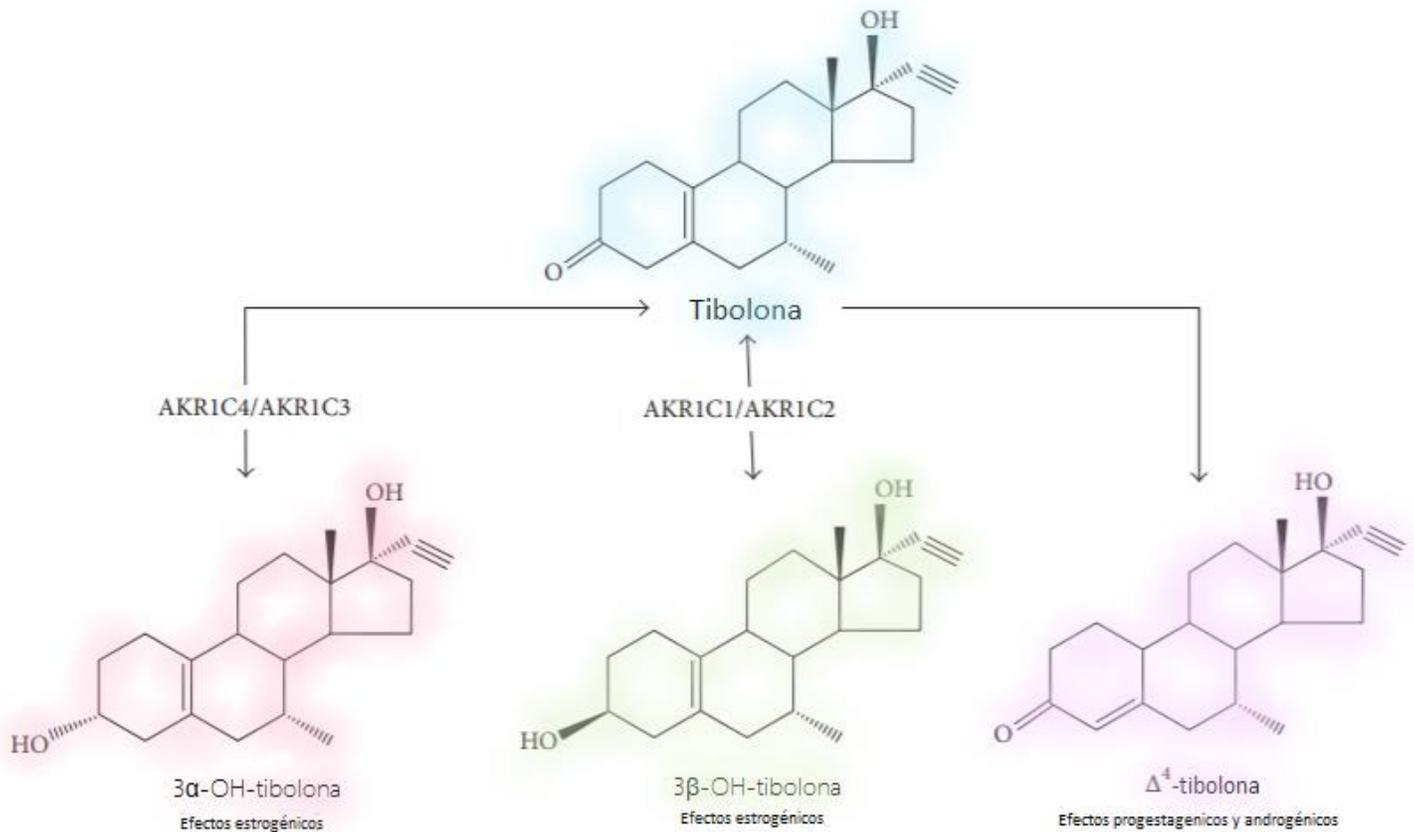


Figura 9. Estructura química de la tibolona y sus metabolitos. Modificada de Pinto-Almazán, 2017⁷⁶. AKR1C#: aldo-ceto reductasa familia 1, miembro #.

Debido a que la 3 α -OH-TIB y la 3 β -OH-TIB tienen una alta afinidad sobre los receptores de estradiol, diversos estudios han arrojado evidencia de estos metabolitos sobre el mejoramiento del estrés oxidativo y los trastornos del humor^{71,76,79}. Estos estudios, que se realizaron en ratas, demostraron que la tibolona aumenta la capacidad antioxidante en la corteza cerebral y en el hipocampo^{76,78} e incluso se encontró evidencia de que estos metabolitos reducen la peroxidación lipídica, también en el hipocampo. A sí mismo, la tibolona podría presentar un efecto benéfico sobre

los trastornos del humor, pues se ha observado un incremento en la concentración de β -endorfina⁷⁹ y de triptófano hidroxilasa, sugiriendo también un efecto en la modulación de los sistemas colinérgicos y serotoninérgicos^{76,81}, los efectos de los metabolitos de la tibolona en el cerebro se pueden observar en la figura 10.

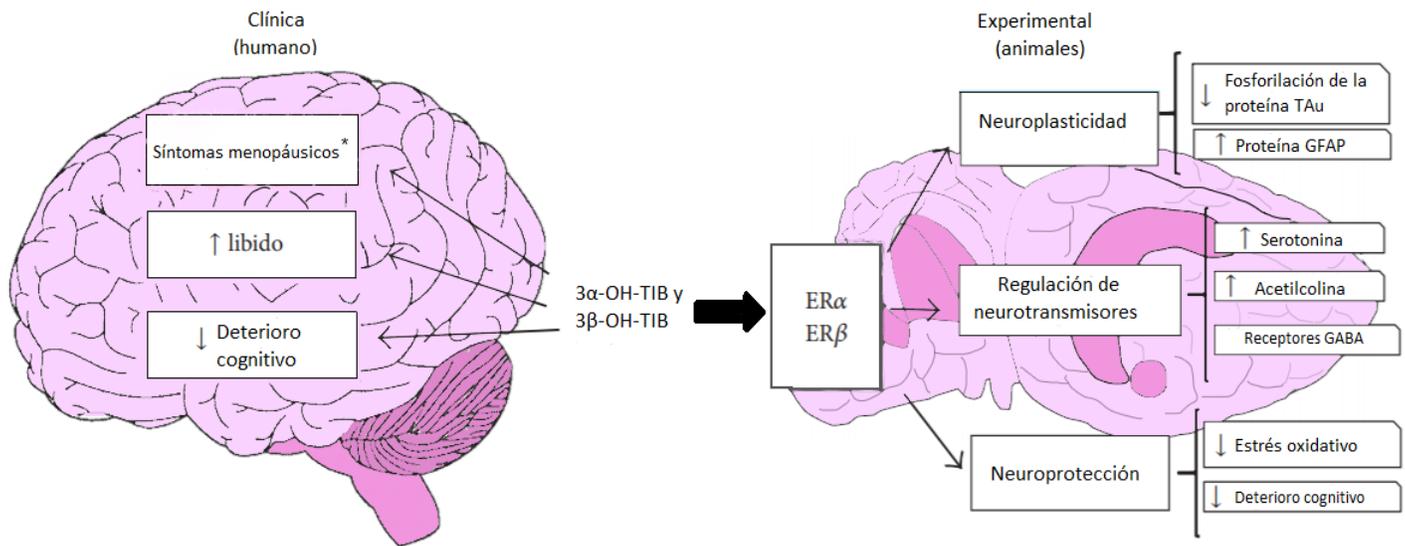


Figura 10. Enfoques clínicos y experimentales de tibolona en el sistema nervioso central. Modificado de Pinto-Almazán, et al 2017⁷⁶. * Síntomas menopáusicos: síntomas vasomotores, estado de ánimo y bienestar; ↑: aumento; ↓: disminución; ER α : receptores de estrógenos alfa; ER β : receptores de estrógenos beta; GFAP: proteína ácida fibrilar glial; GABA: ácido γ -aminobutírico.

Aparte de su efecto benéfico sobre el estrés oxidativo y los trastornos del humor, la tibolona favorece la preservación de la densidad mineral ósea, participa en la disminución de los síntomas vasomotores, reduce el nivel de triglicéridos y colesterol, aumenta el libido y lubricación vaginal^{71,77,79}. Adicionalmente esta hormona sintética no tiene actividad estrogénica en los tejidos mamarios ni endometrio, lo cual la hace una excelente opción para mujeres con historia clínica de endometriosis⁸². La dosis recomendada para su uso como terapia hormonal es de 2.5 mg/día, esta se absorbe en el intestino y alcanza su máxima concentración a las 4 horas de haberse ingerido. Es metabolizada en el hígado, eliminándose por la orina y heces. Su vida media de depuración es cercana a las 45 horas^{82,83}. Entre los eventos adverso más comunes está el incremento del apetito y del peso corporal, acné, cefalea, piel grasosa, engrosamiento del vello facial y aumento del riesgo de accidentes cerebrovasculares^{83,77}. Debido a esto último se debe de evitar su uso en mujeres con alto riesgo de padecer un accidente cerebrovascular, como hipertensión, fibrilación auricular y mujeres fumadoras⁷¹.

Para evitar el desarrollo de cáncer de mama y endometrial, la tibolona es una opción para tratar la sintomatología de la menopausia. Sin embargo, a pesar de todos los estudios que se han llevado a cabo sobre el uso de la tibolona en la terapia hormonal, la mayoría de estos se han enfocado en sus efectos benéficos sobre la preservación de la densidad mineral ósea, dejando de lado otras patologías como la depresión y/o ansiedad y su impacto en el estrés oxidativo, enfermedades que poco a poco están tomando importancia a nivel mundial debido al impacto que tienen sobre los individuos. De esta manera, una investigación sobre el efecto que tiene la tibolona sobre los trastornos del humor y el estrés oxidativo resultaría de gran utilidad dado que este fármaco no sólo estaría ayudando en la sintomatología característica de la menopausia, sino también en el tratamiento de trastornos del humor, enfermedades que han sido relegadas en esta etapa de la mujer.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La menopausia es la etapa caracterizada por el cese permanente de la menstruación que no se puede atribuir a ninguna patología. La amenorrea es provocada por la pérdida de la actividad folicular en los ovarios y se ha demostrado que hay un declive en la producción de progesterona y estrógenos.

Ya que los estrógenos es un antioxidante natural y su disminución es muy marcada durante el inicio de la menopausia, se desencadenan diversos trastornos característicos de esta etapa como son bochornos, atrofia vaginal, aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares y frecuencia de síntomas vasomotores, osteoporosis, trastornos del humor como depresión y ansiedad, entre otros; así mismo, el estrés oxidativo aumenta debido al proceso posmenopáusico y la propia sintomatología.

Aunque la depresión y ansiedad no están directamente asociadas a la menopausia, si se ha determinado una cierta relación de estas patologías con los bochornos, factores psicosociales y trastornos del sueño; este fenómeno se le conoce como "efecto dominó". Aunado a la disminución de la serotonina durante esta etapa.

Para tratar estos síntomas, se ha propuesto la terapia hormonal, siendo el estradiol el fármaco más usado. Mujeres que se han sometido a esta terapéutica han reportado una mejoría en los síntomas asociados a la depresión y ansiedad, pero se reportan una serie de efectos adversos. Debido a ello, a pesar de todos los efectos positivos del estradiol, sólo o combinado, se han estado buscando otros fármacos para su sustitución, uno de éstos es la tibolona; este esteroide sintético presenta propiedades estrogénicas, androgénicas y progestágenas. La tibolona brinda los mismos efectos benéficos que la terapia con estradiol y aparte ofrece una protección en la pérdida de densidad ósea, el cáncer de

mama y posiblemente para el cáncer de colón, convirtiéndola en un medicamento cada vez más atractivo para su uso como terapia hormonal.

