



**Universidad Nacional Autónoma de México**

---

**Facultad de Estudios Superiores Zaragoza**

**Efecto de la tibolona sobre el estrés oxidativo  
asociado a la pérdida de densidad mineral  
ósea en la posmenopausia**

**T E S I S**

**que para obtener el título de  
Químico Farmacéutico Biólogo**

**P R E S E N T A**

**Daniela Nuñez Nuñez**

**Directora: Dra. Martha Asunción Sánchez Rodríguez**

**Asesora: M. en C. Lizett Castrejón Delgado**

**Ciudad de México, 2019**





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.

## **DEDICATORIAS**

*A mi mamá Elvía Nuñez por estar a mi lado en todo momento, brindándome apoyo, confianza y cariño. Gracias por todo el esfuerzo y sacrificio que has hecho por nosotros. Estaré siempre agradecida por la fortuna de tener una mamá como tú. Te amo.*

*A mi tía Rebeca Nuñez y mis primos Karla, Diego y Alan porque ustedes son parte de lo que me motiva para salir adelante y ser una mejor persona.*

*A mis mejores amigos Julieta Corona y Simón Avalos, por estar conmigo en toda esta etapa, por sus consejos, por escucharme y ayudarme siempre que lo necesito y por todos los momentos divertidos que he pasado con ustedes.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*A la Doctora Martha A. Sánchez Rodríguez le agradezco la oportunidad de colaborar en el estudio, por toda la enseñanza, apoyo y paciencia que me brindó.*

*A la Maestra Lizett Castrejón Delgado por toda su ayuda para el desarrollo de este proyecto.*

*A mis compañeros del proyecto, en especial a Angelica Hernandez y Dulce Peña por su apoyo y amistad.*

*A las señoras que participaron en el estudio.*

# Índice

1. Resumen .....	1
2. Introducción .....	2
3. Marco teórico.....	4
3.1 Estrés oxidativo.....	4
3.1.1 Sistema antioxidante .....	8
3.2 Menopausia.....	10
3.2.1 Densidad mineral ósea en la posmenopausia.....	14
3.3 Estrés oxidativo en la menopausia .....	19
3.4 Terapia hormonal.....	20
3.4.1 Tibolona .....	22
4. Planteamiento del problema.....	24
5. Hipótesis.....	25
6. Objetivos .....	25
7. Material y métodos .....	25
7.1 Diseño experimental .....	25
7.2 Universo de estudio .....	25
7.3 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.....	25
7.4 Variables .....	26
7.5 Descripción general del estudio .....	28
7.6 Técnicas.....	31
7.6.1 Lipoperóxidos .....	31
7.6.2 Superóxido dismutasa .....	33
7.6.3 Glutación peroxidasa.....	35
7.6.4 Constructo para evaluar el estrés oxidativo.....	36
7.6.5 Absorciometría con rayos X de doble energía (DXA).....	37
7.7 Diseño estadístico.....	39
8. Aspectos éticos y legales.....	40
9. Resultados .....	41
9.1 Descripción de la población de estudio .....	41

9.2 Efecto de la tibolona sobre el estrés oxidativo y la densidad mineral ósea ..	42
9.3 Efecto de la tibolona sobre el estrés oxidativo relacionado con la densidad mineral ósea en columna .....	44
9.4 Correlaciones de T score en columna y marcadores de estrés oxidativo ....	49
10. Discusión .....	50
11. Conclusiones .....	58
12. Perspectivas .....	58
13. Referencias .....	59
14. Anexos .....	70
Anexo 1. Cartel de reclutamiento .....	70
Anexo 2. Cuestionario de climaterio .....	71
Anexo 3. Cuestionario de estilo de vida .....	72
Anexo 4. Cuestionario de salud y polifarmacia .....	75
Anexo 5. Consentimiento informado .....	78

## Abreviaturas

Absorciometría con rayos X de doble energía	DXA
Ácido graso poliinsaturado	AGP
Ácido tiobarbitúrico	TBA
Ácido úrico	AU
Butiril-hidroxitolueno	BHT
Catalasa	CAT
Células mesenquimales	MCs
Contenido mineral óseo	CMO
Densidad mineral ósea	DMO
Desviación estándar	DE
Dióxido de nitrógeno	NO <sub>2</sub>
Especies reactivas	ER
Especies reactivas de oxígeno	ERO
Estrés oxidativo	EO
Factor de crecimiento transformante $\beta$	TGF- $\beta$
Factor de necrosis tumoral $\alpha$	TNF- $\alpha$
Factor nuclear $\kappa$ B	NF- $\kappa$ B
Folículos antrales	AFC
Glutación	GSH
Glutación oxidado	GSSG
Glutación peroxidasa	GPx
Glutación reductasa	GR
Hidroperóxido de lípidos	ROOH
Hormona antimulleriana	HAM
Hormona folículo estimulante	FSH
Hormona luteinizante	LH
Índice cintura cadera	ICC
Inhibidores selectivos de la recaptura de noradrenalina	ISRN
Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina	ISRS
Ligando del receptor activador del factor nuclear $\kappa$ B	RANKL
Lípido alcoxilo	RO <sup>-</sup>
Lípido peroxilo	ROO <sup>-</sup>
Lipoperóxidos	LPO
Lipoproteína de alta densidad	HDL
Lipoproteína de baja densidad	LDL
Malondialdehído	MDA
N-terminal quinasa c-Jun	JNK
Organización Mundial de la Salud	OMS
Osteoprotegerina	OPG

Óxido nítrico	NO
Peroxinitrito	ONOO <sup>-</sup>
Proteínas quinasas activadas por mitógeno p38 de mamífero	p38 MAP
Radicales libres	RL
Radical tiol	RS
Receptores estrogénicos	RE
Selective Tissue Estrogenic Activity Regulator	STEAR
Sistemas antioxidantes	AOx
Superóxido dismutasa	SOD
Taller de etapas del envejecimiento reproductivo	STRAW
Terapia hormonal	TH
Unidad metabólica ósea	UMO
Xantina oxidasa	XOD
1,1,3,3-tetrametoxipropeno	TMP

## 1. Resumen

**Antecedentes:** En la menopausia se presentan diversos síntomas, cambios físicos y emocionales debido a la drástica disminución de estrógenos. Éstos tienen la capacidad de actuar como antioxidantes, por lo que el nivel de estrés oxidativo (EO) en la posmenopausia aumenta. La deficiencia de estrógenos altera la remodelación ósea con el incremento de la resorción y con el aumento del EO la densidad mineral ósea disminuye. La tibolona ha sido utilizada para tratar la sintomatología posmenopáusica, además de que tiene un efecto estrogénico en hueso, sin embargo, no está claro si su efecto antioxidante es también lo que hace que este fármaco ayude a aumentar la densidad mineral ósea en mujeres posmenopáusicas.

**Objetivo:** Determinar el efecto de la tibolona sobre el estrés oxidativo asociado a la pérdida de la densidad mineral ósea en la posmenopausia.

**Metodología:** Se realizó un ensayo clínico aleatorizado doble ciego en una población de 51 mujeres posmenopáusicas (45 a 59 años) de la Ciudad de México y área metropolitana. Se establecieron dos grupos, 27 pacientes tratadas con tibolona (2.5 mg/día al mes) y 24 con placebo. Se midieron los marcadores de estrés oxidativo (lipoperóxidos [LPO], enzimas antioxidantes SOD y GPx, la razón SOD/GPx, el ácido úrico sérico y la puntuación de EO) antes de comenzar el estudio y a los 6 meses. Además se midió la densidad mineral ósea mediante absorciometría de energía dual de rayos X.

**Resultados:** Se observó una disminución en los lipoperóxidos en el grupo con tibolona a los seis meses de seguimiento (0.315 vs 0.290  $\mu\text{mol/L}$ ,  $p > 0.05$ ), contrario a lo observado en placebo. En el doble estratificado por tratamiento y DMO normal o DMO baja se observó un aumento de la actividad enzimática de SOD (1.24 vs 1.26 U/g Hb) y GPx (61.53 vs 65.94 U/g Hb) en las mujeres con DMO baja tratadas con tibolona. Al estratificar los niveles de los marcadores de EO con los niveles de densidad mineral ósea, se observó una disminución en DMO baja - LPO altos (19 vs 0%), para la enzima SOD una disminución en DMO baja - SOD baja (24 vs 0%); y para la enzima GPx una disminución en DMO baja - GPx baja (15 vs 0%), con el tratamiento de tibolona.

**Conclusión:** Los hallazgos sugieren que la terapia con tibolona disminuye el estrés oxidativo en mujeres posmenopáusicas con densidad mineral ósea baja.

**Palabras clave:** Estrés oxidativo, densidad mineral ósea, tibolona.

## **2. Introducción**

La menopausia se define como el cese de la menstruación, debido a la caída drástica de niveles de estrógenos, clínicamente se diagnostica después de 12 meses de amenorrea o si los niveles de estrógenos son menores de 25 pg/mL y los de la hormona folículo estimulante (FSH) son superiores a 50 mUI/mL.

La transición a la posmenopausia es un proceso fisiológico complejo, a menudo acompañado por los efectos adicionales del envejecimiento y el ajuste social. Dado que en México y Latinoamérica la esperanza de vida para la mujer excede los 70 años de edad, una mujer de 45 años vive más de un tercio de su vida en el estado posmenopáusico deficiente en estrógenos. La transición generalmente ocurre entre los 45-55 años de edad, algunos estudios poblacionales sugieren que el tabaquismo y el bajo nivel socioeconómico están asociados con la menopausia prematura; otros factores como la edad de la menarquía, el uso de anticonceptivos orales, el índice de masa corporal, la historia familiar y el origen étnico pueden afectar la edad en la que se presenta la menopausia.

En el estado posmenopáusico, debido a la depleción de estrógenos, se presentan diversos síntomas, cambios físicos y emocionales, tales como bochornos, sudoraciones, problemas genitourinarios, distrofia vaginal, dolores articulares y musculares, cambios metabólicos, cambios en el estado de ánimo y disminución de la libido. Así mismo, se ha observado cambios en el estado oxidativo de las mujeres en esta etapa.

El estrés oxidativo juega un papel importante en el proceso de envejecimiento y resulta del desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas y radicales libres que provocan daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes. A medida que el cuerpo envejece, los niveles de antioxidantes disminuyen. Está demostrado que la súbita reducción de estrógenos incrementa los niveles de estrés oxidativo, ya que son antioxidantes por sí mismos, debido a que poseen un anillo fenol, el cual puede actuar como un barredor de radicales libres y a la vez le permite donar un átomo  $H^+$ . Por lo que el cuerpo humano queda susceptible a una

variedad de patologías relacionadas con la edad, como enfermedades del corazón, trastornos vasomotores y osteoporosis.

Con la deficiencia de estrógenos en la posmenopausia se observa una disminución en la densidad mineral ósea en las mujeres. Durante la transición a la posmenopausia, los niveles séricos de  $17\beta$  estradiol disminuyen en un 85-90% y los niveles séricos de estrona disminuyen entre 65-75% de los niveles medios premenopáusicos. Los receptores estrogénicos presentes en osteoblastos y osteoclastos median un efecto protector, por lo que con esta disminución, el mecanismo relacionado con la pérdida ósea es un desequilibrio en los mediadores de la formación y resorción del hueso.

Dado el envejecimiento mundial de la población, la osteoporosis y sus consecuencias representan ahora un importante problema de salud pública, en particular en las mujeres. Los tratamientos contra la osteoporosis posmenopáusica hasta ahora están dirigidos a reducir las actividades de osteoclastos, en particular a través de terapias de reemplazo hormonal.

La terapia hormonal (TH) es el tratamiento de elección en las mujeres con menopausia recientemente sintomáticas (período menor a 3 años), entre las opciones de la TH se encuentra la tibolona, que es un esteroide sintético regulador selectivo de la actividad estrogénica tisular, con efectos progestagénicos y androgénicos. La tibolona trata los síntomas climatéricos y previene efectos a largo plazo en la menopausia como la pérdida de memoria y la disminución de densidad mineral ósea. Aunque no es la terapia estándar para la osteoporosis, la tibolona inhibe la resorción de masa ósea por su efecto estrogénico. Además, se ha visto un posible efecto antioxidante al disminuir la lipoperoxidación en el plasma y aumentar el antioxidante  $\alpha$ -tocoferol, pero aún no queda claro si esta hormona mejora el estrés oxidativo asociado a la pérdida de masa ósea en la posmenopausia; por lo que se pretende estudiar este efecto.

### 3. Marco teórico

#### 3.1 Estrés oxidativo

El envejecimiento se define como la suma de todas las alteraciones que se producen en un organismo con el paso del tiempo, las cuales conducen a pérdidas funcionales y finalmente a la muerte. La pérdida de capacidad regenerativa de los diferentes tejidos con el envejecimiento (que a su vez conduce a una respuesta alterada al estrés), ha llevado a la idea de que el envejecimiento se debe, al menos en parte, a la pérdida de células madre adultas funcionales necesarias para la reparación tisular.<sup>1-3</sup>

Una de las hipótesis más estudiadas y aceptadas acerca de la base molecular del envejecimiento ha sido la teoría del estrés oxidativo (EO), que sugiere que los radicales libres formados endógenamente en los procesos metabólicos de utilización del oxígeno pueden jugar un papel esencial en el proceso de envejecimiento.<sup>4</sup> Los seres humanos necesitan oxígeno ( $O_2$ ) para la producción de energía, lo cual lo hace fundamental para la vida, sin embargo, muchas reacciones en las que participa el  $O_2$  originan especies reactivas, de ahí que el oxígeno sea una molécula potencialmente tóxica.<sup>3,5,6</sup>

Se define como estrés oxidativo el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas (ER) y radicales libres (RL) que provocan daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes (AOx).<sup>5,7</sup>

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 oxidación.<sup>3,7</sup> Dentro de este concepto general, las formas reducidas del  $O_2$  se denominan especies reactivas del oxígeno (ERO); en las que se incluyen el anión superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el radical hidroxilo ( $OH^{\bullet}$ ) y el oxígeno singulete ( $^1O_2$ ).<sup>5,6,7</sup> Las ERO son producto del metabolismo celular y fuentes exógenas (rayos X, humo de tabaco, contaminación ambiental) y tienen una participación dual en la célula, ya que pueden adoptar un

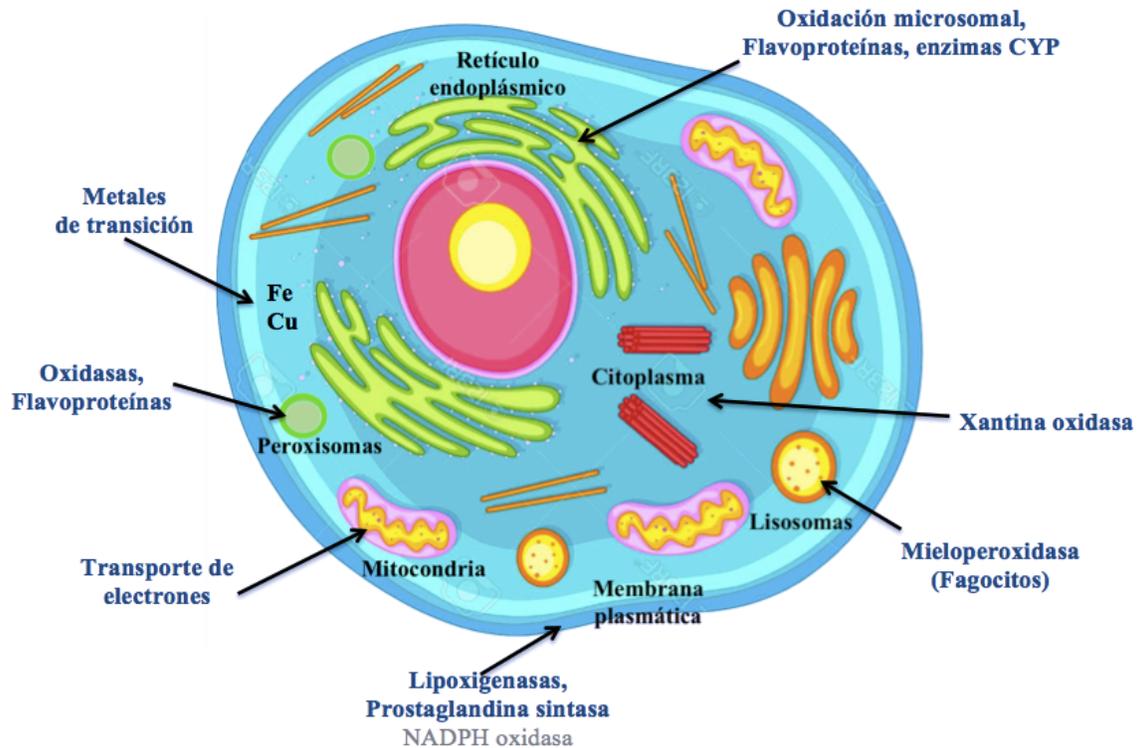
papel benéfico o perjudicial en los sistemas vivos.<sup>3,7</sup> Existen otros radicales libres biológicamente importantes como el hidroperóxido de lípidos (ROOH), lípido peróxido (ROO) y lípido alcóxido (RO), los cuales están asociados con lípidos de membrana; óxido nítrico (NO), dióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>) y peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), que son especies reactivas de nitrógeno; y el radical tiol (RS), que tiene un electrón desapareado en el átomo de azufre.<sup>7</sup> El tipo más frecuente es el RL del oxígeno, particularmente el anión superóxido y el radical hidroxilo.<sup>7,8</sup>

En los organismos vivos, las ERO tienen orígenes endógenos y exógenos. Los RL generados intracelularmente (Figura 1) actúan dentro y fuera de la célula. Su producción, accidental o deliberada, se localiza en cuatro fuentes.<sup>7,9</sup>

- a) Durante el metabolismo aeróbico normal, las mitocondrias consumen oxígeno molecular y lo reducen secuencialmente hasta producir agua. Una pequeña fracción del oxígeno se metaboliza vía reducción univalente y los inevitables productos intermedios de esta reacción son el radical superóxido, el peróxido de hidrógeno y el hidroxilo.
- b) En los peroxisomas se encuentran diferentes proteínas que pueden generar peróxido de hidrógeno como producto intermedio, dentro de las cuales están: acil-coA oxidasa, dopamina β-hidroxilasa, urato oxidasa y otras.
- c) El sistema enzimático citocromo P-450 es un lugar importante de producción de RL, debido a que cuenta con la presencia de iones de metales de transición, oxígeno y además se realiza la transferencia de electrones. Las enzimas que contiene este complejo son responsables del metabolismo oxidativo de xenobióticos, sustratos exógenos, en especial compuestos lipofílicos y sustancias endógenas que aumentan la producción de RL.<sup>8,10</sup>
- d) Los aniones superóxido y el oxígeno singulete pueden ser producidos cuando los fagocitos, los cuales son células que forman parte del sistema inmunológico (por ejemplo monocitos, neutrófilos y macrófagos), destruyen células infectadas con bacterias o virus, mediante una descarga oxidante compuesta básicamente por el peróxido de hidrógeno, ácido hipocloroso, peroxinitrito, además del oxígeno singulete y el anión superóxido. Aunque el uso de estos metabolitos endógenos altamente reactivos en la respuesta citotóxica de los

fagocitos también daña los tejidos del huésped, su inespecificidad es una ventaja ya que se ocupan de todos los componentes antigénicos de la célula patógena.<sup>7,6,8,11</sup>