Estudios recientes, han demostrado que la tibolona produce un aumento en las concentraciones de β -endorfina y de triptófano hidroxilasa y una disminución en el estrés oxidativo; por lo tanto, podría servir como factor de protección para la depresión y la ansiedad, y también estaría otorgando un efecto antioxidante, sin embargo, aún no hay muchos estudios que sustenten esto, por lo tanto, surge la siguiente pregunta:

¿Hay un efecto benéfico de la terapia hormonal sobre el estrés oxidativo y los trastornos del humor asociados a la menopausia?

HIPÓTESIS

La evidencia científica confirma un aumento del estrés oxidativo durante la menopausia debido a la disminución del estradiol, un antioxidante natural, además de un incremento en los trastornos del humor en las mujeres posmenopáusicas. La tibolona parece ser un fármaco que contrarresta la sintomatología posmenopáusica y tal vez el estrés oxidativo; por tal motivo, el uso de la tibolona proveerá un efecto antioxidante gracias a sus propiedades estrogénicas, y a su vez mostrará un resultado benéfico en los trastornos del humor derivados de la menopausia.

OBJETIVOS

General

Determinar el efecto de la terapia con tibolona sobre el estrés oxidativo y los trastornos del humor en la postmenopausia.

Específicos

Determinar el efecto de la tibolona sobre el grado de estrés oxidativo en mujeres posmenopáusicas mediante la cuantificación de lipoperóxidos plasmáticos (LPO), superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y capacidad sérica antioxidante (CAT) después de 6 meses de tratamiento.

Evaluar el nivel de depresión y ansiedad de las mujeres posmenopáusicas con la escala de depresión de Zung (SDI) y la escala de ansiedad de Zung (SDS), antes y después de 6 meses de tratamiento con tibolona.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño experimental

Ensayo clínico controlado doble ciego

Tamaño de muestra

La muestra se calculó considerando que el 17 β -estradiol demostró una disminución de la depresión en un 68% de las mujeres posmenopáusicas⁸⁴.

$$\begin{aligned}\bar{p} &= \frac{(p_1+p_2)}{2} = \frac{(0.2+0.68)}{2} = 0.44 \\ \bar{q} &= 1-\bar{p} = 1-0.44 = 0.56 \\ d &= p_2 - p_1 = 0.68 - 0.2 = 0.48 \\ n &= \frac{2(Z_\alpha + Z_\beta)^2 \bar{p}\bar{q}}{d^2} = \frac{2(1.96 + 0.84)^2 (0.44)(0.56)}{(0.48)^2} = \frac{3.86}{0.23} = 17\end{aligned}$$

Donde

\bar{p} = Tamaño del efecto.

p_1 = Proporción de individuos en el mejor tratamiento que no se recuperan

p_2 = Proporción de individuos con el mejor tratamiento que se recuperan

d = Diferencia mínima esperada

n = Tamaño de muestra

Z_α = Valor crítico de α (1.96 al 95%)

Z_β = Valor crítico de β (0.84 al 20%)

Por precaución, el tamaño de muestra se aumentará en un 20% en caso de pérdidas

$$n = 17 \times 20\% = 3.4$$

$$n = 17 + 3.4 = 20.4$$

$$n = 20$$

En resumen, nuestro universo de estudio fue 20 mujeres posmenopáusicas por grupo, que cumplan con todos los criterios de inclusión.

Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

Inclusión

- Mujeres posmenopáusicas (45-60 años).
- Residencia dentro de la CDMX o área metropolitana.
- Que hayan firmado el consentimiento informado.

Exclusión

- Tener antecedentes o padecer de cualquier tipo de cáncer.
- Estar bajo cualquier tipo de terapia de reemplazo hormonal antes de empezar el estudio.
- Antecedentes de enfermedades cardiovasculares y/o cerebrovasculares.

Eliminación

- Desarrollo o sospecha de algún tipo de cáncer durante el estudio.
- Desarrollo de alguna reacción adversa que ponga en riesgo la vida de la participante.
- No haber tenido un adecuado apego al tratamiento, con la suspensión de la terapia de al menos un mes.
- Que no acuda al menos a una medición.

Variables

Independientes

- Terapia con tibolona

Dependientes

- Estrés oxidativo
- Trastornos del humor: Depresión y Ansiedad

Intervinientes

- Factores pro-oxidantes del estilo de vida: tabaquismo, ingesta de alcohol y café, insomnio y sedentarismo.

Operacionalización de las variables

Variables	Definición	Medición	Categorías
Terapia hormonal	Tratamiento farmacológico con tibolona 2.5 mg/día	Cualitativa nominal	Fármaco (tibolona) Placebo
Estrés oxidativo	Desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas (ER) y radicales libres (RL) que provocan un daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes ¹⁶ .	Cuantitativa continua Cualitativa nominal	LPO ($\mu\text{mol/L}$) SOD (U/gHb) GPx (U/gHb) CAT (mmol/L) LPO altos $\geq 0.320 \mu\text{mol/L}$ SOD baja $\leq 1.20 \text{ U/gHb}$ GPx baja $\leq 56.3 \text{ U/gHb}$ CAT $\leq 0.90 \text{ mmol/L}$
Depresión	Trastorno mental frecuente, que se caracteriza por la presencia de tristeza, pérdida de interés o placer, sentimientos de culpa o falta de autoestima, trastorno del sueño o del apetito, sensación de cansancio o falta de concentración ³⁴ .	Escala de depresión de Zung (SDI)	Cualitativa ordinal 25-49 Rango normal 50-59 Ligeramente deprimido 60-69 Moderadamente deprimido 70 o más. Severamente deprimido
Ansiedad	Término general para referirse a diversos síntomas caracterizando diferentes desordenes de ansiedad como desorden de pánico (súbita sensación de miedo sin ninguna razón), fobia social (temor a la sociedad o a situaciones de exposición) o ansiedad generalizada (excesivo e incontrolable preocupación e/o irritabilidad) ^{35,36} .	Escala de ansiedad de Zung (SDS)	Cualitativa ordinal 25-49. Rango normal 50-59. Ansiedad ligera 60-69. Ansiedad moderada 70 o más. Ansiedad severa

Factores pro-oxidantes del estilo de vida

Comportamientos con impacto de la salud, como lo son: tabaquismo, ingesta de alcohol y café, sedentarismo e insomnio.

Cualitativa nominal

Tabaquismo, positivo cuando se fuman más de dos cigarrillos al día.
Ingesta de alcohol positivo cuando se ingieren más de dos copas por día.
Ingesta de café, positivo cuando se ingieren más de dos tazas por día.
Insomnio positivo cuando las horas de sueño son menos de 6 por día
Sedentarismo, menos de 30 minutos/día de actividad física

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

Se hizo el reclutamiento de las señoras mediante la propagación de panfletos (Anexo 1) y difusión del estudio en redes sociales (WhatsApp y Facebook). En esta propaganda, se les animó a asistir a una charla informativa acerca del estudio y se les invitó a unirse a él. Se citaron a las posibles participantes y se les entregó el consentimiento informado (Anexo 2), se les aplicó el cuestionario de estilos de vida, climaterio, salud y polifarmacia (Anexo 3, 4 y 5). Así mismo se les hizo una toma de muestra sanguínea con tubos al vacío sin y con anticoagulante (EDTA y heparina) para la realización de biometría hemática (hemoglobina, hematocrito, leucocitos y eritrocitos), química sanguínea de 6 elementos (glucosa, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, proteínas de alta densidad y albúmina) y medidas de marcadores de estrés oxidativo.

Una vez evaluado el perfil de cada participante, se determinó si eran aptas para el estudio, se les asignó aleatoriamente al grupo de tratamiento: a) Tibolona 2.5 mg/día o b) placebo. Se les citó nuevamente y se les hizo entrega de su tratamiento (tibolona o placebo) según la aleatorización. En esta misma cita, se les aplicó los cuestionarios de las escalas de ansiedad de Zung (ASI) y de depresión de Zung (SDS) (Anexo 6 y 7), también se les tomaron medidas antropométricas peso y talla, además de la toma de la presión arterial. Todas las mujeres incluidas fueron sometidas a una mastografía bilateral y al estudio de Papanicolaou antes y después del tratamiento.

El seguimiento del tratamiento fue a los tres y seis meses, se les aplicaron de nuevo los cuestionarios, más uno breve sobre reacciones adversas; así mismo, se hicieron tomas de muestras sanguíneas, de medidas antropométricas y presión sanguínea. Las muestras sanguíneas fueron utilizadas para la determinación de las mismas pruebas que al inicio del estudio. Como marcadores de estrés oxidativo se midieron los niveles de lipoperóxidos plasmáticos (LPO), la actividad de las enzimas eritrocitarias superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx), además de la capacidad plasmática antioxidante total (CAT), aunado a ellos se calculó la razón SOD/ GPx. Para la cuantificación de lipoperóxidos se utilizó el malonaldehído (MDA). Para la cuantificación SOD, GPx y CAT, se utilizaron equipos comerciales (Randox Laboratories Ltd, UK).

SEGUIMIENTO DEL ESTUDIO

A las pláticas informativas se presentaron 146 voluntarias, de las cuales 95 no se contemplaron para el ensayo clínico debido a que 89 no cumplían con los criterios de inclusión mientras que otras 6 mujeres rechazaron participar en el estudio.

Al inicio del ensayo clínico, se contemplaron 51 participantes de las cuales, 27 serían tratadas con tibolona y 24 con placebo de acuerdo a la aleatorización (figura 5).

En el grupo de placebo un total de 6 participantes abandonaron el estudio, sólo una participante fue por cambio de residencia mientras que las participantes restantes dejaron de presentarse a las tomas de muestra, entrega de tratamiento y ya no contestaron las llamadas de seguimiento.

En cuanto al grupo de tibolona, fueron 9 voluntarias las que abandonaron el estudio, una señora desistió por razones laborales y reacciones adversas al tratamiento tales como somnolencia, mialgia, y debilidad, cinco participantes expresaron su desinterés por el estudio, dos voluntarias desistieron, una por una colecistectomía y la otra por no ver mejoría en su sintomatología, finalmente la última participante decidió no seguir participando por problemas en el esófago.