## Fuentes endógenas de ERO y ERN



**Figura 1.** Fuentes endógenas de especies reactivas de oxígeno. Modificado de Belge E. 2016.<sup>7</sup>

Las fuentes exógenas incrementan en forma notable la producción de las ERO. Se ha establecido que altas ingestas de algunos metales de transición como el hierro y cobre promueven la generación de RL a partir de peróxidos. La capacidad de estos iones para aceptar y donar electrones constituye la base para la formación y propagación de muchas reacciones tóxicas, debido a que juegan un papel fundamental en la producción de radicales hidroxilo *in vivo*.<sup>7</sup> Otras fuentes exógenas descritas son la radiación, el humo del cigarro, algunos solventes orgánicos y pesticidas, los productos de la oxidación de lípidos en alimentos, la radiación solar, el ozono, productos químicos industriales, las micotoxinas, la hiperoxia y el sobreejercicio.<sup>8,10</sup>

La mayoría de las macromoléculas biológicas pueden ser oxidadas por los RL; sin embargo, las biomoléculas más lábiles son los lípidos. La peroxidación de lípidos es particularmente destructiva, ya que se desarrolla como una reacción en cadena autopropagante. Se inicia cuando las ERO atacan un ácido graso poli-insaturado (AGP) y le arrebatan un átomo de hidrógeno al grupo metileno adyacente al doble enlace, para formar el RL acil ácido graso. Rápidamente esta molécula adiciona oxígeno y se transforma en un RL peroxilo ácido graso que actúa como transportador de la reacción en cadena ya que ataca a otros AGP e inicia nuevas reacciones. Este mecanismo se facilita con la presencia de iones de metales de transición y por los dobles enlaces contenidos en la cadena AGP. Los productos finales de la peroxidación lipídica son lipoperóxidos (LPO) que al degradarse originan nuevos RL y una amplia variedad de compuestos citotóxicos como los aldehídos reactivos  $\alpha,\beta$  insaturados, entre ellos 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE), 2-propenal (acroleína) y malondialdehído (MDA), este último posee baja toxicidad.<sup>6,7,12</sup> En comparación con los RL, los aldehídos son relativamente estables y pueden difundirse dentro o incluso salir de la célula y atacar objetivos lejos del sitio de evento original. Por lo tanto, no solo son productos finales de procesos de peroxidación lipídica, sino que también pueden actuar como segundos mensajeros citotóxicos.<sup>7</sup> Las consecuencias del daño en la estructura molecular del AGP son más evidentes cuando estos lípidos forman parte de las membranas celulares o subcelulares, ya que se altera su cohesión, fluidez, permeabilidad y función metabólica. Esta última forma es la que se relaciona con el estrés oxidativo y el daño celular.<sup>8</sup>

Las proteínas, péptidos y aminoácidos también constituyen un blanco para las ERO, pero su acción es menos fuerte que la de los lípidos, debido al lento progreso de las reacciones. La presencia de cantidades significativas de aminoácidos aromáticos o sulfurados en una estructura proteínica la tornan más vulnerable a los RL. Estudios realizados *in vitro* precisan que las proteínas sufren alteraciones localizadas en los sitios ligados a metales de transición. Estos sitios son particularmente susceptibles debido a la facilidad con que los metales ligados

reaccionan con el peróxido de hidrógeno para formar iones hidroxilo los que, posteriormente, atacan a los aminoácidos adyacentes. El daño causado a las proteínas puede causar la pérdida de la actividad catalítica de enzimas, daños en la integridad de proteínas estructurales o interrumpir la regulación de las vías metabólicas. Una amplia variedad de enfermedades se han vinculado con la presencia de proteínas oxidadas, por ejemplo: artritis reumatoide, caratogénesis y Alzheimer.<sup>6,8,9</sup>

El ADN también constituye un blanco de ataque por parte de las ERO, principalmente el ADN mitocondrial; debido a su localización, se encuentra expuesto a un flujo constante y elevado de ERO provenientes de la cadena respiratoria; además, carece de histonas en su estructura lo que le resta estabilidad. Por otra parte sus mecanismos de reparación son menos eficientes. Las EROs pueden causar entrecruzamiento de proteínas-ADN, intercambio de cromátidas hermanas, daño a la estructura de la desoxirribosa-fosfato y oxidación de las cuatro bases nitrogenadas. El daño oxidativo al ADN es muy importante, debido a que las bases nitrogenadas dañadas pueden generar mutaciones que a su vez pueden resultar en carcinogénesis, apoptosis, necrosis y enfermedades hereditarias.<sup>5,6,8</sup>

Los carbohidratos, como la glucosa y otros monosacáridos relacionados, sufren peroxidación bajo ciertas condiciones y forman compuestos dicarbonílicos y peróxido de hidrógeno. La importancia de esto radica en que estas biomoléculas una vez activadas pueden interactuar con otras y conformar nuevas asociaciones moleculares.<sup>8</sup>

### **3.1.1 Sistema antioxidante**

Para contrarrestar el efecto nocivo de los radicales libres, los organismos aerobios cuentan con sistemas de defensa antioxidante (Cuadro 1), que incluyen moléculas, enzimas y sequestradores químicos que previenen el daño oxidativo.<sup>13</sup> Se conoce como antioxidante a cualquier sustancia que a bajas concentraciones, comparado con el sustrato oxidable, retarda o previene significativamente la oxidación de ese sustrato, que puede ser: lípido, proteína, ADN o cualquier otro tipo de molécula.<sup>6,10</sup>

Los antioxidantes pueden actuar en diferentes etapas en una secuencia oxidativa, de ahí que su sitio de acción puede ser intracelular, en la membrana celular o extracelular.<sup>8,13</sup>

- I. Antioxidantes celulares. La protección antioxidante ocurre a diferentes niveles:<sup>13</sup>
  - a) Previniendo la formación de RL.
  - b) Interceptando los radicales cuando son formados.
  - c) Reparando el daño oxidativo causado por los radicales.
  - d) Incrementando la eliminación de las moléculas dañadas por medio de apoptosis.
  - e) No reparando excesivamente las moléculas dañadas para minimizar la introducción de mutaciones.
  - f) Induciendo y asistiendo los antioxidantes enzimáticos y agentes detoxificantes.
- II. Antioxidantes de la membrana celular. Se requiere de diferentes tipos de antioxidantes: moléculas liposolubles en el interior de la membrana e hidrosolubles en la parte externa, debido a la doble característica de la membrana celular (hidrofóbica en el interior e hidrofílica en el exterior).<sup>8,13</sup>
- III. Antioxidantes extracelulares: Se han descrito en los líquidos celulares algunas variantes de enzimas que actúan a este nivel. Diferentes proteínas que abaten la disponibilidad de los pro-oxidantes como los iones metálicos (hierro y cobre), por ejemplo: albúmina, transferrina, ferritina, hemopexina, metalotioneína y ceruloplasmina; compuestos de bajo peso molecular como: glutatión, bilirrubina, ácido úrico, vitamina C, vitamina E, vitamina A, carotenoides (licopeno, luteína y  $\beta$ -caroteno) y proteínas con actividad de oxidación-reducción.<sup>6,10,13</sup>

**Cuadro 1.** Sistemas de defensa contra el daño oxidativo.

<b>Sistema Antioxidante</b>	<b>Antioxidante</b>
1. Antioxidantes preventivos o primarios. Suprimen la formación de radicales libres	
a. Descomposición no-radical de hidroperóxidos o peróxido de hidrógeno (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).	Enzimas: - Catalasa (CAT) - Glutatión peroxidasa (GPx)
b. Secuestro de iones metálicos catalíticos por quelación.	Proteínas: - Transferrina, ferritina - Ceruloplasmina - Albúmina - Metalotioneínas
c. Remoción o depuración de especies reactivas de oxígeno.	Enzimas: - Superóxido dismutasa (SOD)
2. Antioxidantes “atrapadores” de radicales o secundarios. Atrapan radicales para inhibir la cadena de iniciación o romper la cadena de propagación.	a. Hidrofílicos: - Vitamina C - Ácido úrico - Bilirrubina - Albúmina b. Lipofílicos: - Vitamina E - Vitamina A y Carotenoides - Melatonina - Estrógenos
3. Enzimas reparadoras y <i>de novo</i> o terciarios. Reparar el daño y reconstituyen las biomoléculas.	- Reparadoras de lípidos - Reparadoras de proteínas - Reparadoras de ADN

*Tomado de Sánchez-Rodríguez MA, Mendoza Nuñez VM. 2003<sup>13</sup>*

### 3.2 Menopausia

La menopausia es el cese de los ciclos menstruales, sucede por atresia de los folículos ováricos y su capacidad de producir estrógeno y progesterona ante el estímulo de las hormonas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH). Se diagnostica después de 12 meses de amenorrea no asociada con una causa patológica, ya que puede ser inducida por cirugía, quimioterapia o radiación.<sup>14,15</sup>

Durante la menopausia hay una disminución sustancial en la cantidad de estrógeno producido, este actúa como una hormona lipofílica que ayuda a promover las características sexuales secundarias femeninas e induce también una variedad de efectos beneficiosos en otras áreas del cuerpo; específicamente,

esta aumenta la producción hepática de proteínas de unión como la globulina, mantiene un equilibrio de fluido apropiado en el cuerpo al permitir la retención de agua y sal, promueve la coagulación, y permite un perfil lipídico favorable a través de aumentos en la lipoproteína de alta densidad (HDL) y disminuciones en la lipoproteína de baja densidad (LDL).<sup>16</sup>

La liberación de estrógenos esta mediada por la FSH producida a partir de la glándula pituitaria anterior, que a su vez estimula las células de la granulosa del ovario para sintetizar el estrógeno. En el ovario, los estrógenos se producen a partir de la conversión de los andrógenos a través de la enzima aromatasa.<sup>14,17</sup>

El estrógeno se sintetiza en tres formas: estradiol, estriol y estrona. Específicamente, el 17 $\beta$ -estradiol es la forma más común y potente de estrógeno que predomina durante los períodos premenopáusico y perimenopáusico; mientras que la estrona, la forma mucho más débil, es frecuente durante la fase posmenopáusica. La última forma de estrógeno se produce normalmente a partir de la conversión de androstenediona en el tejido adiposo y el hígado. Además de producirse en los ovarios y una porción del ovario conocida como el cuerpo lúteo, los estrógenos son sintetizados en cantidades más pequeñas por otros tejidos, como las glándulas suprarrenales, las células grasas, el tejido mamario y los hepatocitos.<sup>17</sup>

En la transición menopáusica las longitudes del ciclo menstrual se vuelven irregulares, y las concentraciones de FSH aumentan en respuesta a concentraciones disminuidas de hormonas ováricas. A medida que progresa la transición, los ciclos menstruales se pierden y finalmente se detienen, al igual que la ovulación.<sup>18</sup>

El taller de etapas del envejecimiento reproductivo (STRAW= Stages of Reproductive Aging Workshop) propuso una nomenclatura y un sistema de estadificación para el envejecimiento ovárico. Es ampliamente considerado como el estándar de oro para caracterizar el envejecimiento reproductivo a través de la menopausia (Figura 2).<sup>19</sup>

	Menarca				FMP (0)							
Etapa	-5	-4	-3b	-3a	-2	-1	+1a	+1b	+1c	+2		
Terminología	Reproductiva				Transición a la menopausia		Posmenopausia					
	Temprana	Óptima	Tardía		Temprana	Tardía	Temprana		Tardía			
	Perimenopausia											
Duración	Variable				Variable	1-3 años	2 años (1+1)	3-6 años	Vida restante			
<b>Criterios principales</b>												
Ciclo menstrual	Variable o regular	Regular	Regular	Cambios sutiles en el flujo y la longitud	Longitud variable Diferencia persistente ≥ 7 días en la longitud de ciclos consecutivos	Intervalo de amenorrea ≥ 60 días						
<b>Criterios de apoyo</b>												
Endocrinos FSH AMH Inhibina B			Baja Baja	Variable* Baja Baja	↑ Variable* Baja Baja	↑ >25 UI/L** Baja Baja	↑ Variable Baja Baja	Estable Muy baja Muy baja				
Recuento de los folículos antrales			Bajo	Bajo	Bajo	Baja	Muy bajo	Muy bajo				
<b>Características descriptivas</b>												
Síntomas						Probablemente síntomas vasomotores	Muy probablemente síntomas vasomotores					Exacerbación de los síntomas de atrofia urogenital

\* Toma de la muestra de sangre en los días 2 a 5 del ciclo; ↑ = elevación.

\*\* Nivel esperado aproximado con base en estudios que utilizan el estándar hipofisario internacional actual.

**Figura 2.** Sistema STRAW + 10. Tomado de Kasper D, *et al.* 2016.<sup>20</sup>

En la fase temprana de la perimenopausia, los intervalos menstruales comienzan a variar en 7 días o más en ciclos consecutivos. Los cambios endocrinos incluyen la disminución de la inhibina B (una glicoproteína dimérica que suprime la FSH) y el aumento ligero de los niveles de FSH con niveles conservados de estrógeno. Los niveles de hormona antimulleriana (HAM) y el recuento de folículos antrales ováricos disminuyen.<sup>18,19</sup>

La fase tardía de la transición menopáusica ocurre 1 a 3 años antes del cese de la menstruación y se caracteriza por un aumento de los intervalos menstruales de más de 60 días. Los niveles de FSH se incrementan (25 UI/L) hay también bajos niveles de HAM, disminución de folículos antrales (AFC) e inhibina B.<sup>18,19</sup>

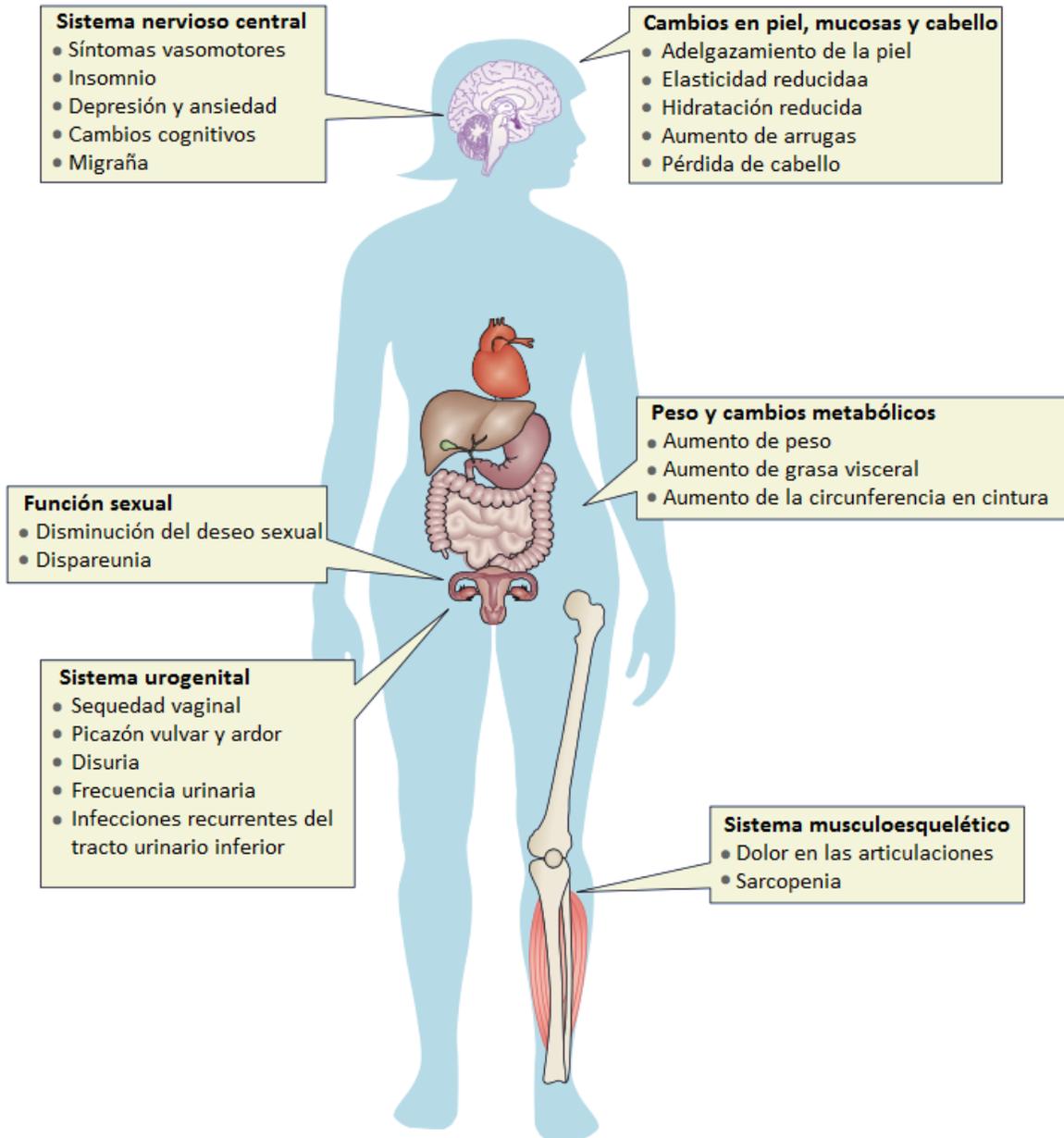
Los niveles de estrógeno continúan disminuyendo y los niveles de FSH aumentan durante aproximadamente 2 años después de la menstruación final. Luego,

durante los próximos 3 a 6 años, la FSH se estabiliza, sin embargo, son muy bajos los niveles de FSH, HAM e inhibina B.<sup>18,19,21</sup>

La transición menopáusica generalmente se produce entre los 45 y 55 años de edad.<sup>14,15</sup> Factores como la edad en la cual las mujeres tienen la menarquia, el uso previo de anticonceptivos orales, el índice de masa corporal, el origen étnico y la historia familiar pueden afectar la edad en la que las mujeres tienen su período menstrual final. Algunos estudios poblacionales sugieren que el tabaquismo y el bajo nivel socioeconómico están asociados con los períodos menstruales finales prematuros.<sup>15</sup>

Los síntomas comunes de la menopausia a menudo comienzan durante la transición perimenopáusica en una mediana de 50 años o 5 años antes de la menopausia y continúan durante varios años después, en algunas mujeres los síntomas vasomotores continúan durante períodos de tiempo aún más largos.<sup>18</sup>

Entre los signos y síntomas que acompañan la transición menopáusica se encuentran, la deficiencia estrogénica urogenital, dolores articulares y musculares, cambios en el estado de ánimo, insomnio, disfunción sexual, síntomas vasomotores como bochornos y sudoración además de la disminución de la memoria (Figura 3).<sup>17,22</sup>



**Figura 3.** Síntomas en la posmenopausia. Tomado de Monteleone P, *et al.* 2018.<sup>23</sup>

### 3.2.1 Densidad mineral ósea en la posmenopausia

La palabra osteoporosis, etimológicamente significa “hueso poroso”. Se define como una enfermedad progresiva caracterizada por baja densidad mineral ósea (DMO), provocando una disminución de resistencia que predispone a los pacientes a mayor fragilidad del esqueleto y riesgo de fractura. La resistencia del hueso refleja principalmente la integración de la densidad y calidad ósea.<sup>24,25</sup>

La densidad mineral ósea es la medida de la cantidad de minerales que contiene cierta área o volumen de hueso. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) el diagnóstico de osteoporosis y osteopenia se basa en la DMO, expresada como T-score. Osteoporosis es cuando el T score es menor a 2.5 desviaciones estándar (DE) inferior a la media encontrada en la columna, cadera o muñecas de mujeres adultas, jóvenes y sanas (T score < -2.5 DE). Se tiene osteopenia cuando el valor de T score se encuentra entre -1 y -2.5 DE.<sup>24,26,27</sup>