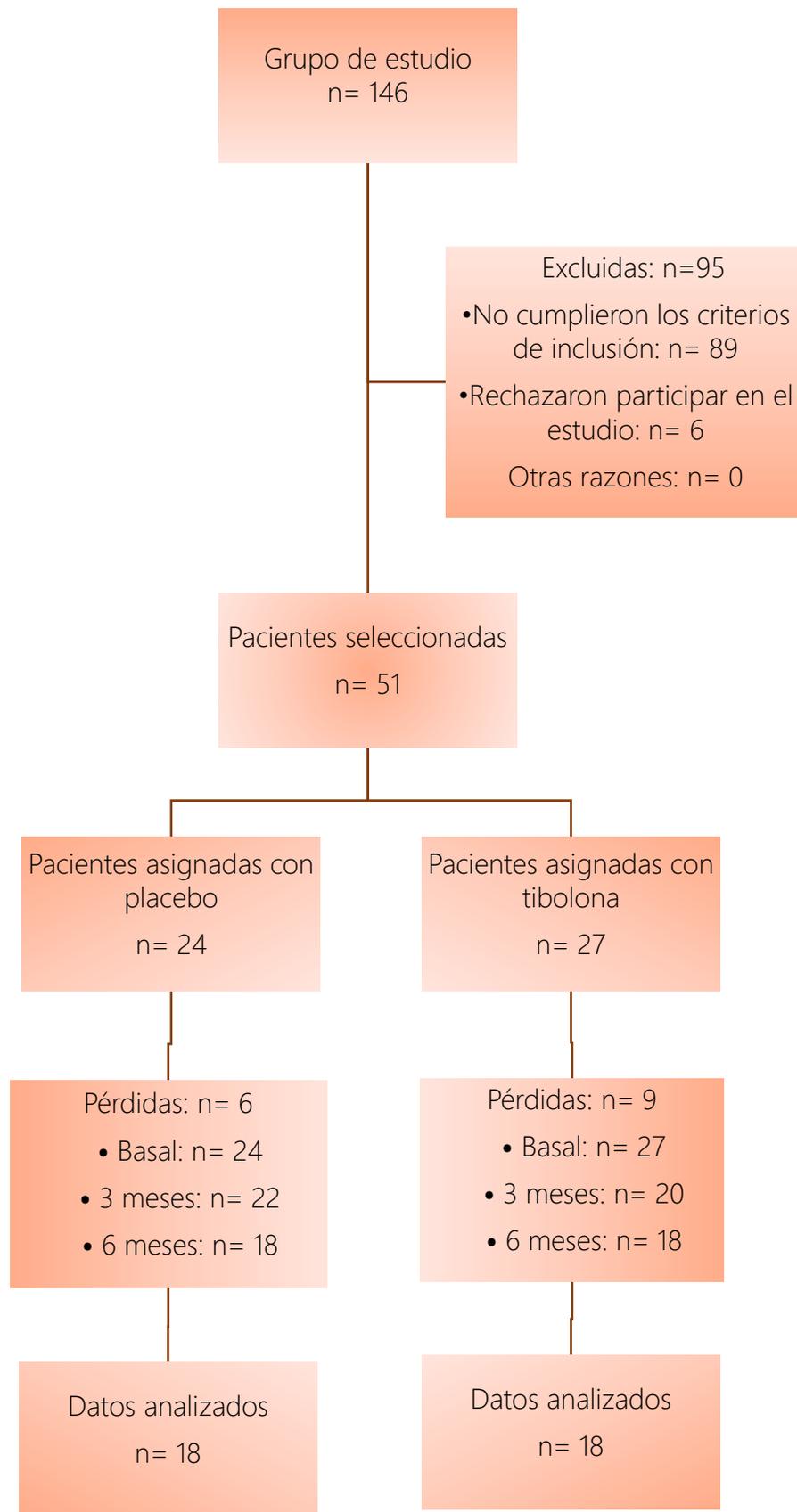


Figura 5. Seguimiento de las participantes en el ensayo clínico

TÉCNICAS

Lipoperóxidos (LPO)

Esta técnica utiliza el malonaldehído (MDA) como marcador de lipooxidación mediante una reacción con ácido tiobarbitúrico (TBA), el cual forma un pigmento de color rosa que se mide a 535 nm. La formación del complejo TBA-MDA por eliminación de oxígeno se ve favorecida por la adición de butiril-hidroxitolueno (BHT).

Muestra: la muestra utilizada fue plasma heparinizado, a la cual se le adicionaron 10 μL de BHT 2 mmol por cada mililitro de plasma para prevenir la auto-oxidación de la misma ya que esta no se realizó inmediatamente.

El método utilizado se basa en el análisis realizado por Jentsch en 1996 en relación al malondialdehído en fluidos corporales humanos.

Procedimiento:

- 1- Se descongelaron las muestras y se centrifugaron a 3000 rpm por 5 minutos.
- 2- Después se midieron 400 μL de plasma heparinizado y se agregaron 50 μL de BHT 112.6 mM y 400 μL de ácido ortofosfórico 0.2 mol/L consecutivamente, se mezclaron y se agitaron en vórtex por 10 segundos.
- 3- Se adicionaron 50 μL de TBA 0.11 mol/L, se mezclaron y se agitaron en vórtex por 10 segundos.
- 4- Los tubos se taparon y se dejaron las muestras en baño de agua a 90 °C por 45 minutos.
- 5- Se enfriaron los tubos y se agregó a cada uno 1200 μL de butanol (BuOH) y 100 μL de solución saturada de cloruro de sodio (NaCl).
- 6- En seguida se mezclaron las sustancias que tenían los tubos y estos se agitaron en vórtex por 10 segundos para posteriormente centrifugarse a 5000 rpm por 2 minutos.
- 7- Se extrajo el sobrenadante de cada tubo y se leyó contra blanco de butanol a 536 nm y 572 nm para la corrección de lectura por presencia de aductos coloridos que se formaron durante la reacción. Al final se calculó la diferencia.
- 8- El delta de absorción se determinó sustrayendo la lectura obtenida a 572 nm de la lectura de 535 nm.
- 9- La concentración de lipoperóxidos se calculó al interpolar en la curva estándar construida cantidades crecientes de la sustancia patrón que es el 1,1,3,3-tetrametoxipropeno (TMP).

Curva de calibración

Para realizar la curva de calibración se prepararon las siguientes soluciones a partir de la sustancia patrón que es el 1,1,3,3-tetrametoxipropeno (TMP).

- 1- TMP 1 mM: Se diluyeron 17 μL de TMP en 100 ml de agua destilada (solución madre preparada en función del peso molecular del TMP).
- 2- TMP 0.2 mM: Se tomó 1 mL de TMP 1 mM y se le añadió 4 mL de agua bidestilada.
- 3- Se prepararon ocho tubos de concentraciones crecientes como se muestra en la siguiente tabla:

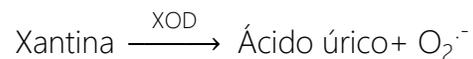
Tubo	TMP (μL)	H ₂ O (mL)	MDA ($\mu\text{mol/L}$)
1	0	1.000	0
2	5	0.995	0.2
3	10	0.990	0.4
4	20	0.980	0.8
5	30	0.970	1.2
6	50	0.950	2.2
7	70	0.930	2.8
8	100	0.900	4.0

- 4- Se midieron 400 μL de cada estándar, 50 μL de BHT 12.6 mM y 400 μL de ácido ortofosfórico 0.2 mol/L consecutivamente, se mezclaron las sustancias y se agitaron los tubos en vórtex por 10 segundos.
- 5- Después se adicionaron 50 μL de TBA 0.11 mol/L, se mezclaron y se agitaron los tubos en vórtex por otros 10 segundos.
- 6- Se taparon los tubos y posteriormente se colocaron en baño de agua a 90 °C por 45 minutos.
- 7- Los tubos se enfriaron y se les agregó a cada uno 1200 μL de butanol y 100 μL de solución saturada de cloruro de sodio.
- 8- Los tubos se agitaron en vórtex por 10 segundos mas para posteriormente centrifugarlos a 5000 rpm por 2 minutos.
- 9- Se extrajo el sobrenadante y se leyó contra blanco de butanol a 535 nm y a 572 nm para hacer la corrección de lectura por presencia de aductos coloridos que se formaron durante la reacción y se calculó la diferencia.

- 10- Se calculó el delta de absorción sustrayendo la lectura obtenida a 572 nm de la lectura de 535 nm.
- 11- Se construyó la curva de concentración vs delta de absorbancia
- 12- Se interpolaron los deltas de absorbancia de las muestras para obtener la concentración de lipoperóxidos en $\mu\text{mol/L}$.

Superóxido dismutasa (SOD)

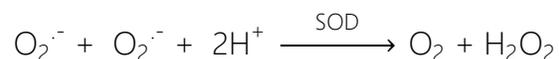
Para la cuantificación de la actividad de SOD. Para esta prueba se empleó el equipo comercial RANSOD su peróxido dismutasa (Randox Laboratories Ltd, UKK). Esta técnica se basa en el uso de xantina y xantina oxidasa (XOD) para formar radicales superóxido.



Los radicales superóxido formados reaccionan con cloruro de 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolio (I.N.T.) para formar un colorante formarán rojo.



Se mide la actividad de la superóxido dismutasa por el grado de inhibición de la reacción:



Procedimiento:

- 1- Se tomaron 500 μL de muestra de sangre total y se lavaron los eritrocitos 3 veces con 3 mL de solución de cloruro de sodio al 0.9%, inmediatamente se centrifugaron los tubos durante 10 minutos a 3000 rpm después de cada lavada.

- 2- Enseguida se adicionaron 2 mL de agua bidestilada fría al botón de eritrocitos obtenido en la centrifugación, se mezcló y se dejaron reposar los tubos durante 15 minutos a 4 °C.
- 3- Se tomaron 100 µL del lisado y estos se diluyeron con 1.9 mL del tampón fosfato 0.01 mmol/L pH 7.0.
- 4- El espectro se puso a cero utilizando como blanco la solución amortiguadora de fosfatos, y se encendió la unidad de temperatura anexa al espectro, se ajustó a 37 °C dado que fue una reacción enzimática. Se realizaron las lecturas a 505 nm.
- 5- Se pipeteó 0.03 mL de la muestra diluida y esta se colocó a baño de agua a 37 °C, se adicionó 1 mL de sustrato mixto previamente colocado en el baño a 37 °C (xantina 0.05 mol/L, I.N.T. 0.025 mmol/L, solución preparada), al final se mezcló todo.
- 6- Inmediatamente se agregaron 0.15 mL de xantina oxidasa a 37°C (xantina oxidasa 0.94 mmol/L) y simultáneamente se inició el cronómetro. Se mezclaron las sustancias del tubo y se registró la absorbancia A_1 al cabo de 30 segundos y se leyó la absorbancia final A_2 transcurridos 3 minutos más.
- 7- El delta se calculó restando la absorbancia A_1 y A_2 y se dividió entre tres para obtener la actividad por minuto.
- 8- Se repitieron los pasos 5 al 7, utilizando como muestra 0.030 mL de agua destilada para obtener el blanco, se hizo por duplicado y se calculó el promedio.
- 9- El porcentaje de inhibición se determinó realizando el siguiente cálculo:

$$100 - \left(\frac{\Delta / (\text{min muestra} * 100)}{\Delta / (\text{min blanco})} \right) = \% \text{ de inhibición}$$

- 10- Se repitieron las muestras cuyo porcentaje de inhibición estuvo fuera del rango de 30 al 60 %
- 11- Para obtener la actividad de la SOD en U/mL, se extrapolaron los porcentajes de inhibición en la siguiente ecuación de la recta de calibración:

$$\text{Actividad de la enzima} = 1.21 + ((0.01) (\% \text{ de inhibición})) * 100$$

- 12- Finalmente, para obtener la actividad de SOD en U/g Hb se realizó el siguiente cálculo:

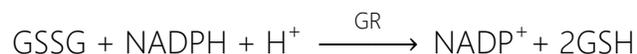
$$\text{SOD U/gHb} = \frac{(\text{SOD U/mL} \div \text{Hb})}{10}$$

Glutación peroxidasa (GPx)

Este método se basa en el trabajo de Plagia y Valentine. La glutación peroxidasa cataliza la oxidación del Glutación (GSH) por el hidroperóxido de cumeno. Para la cuantificación de la activada de glutación peroxidasa se utilizó el estuche comercial de Randox, Ransel glutation peroxidase.



El glutación oxidado (GSSG) en presencia de glutación reductasa (GR) y NADPH es inmediatamente convertido en su forma reducida en una oxidación concomitante de NADPH en NADP⁺. Se mide la disminución de la absorbancia a 340 nm.



Procedimiento

- 1- Se diluyeron 0.05 mL de sangre heparinizada en 1 mL de solución diluyente.
- 2- Inmediatamente se incubaron las muestras durante 5 minutos para posteriormente añadir 1 mL de reactivo de Drabkin a doble concentración. Una vez añadido este reactivo, se analizaron las muestras en los siguientes 20 minutos, no debió de pasar más tiempo.
- 3- Se puso a cero el espectro usando agua en ambas celdas, se encendió la unidad anexa y se ajustó a 37°C. Se leyó la reacción a 340 nm contra blanco de agua. El espectro estuvo ajustado a una temperatura de 37 °C por ser una reacción enzimática.
- 4- Para el ensayo, se colocaron 0.02 mL de la muestra diluida en baño de agua a 37°C y se agregó 1 mL de reactivo de trabajo (glutación 4 mmol/L, glutación reductasa ≥ 0.5 U/L y NADPH 0.34 mmol/L) que debió ser puesto previamente a baño de agua a 37°C, se mezclaron ambas sustancias.
- 5- Después se agregaron 0.04 mL del reactivo de cumeno (hidroperóxido de cumeno 0.18 mmol/L), perfectamente agitado y previamente colocado a 37 °C en baño de

agua. Simultáneamente, se cronometró y registró la absorbancia de A1 trascurrido 1 minuto A2 trascurrido 2 minutos y A3 a los 3 minutos.

6- Se midieron 0.02 mL de agua como blancos y se siguieron los pasos 3 y 4.

7- Los deltas de absorbancia de muestras blancos se calcularon de la siguiente manera:

$$\Delta = A1 - A3$$

8- Se promediaron los deltas de los blancos y se restaron del Delta de las muestras:

$$\Delta_{\text{muestra}} - \Delta_{\text{blanco}}$$

9- La actividad de la enzima se calculó de la siguiente forma: se multiplicó la diferencia de los deltas por 8412 (para hacer ajuste de unidades) y por 41 (factor de dilución).

Capacidad sérica antioxidante (CAT)

El análisis del estado de los antioxidantes totales, se trata de una prueba en donde se combinan la peroxidasa (metamioglobina) con peróxido de hidrógeno y ABTS (2,2'azido-di etilbenzotiazolin sulfonato) para dar como resultado la formación del radical catión ABTS+. Este radical presenta una coloración verde azulada, la presencia de antioxidantes en la muestra produce una supresión de esta coloración, siendo ésta proporcional a la concentración de antioxidantes. La muestra es plasma heparinizado, la cual se puede almacenar congelada a una temperatura de 2 a 8 °C por un máximo de 14 días. Para la determinación de la capacidad antioxidante total se empleó el estuche comercial Total antioxidant status, Randox Laboratories Ltd.

Procedimiento

- 1- Se midió la reacción a 600 nm, contra blanco de agua a 37 °C y se ajustó la unidad anexa al espectro a esta misma temperatura.
- 2- Después se pipetearon 20 µL de plasma en un tubo de ensayo y se colocó en baño de agua a 37°C.
- 3- Se adicionó 1 mL de cromógeno previamente puesto a 37 °C.
- 4- En seguida se mezcló y pasó a la celda. Se registró la lectura de la absorbancia inicial A1.
- 5- Se adicionaron 200 µL de sustrato y simultáneamente se cronometró, mezclo y leyó la absorbancia A2 al cabo de exactamente tres minutos.

- 6- Después se midieron 20µL de agua como blanco y se siguieron los pasos 3 a 5, este procedimiento se hizo por duplicado.
- 7- Se tomaron 20 µL del estándar y se siguieron los pasos 3 a 5. También se hizo por duplicado.
- 8- El delta de absorbancia se calculó de la siguiente manera:

$$A2 - A1$$

- 9- A si mismo se calculó el factor como se muestra a continuación:

$$\text{Factor} = \frac{\text{concentración del estándar}}{\text{Delta del blanco-Delta del estándar}}$$

- 10- Al final se calculó la concentración de antioxidantes en mmol/L con la siguiente formula

$$\text{mmol/L} = \text{Factor} * (\text{Delta del blanco-Delta de la muestra})$$

- 11- Se repitieron las muestras con valores menores a 0.5 o mayores a 1.5 mmol/L.

DISEÑO ESTADÍSTICO

Para describir las variables cuantitativas, se utilizó la media y desviación estándar y para las cualitativas la medición fue con frecuencias y porcentajes. Para demostrar la homogeneidad de los grupos, se analizaron las variables cuantitativas con t-Student y las cualitativas con χ^2 . Para poder evaluar los resultados de estrés oxidativo, depresión y ansiedad obtenidos en las diferentes tomas de muestra realizadas a los cero, tres y seis meses, se utilizaron las pruebas de t-pareada y McNemar. Se realizó una ANOVA de medidas repetidas para el análisis total de los datos. El valor $p < 0.05$ se consideró como estadísticamente significativo en todas las pruebas.

ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

El presente ensayo clínico se apegó a las normas éticas, al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación y a la Declaración de Helsinki, 64° Asamblea General, octubre 2013.

Para participar en este estudio, las participantes firmaron un consentimiento informado (Anexo 2) donde se les explico sobre el proyecto, los posibles eventos adversos y se les notifico que eran libres de dejarlo cuando quisieran. Las voluntarias que llevaron el tratamiento de tibolona tuvieron una mejoría en la sintomatología de la menopausia, un posible aumento en su defensa antioxidante y en los trastornos del humor.

Toda la información personal de las participantes se mantuvo confidencial a través de una codificación numérica.

RESULTADOS

En el cuadro 1 están plasmados los resultados de los cálculos de la media y desviación estándar de los parámetros hematológicos y bioquímicos, así como porcentajes de los factores pro oxidantes. Se puede observar que casi todos los parámetros se encuentran dentro de los márgenes establecidos. En cuanto a los factores pro oxidantes, la ingesta de café, sedentarismo e insomnio son en los que se observa mayor prevalencia, siendo la ingesta superior a dos tazas de café al día el factor que más se presenta. En cuanto a la prevalencia de las alteraciones del humor en la población general al inicio del estudio, sólo el 13% de las voluntarias presentaban ansiedad y 11% depresión.

Cuadro 1. Descripción de los parámetros hematológicos, bioquímicos y factores pro oxidantes estratificados por tratamiento antes de iniciar el estudio

Variable	Placebo (n=18)	Tibolona (n= 18)
Edad (años)	54±5	51±4
Glucosa (mg/dL)	91±11	88±15
Colesterol (mg/dL)	205±37	190±55
Triglicéridos (mg/dL)	131±90	183±117
HDL (mg/dL)	47±11	40±12
Albúmina (g/dL)	4.4±0.21	4.4±0.25
Hemoglobina (g/dL)	13.4±2.04	13.9±1.4
Hematocrito (%)	41.2±5.01	43±4.5
Leucocitos (Cel/mm ³)	5400±1393	5700±995
Eritrocitos (Cel/mm ³)	4.6±0.42	4.7±0.52
CMHG (%)	32±1.9	33±1.4
Tabaquismo (> 2 cigarros/ día)	2(11.8%)	1(5.6%)
Ingesta de café (> 2 tazas/ día)	10(58.8%)	13(72.2%)
Ingesta de alcohol (> 2 copas/ día)	0(0%)	1(5.6%)
Sedentarismo (< 30 minutos / día)	8(47.1%)	9(50%)
Insomnio (< 6 horas de sueño/ día)	5(29.4%)	7(38.9%)

Para las variables cuantitativas se muestra la media y desviación estándar, para las variables cualitativas frecuencias y porcentajes. HDL: Lipoproteína de alta densidad, CMHG: Concentración de hemoglobina corpuscular

Para el análisis de los marcadores oxidativos se compararon las medias en diferentes tiempos (basal, 3 y 6 meses) estratificado por grupo de estudio (cuadro 2). En estos resultados se encontró disminución estadísticamente significativa en la medida de la capacidad antioxidante total del grupo placebo, no así en el grupo tibolona. También se puede observar que a pesar de que no hubo diferencia en el nivel de lipoperóxidos y la actividad de SOD y GPx, si se observó disminución a través del tiempo, siendo más notable en los lipoperóxidos en el grupo de tibolona con un aumento en el placebo, donde se pudo observar una clara diferencia entre ambos grupos.

Cuadro 2. Medias y desviación estándar de los marcadores de estrés oxidativo estratificados por tratamiento en los tiempos basal, 3 y 6 meses.

Variable	Placebo (n=18)			Tibolona (n=18)		
	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses
Lipoperóxidos ($\mu\text{mol/L}$)	0.306 \pm 0.08	0.322 \pm 0.06	0.337 \pm 0.07	0.311 \pm 0.07	0.294 \pm 0.05	0.286 \pm 0.07
SOD (U/gHb)	1.34 \pm 0.23	1.27 \pm 0.22	1.27 \pm 0.16	1.18 \pm 0.15	1.13 \pm 0.08	1.13 \pm 0.09
GPx (U/gHb)	69.2 \pm 24.46	63.9 \pm 27.24	68.6 \pm 29.34	63.6 \pm 26.48	69.15 \pm 21.41	61.6 \pm 23.81
Capacidad antioxidante total (mmol/L)	1.01 \pm 0.29	1.07 \pm 0.16	0.97 \pm 0.15*	0.95 \pm 0.19	1.20 \pm 0.25	1.08 \pm 0.16

ANOVA de medidas repetidas ($p < 0.001$) respecto al tiempo y entre tratamiento. t pareada, capacidad antioxidante total en placebo tres meses vs 6 meses $p^* < 0.0001$.

En el cuadro 3 se pueden observar los porcentajes de cada medida a diferentes tiempos de cada grupo. Tal como en cuadro 2, se observó una disminución en la proporción de mujeres con la capacidad antioxidante total baja estadísticamente significativa en el grupo placebo a los tres meses comparada con la basal, la cual regresa al valor original a los 6 meses. También fue posible observar una disminución de los porcentajes a través del tiempo en el marcador de lipoperóxidos altos en el mes tres del grupo tibolona.

Cuadro 3. Frecuencias y porcentajes de los marcadores de estrés oxidativo estratificado por tratamiento a los tiempos basal, 3 y 6 meses.

Variable	Placebo (n=18)			Tibolona (n=18)		
	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses
Lipoperóxidos ($\geq 0.320 \mu\text{mol/L}$)	8(44.4%)	9(50%)	10(58.8%)	8(44.4%)	4(22.2%)	6(33.3%)
SOD (≤ 1.20 U/gHb)	7(38.9%)	9(50%)	8(44.4%)	11(64.7%)	15(83.3%)	13(72.2%)
GPx (≤ 56.3 U/gHb)	6(33.3%)	6(35.3%)	7(38.9%)	7(38.9%)	7(41.2%)	8(44.4%)
Capacidad antioxidante total (≤ 0.90 mmol/L)	7(38.9%)	3(16.7%) [‡]	5(35.7%)	5(29.4%)	1(5.6%)	2(16.7%)

McNemar, $p < 0.05$, LPO, CAT, GPx y AT respecto al tiempo y entre tratamiento, Chi cuadrada $p^{\ddagger} p < 0.05$ AT placebo 3 meses vs tratamiento 3 meses.

Con relación al efecto de los tratamientos sobre los trastornos del humor, se observó que la media de la puntuación en la escala de depresión disminuyó en las mujeres con placebo ($p < 0.0001$) y en el grupo que consumió tibolona la disminución no es estadísticamente significativa (Cuadro 4).

Cuadro 4. Medias y desviación estándar de las escalas de ansiedad y depresión de Zung estratificada por tratamiento en los tiempos basal, 3 y 6 meses.

Variable	Placebo (n= 18)			Tibolona (n=18)		
	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses
Escala de ansiedad de Zung (puntos)	40±15	36±10	38±10	33±8	31±6	31±6
Escala de depresión de Zung (puntos)	38±12	31±10	32±10	29±6	26±7	26±5

ANOVA de medidas repetidas. Escala de ansiedad y depresión de Zung respecto a diferentes tiempos estratificado entre tratamiento.

DISCUSIÓN

Como se mencionó previamente, el proceso menopáusico y posmenopáusico provoca en el organismo de la mujer muchos cambios no sólo a nivel fisiológico, sino también psicológicos entre los que encontramos la depresión y la ansiedad⁵⁶, trastornos que afectan su calidad de vida. Por tal motivo el uso de la terapia hormonal se ha recomendado para contrarrestar los efectos negativos que estos causan en esta etapa. La terapia más usada es con estrógenos, sin embargo, los eventos adversos que se presentan durante su uso ocasionan que el apego terapéutico no sea óptimo además de que algunas voluntarias se rehúsan a iniciarla. Debido a estas razones se han lanzado al mercado otras alternativas como es la tibolona, una molécula sintética que presenta efectos estrogénicos, progestágenicos y androgénicos con una menor prevalencia de eventos adversos^{71, 77}

Debido a que la terapia con estrógenos es la más habituada para el tratamiento de los síntomas de la menopausia, los estudios sobre esta hormona son mayores que los de la tibolona. Dentro de éstos, se ha comprobado que los estrógenos tienen una capacidad antioxidante, sin embargo, no se tiene la certeza si la tibolona presenta este mismo beneficio, en consecuencia, el presente trabajo pretendió observar si la terapia con esta hormona sintética mejora los trastornos del humor y el estrés oxidativo en la postmenopausia.