En México se estima que 70% de las mujeres de 50 años o mayores tienen densidad mineral ósea baja (50% con osteopenia y 20% con osteoporosis); este porcentaje, proyectado a la población del año 2025, resultaría en 9,189,991 mujeres con densidad mineral ósea baja. Se ha reportado que la incidencia de fracturas de cadera es de 169 por cada 100,000 mujeres al año. Esto sugiere que el riesgo de fracturas de cadera en mujeres mexicanas de 50 años o mayores será de 8.5% por el resto de su vida.<sup>24,28</sup> La osteoporosis en la mujer posmenopáusica es un problema de salud pública creciente que se debe prevenir, por lo que se deben tomar en cuenta aspectos importantes en el metabolismo óseo.<sup>24</sup>

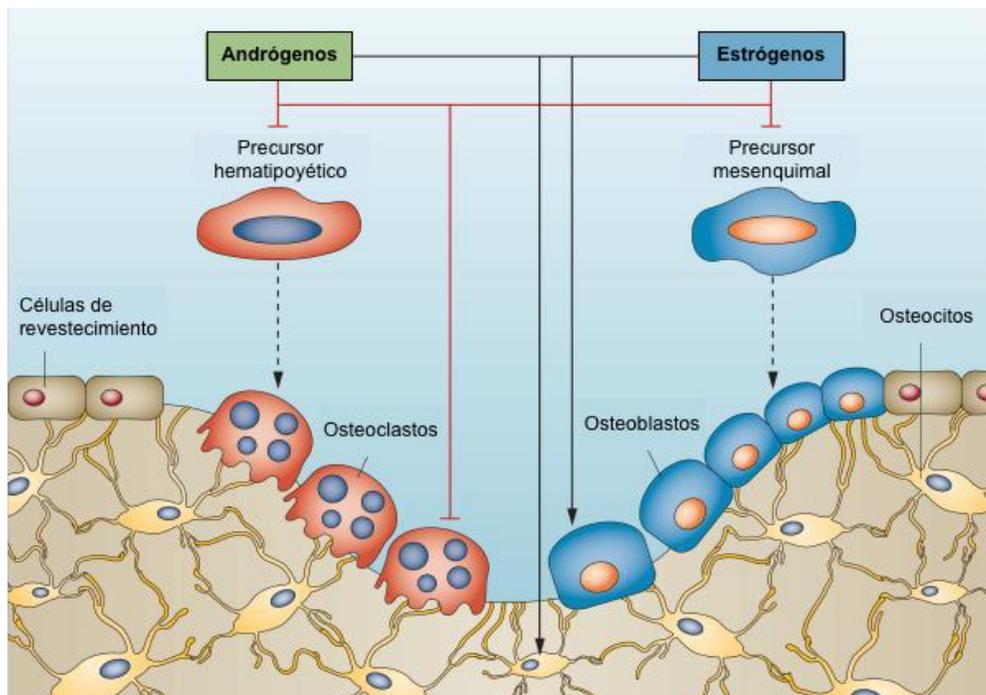
El hueso es un órgano dinámico que sirve funciones mecánicas y homeostáticas, tales como la protección de los órganos internos y el suministro de palancas para los músculos durante la locomoción. Además, el esqueleto alberga la médula ósea, proporciona un nicho crítico para la hematopoyesis y sirve como depósito de calcio, fosfato y carbonato. Sufre un continuo proceso de autoregeneración llamado remodelación ósea, en la cual se remueve el hueso viejo y se reemplaza con hueso nuevo. Este proceso regenerativo ocurre en distintas áreas del hueso conocidas como unidades metabólicas óseas (UMO). Dentro de cada UMO la formación ósea por osteoblastos y la resorción ósea por osteoclastos se acopla fuertemente en un delicado equilibrio para mantener la masa ósea y la fuerza para resistir la deformidad.<sup>29,30</sup>

Aunque normalmente es estrictamente regulado, este equilibrio puede ser interrumpido en diversas circunstancias. Por ejemplo, durante el envejecimiento de las células mesenquimales (MCs, los progenitores de osteoblastos) se vuelven

más propensas a diferenciarse en adipocitos que en osteoblastos, lo cual conduce a un exceso relativo de actividad de osteoclastos, favoreciendo una mayor resorción ósea y menos formación ósea.<sup>2,32</sup>

En contraste, la deficiencia de estrógenos en las mujeres posmenopáusicas da como resultado una diferenciación y actividad de los osteoclastos desreprimidos que no se compensan por una actividad osteoblástica aumentada de manera similar.<sup>22,31</sup> El envejecimiento y la menopausia conducen así a un aumento de la fragilidad ósea (osteoporosis) y un mayor riesgo de fractura.<sup>22</sup>

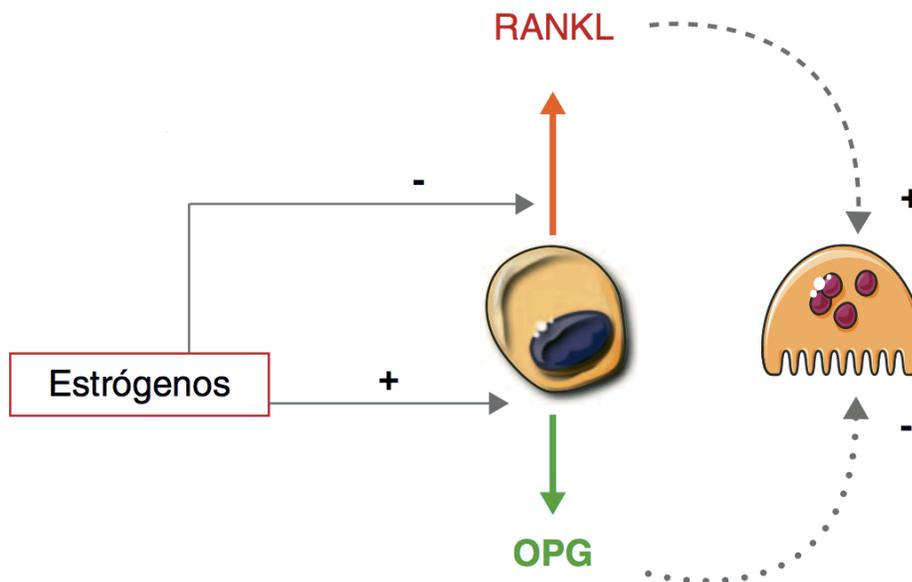
El cese de la función ovárica asociada con niveles reducidos de estrógeno en la menopausia es el comienzo de la rápida pérdida ósea en las mujeres. Durante la transición de la menopausia, los niveles séricos de  $17\beta$ -estradiol disminuyen en un 85-90% y los niveles séricos de estrona disminuyen entre 65-75% de los niveles medios premenopáusicos. Esta fase de pérdida ósea acelerada puede persistir hasta 10 años después de la menopausia en la mayoría de las mujeres.<sup>30</sup>



**Figura 4.** Efecto de los andrógenos y estrógenos en el remodelado óseo. Tomado de Manolagas SC, *et al.* 2013.<sup>31</sup>

Los mecanismos de deficiencia de estrógenos relacionados con la pérdida ósea son múltiples; en general, el efecto de la deficiencia de estrógeno en el hueso es el resultado de la pérdida de restricción y el control que el estrógeno tiene sobre los mediadores de la resorción ósea (Figura 4).<sup>30,31</sup>

Por lo general, el estrógeno puede inhibir la formación y actividad de los osteoclastos aumentando la producción de osteoprotegerina (OPG) o el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ). OPG es un receptor de señuelo soluble para el ligando del receptor activador del factor nuclear  $\kappa$ B (RANKL) y TGF- $\beta$  induce la apoptosis de los osteoclastos (Figura 5). Estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que el estrógeno suprime la producción de RANKL por células osteoblásticas y linfocitos T y B. El estrógeno también estimula directamente la apoptosis de células precursoras de osteoclastos y disminuye la diferenciación de precursores de osteoclastos bloqueando la transcripción dependiente de la proteína activadora, activada por el factor estimulante de colonias RANKL/macrófago (M-CSF) mediante la reducción de la actividad c-Jun.<sup>30,33</sup>



**Figura 5.** Efecto de los estrógenos sobre RANKL y OPG. Tomado de Riancho JA, *et al.* 2011.<sup>34</sup>

Indirectamente, el estrógeno puede suprimir la producción de citoquinas reabsorbentes de hueso tales como interleucina (IL) -1, IL-6, TNF- $\alpha$ , M-CSF y prostaglandinas. Finalmente, el estrógeno también es capaz de inhibir la actividad de los osteoclastos maduros por mecanismos directos mediados por receptores.<sup>30,33</sup> Además de los cambios en los niveles de estrógeno, una reducción de la inhibina ovárica B a través de la transición de la menopausia y los niveles elevados de la hormona folículo estimulante también aumentan la remodelación ósea.<sup>30</sup>

En otros tejidos, los efectos beneficiosos de los estrógenos, como aquellos en los lípidos, células endoteliales, y las neuronas, se considera que se produce mediante la mejora de defensa contra el estrés oxidativo.<sup>35</sup>

Existe la hipótesis de que el estrógeno tiene la capacidad de proteger el hueso contra el estrés oxidativo por actuar como antioxidante. *In vitro* y experimentos con animales, mostraron que la falta de estrógeno altera la generación de especies reactivas de oxígeno y la capacidad de defensa antioxidante de la célula, dando lugar a una acumulación de estas especies oxidantes, que a su vez, son capaces de estimular la formación de osteoclastos y la actividad de reabsorción.<sup>25,35</sup>

Las cascadas de señalización pueden ser moduladas por ERO después del estrés oxidativo o por generación regulada por citoquinas de ERO o mediante la modulación de las defensas oxidantes. Por lo tanto, si el estrógeno aumenta las defensas oxidantes en el hueso, esto podría modular la transducción de la señal en las células óseas con vías de señalización que son sensibles a ERO.<sup>35</sup>

Una de las células que se ha demostrado que es activada por ERO es el osteoclasto. Varias señales esenciales para los osteoclastos son sensibles a la activación por ERO, incluyendo la quinasa amino-terminal de NF- $\kappa$ B, c-Jun (JNK), PI3K y p38 MAP. Además, los osteoclastos contienen una NADPH oxidasa, una enzima que es capaz de generar ERO regulada por citoquinas.<sup>35</sup>

Los ERO son también potentes inductores en muchas células de TNF- $\alpha$ , y otras citoquinas fuertemente implicadas en la pérdida ósea de la deficiencia de

estrógeno. Por lo tanto, si el estrógeno aumenta las defensas oxidantes en el hueso, la deficiencia de estrógenos podría estimular directa o indirectamente la resorción ósea.<sup>35</sup>

Dado el envejecimiento mundial de la población, la osteoporosis y sus consecuencias representan ahora un importante problema de salud pública, en particular en las mujeres. Los tratamientos contra la osteoporosis posmenopáusica hasta ahora están dirigidos a reducir las actividades de osteoclastos, en particular a través de terapias de reemplazo hormonal.<sup>36</sup>

### **3.3 Estrés oxidativo en la menopausia**

El estrés oxidativo juega una parte importante del proceso de envejecimiento y resulta de la sobreproducción de radicales libres como las especies de oxígeno reactivo que abruma los mecanismos de defensa antioxidante del cuerpo. Normalmente, los antioxidantes neutralizan los ERO y ayudan a prevenir la sobreexposición del estrés oxidativo. Sin embargo, a medida que el cuerpo envejece, los niveles de antioxidantes disminuyen, dejando al cuerpo humano susceptible a una variedad de patologías relacionadas con la edad. Esta disminución combinada con una pérdida gradual de estrógeno en el sistema reproductivo femenino está altamente asociada con las diversas secuelas de la menopausia como enfermedades del corazón, trastornos vasomotores y osteoporosis.<sup>17</sup> Se ha demostrado que la marcada reducción del estrógeno aumenta los niveles de estrés oxidativo en el cuerpo, dependiendo de la concentración y estructura química de esta hormona.<sup>17,37</sup>

Las concentraciones séricas de citocinas inflamatorias y biomarcadores pro-oxidantes como el glutatión, el 4-hidroxinenal y el malondialdehído son mayores en las mujeres posmenopáusicas que en las mujeres premenopáusicas. La elevación de citoquinas y biomarcadores pro-oxidantes sugiere que hay un alto grado de estrés oxidativo en el estado posmenopáusico.<sup>17</sup>

Los estrógenos por sí mismos, son antioxidantes, ya que poseen un anillo fenol, el cual puede actuar como un barredor de radicales libres y, a la vez, le permite

donar un átomo H<sup>+</sup>. Esta propiedad le posibilita al estrógeno intervenir en diferentes etapas de la oxidación lipídica. Estudios *in vitro* han evidenciado la capacidad antioxidativa de los estrógenos, al disminuir la oxidación de LDL y el CuSO<sub>4</sub>, e incluso se ha mostrado una disminución de lesiones inducidas por radicales libres en cadenas de ADN.<sup>16</sup>

Se ha demostrado que los diferentes estrógenos y sus metabolitos poseen capacidades antioxidantes. En un estudio comparativo *in vitro* entre algunos tipos de estrógenos, se logró clasificar la capacidad antioxidante de mayor a menor: estradiol > estrona > equilina > estriol. El estradiol y la estrona, junto a sus metabolitos catecol, muestran capacidad antioxidativa en concentraciones micromolares, en tanto los metabolitos metoxi tienen la misma capacidad antioxidativa a concentraciones de picomolares. Los metabolitos estrogénicos, catecolestrógenos y metoxiestrógenos, además de funcionar como barredores de radicales libres, también reducen y mantienen reducidos los metales de transición Fe y Cu, lo cual previene que éstos actúen como prooxidantes.<sup>16</sup>

### **3.4 Terapia hormonal**

Frente a todos los efectos que la falta de estrógenos tiene en la mujer, se plantea la terapia hormonal (TH) y otras posibilidades terapéuticas con el fin de contrarrestar esta situación involutiva de la mujer.<sup>38</sup> Se define como TH el uso de estrógenos solos (terapia estrogénica) o combinados con progestinas (terapia combinada continua o secuencial) para el manejo de los padecimientos asociados con la menopausia.<sup>33</sup>

La terapia hormonal constituye la opción más efectiva para tratar los síntomas vasomotores y de deficiencia estrogénica urogenital. Otros síntomas relacionados con la menopausia, como dolores articulares y musculares, cambios en el estado de ánimo, disturbios del sueño, disfunción sexual y disminución de la libido pueden mejorar durante el tratamiento con la terapia hormonal. El tratamiento con terapia hormonal individualizada, incluyendo preparaciones androgénicas cuando sea necesario, mejora la sexualidad y la calidad de vida en general.<sup>38,39</sup>

Las dosis utilizadas en la TH deben ser las dosis efectivas más bajas. Aún no se dispone de datos suficientes acerca de las implicaciones cardiovasculares y el riesgo de fractura asociados a dosis bajas a largo plazo.<sup>39</sup>

En general, los progestágenos deben ser adicionados a los estrógenos sistémicos en todas las mujeres que poseen útero, con el fin de prevenir la hiperplasia y el cáncer endometrial.<sup>38,39</sup>

La terapia hormonal con andrógenos se debe reservar para aquellas mujeres que presenten signos y síntomas clínicos de deficiencia androgénica; produce efectos benéficos significativos, en particular en la calidad de vida y en la función sexual, en mujeres con ooforectomía bilateral o falla adrenal.<sup>40</sup>

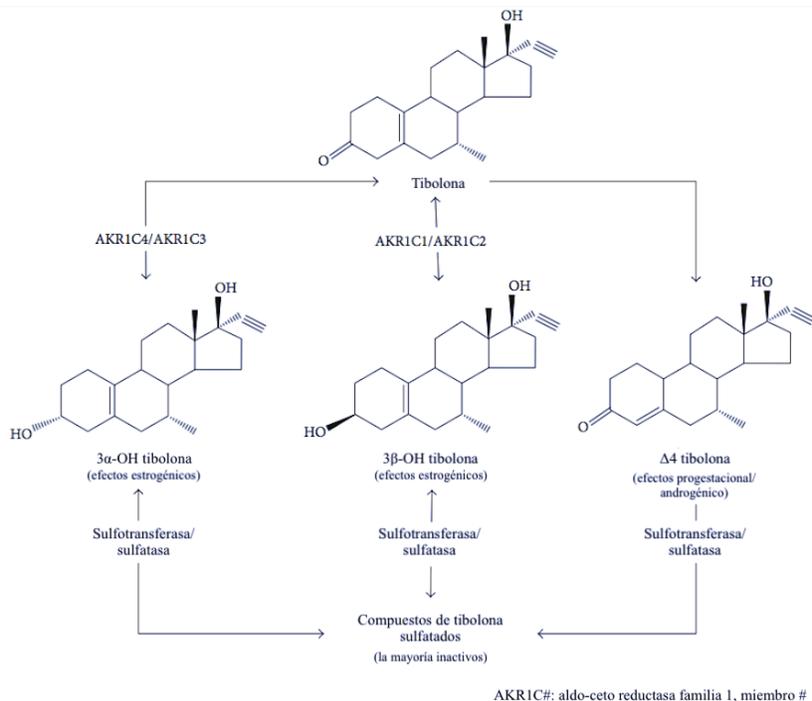
El tratamiento debe ser individualizado y debe tratarse a toda aquella mujer en la que el beneficio supere al riesgo. La TH es el tratamiento de elección en las mujeres con menopausia precoz y ooforectomía bilateral con alto riesgo de osteoporosis, así como en las pacientes con menopausia reciente sintomáticas (período menor a 3 años), debido principalmente al efecto beneficioso de esta terapia en el riesgo de enfermedad cardiovascular y en la función cognitiva.<sup>38</sup>

La terapia hormonal debe ser parte de una estrategia que incluya recomendaciones de estilo de vida, como alcanzar y conservar el peso adecuado con una alimentación correcta y actividad física regular, además de mantener una presión arterial  $\leq 130/80$  mm Hg y niveles de colesterol total  $\leq 200$  mg/dL, lipoproteína de alta densidad por encima de 50 mg/dL, triglicéridos  $\leq 150$   $\mu$ g/dL y la glucosa en ayunas  $\leq 120$  mg/dL. Así como erradicar los hábitos del tabaquismo y alcoholismo.<sup>39</sup>

Además de la terapia hormonal sustitutiva con estrógenos existen otras alternativas entre las que se encuentran los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS), los inhibidores selectivos de la recaptura de noradrenalina (ISRN) y la gabapentina que son eficaces para reducir los síntomas vasomotores, los fitoestrógenos (p.ej. isoflavonas) y tibolona, un esteroide sintético, el cual es el tratamiento a evaluar en este estudio.<sup>41,42,43</sup>

### 3.4.1 Tibolona

La tibolona es un regulador sintético selectivo de la actividad estrogénica tisular, además tiene efectos progestagénicos y androgénicos. Está indicada para el tratamiento sintomático de los sofocos y otros síntomas debidos a la menopausia, la prevención de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas y el aumento de la densidad mineral ósea en pacientes con osteoporosis posmenopáusica establecida.<sup>44</sup> La tibolona es metabolizada hacia dos metabolitos estrogénicos, 3 $\alpha$  hidroxitibolona y 3 $\beta$  hidroxitibolona, los cuales circulan predominantemente en sus formas sulfatadas inactivas (Figura 6).<sup>45,46</sup> Estos metabolitos sólo se vuelven estrogénicamente activos cuando el grupo sulfato es separado por la enzima sulfatasa en los tejidos blanco. La tibolona en sí misma y su metabolito 3 $\beta$  pueden ser convertidos en un  $\Delta$ 4-isómero, el cual puede unirse y activar los receptores de progesterona y andrógeno.<sup>46</sup> La tibolona también disminuye significativamente la globulina transportadora de hormonas sexuales y aumenta la testosterona libre circulante, aumentando más su androgenicidad.<sup>47</sup>