Los trastornos del humor se han asociado fuertemente durante la transición de la menopausia, la peri menopausia^{85,86} ya que aquí es donde más se han documentado la prevalencia de estas alteraciones⁸⁷ en adición de que estos trastornos son la principal razón por la cual las mujeres buscan tratamiento durante la peri menopausia⁸⁸. Durante el estudio, la prevalencia de estas alteraciones fue muy baja, posiblemente porque las participantes ya se encontraban en la postmenopausia y se ha propuesto que estos trastornos pueden llegar a ser transitorios⁸⁹. A lo largo del estudio se observó una disminución de las participantes con ansiedad en ambos grupos a los meses 3 y 6 comparados con el tiempo basal, sin embargo, dichos resultados no son estadísticamente significativos. En diversas investigaciones los síntomas de la ansiedad se han asociado con la frecuencia e intensidad de los bochornos²⁹, sin olvidar que todas las mujeres presentan diferentes síntomas con diferente frecuencia y gravedad. Aunado a esto, la ansiedad en mujeres postmenopáusicas también se ha asociado con factores sociales tales como bajo ingreso económico, un nivel de estudios por debajo de licenciatura, etc⁹⁰. Debido a los factores antes mencionados se podría explicar la disminución de ansiedad en el grupo placebo. En cuanto al grupo tratado con tibolona los resultados se asemejan a los arrojados por Gulseren⁹¹, donde encontró una mejoría en cuanto a la ansiedad en el grupo de tibolona. Es importante mencionar que la población de estudio que presentaba ansiedad no era lo suficientemente grande para poder llevar una adecuada evaluación estadística para determinar si hubo relación entre esta alteración con el estrés oxidativo en el grupo de tratamiento.

En el caso de depresión, se presentó el mismo problema que para la ansiedad, ya que no hubo suficientes participantes en el grupo de tratamiento para llevar a cabo un análisis estadístico y poder evaluar la relación del estrés oxidativo y esta alteración. Sin embargo, se encontró una disminución de la prevalencia de depresión en ambos grupos a lo largo del estudio. Para explicar esta disminución en el grupo placebo, hay que recordar que la depresión, al igual que la ansiedad, es el resultado de diversos factores psicosociales y socioeconómicos^{48, 55}, donde los síntomas propios de la menopausia, bochornos e insomnio también juegan un papel importante; por consiguiente, si uno o más de estos factores es tratado es posible lograr una mejoría. En conjunto con lo antes mencionado se encuentra el efecto placebo, cuya acción se evidencio en estudios como el de Kirsch y Sapirste^{91,92}, cuyo resultado fue una mejoría significativa en los síntomas de depresión de la población de estudio tratada con placebo. Para el grupo de participantes que tomó tibolona, hubo una mejoría en el trastorno depresivo, este resultado se asemeja a los de los estudios realizados por Basku y Kulkami^{92, 93}, donde le administraron a un grupo aleatorizado de 22 mujeres, 2.5 mg/día de tibolona por 12 semanas. La mejoría de esta sintomatología se pudo haber dado gracias al interacción que tienen los metabolitos 3α -OH-TIB y la 3β -OH-TIB sobre los ER_{α} y ER_{β} , los cuales se presume aumentan la secreción de β -endorfina y de triptófano hidroxilasa, precursor de la serotonina^{76,81,94}.

En cuanto a los marcadores oxidativos, se observó que los lipoperóxidos aumentan a través del tiempo en el grupo placebo y disminuyen con el de tratamiento de tibolona, sin embargo, esta última

disminución no fue estadísticamente significativa. Con relación a la capacidad antioxidante total, al tercer mes hubo un aumento en ambos grupos, pero fue mayor en el grupo del tratamiento y a los seis meses volvió a disminuir, siendo más evidente en el grupo con placebo. El aumento de la capacidad antioxidante se podría deber a diversos factores ya que es un parámetro que evalúa cómo se encuentra el conjunto de la respuesta antioxidante en el organismo^{49,95}, la posterior disminución en el grupo placebo indica posiblemente una falta de respuesta al proceso anti oxidativo⁴⁹, y al mantenerse en el grupo de tibolona se evidencia una probable actividad antioxidante. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Bednarek⁹⁶, donde se observaron niveles menores de lipoperóxidos y mayores de la capacidad antioxidante total en un grupo de mujeres postmenopáusicas con tratamiento hormonal, lo cual indica que hubo un aumento en el proceso anti oxidativo. Estos resultados se obtuvieron con tratamiento de estrógenos, sin embargo, un estudio realizado por Vural⁹⁷ demostró también una disminución de lipoperóxidos en mujeres postmenopáusicas tratadas con 2.5 mg/día de tibolona por seis meses.

Respecto a los valores de glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa se encontró aumento constante en los valores de esta última enzima a lo largo de los seis meses en el grupo de tratamiento, evidenciando una posible respuesta antioxidante en el organismo, estos resultados se asemejan a los obtenidos por Unfer⁵³, resaltando el hecho de que en el grupo placebo no hubo aumento de SOD sino disminución constante. Aunque GPx y SOD sean enzimas antioxidantes, la enzima glutatión peroxidasa es una enzima dependiente de selenio⁹⁹, sin embargo no se encontró reportes sobre la relación entre esta enzima y la tibolona.

Aunque no hubo un valor estadísticamente significativo en el grupo de tratamiento para los marcadores de estrés oxidativo, se puede inferir una respuesta anti oxidante ligada al uso de tibolona, puesto que hay una disminución del nivel de lipoperóxidos y un aumento en la actividad de la SOD en las mujeres sometidas a este tratamiento contrarrestando con el grupo placebo control. Es importante resaltar la disminución estadísticamente significativa de la capacidad antioxidante total en el grupo placebo lo cual evidenció una falta de respuesta antioxidante en este grupo, resultados que difirieron con su contraparte, cuyos valores aumentaron constantemente a lo largo del estudio. Debido a que no se encontraron valores estadísticamente significativos en el grupo de tratamiento, se aconseja tener medidas de estos valores a los 9, 12 y 15 meses y aumentar el tamaño de muestra para ambos grupos de tal forma que se pueda determinar si existe un efecto positivo de la tibolona sobre el estrés oxidativo.

En cuanto a los trastornos del humor, no se pudo llegar a una conclusión, puesto que la población de estudio en los grupos de tratamiento fue pequeña. Por tal motivo sugiere que, en los próximos proyectos, uno de los criterios de inclusión sea que la población de estudio presente estas alteraciones para así poder obtener resultados más contundentes.

CONCLUSIONES

La terapia hormonal con tibolona disminuyó los niveles de lipoperóxidos, aumentó la capacidad antioxidante total y la actividad de la enzima superóxido dismutasa.

Aunque hubo una mejoría en los trastornos del humor no se puede asegurar una relación entre estas alteraciones con el estrés oxidativo y la tibolona.

PERSPECTIVAS

- Aumentar el tamaño de muestra.
- Añadir como criterio de inclusión que las participantes presenten depresión y/o ansiedad.
- Alargar el tiempo de seguimiento del ensayo clínico.

REFERENCIAS

- 1- World Health Organization. Research on the Menopause in the 1990s. Technical report Scr 866, Geneva, Switzerland, 1996.
- 2- Hernández-Valencia M, Córdova-Pérez N, Basurto L; Saucedo R; Vargas C, et al. Frecuencia de los síntomas del síndrome climáterico. Ginecol Obstet Mex 2010;78(4):232-237.
- 3- Rannevik G, Jeppsson S, Johnell O, et Al. A longitudinal study of the perimenopausal transition: Altered profiles of steroid and pituitary hormones, SHBG, and bone mineral density. Maturitas 1995; 21: 103-13.
- 4- Dosh SB, Agarwal A. The role of oxidative stress in menopause. Journal of Mid-life 2013; 4 Jul-Sep (4).
- 5- Epinoza JL, Aguilar MEH, Abreu GEA, et al. El papel de los estrógenos y sus receptores en la prevención y promoción de enfermedades proliferativas de la glándula prostática. Revista eNeurobiología 2013; 4(8):300813.
- 6- Santoro N. The menopause transition. Am J Med 2005; 118 (12B): 8S-13S
- 7- Takahashi TA, Johnson KM. Menopause. Med Clin N Am. 2015; 99: 521-534,
- 8- Hall JE. Neuroendocrine changes with reproductive aging in women. Semin Reprod Med 2007; 25(5):344-51.
- 9- Canto-Cetina TE. Menopausia: mitos y realidades. Rev Esp Méd Quir. 2014; 19:259-260.
- 10- Nelson HD. Menopause. Lancet 2008:760-70.
- 11- Blake J. Menopausia: evidence-base practice. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology 2006; 20(6): 799-839.

- 12- Monteleone, P., Mascagni, G., Giannini, A. et al. Symptoms of menopause-global prevalence, physiology and implications. *Nat Rev Endocrinol* 2018; 14: 199-215.
- 13- Hardy R, Kuh D. Change in psychological and vasomotor symptom reporting during the menopause. *Soc Sci Med* 2002; 55: 1975-88.
- 14- Makara-Studzińska, MT, Kryś-Noszczyk KM, Jakiel, G. Epidemiology of the symptoms of menopause - an intercontinental review. *Przegląd menopauzalny = Menopause review* 2014; 13(3): 203-211.
- 15- Ayres S, Abplanalp W, Liu J, Ravi T. Mechanisms involved in the protective effect of estradiol - 17 β on lipid peroxidation and DNA damage. *Am J Physiol* 1998; 274: E1002-e1008.
- 16- The 2012 Hormone Therapy Position Statement of the North American Menopause Society. *Menopause* 2012; 19:257-71.
- 17- Mueck AO, seeger H. Estrogens acting as cardiovascular agents: Direct vascular actions. *Curr Med Chem Cardiovasc Hemtaol Agents* 2004;2:35-42.
- 18- Bednarek -Tupikowska G, Tworowska U, Jedrychowska I, et al. Effects of oestradiol and oestrogen on erythrocyte antioxidative enzyme system in postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;64:463-8
- 19- Mu-Hong C, TUNG-Ping S, Cheng-Ta L, et al. Symptomatic menopausal transition increases the risk of new-onset depressive disorder in later life: a nationwide prospective cohort study in Taiwan. *PLoS One* 2013; 8: e59899.
- 20- Valko M, Moris H, Cronin MTD. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem* 2005; 12: 1161-208.
- 21- Halliwell B. Biochemistry of oxidatives stress. *Biochemical Society Transactions* 2007; 35: 1147-50.
- 22- Corrales LC, Muñoz AMM. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova-Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*. Vol 10(18). 213-225
- 23- Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? *J Lab Clin Med* 1992; 598-620
- 24- Sánchez-Rodríguez M, Santiago-Osorio E, Vargas L, Mendoza-Núñez V. Propuesta de un constructo para evaluar íntegramente el estrés oxidativo. *Bioquímica especial*. 2004; 29(3) :81-90
- 25- Knight JA Free radicals: their presence in biological Systems. In: *Free radicals, antioxidants, aging, and disease*. Washington: AACC Press; 1999. P. 21-43.
- 26- Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828.
- 27- Murray R. Bioenergética y el metabolismo de carbohidratos y lípidos. En: *Bioquímica de Harper*. 15 Ed, México: El Manual Moderno, 2001: 88-149.
- 28- Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*. 2001; 54: 176-186.
- 29- Rannevik G, Jeppsson S, Johnell O, et al. A longitudinal study of the perimenopausal transition: Altered profiles of steroid and pituitary hormones, SHBG, and bone mineral density. *Maturitas* 1995; 21: 103-13.

- 30-Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, et al. The role of oxidative stress of female reproduction: A review *Reprod Biol Endocrinol* 2012; 10:1-32
- 31- Chessman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-493.
- 32-Halliwell B. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. [Letter] *Free Radic Biol Med* 1995; 18: 125-128.
- 33-Ayres S, Abplanalp W, Liu J, Ravi T. Mechanisms involved in the protective effect of estradiol - 17 β on lipid peroxidation and DNA damage. *Am J Physiol*. 1998; 274: E1002-e1008.
- 34-Hamden K, Carreau S, Ayadi F, et al. A Inhibitory effect of estrogens, phytoestrogens, and caloric restriction on oxidative stress and hepato-toxicity in aged rats. *Biomed Environ Sci*. 2009 Oct; 22(5): 38-7.
- 35-Bednarek G, Tupikowki K, Bidzinska B, et al. Serum lipid peroxides and total antioxidant status in postmenopausal women on hormone replacement therapy. *Gynecol Endocrinol*. 2004; 19: 57-63
- 36-Zorrilla A. El envejecimiento el estrés oxidativo. Centro Nacional Coordinador de Ensayos Clínicos. *Rev Cubana Invest Biomed* 2002; 21(3): 178-85.
- 37-Sánchez-Valle V, Méndez-Sánchez N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedades. *RevInvestMedSurMex*, Julio-Septiembre2013;20(3):161-168
- 38-Arenas-Ríos E, Rodríguez-Tobón A, Trinidad B et al. Participación de las especies reactivas de oxígeno en la fisiología espermática. *Revista Iberoamericana de Ciencias*; 2014 (1):2334-250.
- 39-Othman B, Tomio S. USE OF HYDROGEN PEROXIDE AND PEROXYL RADICALS TO INDUCE OXIDATIVE STRESS IN NEURONAL CELLS. *Reviews in Agricultural Science*; 2015. 3. 10.7831/ras.3.40.
- 40-World Health Organization. Depression. Geneva, Switzerland, 1996.
- 41- Colomer MC. Depresión Mayor. *OFFARM*. 26(8): 2007.
- 42-Consejería de Sanidad. Guía de práctica clínica de los trastornos depresivos. España: Consejería de Sanidad.
- 43-Coryell W. Trastornos depresivos. Manual MSD. EE.UU. [Consultado: 02 de febrero de 2020.] Vega-Rivera NM, López-Rubalcava C, Paez-Martínez MC, et al. Interacción estrógenos-noradrenalina en la depresión. *Salud mental*. 36(4), julio-agosto 2013.
- 44-Berenzon S, Lara MA, Robles R, et al. Depresión: estado del conocimiento y la necesidad de políticas públicas y planes de acción en México. *Salud Publica Mex*; 2013; 55:74-80
- 45-CEAMEG. Diagnóstico estadístico sobre la depresión y el estrés en las mujeres mexicanas. México: Centro de estudios para el adelanto de las mujeres y equidad de género.
- 46-Freeman EW, Sammel MD, Lin H, et al. Symptoms in the menopausal transition: hormone and behavioral correlates. *Obstet Gynecol*. Jan. 2008 111:127-36.
- 47-Llaneza P, Garcia-Portilla MP, Llaneza-Suarez D, et al. Depressive disorders and the menopause transition. *Maturitas* 2012; 71: 120-130.

- 48-Quintanar EMA, Calderón S JV. La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. Rev Educ Bioquímica 2009; 28 (3)
- 49-Montelongo RV, Zaragoza ACL, Bonilla GM, et al. Los trastornos de ansiedad. Revista Digital Universitaria 6(11) ISSN: 1067-6079
- 50-Carvajal-Lohr, Flores-Ramos M, Montejo MSI, et al. Los trastornos de ansiedad durante la transición a la menopausia. Perinatol Reprod Hum. 2016; 30(1):39-45
- 51- Guía de Práctica Clínica. Diagnóstico y tratamiento de los trastornos de ansiedad en el adulto. México: Secretaría de Salud;2010.
- 52-Asociación Americana de Psiquiatría, Guía de consulta de los criterios diagnósticos del DSM 5. Arlington, VA, Asociación Americana de Psiquiatría. 2013.
- 53-Bromberger JY, Kravitz HM, Chang, et al. Does Risk for Anxiety increase during menopausal transition? Study of women's health across the nation (SWAN). Menopause, 2013May;20(5):488-495.
- 54-Mu-Hong C, TUNG-Ping S, Cheng-Ta L et al. Symptomatic menopausal transition increases the risk of new-onset depressive disorder in later life: a nationwide prospective cohort study in Taiwan. PLoS One 2013; 8: e59899.
- 55-Maffei S, Mercuri A, Prontera C, Zucchelli GC, et al. Vasoactive biomarkers and oxidative stress in healthy recentral postmenopausal women treated with hormone replacement therapy. Climacteric 2006;9:452-8
- 56-Clayton, A. H, Ninan, PT. Depression or menopause? Presentation and management of major depressive disorder in perimenopausal and postmenopausal women. Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry; 2010: 12(1), PCC.08r00747. doi:10.4088/PCC.08r00747blu
- 57-Rasgon N, Shelton S, Halbreich U. Perimenopausal mental disorders: epidemiology and phenomenology. CNS Spectr. 2005;10(6):471-478
- 58-Hudon A, López de los Santos Y, Doucet N et al. Serotonin and serotonin reuptake inhibitors alter placental aromatase. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology; 2019: 195.
- 59-Correa PA. Depresión y estrógenos: ¿son los estrógenos una opción terapéutica? Universitas Medica; 2017: 48(3),277-290.
- 60-Tapia-Saavedra, Alexis. Estrés oxidativo y depresión: ¿Un posible rol etiológico?. Revista chilena de neuro-psiquiatría; 2005: 43(4), 329-336.
- 61- Bajpai, A, Verma, AK, Srivastava, M et al. Oxidative stress and major depression. Journal of clinical and diagnostic research : JCDR; 2014: 8(12).
- 62-Michel TM, Pulschen D, Tome J. The Role of Oxidative Stress in Depressive Disorders. Current Pharmaceutical Design, 2012, 18, 5890-58999.
- 63-Tapia-Saavedra A. Estrés oxidativo y depresión. ¿Un posible riesgo? Rev chil Neuro-Psiquiat 2005; 43(4):329-336
- 64-Caruso G, Benatti C, Blom, J et al.. The Many Faces of Mitochondrial Dysfunction in Depression: From Pathology to Treatment. Frontiers in Pharmacology; 2019: 10. 10.3389/fphar.2019.00995

- 65-C Vélez, C Barrera, AV Benito, et al. Estudio de síntomas depresivos mediante la Escala de autoaplicación de Zung en varones privados de la libertad de una ciudad de Colombia. *Rev Esp Sanid Penit* 2016; 18: 43-48 9
- 66-Maffei S, Mercuri A, Prontera C, et al. Vasoactive biomarkers and oxidative stress in healthy recentrl postmeopausal women treated with hormone replacement therapy. *Climacteric* 2006;9:452-8
- 67-Hansen KA, Eyster KM. What Happened to WHI: Menopausal Hormonal Therapy in 2012? *Clin Obstet Gynecol* 2012; 55(3): 706-12
- 68-Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, et al: Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: Principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 288 (3):321–333, 2002
- 69-Maclennan AH, Broadbent JL, Lester S, et al. Oral oestrogen and combined oestrogen/progestogen therapy versus placebo for hot flushes. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;(4):CD002978
- 70-Maclennan AH, Broadbent JL, Lester S, et al. Oral oestrogen and combined oestrogen/progestogen therapy versus placebo for hot flushes. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;(4):CD002978
- 71- The NAMS 2017 Hormone Therapy Position Statement Advisory Panel: The 2017 hormone therapy position statement of The North American Menopause Society. *Menopause* 24 (7):728–753, 2017. doi: 10.1097/GME.0000000000000921.
- 72-Pinkerton JV. Menopausia. *Manual MSD*. EE.UU. [Consultado: 05 de febrero de 2020.] Disponible en: https://www.msmanuals.com/es-mx/professional/ginecolog%C3%ADa-y-obstetricia/menopausia/menopausia#v25242237_es
- 73-Jorda MD. Terapia hormonal sustitutiva en la posmenopausia. *Med Integral* 2002;40(5):218-22
- 74-Zárate A. Tibolona como regulador de la acción estrogénica de manera selectiva sobre tejidos puede ser una alternativa del reemplao ormonal en la menopausia. *Acta Méd*. 2008; 6(4): 197-198.
- 75-Pinto-Almazán R, Segura-Urbe JJ, Farfán-García ED, Guerra-Araiza C. Effects of tibolone on the central Nervous System: Clinical and experimental approaches. *BioMed Res Int*. 2017; 2017 (8630764): 1-9.
- 76-Cummings SR, Ettinger B, Delmas PD, et al. The Effects of Tiblone in Older Postmenopausal Women. *The New England Jouranal of Medi cine*. 2008; 359:697-708.
- 77-Aguiar R, Dickel O, Cunha R et al. Barros, and P. E. Martinez, Estradiol valerate and tibolone: effects on memory," *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 2006: 85(4):689–696.
- 78-Ettinger B, Black DM, Mitlak BH, et al. Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene: results from a 3-year randomized clinical trial. *JAMA* 1999; 282:637-45. [Erratum, *JAMA* 1999; 282:2124.]
- 79- Aguiar R, Dickel O, Cunha R et al. Estradiol valerate and tibolone: effects upon brain oxidative stress and blood biochemistry during aging in female rats, *Biogerontology*; 2008: 9(5):285–298.

- 80-Espinosa-Raya J, Neri-Gomez T, Orozco-Suarez S et al. Chronic administration of tibolone modulates anxiety-like behavior and enhances cognitive performance in ovariectomized rats. *Hormones and Behavior*; 2012; 61(1):76–83.
- 81- Kenemans P, Speroff L. Tibolone: clinical recommendations and practical guidelines. *Maturitas*. 2005;51:21–28.
- 82-Zárata A, Hernández M, Saucedo R. Lugar de la tibolona en la terapia de reemplazo hormonal en la postmenopausia. *Acta Méd*. 2004; 2(3):193-195.
- 83-Soares C, Almeda O, Joffe H, Cohen L. Efficacy of Estradiol for the Treatment of Depressive Disorders in Perimenopausal Women. *Arch Gen Psychiatry* 2001 (58)
- 84-Freeman, E.W., 2010. Associations of depression with the transition to menopause. *Menopause* 17, 823-827.
- 85-Cohen, LS, Soares CN, Vitonis AF et al. Risk for new onset of depression during the menopausal transition: The Harvard study of moods and cycles. *Arch Gen Psychiatry*; 2006: 63: 385–390.
- 86-Jazmann L, van Lith ND, Zaat JCA. The perimenopausal symptoms: the statistical analysis of a survey, part A. *Med Gynaecol Sociol* 1969; 4:268–277
- 87-Tam, L.W., Stucky, V., Hanson, R.E et al. Prevalence of depression in menopause: a pilot study. *Archives of Women's Mental Health*; 1999 (2):175-181.
- 88-Gartrell NK, Koh AS, Becker C, et al. Prevalence of hormone replacement therapy and antidepressant use in peri- and postmenopausal women. *J Gend Specif Med* 2001; 4(1):60-3.
- 89-Bromberger JT, Kravitz HM, Chang Y, et al. Does risk for anxiety increase during the menopausal transition? Study of Women's Health across the Nation (SWAN). *Menopause*. 2013; 20(5): 488-495
- 90-Kirsch I, Sapirstein G. Listening to prozac but hearing placebo: a meta-analysis of antidepressant medication. *Prev Treat*. 1(2).
- 91- Andrews G. Placebo response in depression: bane of research, boon to therapy. *British J Psych*. 2001; 178: 192-194
- 92-Kulkarni J, Gavrilidis E, Thomas N, et al. Tibolone Improves Depression in Women Through the Menopause Transition: A Double-Blind Randomised Controlled Trial of Adjunctive Tibolone. *Journal of Affective Disorders*.
- 93-Crona NGL, Samsioe UB, Silfverstolpe G. Treatment of climacteric complaints with Org OD 14: a comparative study with oestradiol valerate and placebo. *Maturitas*; 1998: 9:303–308
- 94-Tranquilli AL, Mazzanti L, Cugini AM, et al. Transdermal estradiol and medroxyprogesterone acetate in hormone replacement therapy are both antioxidants. *Gynecol Endocrinol* 1995; 9:137–41
- 95-Bednarek G, Tupikowski K, Bidzinska B et al. Serum lipid peroxides and total antioxidant status in postmenopausal women on hormone replacement therapy. *Gynecol Endocrinol*. 2004; 19: 57-63.
- 96-Vural P, Akgul C, Canbaz M. Effects of menopause and tibolone on antioxidants in postmenopausal women. *Ann Clin Biochem* 2005; 42: 220-223