**Figura 6.** Estructura química de tibolona y sus metabolitos. Tomada de Pinto-Almazán, et al. 2017.<sup>48</sup>

Este fármaco muestra una acción distinta de acuerdo con los diferentes tejidos sobre los que actúa, ya que se establece un metabolismo específico propio de cada tejido debido a que induce una actividad enzimática característica que determina cual metabolito va a estimular al receptor celular. Por esta actividad farmacológica se le conoce como STEAR del inglés *Selective Tissue Estrogenic Activity Regulator*.<sup>49</sup>

La tibolona tiene acción estrogénica en el hueso, la vagina y el cerebro; el efecto es progestacional sobre el endometrio y androgénico sobre el hígado y el cerebro. En la glándula mamaria la tibolona inhibe la actividad de la sulfatasa y la 17 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa resultando en un bloqueo a la conversión de estrona a estradiol. Se ha propuesto que este bloqueo protege del desarrollo de cáncer, adicionalmente no aparece congestión mamaria ni mastalgia.<sup>45</sup> Al mismo tiempo, por la acción androgénica se frena la actividad endometrial del útero y por ello los sangrados son esporádicos y mínimos, lo que permite utilizar la tibolona en mujeres que conserven el útero.<sup>45,49</sup>

La tibolona trata los síntomas climatéricos y previene efectos a largo plazo de la menopausia, como la osteoporosis, porque inhibe la resorción de masa ósea por su efecto estrogénico, así mismo reduce las sofocaciones y los síntomas vasomotores. Como andrógeno, mejora la libido, la sequedad vaginal y la dispareunia, repercutiendo positivamente sobre el estado emocional así como la calidad del sueño; reduce los niveles de colesterol total, triglicéridos y colesterol de alta densidad sin afectar el de baja densidad.<sup>45,47</sup>

En la mujer posmenopáusica la tibolona se da como terapia hormonal sustitutiva a dosis de 2,5 mg/día, se absorbe rápidamente en el intestino y alcanza su máxima concentración en la sangre a las 4 horas, posteriormente se metaboliza en el hígado, eliminándose por la orina y las heces. En total la vida media de depuración es cercana a 45 horas.<sup>45,50</sup> En algunos estudios se ha informado la ocurrencia de incremento del peso corporal, acné, piel grasosa, discreto aumento del vello facial y sangrado.<sup>45</sup>

Como se ha mencionado la tibolona tiene efecto estrogénico sobre el hueso, esto debido a que los metabolitos 3 $\alpha$  hidroxitibolona y 3 $\beta$  hidroxitibolona se unen a los

receptores estrogénicos (RE), controlando de esta manera la resorción ósea mediada por los osteoclastos. Estos metabolitos también tienen un efecto antioxidante a nivel de hueso, ya que disminuye la generación de ERO inhibiendo así la formación de osteoclastos y la actividad de resorción.<sup>2,30,33,35,51</sup>

En la posmenopausia debido a la disminución de los estrógenos, la mujer pierde protección antioxidante. Además, ocurren diversos síntomas y procesos que afectan la calidad de vida de la mujer, uno de ellos es la pérdida de densidad mineral ósea. La terapia hormonal con tibolona además de tener un efecto benéfico en la masa ósea tiene un posible efecto antioxidante.

#### **4. Planteamiento del problema**

La posmenopausia es una etapa en la mujer en donde se presentan diversos cambios, tanto físicos como emocionales debido a la súbita disminución de los niveles de estrógenos que acompañan el proceso de la menopausia. Estas hormonas son importantes para mantener un equilibrio bioquímico entre las funciones oxidantes y antioxidantes, por lo que su disminución provoca un desequilibrio oxidativo, repercutiendo en diversas funciones que se llevan a cabo en el organismo de la mujer, entre éstas se encuentra la disminución de la densidad mineral ósea.

Los estrógenos tienen efecto protector en el hueso, su función más importante se lleva a cabo en el control de la resorción ósea, actuando específicamente sobre los osteoclastos, de tal manera que su disminución provoca mayor pérdida de densidad mineral ósea junto con el aumento de estrés oxidativo. Por otro lado, la terapia hormonal con tibolona, al ser una molécula con acciones estrogénicas, podría ser capaz de aumentar los niveles de DMO en mujeres posmenopáusicas y disminuir el estrés oxidativo; por lo que, se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es el efecto de la tibolona sobre el estrés oxidativo asociado a la pérdida de densidad mineral ósea en la posmenopausia?

## **5. Hipótesis**

Se han estudiado los mecanismos en las células óseas en donde la deficiencia de estrógenos afecta el equilibrio de la formación y resorción del hueso, además, siendo estas hormonas antioxidantes, al disminuir se observa un desequilibrio en el sistema oxidativo de las mujeres posmenopáusicas que puede estar aumentado si se tiene osteoporosis. Hay evidencia de que la tibolona tiene efecto estrogénico y un posible efecto antioxidante; por lo que suponemos que la terapia con tibolona puede contrarrestar el estrés oxidativo asociado a la pérdida de la densidad mineral ósea en las mujeres que atraviesan la posmenopausia.

## **6. Objetivos**

### **General**

Determinar el efecto de la tibolona sobre el estrés oxidativo asociado a la pérdida de la densidad mineral ósea en la posmenopausia.

### **Específicos**

- Analizar el grado de estrés oxidativo mediante la cuantificación de los marcadores: Lipoperóxidos plasmáticos, las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa, la razón SOD/GPx, el ácido úrico y la puntuación de estrés oxidativo.
- Establecer la posible relación entre la pérdida de masa ósea y el estrés oxidativo en la posmenopausia.

## **7. Material y métodos**

### **7.1 Diseño experimental**

Ensayo clínico controlado doble ciego

### **7.2 Universo de estudio**

51 mujeres posmenopáusicas de 45 a 59 años de edad, residentes de la ciudad de México y área metropolitana.

### **7.3 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación**

#### **Inclusión**

- Mujeres posmenopáusicas de 45 a 59 años de edad.

- Clínicamente sanas o con enfermedades crónico-degenerativas controladas
- Residentes de la Ciudad de México y área metropolitana
- Mujeres con menopausia natural
- Sin ingesta de suplementos antioxidantes
- Sin ingesta de suplementos con calcio
- Que hayan firmado el consentimiento informado

#### **Exclusión**

- Ingesta actual de terapia hormonal
- Cáncer de cualquier tipo
- Cirrosis o disfunción hepática
- Trombosis profunda
- Tromboembolia pulmonar
- Sangrado genital anormal sin diagnóstico
- Embarazo

#### **Eliminación**

- Inasistencia a toma de muestra
- Inasistencia a entrega de tratamiento
- Presencia de reacciones adversas
- Abandono por decisión propia

### **7.4 Variables**

#### **Independiente**

- Terapia hormonal

#### **Dependientes**

- Estrés oxidativo
- Densidad mineral ósea

#### **Interviniente**

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

## Operacionalización de variables

Variables	Definición	Nivel de medición	Categorías
Terapia hormonal con tibolona	Tratamiento farmacológico con un esteroide sintético con actividad estrogénica. <sup>41</sup>	Cualitativa nominal	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Con tibolona</li> <li>· Con placebo</li> </ul>
Estrés oxidativo	Desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas y radicales libres que provocan daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes. <sup>5</sup>	<p>Cuantitativa continua</p> <p>Cualitativa nominal</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· LPO (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</li> <li>· SOD (U/gHb)</li> <li>· GPx (U/gHb)</li> <li>· SOD/GPx</li> <li>· Ácido úrico (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</li> <li>· Puntuación de EO</li> </ul> <p>· LPO altos <math>\geq 0.320 \mu\text{mol/L}</math></p> <p>· SOD baja <math>\leq 1.20 \text{ U/gHb}</math></p> <p>· GPx baja <math>\leq 56.3 \text{ U/gHb}</math></p> <p>· SOD/GPx alta <math>\geq 0.023</math></p> <p>· Ácido úrico bajo <math>\leq 268 \mu\text{mol/L}</math></p>
Densidad ósea mineral	Cantidad de minerales en los huesos. <sup>26</sup>	<p>Cuantitativa continua</p> <p>Cualitativa nominal</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· gramos por centímetro cuadrado</li> </ul> <p>· Entre + 2.5 y -1 DE DMO normal</p> <p>· Debajo de -1 DE DMO baja</p>
Factores pro-oxidantes del estilo de vida	Comportamientos que tienen impacto en la salud, que incluye: tabaquismo, ingesta de alcohol, ingesta de café, inactividad física, horas de sueño y obesidad. <sup>52,53</sup>	Cualitativa nominal	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Tabaquismo positivo: Más de 2 cigarrillos al día.</li> <li>· Ingesta de alcohol positivo: Más de 2 copas al día.</li> <li>· Ingesta de café: Más de 2 tazas al día.</li> <li>· Inactividad física: Cuando se realiza menos de 30 minutos de ejercicio físico en el día.</li> <li>· Horas de sueño: Menos de 6 horas al día</li> <li>· Obesidad: <math>\text{IMC} &gt; 30 \text{ kg/m}^2</math></li> </ul>

## **7.5 Descripción general del estudio**

Para reclutar participantes se elaboraron carteles y volantes (ANEXO 1) con los cuales se hizo la invitación a mujeres de 45 a 59 años, dentro de las instalaciones de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza y en los alrededores de la misma. Se dio una plática en la facultad en la que se les brindó información acerca de la menopausia en general y de lo que trata el proyecto de investigación, así como resolución de dudas. A las mujeres interesadas en participar en el proyecto se les aplicó el cuestionario de climaterio (ANEXO 2), del cual se obtuvo un panorama general de las mujeres que pudieran cumplir con los criterios de inclusión en el estudio.

Una vez seleccionadas las mujeres que cumplieron con los criterios de inclusión se les aplicaron los instrumentos: Cuestionario de estilo de vida (ANEXO 3) y Cuestionario de salud y polifarmacia (ANEXO 4), así mismo para participar en el proyecto, se les pidió su firma para el consentimiento informado (ANEXO 5). Se les realizaron los exámenes de mastografía y papanicolaou al inicio para que ingresaran clínicamente sanas.

Las mediciones de estrés oxidativo y la aplicación de los instrumentos se realizaron en dos momentos, antes de empezar a tomar el tratamiento (estado basal) y a los 6 meses después de iniciado el mismo.

Se tomaron mediciones antropométricas de peso y talla, se calculó el IMC, se midió circunferencia de la cadera y la cintura e ICC, y se midió la tensión arterial.

Se realizó toma de muestra sanguínea en ayunas, con tubos al vacío sin y con anticoagulante (EDTA y heparina). Estas muestras se utilizaron para realizar los estudios de biometría hemática (hemoglobina, hematocrito, leucocitos, eritrocitos), química sanguínea de 6 elementos (glucosa, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, HDL y albúmina); así como para la medición de los marcadores de estrés oxidativo: lipoperóxidos plasmáticos, las enzima antioxidantes eritrocitarias superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa. También se calculó la razón SOD/GPx.

Se asignó de manera aleatoria el tratamiento con tibolona o placebo y se entregó cada mes un frasco durante 6 meses. La terapia hormonal fue: un frasco con 30

tabletas de tibolona de 2.5 mg o un frasco con 30 tabletas de placebo, el cual presentaba las mismas características del tratamiento.

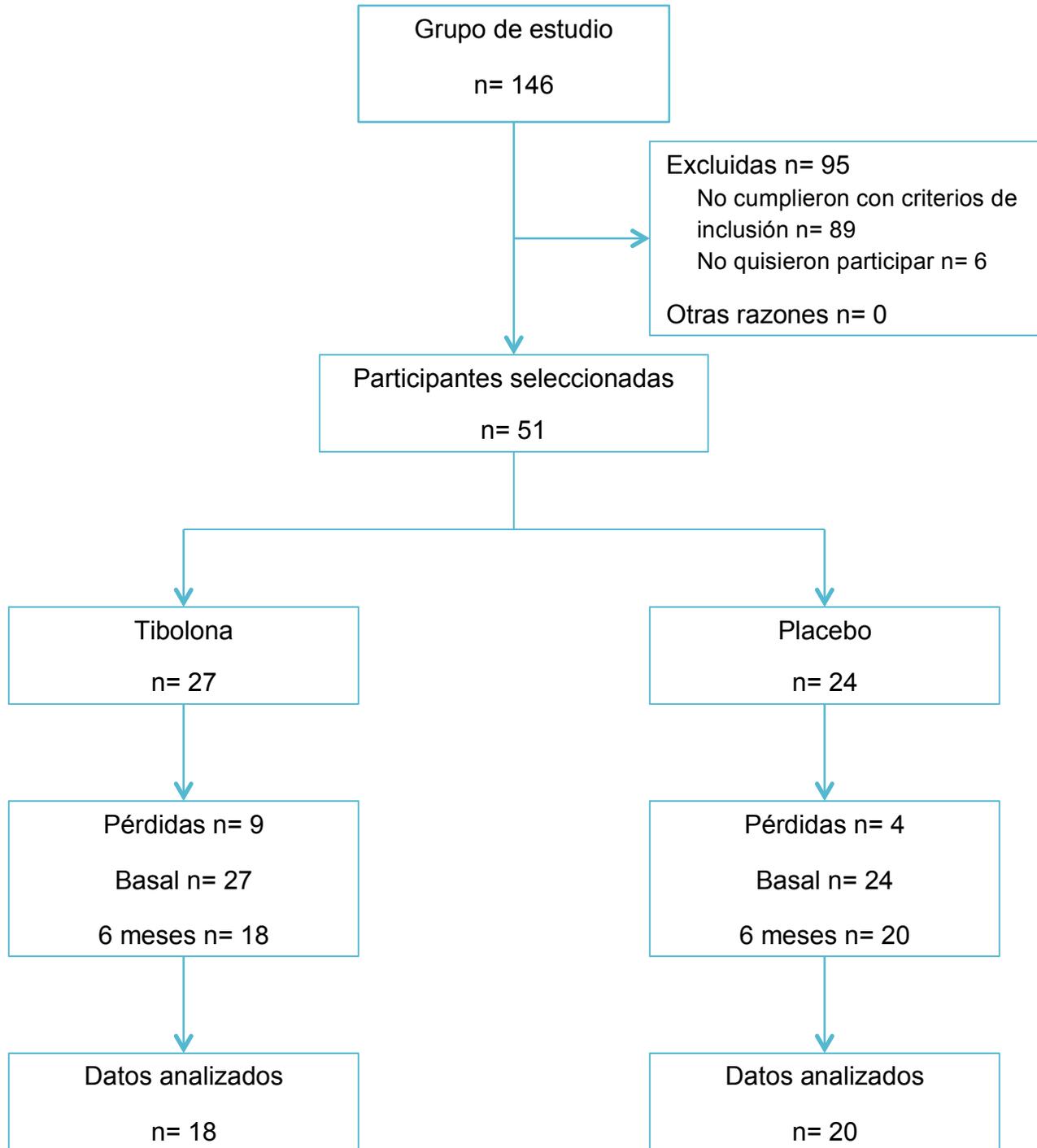
La determinación de densidad mineral ósea se realizó mediante densitometría ósea (DXA), y se llevó a cabo en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, en estado basal y a los 6 meses de haber tomado el tratamiento con tibolona o placebo.

### *Seguimiento*

A la plática informativa asistieron 146 mujeres. Se excluyeron 95, de las cuales 89 no cumplieron con los criterios de inclusión para este estudio, 6 cumplían con los criterios de inclusión, pero no tuvieron interés en participar.

Por lo que se incluyeron 51 mujeres, 27 fueron tratadas con tibolona y 24 con placebo. En el grupo de tibolona 9 mujeres en total abandonaron el estudio; 5 de ellas mostraron desinterés, una más refirió cuestiones laborales y síntomas negativos con el tratamiento (somnolencia, mialgia, depresión y debilidad), a otra participante le realizaron una colecistectomía, otra refirió no tener mejoría y una más tenía problemas en esófago por lo que decidió no continuar.

Por lo que se refiere al grupo con placebo abandonaron el estudio 4 participantes en total, de las cuales 1 cambió de domicilio y 3 dejaron de contestar las llamadas de seguimiento (Figura 7).



**Figura 7.** Seguimiento de las participantes en el ensayo clínico.

## 7.6 Técnicas

### 7.6.1 Lipoperóxidos

Esta técnica utiliza el malondialdehído como marcador de lipoperoxidación, 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 es plasma heparinizado, al cual se adicionan 10 µL de BHT 2 mmol por cada mililitro de plasma en caso de que no se vaya a ensayar inmediatamente, para prevenir la auto-oxidación de la muestra.

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

Procedimiento:

Muestras

1. Se marcaron los tubos de vidrio necesarios.
2. Se descongelaron las muestras y se centrifugaron a 3000 rpm durante cinco minutos.
3. Una vez descongeladas y centrifugadas se midieron 400 µL de plasma heparinizado en el respectivo tubo y se agregaron 50 µL de BHT 12.6 mM y 400 µL de ácido ortofosfórico 0.2 mol/L consecutivamente, se mezclaron y se agitaron en vórtex por 10 segundos.
4. Se adicionaron 50 µL de TBA 0.11 mol/L, se mezclaron y agitaron en vórtex por 10 segundos.
5. Se taparon los tubos y se colocaron en un baño de agua a 90°C por 45 minutos.
6. Se sacaron los tubos del baño y se colocaron en hielo, una vez fríos, se agregó a cada tubo 1200 mL de butanol y 100 µL de solución saturada de cloruro de sodio.
7. Se mezclaron y agitaron en vórtex por 10 segundos. Posteriormente se centrifugaron a 5000 rpm durante 2 minutos.

8. Se extrajo el sobrenadante y se leyó contra blanco de butanol a 535 nm y a 572 nm para hacer corrección de lectura por presencia de aductos coloridos que se forman durante la reacción y se calculó la diferencia.
9. Se calculó el delta de absorción sustrayendo la lectura obtenida a 572 nm de la lectura de 535 nm.
10. 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 la recta se prepararon las siguientes soluciones a partir de la solución patrón que es el TMP.

- a) TMP 1 mM: se diluyeron 17  $\mu$ L de TMP en 100 mL de agua destilada (solución madre preparada en función del peso molecular del TMP)
- b) TMP 0.2 mM: se tomó 1mL de TMP 1 mM y se añadieron a 4 mL de agua bidestilada.

Se prepararon ocho tubos de concentraciones crecientes como se muestra a continuación:

Tubo	TMP ( $\mu$ L)	H <sub>2</sub> O (mL)	MDA ( $\mu$ 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	2.0
7	70	0.930	2.8
8	100	0.900	4.0

1. Se marcaron otros ocho tubos y se midieron 400  $\mu\text{L}$  de cada estándar en el respectivo tubo, 50  $\mu\text{L}$  de BHT 12.6 mM y 400  $\mu\text{L}$  de ácido ortofosfórico 0.2 mol/L consecutivamente, se mezclaron y se agitaron en vórtex por 10 segundos.
2. Se adicionaron 50  $\mu\text{L}$  de TBA 0.11 mol/L, se mezclaron y agitaron en vórtex por 10 segundos.
3. Se taparon los tubos y se colocaron en un baño de agua a 90°C por 45 minutos.
4. Se sacaron los tubos del baño y se colocaron en hielo, una vez fríos, se agregó a cada tubo 1200 mL de butanol y 100  $\mu\text{L}$  de solución saturada de cloruro de sodio.
5. Se mezclaron y agitaron en vórtex por 10 segundos. Posteriormente se centrifugaron a 5000 rpm durante 2 minutos.
6. Se extrajo el sobrenadante por pipeteo y se leyó contra blanco de butanol a 535 nm y a 572 nm para hacer corrección de lectura por presencia de aductos coloridos que se forman durante la reacción y se calculó la diferencia.
7. Se calculó el delta de absorción sustrayendo la lectura obtenida a 572 nm de la lectura de 535 nm.
8. Se construyó la recta concentraciones vs delta de absorbancia.
9. Se interpolaron los deltas de absorbancia de las muestras para obtener la concentración de lipoperóxidos en  $\mu\text{mol/L}$ .

### 7.6.2 Superóxido dismutasa

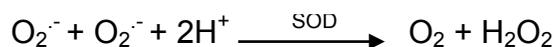
En la cuantificación de la actividad de SOD se empleó el equipo comercial RANSOD superóxido dismutasa (Randox Laboratorios Ltd, UK) que se basa en el uso de xantina y xantinoxidasa (XOD) para formar radicales superóxido.



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



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



### Procedimiento

1. Se tomaron 500  $\mu\text{L}$  de la muestra de sangre total y se lavaron los eritrocitos 3 veces con 3 mL de solución de NaCl al 0.9%, se centrifugaron durante 10 minutos a 3000 rpm después de cada lavado.
2. Al botón de eritrocitos lavados, se adicionaron 2 mL de agua bidestilada fría, se mezclaron y se dejaron reposar durante 15 minutos a 4°C.
3. Del lisado se tomaron 100  $\mu\text{L}$  y se diluyeron con 1.9 mL de tampón fosfato 0.01 mmol/L pH 7.0.
4. El espectro se puso a cero utilizando como blanco la solución amortiguadora de fosfatos, se encendió la unidad de temperatura anexa al espectro y se ajustó a 37 °C. Las lecturas se realizaron a 505 nm.
5. Se pipetearon 0.03 mL de la muestra diluida y se colocó en un baño a 37°C, se le adicionó 1 mL de sustrato mixto previamente colocado en el baño a 37°C (xantina 0.05 mmol/L, I.N.T. 0.025 mmol/L, solución preparada siguiendo las instrucciones del estuche) y se mezcló.
6. Se agregaron 0.15 mL de xantin oxidasa a 37°C (xantin oxidasa 0.94 mmol/L, preparada siguiendo las instrucciones del estuche) y simultáneamente se activó el cronómetro. Se mezcló 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. Se calculó el delta restando la absorbancia  $A_1$  de la  $A_2$  y se dividió entre tres para obtener la actividad por minuto.
8. Se siguieron los pasos 5 al 7 utilizando como muestra 0.03 mL de agua destilada para obtener el blanco, se hizo por duplicado y se calculó el promedio.
9. Para determinar el porcentaje de inhibición se realizó el siguiente cálculo:

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

10. 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:

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

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

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

### 7.6.3 Glutación peroxidasa

Para la cuantificación de la actividad de glutatión peroxidasa se utilizó el estuche comercial de Randox, Ransel glutatión peroxidasa. Este método está basado en el trabajo de Plagia y Valentine. La glutatión peroxidasa cataliza la oxidación del glutatión (GSH) por el hidroperóxido de cumeno.



El glutatión oxidado (GSSG) en presencia de glutatión reductasa (GR) y NADPH es inmediatamente convertido en su forma reducida con una oxidación concomitante de NADPH en  $\text{NADP}^+$ . Se mide la disminución de la absorbancia a 340 nm.



Procedimiento:

1. Se diluyeron 0.05 mL de sangre entera heparinizada en 1 mL de solución diluyente, preparada siguiendo las instrucciones del proveedor.
2. Se incubaron durante 5 minutos, posteriormente se adicionó 1 mL de reactivo de Drabkin a doble concentración. Una vez agregado el Drabkin las muestras se analizaron en los siguientes 20 minutos.
3. Se puso a cero el espectro usando agua en ambas celdas, se encendió la unidad anexa y se ajustó a 37°C. La reacción se leyó a 340 nm contra blanco de agua.
4. Para el ensayo, se colocaron 0.02 mL de la muestra diluida en un baño de agua a 37°C y se le agregó 1 mL de reactivo de trabajo (glutatión 4 mmol/L,

glutación reductasa  $\geq 0.5$  U/L y NADPH 0.34mmol/L, preparado de acuerdo a las instrucciones del proveedor y puesto previamente en un baño a 37 °C), se mezcló.

5. Al tubo se agregaron 0.04 mL del reactivo de cumeno (hidroperóxido de cumeno 0.18 mmol/L, preparado de acuerdo a las instrucciones del proveedor) perfectamente agitado y también previamente colocado a 37° C. Simultáneamente se cronometró y se registró la absorbancia  $A_1$  trascurrido un minuto,  $A_2$  transcurridos dos minutos y  $A_3$  a los tres minutos.

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

7. Se calcularon los deltas de absorbancia de muestras y blancos:

$$\Delta = A_1 - A_3$$

8. Se promediaron los deltas de los blancos y se restaron del delta de las muestras:

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

9. Para calcular la actividad de la enzima en U/L se multiplicó la diferencia de los deltas por 8412 (para hacer el ajuste de unidades) y por 41 (es el factor de dilución).

#### **7.6.4 Constructo para evaluar el estrés oxidativo**

Las ERO tienen funciones fisiológicas como segundos mensajeros en vías de señalización por lo cual el estrés oxidativo no es dañino *per se*, Sánchez-Rodríguez y col. proponen que solo el EO severo es peligroso para la salud. Así mismo proponen un constructo dinámico e integral en el que se consideran las principales biomoléculas oxidadas (LPO y ADN) y los componentes antioxidantes (enzimáticos y no enzimáticos) más fácilmente medibles en una muestra sanguínea, integradas como una puntuación de estrés (PE), la cual permite establecer el grado de EO. Esta forma de medir el EO tiene la ventaja de considerar la razón SOD/GPx, que también es un marcador de oxidación. Se calculó la puntuación de estrés a partir de los valores de corte para los biomarcadores de estrés oxidativo obtenidos al percentil 90 de una población de adultos jóvenes sanos: lipoperóxidos  $\geq 0.320$   $\mu\text{mol/L}$ , superóxido dismutasa  $\leq 1.20$  U/g Hb, GPx  $\leq 56.3$  U/g Hb, SOD/GPx  $\geq 0.023$  y ácido úrico  $\leq 268$   $\mu\text{mol/L}$ . Se

asigno el valor de 1 a cada medición que era mayor o menor del valor de corte de cada biomarcador. La puntuación de estrés puede tener valores entre 1 y 5.

#### **7.6.5 Absorciometría con rayos X de doble energía (DXA)**

Los diferentes densitómetros DXA se basan en el mismo principio: la absorción variable de los rayos X por los diferentes componentes del organismo y emplea fotones de rayos X de alta y baja energía. Dependiendo de los equipos, estos fotones pueden obtenerse por dos mecanismos. En unos casos, el generador emite de forma alternante radiación de alto (140 kVp) y bajo (70-100 kVp) kilovoltaje mientras se desplaza sobre la superficie del cuerpo que va a estudiar. En otros, el generador emite un haz constante a la vez que se interpone un filtro de tierras raras que separa fotones de alta (70 KeV) y baja energía (40 KeV).<sup>54,55</sup>

Los equipos disponibles incorporan distintos tipos de hardware (filtros, colimadores, detectores) y software (algoritmos de análisis). La fuente de rayos X puede emitir un haz en lapicero (colimador puntual), que es registrado por un único detector, o un haz en abanico (colimador de hendidura), que es registrado por un detector múltiple. Este último sistema reduce el tiempo de adquisición y mejora la calidad de la imagen. A su vez, el algoritmo de análisis discrimina de forma variable hueso y tejidos blandos. Las principales modalidades de la DXA en la práctica clínica son la densitometría ósea axial con mesa estable (técnica de elección para cuantificar la DMO) y la densitometría de cuerpo entero, utilizada para establecer la composición corporal.<sup>55</sup>

El cálculo de la densidad se realiza a través de un proceso matemático que se inicia con la diferenciación del tejido óseo respecto a los tejidos blandos diferencial de la captación del haz de baja y alta energía, determinación del área explorada ( $\text{cm}^2$ ), determinación del contenido mineral óseo (CMO, g) y con el cociente de ambos se obtiene la densidad por unidad de superficie (densidad mineral ósea [DMO],  $\text{g}/\text{cm}^2$ ) en cada subsector de la región ósea explorada.<sup>54</sup>

Los tiempos de exploración se sitúan entre los 2 y 5 minutos, también existen modos de exploración rápida que los reducen más del 50% con una menor

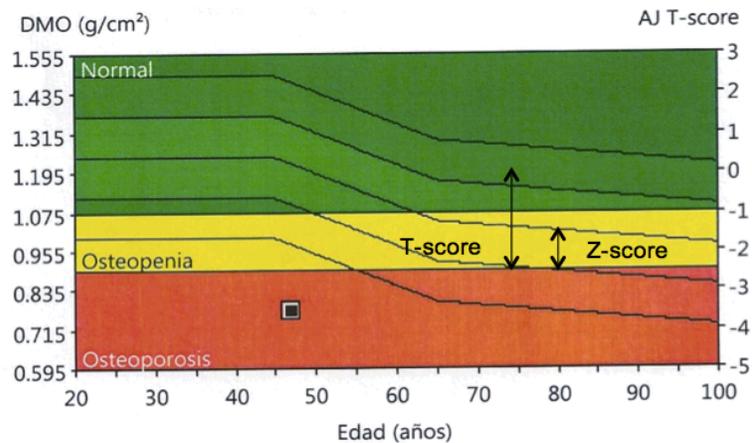
resolución de imagen, pero manteniendo una buena precisión. La dosis radiológica recibida por el paciente es muy baja de 0,5 a 2,4  $\mu\text{Sv}$  (esta última para el cuerpo entero).<sup>54</sup>

**Cuadro 2.** Parámetros evaluados en la absorciometría con rayos X de doble energía.

Parámetro	
CMO	Contenido mineral óseo
DMO	Densidad mineral ósea
DE	Desviación estándar
Puntuación T	Número de desviaciones estándar de diferencia entre el valor de DMO del paciente y la media de una población de referencia adulta joven del mismo sexo.
Puntuación Z	Número de desviaciones estándar de diferencia entre el valor de DMO del paciente y la media de una población de referencia de la misma raza, sexo y edad.
Osteopenia	Puntuación T entre -1 y -2.5 DE
Osteoporosis	Puntuación T $\leq$ -2.5 DE
IMC	Índice de masa corporal
Relación A/G	Relación porcentaje grasa pélvica androide y ginoide A/G ratio.

Tomado de Lorente RR; Azpeitia AJ, Arévalo GN, Muñoz HA, García JM y Gredilla MJ. 2012.<sup>43</sup>

En la figura 8 se encuentra la representación gráfica y el cálculo de las puntuaciones T y Z.



$$T - score = \frac{DMO \text{ sujeto} - DMO \text{ "pico de masa ósea"}}{Desviación \text{ estándar del "pico de masa ósea"}}$$

$$Z - score = \frac{DMO \text{ sujeto} - DMO \text{ media para su edad y sexo}}{Desviación \text{ estándar de su grupo de edad y sexo}}$$

**Figura 8.** Representación gráfica y cálculo de T-score y Z-score. DMO: densidad mineral ósea. Modificado de Gómez AC y Díaz LJ. 2009.<sup>42</sup>

La evaluación de la DMO se realizó en columna y cadera, al inicio y a los seis meses de seguimiento para ambos grupos, tibolona y placebo. La participante se presentó con ropa cómoda, sin accesorios metálicos, sin haberse realizado estudios con medios de contraste y sin haber consumido suplementos de calcio 24 horas antes de la medición.

Para el estudio se retiró los zapatos y se colocó en la mesa de exploración del equipo en la posición decúbito supino. Durante la medición de cadera, la paciente en la misma posición rotó la pierna hacia el interior, de manera que en la imagen el trocánter menor no fuera visible.

## **7.7 Diseño estadístico**

### **Pruebas descriptivas**

Se realizó este tipo de análisis estadístico para describir las características de la población de estudio. Se utilizó media y desviación estándar para las variables cuantitativas; para las variables cualitativas se usaron frecuencias y porcentajes.

### **Pruebas de comparación**

Para demostrar la igualdad entre los grupos de estudio al inicio del proyecto se utilizó t de Student para analizar las variables cuantitativas y para las variables cualitativas  $\chi^2$ .

Respecto a la evaluación de estrés oxidativo y densidad mineral ósea en las mediciones basal y 6 meses se utilizó la prueba Wilcoxon y U de Mann-Whitney para las variables cuantitativas y para las cualitativas se utilizó Chi cuadrada y McNemar.

Para el análisis del efecto final se realizó un ANOVA de un factor con prueba de Tukey como *post hoc*.

### **Pruebas de asociación**

Se realizó una regresión lineal simple como medida de asociación.

Se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 15 para el análisis de los datos obtenidos en el estudio. Se consideró una prueba estadísticamente significativa con un valor de  $p < 0.05$ .

## **8. Aspectos éticos y legales**

Esta investigación se apega a las normas éticas, al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación y a la Declaración de Helsinki, 64ª Asamblea General, octubre 2013.

Las participantes tomando tibolona tuvieron como beneficio la mejora de su sintomatología debida a la disminución de estrógenos, el posible mejoramiento oxidativo y de la mejora de la densidad mineral ósea. Las participantes con placebo tuvieron el beneficio del seguimiento.

Toda la información de las mujeres se mantuvo confidencial a través de una codificación numérica; además, firmaron el consentimiento informado para autorizar su participación en el estudio.

## 9. Resultados

### 9.1 Descripción de la población de estudio

Los datos basales antropométricos, bioquímicos y los factores pro-oxidantes del estilo de vida no muestran diferencias significativas entre los grupos de estudio (Cuadro 3). Se observó una prevalencia de DMO baja en columna de 17 (33%) y en cadera sólo 3 (6%).

**Cuadro 3.** Descripción de las mujeres posmenopáusicas y factores pro-oxidantes del estilo de vida

<b>Parámetros</b>	<b>Tibolona n= 27</b>	<b>Placebo n= 24</b>
Edad (años)	51.3 ± 3.4	51.4 ± 4.8
Estatura (m)	1.55 ± 0.06	1.53 ± 0.05
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	31.21 ± 3.8	30.1 ± 5.8
Glucosa (mg/dL)	97.56 ± 28.55	94.8 ± 15.05
Colesterol (mg/dL)	197 ± 42.2	202 ± 41.9
Triglicéridos (mg/dL)	166.33 ± 94.4	141.3 ± 72.5
Ácido úrico (mg/dL)	4.8 ± 0.9	4.5 ± 0.9
HDL(mg/dL)	45.8 ± 12.4	49.6 ± 12.4
Albúmina (g/dL)	4.46 ± 0.38	4.35 ± 0.26
Hemoglobina (g/dL)	14 ± 1.52	13.42 ± 2.02
Hematocrito (%)	42.7 ± 4.8	42.2 ± 6.3
Leucocitos (cel/mm <sup>3</sup> )	6303.9 ± 2131.4	5726.1 ± 1438.5
Eritrocitos (cel/mm <sup>3</sup> )	4.64 ± 0.48	4.64 ± 0.54
CMHG (%)	32.6 ± 1.41	30.4 ± 6.1
Sobrepeso	8 (30%)	10 (42%)
Obesidad	18 (67%)	10 (42%)
DMO Cadera		
Baja (T score ≤ -1 DE)		
- Osteopenia	1 (4%)	2 (8%)
DMO Columna		
Baja (T score ≤ -1 DE)		
- Osteopenia	9 (33%)	5 (21%)
- Osteoporosis	0	3 (13%)
<b>Factores pro-oxidantes</b>		
Tabaquismo (> 2 cigarros/día)	2 (7%)	2 (8%)
Ingesta de café (> 2 tazas/día)	7 (26%)	5 (21%)
Ingesta de alcohol (> 2 copas/día)	1 (4%)	0
Sedentarismo (< 30 min/día)	12 (44%)	10 (42%)
Insomnio (< 6 h de sueño)	9 (33%)	5 (21%)

Se muestran medias ± desviación estándar para las variables cuantitativas y frecuencias y porcentajes para las cualitativas. IMC= Índice de masa corporal, HDL= Lipoproteínas de alta densidad, CMHG= Concentración media de hemoglobina globular, DMO= densidad mineral ósea.

De las 9 participantes en el grupo de tibolona que se perdieron, 7 mujeres tenían DMO baja, y de ellas, 6 abandonaron el estudio y una pasó al grupo de DMO normal. Respecto al grupo con placebo hubo 4 pérdidas en las participantes con DMO baja, de las cuales 3 fueron abandono y 1 pasó al grupo con DMO normal.

### **9.2 Efecto de la tibolona sobre el estrés oxidativo y la densidad mineral ósea**

En el cuadro 4 se observa que en las mujeres participantes del grupo de tibolona disminuyeron los niveles de lipoperóxidos (0.315 vs 0.290  $\mu\text{mol/L}$ ) después de 6 meses de tratamiento, aunque no significativo. Por el contrario, en el grupo placebo los niveles de lipoperóxidos muestran un aumento (0.314 vs 0.338  $\mu\text{mol/L}$ ), aunque tampoco fue una diferencia significativa. Comparando el efecto de ambos tratamientos a los 6 meses, se observa que la disminución con tibolona y el aumento con el placebo de este marcador si es significativa ( $p < 0.05$ ). La enzima superóxido dismutasa también mostró una diferencia significativa a los 6 meses en la comparación de ambos grupos (1.13 U/g Hb tibolona vs 1.27 U/g Hb placebo,  $p < 0.05$ ). En los niveles de ácido úrico se observó un aumento significativo a los 6 meses en ambos grupos de estudio, (284.84 vs 328.46  $\mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0.05$ ) para el grupo tibolona y (266.17 vs 293.77  $\mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0.05$ ) para el grupo placebo. Así mismo, se observa un aumento en la densidad mineral ósea a nivel de columna en el grupo tibolona (1.14 vs 1.21  $\text{g/cm}^2$ ), sin embargo, esta diferencia no es estadísticamente significativa.

Por otra parte, separando por nivel de riesgo, la frecuencia del cambio del efecto después de 6 meses no mostró ninguna diferencia significativa entre las mediciones de cada grupo de estudio ni entre ellos (Cuadro 5).

**Cuadro 4.** Valores de los marcadores de estrés oxidativo y densidad mineral ósea, basal y 6 meses estratificado por tratamiento.