- 97-Unfer T, Conterato M, da Silva J, Duarte M, Emanuelli T. Influence of hormonal replacement therapy on blood antioxidant enzymes in menopausal women. Clin Chem Acta. 2006; 369: 73-77.
- 98-Vaishali S, Sanjeev S, Neelima S, Shaila S. Status of antioxidant enzyme and trace metals in postmenopausal women. J Obstet Gynecol India. 2005; 55(1): 64-66

ANEXOS

Anexo 1. Panfleto entregado para el reclutamiento de las participantes

Menopausia – Estrés oxidativo

¿Conoces los síntomas de la menopausia? ¿Cómo aliviarlos?



Si tienes entre 45 y 59 años.
Te invitamos a participar en un estudio **SIN costo**, donde se evaluará tu estado de salud general con química sanguínea, biometría hemática, mastografía, papanicolaou y densitometría ósea.
Durante un año y medio.



Bochornos **Sudoraciones**

Ansiedad **Estrés oxidativo**

Depresión **Insomnio**

Sequedad vaginal **Dolor muscular**

Urgencia de orinar **Pérdida de memoria**

Infecciones vaginales **Arterioesclerosis**

Sangrados irregulares **Osteoporosis**

En Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.
Teléfonos o whatsapp: (044)5545942262, (044)5533416713
Correo electrónico: eomenopausiaunam@gmail.com
Proyecto dirigido por la Dra. Martha A. Sánchez Rodríguez.

Anexo 2. Consentimiento informado



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
Unidad de investigación en gerontología

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA
PARTICIPAR EN LA INVESTIGACIÓN**

Efecto de la tibolona sobre el estrés oxidativo, depresión, autoestima, ansiedad, insomnio, calidad de vida y densidad mineral ósea en mujeres posmenopáusicas, comparado con terapia estrogénica

La estamos invitando a participar en este estudio de investigación, que se lleva a cabo en la Unidad de investigación en gerontología de la FES Zaragoza UNAM, ya que pensamos que pudiera estar presentando los síntomas de la posmenopausia.

Una vez que haya comprendido el estudio y desee participar, entonces se le pedirá que firme esta carta de consentimiento.

Justificación y objetivo del estudio

La menopausia es la etapa que corresponde al último sangrado vaginal normal que ocurre durante el climaterio (cese gradual de la función ovárica), esta etapa se ve relacionada con molestias que afectan la vida diaria, como bochornos, sudoraciones, cambios del estado de ánimo, problemas de sueño y susceptibilidad a infecciones vaginales, así como alteraciones metabólicas, entre otras. Dichos cambios son consecuencia de la disminución significativa de los estrógenos. Los estrógenos son antioxidantes para el organismo, y proporcionan protección contra enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo; esta protección se pierde durante la menopausia, incrementando el riesgo para distintas enfermedades.

Se conoce que la terapia hormonal con estrógenos mejora muchos de los síntomas de la posmenopausia, así como también puede disminuir el estrés oxidativo. La tibolona es una hormona sintética que se utiliza para la sintomatología posmenopáusica, teniendo un posible efecto antioxidante.

Por tal motivo, en este estudio se medirá la efectividad antioxidante de la tibolona comparada con estrógenos y su efecto sobre el estrés oxidativo, depresión, autoestima, ansiedad, insomnio, calidad de vida y densidad mineral ósea en mujeres posmenopáusicas

Por favor, lea la información o permita se la lean y haga cualquier pregunta que desee antes de decidir si desea participar o no.

Procedimiento

Si usted se encuentra en la posmenopausia y desea participar, ocurrirá lo siguiente:

A todas las mujeres, se les realizará una evaluación clínica, la cual incluye pruebas de química sanguínea, hematológicas, mediciones antropométricas, pruebas hormonales (estrógenos y FSH). Se le aplicarán unos cuestionarios respecto a su posmenopausia y sobre aspectos cotidianos de su vida diaria para ver su estado de salud.

- Las mujeres que decidan participar se seleccionarán al azar en 3 grupos de tratamiento vía oral durante un año, al primer grupo se les asignará tibolona, al

segundo se les brindará estrógenos conjugados y medroxiprogesterona (MPA); ambos tratamientos son comerciales ya utilizados por las mujeres en esta etapa, y al tercer grupo se les proporcionará un placebo. Todo el tratamiento estará bajo la supervisión estricta de un ginecólogo certificado. Es importante mencionar que la decisión de a quién darle tibolona, estrógenos o placebo es al azar, ni las participantes ni los investigadores sabrán a qué grupo quedó asignada cada mujer. También, se les practicará una mastografía y un papanicolaou antes de iniciar y al finalizar el tratamiento.

- A todas las participantes se les harán tomas de muestra sanguínea y mediciones antropométricas. Las citas serán al inicio del estudio, a los 3, 6, 9 y 12 meses en la clínica de la FES Zaragoza. Le pediremos presentarse en ayuno mínimo de 8 horas y no máximo de 12 horas para tomar muestra de sangre de uno de sus brazos, alrededor de 20 mililitros, es decir, unas 4 cucharadas de sangre. Le pediremos contestar unos cuestionarios, en contestarlos se tardará unos 50 minutos. Le entregaremos los resultados de sus estudios de química sanguínea y biometría hemática a la semana de la toma sanguínea. También se les pedirá que cada mes (durante los 12 meses) pasen a la clínica a recoger su tratamiento con un carnet que le será asignado.
- Se realizará una densitometría ósea (DXA) para saber cómo se encuentra la densidad mineral de sus huesos. Es una prueba parecida a una radiografía, es como si le sacaran una fotocopia, se le colocará en una cama de estudios especiales. No duele ni causa molestias. La radiación que recibirá en su cuerpo es mínima, es igual a un día de sol estando en el exterior. Se realizarán en la unidad de epidemiología clínica del Hospital Infantil de México, Federico Gómez.

Posibles molestias o riesgos

Los procedimientos de la evaluación clínica y la medición de peso, talla, etc. no ocasionan dolor o riesgo alguno. Las molestias durante la toma de muestra de sangre son mínimas, en algunas ocasiones puede causar poco dolor o se puede formar un moretón. No existe ningún riesgo agregado para su salud para las participantes con tratamiento, si por alguna circunstancia se observa sangrado vaginal anormal o dolor y/o aparición de "bolitas" en mamas, dolor en el vientre, notificar para cita con el ginecólogo y posible suspensión del tratamiento.

Posibles beneficios

Los resultados hematológicos y de química sanguínea pueden ser de utilidad para el conocimiento de su estado de salud. El tratamiento repercutirá en beneficio de su sintomatología posmenopáusica y calidad de vida. No recibirá ningún pago por su participación en el estudio.

Participación o retiro

Su participación en este estudio es completamente VOLUNTARIA. Por lo que si decide no hacerlo no le afectará en su atención en la Clínica de la FES Zaragoza. Si en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión, usted puede abandonar el estudio en cualquier momento, notificando a los investigadores.

Confidencialidad

Toda la información obtenida durante el estudio se mantendrá confidencial. Únicamente el grupo de investigación autorizado tendrá acceso a dicha información para la captura y

procesamiento de ésta. Los datos obtenidos se utilizarán sin nombre (se asignará una clave), en caso de que se publicaran los hallazgos de este estudio no se dará información que pueda revelar su identidad.

Compensación ó tratamiento disponible en caso de daño relacionado con el estudio
Indeminizaciones

En el caso de que se presentaran efectos graves, que el investigador principal Dra. Martha A. Sánchez Rodríguez reconozca como secundarios a la toma del medicamento en estudio y que puedan requerir ó prolongar una hospitalización, pongan en riesgo la vida del paciente ó se requiera del uso de otros medicamentos, el patrocinador del estudio, se encargará de los gastos que estos generen hasta la resolución de los mismos.

Contacto para dudas y aclaraciones sobre el estudio

Si usted tiene preguntas o dudas sobre el estudio de investigación podrá consultar con los participantes de la Unidad de Investigación en Gerontología o puede comunicarse de lunes a viernes con la Dra. Martha A. Sánchez Rodríguez a teléfono 5623-0766, con la M. en C. Lizett Castrejón Delgado al número 04455 4594 2262 o con la Q.F.B. Ana Karen Ruíz Rodríguez al número 04455 3341 6713.

Declaración de consentimiento informado

Se me ha explicado en qué consiste el estudio, además he leído (o me han leído) el contenido de este formato de consentimiento. Todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato.

Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe.

Nombre y firma de la participante.

En caso de no saber leer ni escribir,
poner huella digital

Nombre y firma de un familiar (testigo)

Nombre y firma de un testigo

Nombre y firma del investigador principal

Encargado de obtener el consentimiento informado

Se le ha explicado el estudio de investigación a la participante y se le han contestado sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y ha dado su consentimiento para participar en este estudio de investigación.

Nombre y firma del encargado de obtener el consentimiento informado

Ciudad de México, a _____ de _____ de _____.

Anexo 3. Cuestionario de estilos de vida



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES * Z A R A G O Z A *
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA

CUESTIONARIO DE ESTILOS DE VIDA Clave:

Nombre: _____

Edad: _____ Sexo: _____ Fecha de aplicación: _____

1. ¿Fuma de manera ininterrumpida durante el último año? SI NO

Si su respuesta es Sí especifique número de cigarrillos y tiempo (años) de consumo.

Número de cigarrillos por día	
Tiempo de consumo (años)	

2. ¿Fumó en el pasado de los 45 años en adelante? SI NO

Si su respuesta es Sí especifique número de cigarrillos y tiempo (años) de consumo.

Número de cigarrillos por día	
Tiempo de consumo (años)	

3. ¿Convive con alguna persona fumadora durante el último año? SI NO

Si su respuesta es Sí especifique aproximadamente el número de cigarrillos que consume el fumador y tiempo (años) en el que usted ha estado expuesto(a).

Número de cigarrillos por día	
Tiempo de exposición (años)	

4. ¿Consume bebidas con cafeína, como café de grano o soluble, té negro o refrescos de cola (más de 3 tazas o vasos al día) durante el último año? SI NO

Si su respuesta es Sí especifique número de tazas o vasos por día y tiempo (años) de consumo.

Número de tazas o vasos por día	
Tiempo de consumo (años)	

5. ¿Consumió bebidas con cafeína, como café de grano o soluble, té negro o refrescos de cola (más de 3 tazas o vasos al día) de los 45 años en adelante? SI NO

Si su respuesta es Sí especifique número de tazas o vasos por día y tiempo (años) de consumo.