Variable	Tibolona		Placebo	
	Basal (n=27)	6 meses (n= 18)	Basal (n= 24)	6 meses (n= 20)
LPO (µmol/L)	0.315 ± 0.061	0.290 ± 0.063	0.314 ± 0.080	0.338 ± 0.064 <sup>†</sup>
SOD (U/g Hb)	1.23 ± 0.24	1.13 ± 0.09	1.29 ± 0.21	1.27 ± 0.16 <sup>†</sup>
GPx (U/g Hb)	64.08 ± 20.80	64.54 ± 23.46	67.02 ± 24.33	72.71 ± 24.63
SOD/GPx	0.021 ± 0.010	0.019 ± 0.011	0.022 ± 0.011	0.019 ± 0.006
Ácido úrico (µmol/L)	284.84 ± 53.06	328.46 ± 56.19*	266.17 ± 52.57	293.77 ± 68.65*
DMO cadera (g/cm <sup>2</sup> )	1.05 ± 0.10	1.07 ± 0.09	1.08 ± 0.15	1.08 ± 0.13
DMO columna (g/cm <sup>2</sup> )	1.14 ± 0.15	1.21 ± 0.14	1.11 ± 0.17	1.14 ± 0.15

Prueba Wilcoxon, \*p < 0.05, Ácido úrico: **Tibolona** basal vs 6 meses, Ácido úrico: **Placebo** basal vs 6 meses. Prueba U Mann-Whitney <sup>†</sup>p < 0.05, LPO: tibolona vs placebo 6 meses, SOD: tibolona vs placebo 6 meses. LPO= Lipoperóxidos, SOD= Superóxido dismutasa, GPx= Glutación peroxidasa.

**Cuadro 5.** Frecuencias y porcentajes de los marcadores de estrés oxidativo y densidad mineral ósea en cadera y columna.

Variable	Tibolona		Placebo	
	Basal (n= 27)	6 meses (n= 18)	Basal (n= 24)	6 meses (n= 20)
LPO ( $\geq 320 \mu\text{mol/L}$ )	13 (48%)	6 (33%)	10 (42%)	11 (61%)
SOD ( $\leq 1.20 \text{ U/g Hb}$ )	16 (59%)	13 (72%)	12 (50%)	8 (44%)
GPx ( $\leq 56.3 \text{ U/g Hb}$ )	11 (41%)	6 (33%)	9 (37%)	6 (33%)
SOD/GPx ( $\geq 0.023$ )	7 (26%)	5 (28%)	9 (37%)	6 (33%)
Ácido úrico ( $\leq 268 \mu\text{mol/L}$ )	13 (48%)	5 (28%)	15 (62%)	8 (44%)
DMO baja cadera (T score $\leq -1 \text{ DE}$ )	1 (4%)	0 (0%)	2 (8%)	2 (11%)
DMO baja columna (T score $\leq -1 \text{ DE}$ )	9 (33%)	2 (11%)	8 (33%)	4 (22%)

Prueba Mc Nemar para comparar basal vs seis meses en cada grupo de estudio y  $\chi^2$  para comparar tibolona vs placebo a los seis meses de seguimiento.

### 9.3 Efecto de la tibolona sobre el estrés oxidativo relacionado con la densidad mineral ósea en columna

En el cuadro 6 se observa que los niveles de lipoperóxidos disminuyeron en el grupo con densidad mineral ósea normal y DMO baja con tibolona y aumentan en ambos grupos con placebo, sin embargo, estas diferencias no son significativas. La enzima superóxido dismutasa disminuyó significativamente (1.24 vs 1.11 U/g Hb,  $p < 0.05$ ) en el grupo de DMO normal con tibolona, también presenta una diferencia significativa entre el grupo de DMO normal y baja con tibolona a los seis meses (1.11 U/g Hb DMO normal vs 1.26 U/g Hb DMO baja,  $p < 0.05$ ). Se observó una diferencia significativa entre los valores de la misma enzima en el grupo de DMO normal a los seis meses en tibolona y placebo (1.11 U/g tibolona vs 1.29 placebo,  $p < 0.05$ ). Otro marcador que aumentó significativamente en el grupo de DMO normal, basal vs 6 meses fue el ácido úrico tanto en tibolona (292.77 vs 331  $\mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0.05$ ) como en placebo (257.62 vs 307.47  $\mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0.05$ ).

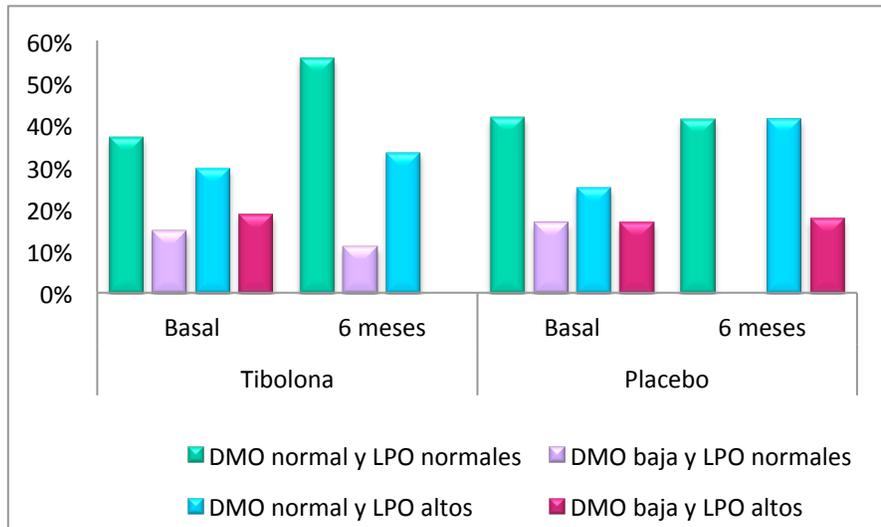
**Cuadro 6.** Valores de los marcadores de estrés oxidativo estratificado por densidad mineral ósea en columna.

Variable	Tibolona				Placebo			
	DMO normal		DMO baja		DMO normal		DMO baja	
	Basal (n= 18)	6 meses (n= 16)	Basal (n= 9)	6 meses (n= 2)	Basal (n= 16)	6 meses (n= 16)	Basal (n= 8)	6 meses (n= 4)
LPO (μmol/L)	0.319 ± 0.06	0.289 ± 0.064	0.322 ± 0.061	0.244 ± 0.018	0.288 ± 0.066	0.335 ± 0.073	0.364 ± 0.084 <sup>†</sup>	0.380 ± 0.011
SOD (U/g Hb)	1.24 ± 0.029	1.11 ± 0.08*	1.24 ± 0.14	1.26 ± 0.42 <sup>†</sup>	1.35 ± 0.24	1.29 ± 0.17 <sup>†</sup>	1.19 ± 0.08	1.13 ± 0.064
GPx (U/g Hb)	63.25 ± 22.64	61.53 ± 23.33	65.94 ± 17.19	85.68 ± 12.47	73.05 ± 24.09	71.08 ± 23.33	54.94 ± 21.28	59.15 ± 16.63
SOD/GPx	0.022 ± 0.010	0.021 ± 0.008	0.019 ± 0.004	0.015 ± 0.002	0.021 ± 0.006	0.021 ± 0.005	0.025 ± 0.010	0.020 ± 0.006
AU (μmol/L)	292.77 ± 55.97	331 ± 61.53*	266.92 ± 48.16	303.4 ± 50.47	257.62 ± 50.13	307.47 ± 74.94*	283.27 ± 56.51	267.66 ± 42.06

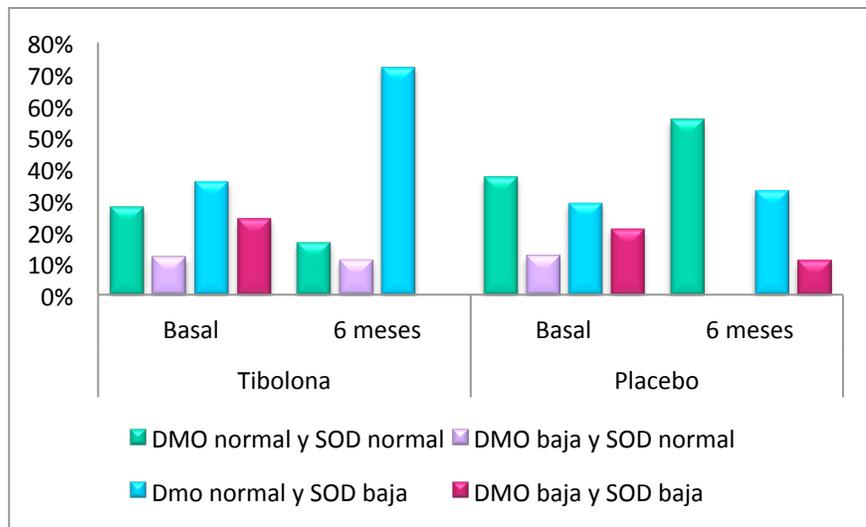
Prueba Wilcoxon, \*p < 0.05, SOD y Ácido úrico: **Tibolona** DMO normal basal vs 6 meses, Ácido úrico: **Placebo** DMO normal basal vs 6 meses. Prueba U Mann Whitney, <sup>†</sup>p < 0.05, SOD: **Tibolona** DMO normal vs DMO baja (6 meses), LPO: **Placebo** DMO normal vs DMO baja (basal), SOD: DMO normal **Tibolona** vs DMO normal **Placebo** (6 meses). Prueba ANOVA de un factor con prueba Tukey como post hoc. AU= Ácido úrico.

Se estratificaron los niveles de los marcadores de EO con los niveles de densidad mineral ósea. Con el marcador de EO lipoperóxidos (Figura 9) se observó un aumento en la proporción de mujeres a los seis meses de seguimiento con DMO normal - LPO normales (37 vs 56%) y una disminución en DMO baja - LPO altos (19 vs 0%) en el grupo con tibolona. Respecto al grupo con placebo aumentó la proporción de mujeres con DMO normal - LPO altos (25 vs 41%) y no se observaron cambios en mujeres con DMO baja - LPO altos. Con el marcador de EO enzima SOD (Figura 10) se observó un incremento en la proporción de mujeres con DMO normal - SOD baja (36 vs 72%) en el grupo de tibolona, al igual que en DMO normal - SOD normal (38 vs 56%) en placebo: así mismo, encontramos una disminución en la proporción DMO baja - SOD baja (24 vs 0%) en el grupo tibolona, y DMO baja - SOD normal (13 vs 0%) y DMO baja - SOD baja (21 vs 11%) en placebo. Por último la enzima GPx (Figura 11) mostró aumento en la frecuencia de mujeres con DMO baja - GPx normal (tibolona 15 vs 38%, placebo 13 vs 29% ) y disminuyó en DMO baja - GPx baja (tibolona 15 vs 0%, placebo 21 vs 6%). Sin embargo, los resultados por estratificación de estrés oxidativo no fueron estadísticamente significativos.

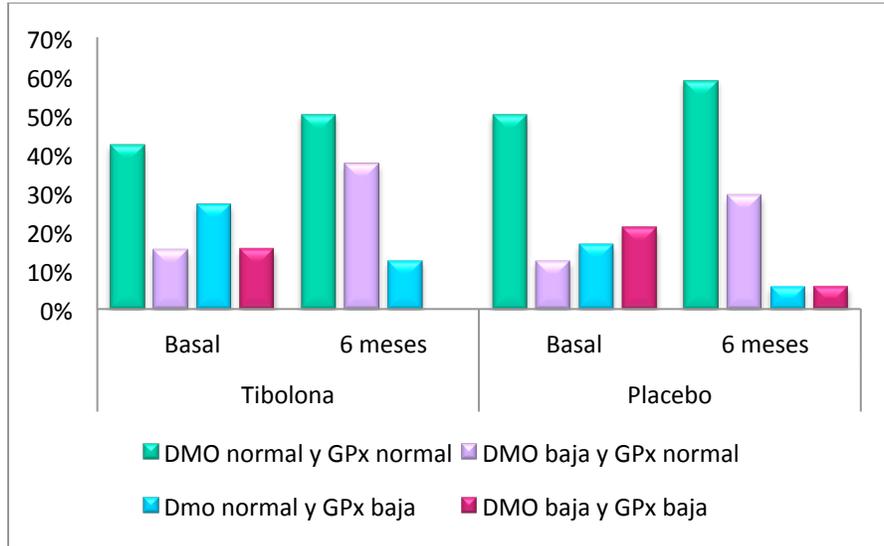
En cuanto a la puntuación de estrés oxidativo, disminuyó en las pacientes con DMO baja en el grupo con tibolona, en cambio aumentó en los grupos de DMO normal y DMO baja con placebo, con cambios no significativos (Figura 12). Cabe señalar que los resultados obtenidos de estas estratificaciones se pueden ver afectados por la pérdida de pacientes en ambos grupos de estudio durante el seguimiento, que ya fue documentado al inicio de esta sección.



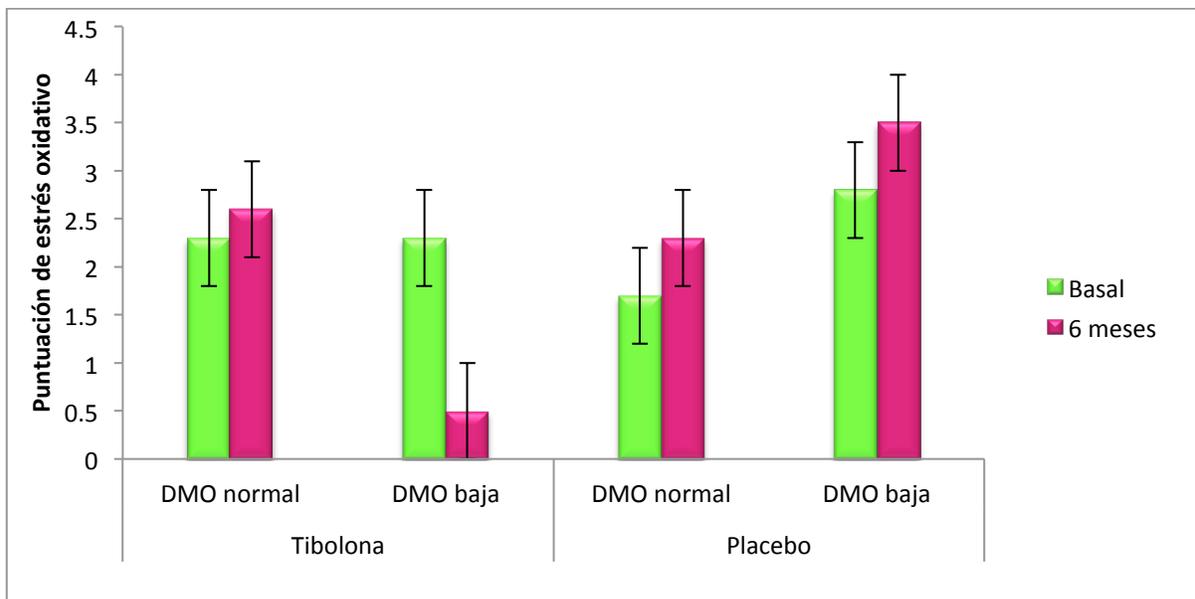
**Figura 9.** Proporción de mujeres en los grupos de estudio estratificado por niveles de DMO en columna y LPO, basal y seis meses. Prueba McNemar



**Figura 10.** Proporción de mujeres en los grupos de estudio estratificado por niveles de DMO en columna y SOD, basal y seis meses. Prueba McNemar



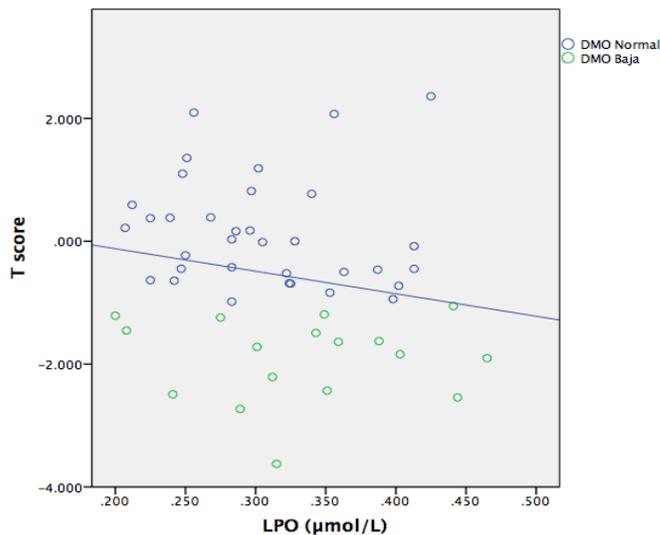
**Figura 11.** Proporción de mujeres en los grupos de estudio estratificado por niveles de DMO en columna y GPx, basal y seis meses. Prueba McNemar



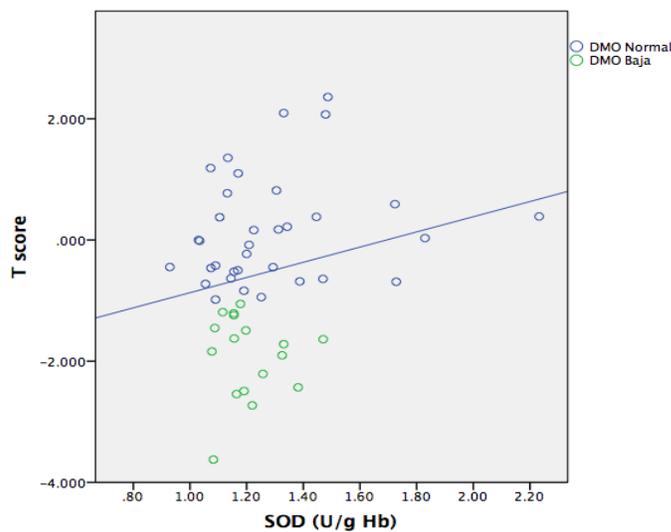
**Figura 12.** Sumatoria de los marcadores de estrés oxidativo, basal y seis meses. Por grupo de estudio.

#### 9.4 Correlaciones de T score en columna y marcadores de estrés oxidativo

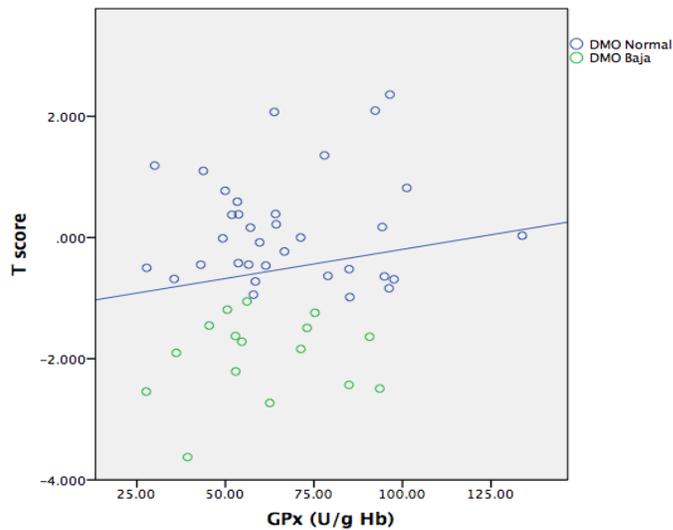
La asociación de los marcadores de estrés oxidativo con puntuación T se realizó en columna. Se observó una correlación negativa entre la puntuación T y el nivel de lipoperóxidos, así como positiva entre el mismo marcador óseo y las enzimas antioxidantes, aunque ninguno mostró significancia estadística (Figuras 13-15).