Número de tazas o vasos por día	
Tiempo de consumo (años)	

6. ¿Consume bebidas alcohólicas durante el último año? (más de una vez por semana)?

SI NO

Si su respuesta es **Sí** especifique número de copas o equivalentes (cervezas individuales, vasos con bebidas combinadas) por día o por semana y tiempo (años) de consumo.

Número de copas o equivalente por día	
Tiempo de consumo	
Número de copas o equivalente por semana	
Tiempo de consumo	

7 ¿Consumió bebidas alcohólicas de los 45 años en adelante (más de una vez por semana)?

SI NO

Si su respuesta es **Sí** especifique número de copas o equivalentes (cervezas individuales, vasos de combinación de bebida y refresco o pulque) por día o por semana y tiempo (años) de consumo.

Número de copas o equivalente por día	
Tiempo de consumo	
Número de copas o equivalente por semana	
Tiempo de consumo	

Si consume o consumía bebidas alcohólicas especifique la(s) más frecuente(s). **Marque con una cruz.**

TIPO DE BEBIDA	PRESENTE	PASADO
Brandy		
Alcohol al 96%		
Ron		
Tequila		
Vodka		
Cerveza		
Pulque		
Vino tinto		
Vino blanco		
Otros: Especifique		

8 ¿Realiza ejercicio físico en el último año (cuatro veces o más por semana, por más de 30 minutos al día)?

SI NO

si su respuesta es **Sí** especifique número de veces por semana, el tiempo promedio por día y los años o meses de práctica.

Número de veces por semana	
Tiempo promedio por día	
Tiempo de práctica (especifique años o meses)	

9. ¿Acostumbraba realizar ejercicio físico de los 45 años en adelante (cuatro veces por

Si su respuesta es **Sí** especifique número de veces por semana, el tiempo promedio por día y los años o meses que practicaba.

Número de veces por semana	
Tiempo promedio por día	
Tiempo de práctica (especifique años o meses)	

Especifique el tipo de ejercicio que realiza o realizaba. *Marque con una cruz.*

Actividad	Presente	Pasado
Caminar		
Correr		
Gimnasia		
Yoga		
Tai Chi		
Natación		
Baile de salón		
Baile regional		
Otros. Especifique		

10. ¿Cuántas horas duerme al día (día y noche) en el último año? _____

De día: _____ De noche: _____

11. ¿Cuántas veces se lava los dientes al día o a la semana en el último año?

Número de veces por día	
Número de veces por semana	

OBSERVACIONES: _____

Evaluator(a): _____

Supervisor(a): _____

Anexo 4. Cuestionario de Climaterio



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES * Z A R A G O Z A *
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA

Clave:

Cuestionario de climaterio

Nombre: _____ Edad: _____

1. Fecha de última regla: _____
2. ¿Tiene matriz? SI _____ NO _____
3. ¿Tiene ovarios? SI _____ NO _____
4. ¿En qué fecha fue la cirugía para quitarle la matriz u ovarios?
_____ (aunque sea el año).
5. ¿Ya pasó por la menopausia? SI _____ NO _____
6. ¿A qué edad fue la última vez que tuvo menstruación? _____
7. ¿Toma algún medicamento para la menopausia? SI _____ NO _____
8. Si su respuesta es afirmativa, ¿qué medicamento utiliza?

9. Marque con una cruz la forma de su medicamento:
Pastillas _____ Pomadas _____ Parches _____ Inyecciones _____
¿Otras? _____ ¿cuál? _____
10. Si su respuesta fue negativa. ¿Tomó alguna vez medicamento para la menopausia?
SI _____ NO _____
11. Si su respuesta es afirmativa, conteste las preguntas 5 y 6.
12. ¿Por cuánto tiempo los ha tomado o los tomó? _____
13. Si no tomó medicamento para la menopausia o dejó de tomarlos, ¿cuál fue la razón?
Marque con una cruz:
No tuve síntomas de menopausia _____ Por indicación médica _____
Porque ya no tengo síntomas _____ Porque son muy caros _____
Porque no sabía que debía tomarlos _____
Por temor, ya que dicen que produce cáncer _____
Otra razón, ¿cuál? (explique)

GRACIAS POR SU COOPERACION.

Encuestador: _____

Fecha de aplicación: _____ (día/mes/año).

Anexo 5. Cuestionario de Salud y Polifarmacia



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES * Z A R A G O Z A *
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA

CUESTIONARIO ESTADO DE SALUD Y POLIFARMACIA

Clave:

I. INFORMACIÓN GENERAL

Nombre(s) _____ Apellido Paterno _____ Apellido Materno _____

1. Fecha de nacimiento: _____ Edad: _____

2. Sexo M F 3. Lugar de nacimiento: _____

4. Estado Civil: _____ 5. Religión: _____

6. Lugar de residencia en los últimos 5 años (marque con una X la opción):

Urbano suburbano rural Cd. de México

Especifique el lugar: _____

¿Desde hace cuánto tiempo vive ahí? _____ años.

7. Escolaridad

- Ninguna
- Sabe leer y escribir
- Primaria completa o incompleta
- Secundaria completa o incompleta
- Bachillerato completo o incompleto
- Carrera técnica completa o incompleta
- Estudios de licenciatura incompletos
- Estudios de licenciatura completos

Número de años de escolaridad _____

Especificar

8. Ocupación(es) anterior(es): _____

Por más de 5 años

9. Ocupación(es) actual(es): _____

Por más de 2 años

10. ¿Con quién vive?

- Solo
- Esposo(a)
- Hijo(a)(s)
- Nieto(a)(s)
- Otros familiares. Especifique: _____
- Amigos
- Otros, especifique: _____

11. ¿Con cuántas personas vive?: _____

II. ASPECTOS SOCIOECONÓMICOS

12. Fuentes de ingreso económico:

- Trabaja
- Apoyo del esposo
- Pensión de jubilación
- Pensión de invalidez
- Pensión de viudez
- Apoyo familiar
- Otros

13. Ingreso económico familiar mensual: \$ _____

III. ASPECTOS DE SALUD

14. ¿Tiene alguna(s) enfermedad(es) actualmente? SI NO

Si su respuesta es Sí, especifique el tiempo de diagnóstico en años o meses

- Diabetes mellitus (tiempo de diagnóstico) _____
- Hipertensión arterial (tiempo de diagnóstico) _____
- Cardiopatía (tiempo de diagnóstico) _____
- Trastornos articulares (tiempo de diagnóstico) _____
- Otros, especifique diagnóstico y tiempo _____

15. ¿Actualmente consume algún medicamento por largos periodos por alguna enfermedad crónica? (Considerar laxantes, antiácidos, vitamínicos específicos, homeopáticos y herbolaria). (Especificar el número de semanas, meses o años que lleva consumiéndolos en la columna Tiempo de consumo)

Medicamento	Indicado para	Dosis	Indicado por	Tiempo de consumo

16. De acuerdo con la respuesta anterior ¿existe polifarmacia (consume 5 o más medicamentos al día por más de un mes)? SI NO

17. ¿En los últimos doce meses ha tenido diagnósticos nuevos (Incluyendo padecimientos crónicos, agudos y hospitalizaciones)?

SI NO

En caso afirmativo anótelos en los siguientes renglones.

18. ¿Cómo clasificaría su estado de salud?

Excelente Bueno Regular Malo Muy malo

19. ¿Cómo consideraría su estado de salud en comparación con las personas de su misma edad?

Mejor Igual Peor

OBSERVACIONES: _____

Evaluator(a): _____

Supervisor(a): _____

Fecha de aplicación: _____ (día/mes/año)

Anexo 6. Escala de ansiedad de Zung (ASI)



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES * Z A R A G O Z A *
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA

ESCALA DE ANSIEDAD DE ZUNG
(ASI)

Clave:

Nombre: _____

Edad: _____ Sexo: _____ Fecha de evaluación: _____

INSTRUCCIONES: Esta escala está diseñada para la detección y medida de la ansiedad. Por favor marque con una cruz (X), en el cuadro correspondiente a la intensidad, duración y frecuencia de los síntomas señalados en la última semana.

	Ausente 1	Ligero 2	Moderado 3	Intenso 4
1	¿Se siente nervioso, ansioso?			
2	¿Se siente asustado?			
3	¿Se aterroriza con facilidad?			
4	¿Se siente como si fuera a volverse loco?			
5	¿Se siente como si fuera a ocurrir algo terrible?			
6	¿Se siente tembloroso?			
7	¿Tiene dolores de cabeza, cuello o espalda?			
8	¿Se cansa con facilidad? ¿se siente débil a ratos?			
9	¿Se encuentra inquieto? ¿hasta el punto de no poder estar sentado?			
10	¿Siente que su corazón late de prisa?			
11	¿Se siente mareado a ratos?			
12	¿Se ha desmayado a veces? ¿ha sentido como si fuera a desmayarse?			

		Ausente 1	Ligero 2	Moderado 3	Intenso 4
13	¿Siente dificultad para respirar?				
14	¿Tiene sensación de adormecimiento en los dedos o alrededor de la boca?				
15	¿Siente náusea? ¿tiene vómito?				
16	¿Necesita ir a orinar con mucha frecuencia?				
17	¿Se siente sudoroso, con las manos húmedas y frías?				
18	¿Tiene bochornos?				
19	¿Le cuesta trabajo dormirse?				
20	¿Tiene sueños que le asustan, pesadillas?				
	Puntuación total				

Zung WW. A rating instrument for anxiety disorders. Psychosomatics. 1971; 12: 371-9.

Evaluator(a): _____

Supervisor (a): _____

Anexo 7. Escala de depresión de Zung (SDS)

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES * Z A R A G O Z A *
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA

ESCALA DE DEPRESIÓN DE ZUNG
(SDS)

Clave:



Nombre: _____ Sexo: _____ Fecha de evaluación: _____
Edad: _____

INSTRUCCIONES: Esta escala está diseñada para la detección y medida de la gravedad de la depresión. Por favor marque con una cruz (X), en el cuadro correspondiente a la opción seleccionada que indique cómo se ha encontrado en el momento actual o recientemente. Sólo podrá emitir una respuesta por cada una.

	Muy poco tiempo/ Muy pocas veces/ Raramente	Algún tiempo/ Algunas veces/ vez en cuando	Gran parte del tiempo/ Muchas veces/ Frecuentemente	Casi siempre/ Siempre/ Casi toda el tiempo
1	Me siento triste y deprimido(a).			
2	Por las mañanas me siento peor que por las tardes.			
3	Frecuentemente tengo ganas de llorar y a veces lloro.			
4	Me cuesta mucho dormir o duermo mal por la noche.			
5	Ahora tengo menos apetito que antes.			
6	Me siento menos atraído(a) por el sexo opuesto			
7	Creo que estoy adelgazando.			
8	Estoy estreñido(a) (constipado(a)).			
9	Tengo palpitaciones.			
10	Me canso por cualquier cosa.			
11	Mi cabeza no está tan despejada como antes.			

		Muy poco tiempo/ Muy pocas veces/ Raramente	Algún tiempo/ Algunas veces/ De vez en cuando	Gran parte del tiempo/ Muchas veces/ Frecuentemente	Casi siempre/ Siempre/ Casi toda el tiempo
12	No hago las cosas con la misma facilidad que antes				
13	Me siento agitado(a) e intranquilo(a) y no puedo estar quieto(a).				
14	No tengo esperanza y confianza en el futuro.				
15	Me siento más irritable que habitualmente.				
16	Encuentro difícil la toma de decisiones.				
17	No me creo útil y necesario(a) para la gente.				
18	No encuentro agradable vivir, mi vida no es plena.				
19	Creo que sería mejor para los demás que me muriera.				
20	No me gustan las mismas cosa que habitualmente me agradaban.				
	Puntuación total				
	Puntuación normalizada				

Zung WW. A self-rating depression scale. Arch Gen Psychiatry. 1965; 12: 63-70.

Evaluador (a): _____

Supervisor (a): _____