**Figura 13.** Correlación de los niveles de LPO y T score ( $r= 0.19$ ,  $p > 0.05$ )



**Figura 14.** Correlación de los niveles de SOD y T score ( $r= 0.23$ ,  $p > 0.05$ )



**Figura 15.** Correlación de los niveles de GPx y T score ( $r= 0.17$ ,  $p > 0.05$ )

## 10. Discusión

El envejecimiento es definido como el persistente e irreversible cambio de funcionalidad que determina la pérdida de la capacidad de adaptación de manera progresiva. Biológicamente se considera una disminución en la función celular asociada al tiempo, lo cual se relaciona con un aumento en la probabilidad de morbilidad y mortalidad. Es un fenómeno complejo y su impacto es relevante debido al aumento de la esperanza de vida, se caracteriza por la acumulación de daño celular, lo que conduce a una mayor susceptibilidad a enfermedades, como las neurodegenerativas, cardiovasculares o enfermedades óseas, por ejemplo, osteoporosis.<sup>1-3,56</sup>

En las mujeres, se reconoce que el proceso de envejecimiento comienza al momento de la menopausia. Dado que en México y Latinoamérica la esperanza de vida para la mujer excede los 70 años de edad, una mujer entre los 45 - 55 años vive más de un tercio de su vida en estado posmenopáusico deficiente de estrógenos.<sup>4,48</sup> La disminución de la DMO coincide en la mujer con la menopausia, como observamos en este estudio, con una prevalencia de osteopenia de 27% y 6% de osteoporosis en columna. Estudios similares como el de Rosales-Aujang y col. reportan una prevalencia de 40% para osteopenia y 14% para osteoporosis,<sup>57</sup>

por otro lado, el estudio de Clark y col. reporta una prevalencia de osteoporosis del 17%.<sup>58</sup>

Para contrarrestar los efectos de la falta de estrógenos en la mujer posmenopáusica, se utiliza la terapia hormonal como el tratamiento más efectivo.<sup>33,38</sup> Se ha señalado que esta terapia puede actuar como antioxidante, contrarrestando así el estrés oxidativo. De los tratamientos hormonales utilizados, la tibolona, es un regulador sintético selectivo de la actividad estrogénica tisular que está indicado para el tratamiento sintomático de la menopausia, incluyendo la pérdida de la masa ósea.<sup>42,44</sup>

El efecto estrogénico de la tibolona sobre el estrés oxidativo y la pérdida de densidad mineral ósea en la posmenopausia es un tema aún controversial.<sup>48,59,60</sup> Debido a esto, se llevó a cabo este estudio con la finalidad de determinar el efecto de la tibolona sobre el estrés oxidativo asociado a la pérdida de densidad mineral ósea.

### **Efecto de la tibolona sobre los marcadores de estrés oxidativo y densidad mineral ósea**

En este sentido, está demostrado que el estrés oxidativo en las mujeres aumenta después de la menopausia, así como que está asociado con la rápida disminución de densidad mineral ósea en esta población.<sup>61,62</sup>

Existen diversos marcadores biológicos propuestos para la evaluación del estrés oxidativo, dentro de los cuales se encuentran las biomoléculas dañadas por los radicales libres: lípidos, proteínas y ADN. Así mismo enzimas que forman parte del sistema antioxidante: superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa. De igual manera se han tomado en cuenta compuestos plasmáticos que tienen la capacidad de actuar como antioxidantes, por ejemplo el ácido úrico. La medición de estos marcadores ayuda a determinar el daño provocado por los radicales libres, los cuales tienen la capacidad de oxidar la mayoría de las biomoléculas, sin embargo, los más susceptibles posiblemente son los lípidos, específicamente los poliinsaturados. Las membranas celulares son ricas en este tipo de ácidos grasos, por lo que el proceso de peroxidación lipídica daña directamente la estructura de

la membrana celular e indirectamente otros compuestos celulares por la generación de lipoperóxidos (LPO), compuestos inestables que pueden degradarse rápidamente en diversos productos.<sup>5,8,63,64</sup>

Por lo que se refiere a este estudio se observó una disminución no significativa de lipoperóxidos a los 6 meses de seguimiento en las mujeres posmenopáusicas que consumieron tibolona, por el contrario en el grupo con placebo aumentaron. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Vural y col., quienes observaron una disminución en los niveles de LPO en mujeres posmenopáusicas después de 6 meses de tratamiento con tibolona.<sup>60</sup> Igualmente se han realizado estudios en animales en los que se ha observado que la tibolona disminuye la peroxidación lipídica.<sup>48,65,66</sup> En la mujer, los estrógenos presentan un efecto antioxidante debido a su capacidad para romper el proceso de peroxidación lipídica, deteniendo así su propagación. Esto se debe a la presencia del grupo fenólico en el anillo A de su estructura molecular.<sup>65</sup> A pesar de que tibolona es un esteroide sintético que no cuenta con el grupo fenol en su estructura química, se pudo observar disminución en los niveles de peroxidación lipídica. Sin embargo, el mecanismo por el cual lleva a cabo esta acción aún no es claro.

Se sabe que los estrógenos regulan las enzimas antioxidantes mediante la activación de la transcripción de genes sensibles a ellos, impulsando la expresión de las enzimas SOD y GPx,<sup>61</sup> en cambio, no se ha demostrado que la tibolona active las mismas vías de señalización que los estrógenos, esto posiblemente sea la causa de la disminución de la enzima SOD en el grupo con tibolona. Aunado a esto se ha observado que la actividad de esta enzima disminuye con la edad,<sup>67,68</sup> además, es posible que esta disminución sea debida a que la enzima es inactivada por su producto, peróxido de hidrógeno, como lo sugieren Erden y col.<sup>69</sup> Por su parte, la enzima glutatión peroxidasa cataliza la reducción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e hidroperóxidos orgánicos (ROOH), por lo que el aumento de esta enzima que fue observado en el grupo placebo y la disminución de la SOD en ambos grupos puede ser debido a la mayor producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e hidroperóxidos orgánicos.<sup>69</sup>

Con respecto al ácido úrico sérico (AU) como antioxidante, se observó un aumento significativo tanto en el grupo con tibolona como en el de placebo. Jung y col. obtuvieron resultados similares.<sup>70</sup> Es posible que en el presente estudio estos resultados se deban al elevado índice de masa corporal que presentan las participantes en ambos grupos, incluso es más alto en el grupo tratado con tibolona. Se ha demostrado que la obesidad está asociada con el aumento de ácido úrico sérico, sin embargo, la explicación de esta asociación no es clara aún. Posiblemente se deba a que el sobrepeso y la obesidad generalmente están acompañados por hiperinsulinemia, lo cual aumenta la reabsorción del ácido úrico en los riñones.<sup>71-76</sup> El ácido úrico es uno de los antioxidantes plasmáticos más importantes, ya que tiene la capacidad de eliminar el radical hidroxilo, el oxígeno singulete y quelar metales de transición como el hierro (agente iniciador y propagador de la peroxidación lipídica); sin embargo, puede también ser un agente pro-oxidante, de acuerdo al ambiente químico donde se encuentre. De hecho, la actividad antioxidante es mejor en condiciones hidrofílicas que en medios hidrofóbicos. Cabe señalar que la actividad antioxidante del ácido úrico depende también del equilibrio entre el resto de las sustancias anti o pro-oxidantes del plasma, ya que éstas trabajan de forma sinérgica para eliminar especies reactivas de oxígeno.<sup>77-79</sup>

En cuanto al efecto de la tibolona sobre la densidad mineral ósea, se observó un aumento no significativo a nivel de columna después de 6 meses en el grupo con tratamiento. Estos mismos resultados han sido reportados anteriormente por diversos estudios. Berning y col. evaluaron el efecto de 2 dosis de tibolona (1.25 mg y 2.5 mg) en columna y cadera, después de 2 años las dosis utilizadas incrementaron notablemente la DMO en columna.<sup>80</sup> En este trabajo, pese a que solo fueron seis meses de tratamiento, se observa una mejora, por lo que es posible que si se incrementa el tiempo se pueda observar el mismo efecto reportado por estos investigadores, aunque los resultados se pudieron ver afectados por la pérdida de pacientes en ambos grupos de estudio durante el seguimiento.

Cabe señalar que el efecto de la terapia hormonal se ve aumentado en el hueso trabecular, presente en columna, debido a que tiene una tasa de remodelado más rápida que el hueso cortical, el cual es el tipo de hueso predominante en cadera.<sup>80</sup> De manera similar estudios como el de Gallagher y col., Gambacciani y col. y Roux y col., compararon el efecto de diferentes dosis de tibolona sobre la DMO después de 2 años, demostrando que la dosis de 2.5 mg/día presenta un mayor incremento. Los estudios anteriores coinciden en que el aumento de la DMO se debe al efecto estrogénico que la tibolona tiene sobre el hueso.<sup>81-83</sup> Además existen estudios en animales, los cuales han demostrado que tibolona actúa sobre los receptores estrogénicos en hueso.<sup>84,85</sup>

Con base a lo anterior, la tibolona de manera similar a los estrógenos, aumenta la DMO, aparentemente por diferentes mecanismos como la inducción de la apoptosis de los osteoclastos, encargados de la resorción ósea o regulando la relación RANKL/OPG. El ligando del receptor activador del factor nuclear  $\kappa$ B (RANKL) es una citocina necesaria para la diferenciación de osteoclastos. La vía de RANKL puede ser inhibida por osteoprotegerina (OPG), actuando como un receptor señuelo para RANKL. Debido a esto, la relación RANKL/OPG es crítica para la osteoclastogénesis. Además podría reprimir citoquinas pro-osteoclásticas, como IL-1, IL-6, IL-7 y TNF, en células T y osteoblastos.<sup>86,87</sup>

### **Efecto de la tibolona sobre el estrés oxidativo relacionado con la densidad mineral ósea en columna**

Es ampliamente aceptado que el estrés oxidativo está relacionado con el envejecimiento y la patogénesis de las enfermedades relacionadas con la edad.<sup>25,88,89</sup> En mujeres posmenopáusicas se da una pérdida de densidad mineral ósea (DMO) debido a la deficiencia de estrógenos. En particular, éstos tienen un papel fundamental sobre el control de los osteoclastos los cuales son responsables de la resorción ósea, además, presentan un efecto antioxidante permitiendo a estas hormonas proteger a las mujeres de la pérdida de masa ósea;<sup>25,90,91</sup> sin embargo, la relación del estrés oxidativo con la pérdida de

densidad mineral ósea es aún controversial debido a los resultados contradictorios obtenidos en estudios realizados en humanos.<sup>92</sup>

En este estudio se observó que los niveles de lipoperóxidos disminuyeron en las pacientes con DMO normal y con DMO baja en el grupo de tibolona, en cambio en las pacientes con placebo aumentaron. Como se mencionó anteriormente se ha demostrado que tibolona tiene la capacidad de disminuir la peroxidación lipídica, aunque el mecanismo de cómo se lleva a cabo no es del todo claro.<sup>65,66,93</sup>

En el estudio realizado por Stark y col., se observó que algunos de los metabolitos sulfatados de la tibolona tienen efecto antioxidante.<sup>59</sup> Por otro lado, Vural y col. sugieren que el efecto antioxidante de tibolona se debe a que ayuda a regenerar el tocoferol, preservando así la concentración de la vitamina E. Este mismo estudio también propone que la tibolona ayuda a mejorar la defensa antioxidante al disminuir los niveles de lipoproteína (a) y triglicéridos, compuestos asociados al aumento de la peroxidación lipídica.<sup>60</sup>

Por lo que se refiere a la enzima superóxido dismutasa se observaba disminuida en el grupo tibolona, pero cuando se estratificó a las participantes por nivel de DMO, se observó un aumento en la actividad de esta enzima en las mujeres que tenían la masa esquelética baja, lo que podría sugerir que la enzima antioxidante esta actuando en el proceso de resorción de hueso cuando están tratadas con tibolona, contrario al grupo placebo en donde la SOD disminuye en las mujeres con DMO baja. Así mismo, se encontró un aumento no significativo en la actividad de la enzima glutatión peroxidasa, en las participantes con DMO baja tratadas con tibolona, aunque en placebo también hubo un aumento, éste no fue tan marcado. Estudios realizados en animales sugieren que la tibolona tiene la capacidad de regular las enzimas antioxidantes a través de los receptores estrogénicos  $\beta$  presentes en la membrana mitocondrial.<sup>66</sup> Cabe señalar que la enzima glutatión peroxidasa cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno y de los lipoperóxidos utilizando como agente reductor el glutatión reducido,<sup>94</sup> hecho por el cual se sugiere que el aumento de esta enzima se debe a una mayor producción de especies reactivas de oxígeno, las cuales aumentan con la edad.<sup>62,69</sup> De acuerdo a lo anterior se sugiere que el aumento de la actividad de las enzimas SOD y GPx

en estas mujeres con DMO baja es debido a la acción de la tibolona; aunque no hay estudios similares que respalden estas suposiciones.

Dado que la actividad de estas enzimas es aditiva, se midió la razón SOD/GPx. La velocidad de reacción de SOD es mayor que la de GPx, por lo que si se tiene una desproporción entre ellas a favor de SOD, la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aumenta y no es eliminado en su totalidad por la GPx provocando así un aumento en la peroxidación lipídica. Es por esto que la razón SOD/GPx baja ayuda a mejorar la protección contra el estrés oxidativo.<sup>5</sup> Con respecto a este estudio la razón disminuyó de manera no significativa en las mujeres con DMO baja tratadas con tibolona.

El estrés oxidativo debe ser medido de manera integral por lo que Sánchez-Rodríguez y col. proponen construir una puntuación de los marcadores individuales para establecer el grado de estrés oxidativo.<sup>95</sup> Teniendo en cuenta lo anterior, con la sumatoria de los marcadores de estrés oxidativo evaluados se observó una disminución de EO después de 6 meses en las participantes con DMO baja tratadas con tibolona, sugiriendo que tibolona tiene la capacidad de disminuir el estrés oxidativo, además de aumentar la densidad mineral ósea en mujeres con osteopenia.

El efecto protector de tibolona sobre hueso ha sido demostrado en diversos estudios<sup>80-85</sup>, así como su capacidad antioxidante,<sup>59,60,65</sup> sin embargo, estas variables no han sido evaluadas en conjunto en otras investigaciones.

Se ha demostrado que las especies reactivas de oxígeno como el anión superóxido y peróxido de hidrógeno tienen la capacidad de estimular la osteoclastogénesis, además el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> puede inhibir la diferenciación osteoblástica.<sup>96</sup> Estos efectos en el metabolismo óseo provocan la disminución de la densidad mineral ósea. En este estudio se obtuvieron asociaciones positivas entre la puntuación T en columna y las enzimas antioxidantes SOD y GPx. Como se ha mencionado anteriormente, la enzima superóxido dismutasa convierte el ión superóxido en peróxido de hidrógeno, el cual a su vez es reducido por la enzima

glutación peroxidasa,<sup>69,96</sup> por lo que suponemos que al aumentar la actividad de estas enzimas aumenta también la densidad mineral ósea.

Así mismo se obtuvo una asociación negativa entre la puntuación T y lipoperóxidos, lo cual indica que al disminuir los niveles de especies reactivas de oxígeno aumenta la densidad mineral ósea, a pesar de que las asociaciones no fueron estadísticamente significativas, estos resultados indican que la disminución de la DMO podría ser, en cierta medida, dependiente del estrés oxidativo. Lo anterior es respaldado por diversos estudios en los que se ha observado que las especies reactivas de oxígeno tienen la capacidad de estimular por diferentes vías la resorción ósea, lo cual conlleva finalmente a la disminución de DMO en las mujeres posmenopáusicas.<sup>25,35,87,97</sup>

De acuerdo a los resultados obtenidos se sugiere que la terapia con tibolona disminuye el estrés oxidativo y aumenta la densidad mineral ósea en mujeres posmenopáusicas. Por lo que la tibolona es una opción para tratar enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo como la osteoporosis posmenopáusica.

Finalmente, cabe señalar que una de las limitantes de este estudio es el tamaño de muestra pequeño, además durante el período de seguimiento algunas pacientes abandonaron el proyecto en ambos grupos; incluso, en el grupo de tibolona la mayor parte de las pacientes con DMO baja no continuaron hasta los 6 meses, debido a esto no se obtuvieron resultados concluyentes con respecto al efecto de la terapia sobre este tipo de pacientes. Aun así, se tienen varias fortalezas como que se trata de un ensayo clínico doble ciego en donde se controlaron los posibles sesgos; el estrés oxidativo se debe al proceso posmenopáusico, el envejecimiento y la baja DMO, y no a factores pro-oxidantes del estilo de vida, así como el efecto antioxidante parece ser debido a tibolona y no a otro tipo de antioxidantes. Es recomendable aumentar el tamaño de muestra y ampliar el tiempo de seguimiento, como alternativas para confirmar los resultados obtenidos en este estudio.

## **11. Conclusiones**

- La terapia hormonal con tibolona disminuyó los niveles de lipoperóxidos, activó las enzimas antioxidantes y disminuyó la puntuación de estrés oxidativo en pacientes con densidad mineral ósea baja después de 6 meses de tratamiento.
- Los resultados sugieren que hay una posible mejora en la densidad mineral ósea a nivel de columna en las participantes tratadas con tibolona, aunque no fue estadísticamente significativo.

## **12. Perspectivas**

- Aumentar el tamaño de muestra para disminuir la posibilidad de que las pérdidas durante el seguimiento afecten los resultados.
- Aumentar el tiempo de seguimiento para confirmar los resultados obtenidos.
- Incluir más marcadores de estrés oxidativo en este tipo de estudios para evaluarlo de manera integral y dinámica.

### 13. Referencias

1. Villagordoa MJ. Definición de envejecimiento y síndrome de fragilidad, características epidemiológicas del envejecimiento en México. *Rev Endocrinol Nutr.* 2007; 15: 27-31.
2. Almeida M, O'Brien CA. Basic biology of skeletal aging: role of stress response pathways. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2013; 68(10): 1197-1208.
3. Sánchez-Valle V, Méndez-Sánchez N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Rev Invest Med Sur Méx.* 2013; 20(3): 161-168.
4. Belenguer A, Abdelaziz MK, Avellana-Zaragoza JA, Borrás-Blasco C, Sanchis-Aguilar P, Viña-Ribes J. El estrés oxidativo como predictor de longevidad; estudios de casos y controles. *Rev Esp Geriatr Gerontol.* 2015; 50(1): 16-21.
5. Sánchez-Rodríguez MA, Santiago-Osorio E, Vargas LA, Mendoza-Núñez VM. Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. *Bioquímica.* 2004; 29(3): 81-90.
6. Cárdenas-Rodríguez N, Pedraza-Chaverri J. Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. *Educ Quím.* 2006; 17 (2): 164-173.
7. Ergul K. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative stress: current state. *Nutr J.* 2016; 15(71): 1-22.
8. Chihuailaf R, Contreras P, Wittwer F. Patogénesis del estrés oxidativo: Consecuencias y evaluación en salud animal. *Vet Méx.* 2002; 33(3): 265-284.
9. Morrissey PA, O'Brien NM. Dietary antioxidants in health and disease. *Int Dairy J.* 1998; 8: 463-472.
10. Corrales LC, Muñoz MM. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Pub Cient Cienc Biom.* 2012; 10(18): 213-225.

11. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, *et al.* Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed Res Int.* 2014; 2014(761264): 1-19.
12. Romero FJ, Bosch-Morell, Romero MJ, Jareño EJ, Romero B, Marín N, *et al.* Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease. *Environm Health Perspec.* 1998; 106 Spl 5: 1229-1234.
13. Sánchez-Rodríguez MA. Envejecimiento, enfermedades crónicas y antioxidantes. México: FES Zaragoza; 2003. p. 64-67.
14. Torres AP, Torres JM. Climaterio y menopausia. *Rev Fac Med UNAM.* 2018; 61(2): 51-58.
15. Nelson DH. Menopause. *Lancet.* 2008; 371: 760-70.
16. Escalante-Gómez C, Quesada-Mora S, Zeledón-Sánchez F. Perfil oxidativo de la mujer menopáusica: Papel de los estrógenos en la prevención y tratamiento de las enfermedades. *Acta Méd Costa Rica.* 2009; 51(4) 206-212.
17. Doshi SB, Agarwal A. The role of oxidative stress in menopause. *J-Mid-life Health.* 2013; 4: 140-146.
18. Bacon JL. The menopausal transition. *Obstet Gynecol Clín.* 2017; 44: 285-296.
19. Harlow S, Gass M, Hall J, Lobo R, Maki P, Rebar R, *et al.* Executive summary of the Stages of Reproductive Aging Workshop + 10: addressing the unfinished agenda of staging reproductive aging. *Menopause.* 2012; 19(4): 387-395.
20. Kasper D, Hauser S, Jameson L, Fauci A, Longo D, Loscalzo J. [Eds] *Harrison Principios de medicina interna.* México: Mc Graw Hill; 2016. p. 2381.
21. O'Connor KA, Ferrell R, Brindle E, Trumble B, Shofer J, Holman DJ, *et al.* Progesterone and ovulation across stages of the transition to menopause. *Menopause.* 2009; 16(6): 1178-1187.

22. Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest.* 2005; 115: 3318-3325.
23. Monteleone P, Mascagni G, Gianni A, Genazzani A, Simoncini T. Symptoms of menopause – global prevalence, physiology and implications. *Nat Rev Endocrinol.* 2018; 14 (4): 199-215.
24. Grupo de consenso del Colegio Mexicano de Ortopedia y Traumatología. Diagnóstico y tratamiento de la osteoporosis. Posición del Colegio Mexicano de Ortopedia y Traumatología. *Acta Ortop Mex.* 2011; 25(5): 303-12.
25. Cervellati C, Bonaccorsi G, Cremonini E, Romani A, Fila E, Castaldini MC, et al. Oxidative stress and bone resorption interplay as a possible trigger for postmenopausal osteoporosis. *BioMed Res Int.* 2013; 2014: 1-8.
26. Cancer.gov [Internet]. Densidad mineral ósea. EUA: Instituto Nacional del Cáncer; [Actualización: 16 de diciembre 2015; consultado: 20 de septiembre 2017]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario?cdrid=415875>
27. Orueta R, Gómez-Caro S. Interpretación de la densitometría ósea. *Semergen.* 2010; 36(1): 27-30.
28. Peña-Ríos DH, Cisneros-Dreinhofer FA, Peña-Rodríguez MP, García-Hernández PA, Hernández-Bueno JA, Jasqui-Romano S, et al. Consenso de diagnóstico y tratamiento de la osteoporosis en la mujer posmenopáusica mexicana. *Med Int Méx.* 2015; 31: 596-610.
29. Almeida M, Laurent MR, Dubois V, Claessens F, O'Brien CA, Bouillon R, et al. Estrogens and Androgens in Skeletal Physiology and Pathophysiology. *Physiol Rev.* 2017; 97 (1): 135-187.
30. Demontiero O, Vidal C, Duque G. Aging and bone loss: new insights for the clinician. *Ther Adv Musculosket Dis.* 2012; 4(2): 61-76.

31. Manolagas SC, O'Brien CA, Almeida M. The role of estrogen and androgen receptors in bone health and disease. *Nat Rev Endocrinol.* 2013; 9 (12): 699-712.
32. Rodríguez JP, Astudillo P, Ríos S, Seitz G, Pino AM. Adipogénesis y osteoporosis. *Rev Méd Chile.* 2009; 137: 827-836.
33. Rivera MV, Halabe CJ. Actualidades en la terapia hormonal estrogénica y osteoporosis posmenopáusica. *Med Int Méx.* 2005; 21: 431-9.
34. Riancho JA, Delgado-Calle J. Mecanismos de interacción osteoblasto-osteoclasto. *Reum Clín.* 2011; 7 (2): 1-4.
35. Lean JM, Davies JT, Fuller K, Jagger CJ, Kirstein B, Partington GA, et al. A crucial role for thiol antioxidants in estrogen-deficiency bone loss. *J Clin Invest.* 2003; 112: 915-923.
36. Gallet M, Saïdi S, Haÿ E, Photsavang J, Marty C, Sailland J, et al. Repression of osteoblast maturation by ERR $\alpha$  accounts for bone loss induced by estrogen deficiency. *PLOS ONE.* 2013; 8(1): 1-8.
37. Sánchez-Rodríguez MA, Zacarías-Flores M, Arronte-Rosales A, Mendoza-Núñez VM. Efecto de la terapia hormonal con estrógenos en el estrés oxidativo y la calidad de vida en mujeres posmenopáusicas. *Ginecol Obstet Mex* 2013; 81:11-22.
38. Liñan C. Menopausia y envejecimiento en la mujer. *Endocrinol Nutr.* 2004; 51(2): 48-54.
39. Martín-Aragón S, Benedí J. Terapia hormonal de reemplazo: enfoque en la menopausia. *Farm Prof.* 2009; 23(2): 52-5.
40. Castelo-Branco C, Vicente JJ, Figueras F, Sanjuan A, Martínez de Osaba MJ, Casals E. et al. Comparative effects of estrogens plus androgens and tibolone on bone, lipid pattern and sexuality in postmenopausal women. *Maturitas.* 2000; 34: 161-168.

41. Villiers TJ, Pines A, Panay N, Gambacciani M. Recomendaciones actualizadas (2013) de la Sociedad Internacional de Menopausia acerca de la terapia hormonal y las estrategias preventivas para mujeres de edad madura. *Rev Climat.* 2013; 16: 165-186.
42. Zayas-Jaime FJ, Ornelas-Aguirre JM, Pérez-Nápoles DE. Motivos de abandono de la terapia hormonal de reemplazo con tibolona en mujeres con menopausia. *Ginecol Obstet Méx.* 2013; 81: 593-601.
43. Hyver C, Gutiérrez LM. *Geriatria. México: El Manual Moderno; 2014. p. 87.*
44. Fuleihan GE. Tibolone and the promise of ideal hormone-replacement therapy. *N Engl J Med.* 2008; 359(7): 753-755.
45. Zárate 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.
46. Santen RJ. Resumen ejecutivo: terapia hormonal posmenopáusica: Declaración científica de la sociedad de endocrinología (segunda parte). *Rev Climat.* 2010; 13(78): 241-284
47. Garefalakis M, Hickey M. Role of androgens, progestins and tibolone in the treatment of menopausal symptoms: a review of the clinical evidence. *Clin Interv Aging.* 2008; 3(1): 1-8.
48. 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.
49. Zárate A. Tibolona como un regulador de la acción estrogénica de manera selectiva sobre los tejidos puede ser una alternativa del reemplazo hormonal en la menopausia. *Acta Méd.* 2008; 6(4): 197-198.
50. López-Olmos J. Tratamiento hormonal sustitutivo de la menopausia con tibolona. *Clin Invest Gin Obst.* 2005; 32(3):106-15.

51. Notelovitz M. Postmenopausal tibolone therapy: Biologic principles and applied clinical practice. *Med Gen Med.* 2007; 9(1): 2.
52. Guerrero-Montoya LR, León-Salazar A. Estilo de vida y salud: un problema socioeducativo. *Antecedentes. Educere.* 2010; 14 (49): 287-295.
53. Arronte-Rosales A, Beltrán-Castillo N, Correa-Muñoz E, Martínez-Maldonado M, Mendoza-Núñez VM, Rosado-Pérez J. Manual para la evaluación gerontológica integral en la comunidad. 2a ed. México: UNAM; 2008. p. 83.
54. Gómez C, Díaz JB. Métodos de determinación de la densidad mineral ósea. *Rev Clín Esp.* 2009; 209(Supl 1): 15-22.
55. Lorente RM, Azpeitia AJ, Arévalo GN, Muñoz HA, García JM, Gredilla MJ. Absorciometría con rayos X de doble energía. Fundamentos, metodología y aplicaciones clínicas. *Radiol.* 2012; 54(5): 410-423.
56. Alvarado AM, Salazar AM. Análisis del concepto de envejecimiento. *Gerokomos.* 2014; 25(2): 57-62.
57. Rosales-Aujang E, Muñoz-Enciso JM, Arias-Ulloa R. Prevalencia de osteopenia y osteoporosis en mujeres posmenopáusicas y su relación con factores de riesgo. *Ginecol Obstet Mex.* 2014; 82: 223-228.
58. Clark P, Ragi S, Delezé M, von Mühlen DG, Barrett-Connor E. The prevalence of low bone mineral density in a random sample of mexican women and men 50 years and older. A population study. *J Clin Densit.* 2006; 9(2): 234.
59. Stark J, Varbiro S, Sipos M, Tulassay Z, Sara L, Adler I, *et al.* Antioxidant effect of the active metabolites of tibolone. *Gynecol Endocrinol.* 2014; 31 (1): 31-35.
60. Vural P, Akgül C, Canbaz M. Effects of menopause and tibolone on antioxidants in postmenopausal women. *Ann Clin Biochem.* 2005; 42: 220-223.

61. Bellanti F, Matteo M, Rollo T, De Rosario F, Greco P, Vendemiale G, *et al.* Sex hormones modulate circulating antioxidant enzymes: Impact of estrogen therapy. *Redox Biol.* 2013; 1: 340-346.
62. Escalante-Gómez C, Quesada-Mora S. HRT decreases DNA and lipid oxidation in postmenopausal women. *Climacteric.* 2013; 16(1): 104-110.
63. González-Torres MC, Betancourt-Rule M, Ortiz-Muñiz R. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquímica.* 2000; 25(1): 3-9.
64. Smith HL, Howland MC, Szmodis AW, Li Q, Daemen LL, Parikh AN, *et al.* Early stages of oxidative stress-induced membrane permeabilization: a neutron reflectometry study. *J Am Chem Soc.* 2009; 131(10): 3631-3638.
65. de Aguiar RB, Dickel OE, Cunha RW, Monserrat JW, Barros DM, Martinez PE. Estradiol valerate and tibolone: effects upon brain oxidative stress and blood biochemistry during aging in female rats. *Biogerontol.* 2008; 9(5): 285-298.
66. Hidalgo-Lanussa O, Ávila-Rodríguez M, Baez-Jurado E, Zamudio J, Echeverría V, García-Segura LM, *et al.* Tibolone reduces oxidative damage and inflammation in microglia stimulated with palmitic acid through mechanism involving estrogen receptor beta. *Mol Neurobiol.* 2018; 55(7): 1-16.
67. Andersen HR, Nielsen F, Grandjean P. Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem.* 1997; 43 (4): 562-568.
68. Glass GA, Gershon D. Enzymatic changes in rat erythrocytes with increasing cell and donor age: loss superoxide dismutase activity associated with increases in catalytically defective forms. *Biochem Biophys Res Commun.* 1981; 103: 1245-1249.
69. İnal ME, Güngör K, Emine S. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels related to aging. *Clin Chim Act.* 2001; 305: 75-80.

70. Jung JH, Song GG, Lee YH, Kim JH, Hyum MH, Choi SJ. Serum acid levels and hormone therapy type: a retrospective cohort study of postmenopausal women. *Menopause*. 2018; 25(1): 77-81.
71. Pirro M, Mannarino MR, Bianconi V, De Vuono S, Sahebkar A, Bagaglia F, et al. Uric acid and bone mineral density in postmenopausal osteoporotic women: the link lies within the fat. *Osteoporos Int*. 2013; 28(3). 973-981.
72. Lyngdoh T, Vuistiner P, Marques-Vidal P, Rousson V, Waeber G, Vollenweider P, et al. Serum uric acid and adiposity: deciphering causality using a bidirectional mendelian randomization approach. *PloS One*. 2017; 7(6): 1-8.
73. Takahashi S, Yamamoto T, Tsutsumi Z, Moriwaki Y, Yamakita J Higashino K. Close correlation between visceral fat acumulation and uric acid metabolism in healthy men. *Metabolism*. 1997; 46(10): 1162-1165.
74. Hikita M, Ohno I, Mori Y, Ichida K, Yokose T, Hosoya T. Relationship between hyperuricemia and body fat distribution. *Intern Med*. 2007; 46(17): 1353-1358.
75. Matsuura F, Yamashita S, Nakamura T, Nishida M, Nozaki S, Funahashi T, et al. Effect of visceral fat accumulation on uric acid metabolism in male obese subjects: visceral fat obesity is linked more closely to overproduction of uric acid than subcutaneous fat obesity. *Metabolism*. 1998; 47(8): 929-933.
76. Wang H, Wang L, Xie R, Dai W, Gao C, Shen P, et al. Association of Serum Uric Acid with Body Mass Index: A Cross-Sectional Study from Jiangsu Province, China. *Iran J Public Health*. 2014; 43(11): 1503-1509.
77. Alcaíno H, Greig D, Castro P, Verdejo H, Mellado R, García L, et al. Ácido úrico: una molécula con acciones paradójicas en la insuficiencia cardiaca. *Rev Méd Chile*. 2011; 139(4): 505-515.
78. Ruiz G, Souki A, Martínez S, Cano C, Vargas ME, García M. Ácido úrico: antioxidante o factor de riesgo cardiovascular. Dos caras de una misma moneda. *Síndr Cardiomet*. 2013; 3(1): 1-5.

79. Díaz-Arce D, Cabada-Pérez F. Ácido úrico: ¿Antioxidante o pro-oxidante? Su relación con la hipertensión arterial. *Panorama Cuba Sal.* 2010; 5(1): 5-15.
80. Berning B, Kuijk CV, Kuiper JW, Bennink HJ, Kicovic PM, Fauser BC. Effects of two doses of tibolone on trabecular and cortical bone loss in early postmenopausal women: a two-year randomized, placebo-controlled study. *Bone.* 1996;19(4):395-399.
81. Gallagher JC, Baylink DJ, Freeman R, McClung M. Prevention of bone loss with tibolone in postmenopausal women: results of two randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-finding studies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86(10): 4717-4726.
82. Gambacciani M, Ciaponi M, Cappagli B, Monteleone P, Benussi C, Bevilacqua G, et al. A longitudinal evaluation of the effect of two doses of tibolone on bone density and metabolism in early postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol.* 2004;18(1): 9-16.
83. Roux C, Pelissier C, Fechtenbaum J, Loiseau-Peres S, Benhamou CL. Randomized, double-masked, 2-year comparison of tibolone with 17beta-estradiol and norethindrone acetate in preventing postmenopausal bone loss. *Osteoporos Int.* 2002;13(3): 241-248.
84. Carvalho AC, Fernandes GV, Lima I, Oliveira DF, Henriques HN, Pantaleão JA, et al. Influence of estrogen deficiency and tibolone therapy on trabecular and cortical bone evaluated by computed radiography system in rats. *Acta Cir Bras.* 2012; 27(3): 217-222.
85. Ederveen AG, Kloosterboer HJ. Tibolone exerts its protective effects on trabecular bone loss through the estrogen receptor. *J Bone Miner Res.* 2001; 16(9): 1651-1657.
86. Imai Y, Youn MY, Inoue K, Takada I, Kouzmenko A, Kato S. Nuclear receptors in bone physiology and diseases. *Physiol Rev.* 2013; 93(2): 481-523.

87. Bonaccorsi G, Piva I, Greco P, Cervellati C. Oxidative stress as a possible pathogenic cofactor of post-menopausal osteoporosis: Existing evidence in support of the axis oestrogen deficiency-redox imbalance-bone loss. *Indian J Med Res.* 2018; 147(4): 341-351.
88. Höhn A, Weber D, Jung T, Ott C, Hugo M, Kochlik B, Kehm R, König J, Grune T, Castro JP. Happily (n)ever after: Aging in the context of oxidative stress, proteostasis loss and celular senescence. *Redox Biol* 2017; 11: 482-501.
89. Manolagas SC. From Estrogen-Centric to Aging and Oxidative Stress: A Revised Perspective of the Pathogenesis of Osteoporosis. *Endocr Rev* 2010; 31(3): 266-300.
90. Sharma T, Islam N, Ahmad J, Akhtar N, Beg M. Correlation between bone mineral density and oxidative stress in postmenopausal women. *Indian J Endocrinol Metab.* 2015; 19(4): 491–497.
91. Nathan L, Gautam C. Antioxidant and prooxidant actions of estrogens: Potential physiological and clinical implications. *Obs Gyn Molec Med Pharm* 1998; 309-314.
92. Demir M, Ulas T, Tutoglu A, Bayaci A, Yigit E, Sezen H, *et al.* Evaluation of oxidative stress parameters and urinary deoxypyridinoline levels in geriatric patients with osteoporosis. *J Phys Ther Sci* 2014; 26 (9): 1405-1409.
93. Pinto-Almazán R, Rivas-Arancibia S, Farfán-García ED, Rodríguez-Martínez E, Guerra-Araiza C. Neuroprotective effects of tibolone against oxidative stress induced by ozone exposure. *Rev Neurol.* 2014; 58(10): 441-448.
94. Jurkovic S, Osredkar J, Prezelj, Marc J. The antioxidant enzyme GPx1 gene polymorphisms are associated with low BMD and increased bone turnover markers. *Dis Markers.* 2010; 29 (2): 71-80.
95. Sánchez-Rodríguez MA. Interpretación del estrés oxidativo en humanos. Propuesta de un constructo. En: Mendoza-Núñez VM, Retana-Ugalde R. Estrés

oxidativo e inflamación. Medición e interpretación diagnóstica. México: FES Zaragoza, UNAM. 2009.

96. Vives-Bauza C, Starkov A, Garcia-Arumi. Measurements of the antioxidant enzyme activities of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase. *Meth Cell Biol.* 2007; 80: 379-393.

97. Shi C, Wu J, Yan Q, Wang R, Miao D. Bone marrow ablation demonstrates that estrogen plays an important role in osteogenesis and bone turnover via an antioxidative mechanism. *Bone.* 2015; 79: 94-104.

## 14. Anexos

### Anexo 1. Cartel de reclutamiento

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.*



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

## Anexo 2. Cuestionario de climaterio



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

2017

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 COOPERACIÓN.

Encuestador: \_\_\_\_\_

Fecha de aplicación: \_\_\_\_\_ (día/mes/año).

### Anexo 3. Cuestionario de estilo 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. ¿Consumo 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 **Si** 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 **Si** 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

su respuesta es **Si** 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 semana o más, 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 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: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Evaluador(a): \_\_\_\_\_

Supervisor(a): \_\_\_\_\_

### Anexo 4. 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

- <input type="checkbox"/> Ninguna	- <input type="checkbox"/> Bachillerato completo o incompleto
- <input type="checkbox"/> Sabe leer y escribir	- <input type="checkbox"/> Carrera técnica completa o incompleta
- <input type="checkbox"/> Primaria completa o incompleta	- <input type="checkbox"/> Estudios de licenciatura incompletos
- <input type="checkbox"/> Secundaria completa o incompleta	- <input type="checkbox"/> Estudios de licenciatura completos

Número de años de escolaridad \_\_\_\_\_

8. Ocupación(es) anterior(es): \_\_\_\_\_ Especificar \_\_\_\_\_  
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: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Evaluador(a): \_\_\_\_\_

Supervisor(a): \_\_\_\_\_

Fecha de aplicación: \_\_\_\_\_ (día/mes/año)

## Anexo 5. 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 \_\_\_\_\_.

