



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD
CAMPO DISCIPLINARIO: EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA

EFFECTO DE LA TIBOLONA SOBRE EL ESTRÉS OXIDANTE Y LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN
MUJERES POSMENOPÁUSICAS COMPARADO CON TERAPIA ESTROGÉNICA

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS DE LA SALUD

PRESENTA:
LIZETT CASTREJÓN DELGADO

TUTORA: DRA. MARTHA A. SÁNCHEZ RODRÍGUEZ, FES ZARAGOZA UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. PATRICIA E. CLARK PERALTA, HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ
DR. JUAN GARDUÑO ESPINOSA, HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

CIUDAD DE MÉXICO, NOVIEMBRE 2022



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.

CONTENIDO

	Página
Agradecimientos	1
Resumen	2
I. Introducción	4
II. Marco teórico	6
II.1. Estrés oxidante	6
II.2. Menopausia	6
II.2.1. Estrógenos como antioxidantes	9
II.3. Anatomía y fisiología del hueso	9
II.3.1. Matriz ósea	10
II.3.2. Remodelación de huesos	11
II.3.3. Metabolismo mineral óseo	13
II.3.4. Envejecimiento del hueso	13
II.3.5. Osteoporosis	15
II.3.6. Marcadores de estrés oxidante en osteoporosis posmenopáusica	17
II.4. Terapia hormonal	17
II.5. Terapia con tibolona	20
II.6. Revisión de la literatura	22
III. Planteamiento del problema	28
IV. Justificación	29
V. Objetivos	30
VI. Hipótesis	30
VII. Diseño de Investigación	31
VII.1. Tipo de estudio	31
VII.2. Población de estudio	31
VII.3. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación	32
VII.4. Variables	33
VII.5. Material y métodos	36
VII.5.1. Descripción del estudio	36
VII.5.2. Técnicas	39
VII.6. Análisis estadístico	44
VIII. Consideraciones éticas	45
IX. Recursos, financiamiento y factibilidad	46
X. Resultados	47
XI. Discusión	60
XII. Conclusiones	69
XIII. Referencias	70
XIV. Anexos	78
1. Cuestionario de climaterio	79
2. Carta de Consentimiento informado	81
3. Cuestionario de Estado de salud y Polifarmacia	85
4. Cuestionario de Estilos de vida	91
5. Herramienta FRAX México	97
6. Control de entrega de tratamiento (carnet)	98
7. Aprobación por el comité de ética	100

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las participantes en este estudio. También agradezco el apoyo de todos los integrantes de la Unidad de Investigación en Gerontología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza que formaron parte de este trabajo, así como a la Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica del Hospital Infantil de México, Federico Gómez por su colaboración.

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente al Posgrado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

Finalmente, todo mi respeto y gratitud a mi tutora, Dra. Martha A. Sánchez Rodríguez, a mi comité tutor, Dra. Patricia E. Clark Peralta, Dr. Juan Garduño Espinosa y a mi comité de candidatura Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez, Dra. Eloisa Colín Ramírez, Dra. Teresa Imelda Fortoul van der Goes y al Dr. Marcelino Hernández Valencia.

RESUMEN

Antecedentes: con la menopausia se observa una disminución en la densidad mineral ósea (DMO) debido en parte a la reducción de la actividad de los estrógenos en esta etapa, los cuales tienen actividad antioxidante, por lo que contrarrestan el estrés oxidante (EO). La tibolona es un esteroide sintético con actividad estrogénica y un posible efecto antioxidante, que tiene efecto sobre la DMO y, mínimos efectos adversos para la mujer.

Objetivo: evaluar el efecto de la terapia con 2.5 mg/d de tibolona comparado con 0.625 mg/d de estrógenos y placebo sobre el estrés oxidante y la densidad mineral ósea en mujeres posmenopáusicas, durante doce meses de tratamiento.

Metodología: ensayo clínico controlado aleatorizado abierto con un seguimiento de doce meses de tratamiento, en una población de 92 mujeres posmenopáusicas de la ciudad de México de 45 a 59 años. Se conformaron tres grupos: A. Tibolona 2.5mg/d, B. Estrógenos conjugados 0.625mg/d + 5mg/10d de medroxiprogesterona y C. Placebo. Antes de la intervención, a los seis y doce meses se midieron los marcadores bioquímicos de EO y DMO.

Resultados: a los doce meses de tratamiento, en la columna, no se observó cambios significativos en el T-score con el uso de tibolona (-0.328 vs -0.277, $p>0.05$) ni en la terapia con estrógenos (-1.067 vs -1.106, $p>0.05$); tampoco en cadera total en el grupo tibolona (0.352 vs 0.379, $p>0.05$) y estrógenos (0.013 vs -0.079, $p>0.05$). Ambas terapias disminuyeron los niveles de lipoperoxidos, en la columna con DMO normal con tibolona (0.320 vs. 0.268 $\mu\text{mol/L}$, $p=0.021$) y estrógenos (0.304 vs. 0.245 $\mu\text{mol/L}$, $p=0.029$), además, hubo disminución en la columna con DMO baja en el tratamiento con estrógenos (0.373 vs. 0.245 $\mu\text{mol/L}$, $p=0.0001$); con relación a la cadera total, en DMO normal con tibolona (0.307 vs. 0.270 $\mu\text{mol/L}$, $p=0.057$) y en el grupo con estrógenos (0.346 vs. 0.263 $\mu\text{mol/L}$, $p=0.0001$).

Conclusión: los hallazgos sugieren que ambas terapias hormonales mantuvieron la densidad mineral ósea en columna y cadera total. Así mismo, mostraron un efecto benéfico al disminuir los niveles de oxidación lipídica en mujeres con DMO normal, además, este efecto se observó en las mujeres con DMO baja que consumieron terapia con estrógenos.

Palabras clave: estrés oxidante, densidad mineral ósea, tibolona, terapia hormonal.

ABSTRACT

Background: with menopause, a decrease in bone mineral density (BMD) is observed, due in part to the reduction in the activity of estrogens at this stage, which have antioxidant activity, thus counteracting oxidative stress (OS). Tibolone is a synthetic steroid with estrogenic activity and a possible antioxidant effect, which has an effect on BMD and minimal adverse effects for women.

Objective: to evaluate the effect of therapy with 2.5 mg/d of tibolone compared to 0.625 mg/d of estrogens and placebo on oxidative stress and bone mineral density in postmenopausal women, during twelve months of treatment.

Methodology: it is an open randomized controlled clinical trial with a follow-up at twelve months of treatment, in a population of 92 postmenopausal women from Mexico City aged 45 to 59 years. Three groups were formed: A. Tibolone 2.5mg/d, B. Conjugated estrogens 0.625mg/d + medroxyprogesterone 5mg/10d, and C. Placebo. Before the intervention, at six and twelve months, the biochemical markers of OE and BMD were measured.

Results: at twelve months of treatment, in the lumbar spine, no significant changes in T-score were observed with the use of tibolone (-0.328 vs -0.277, $p>0.05$) or estrogen therapy (-1.067 vs -1.106, $p>0.05$); neither in total hip in tibolone group (0.352 vs 0.379, $p>0.05$) and estrogens (0.013 vs -0.079, $p>0.05$). Both therapies decreased lipoperoxides levels, in the lumbar spine with normal BMD with tibolone (0.320 vs. 0.268 $\mu\text{mol/L}$, $p=0.021$) and estrogens (0.304 vs. 0.245 $\mu\text{mol/L}$, $p=0.029$), in addition, there was a decrease in the lumbar spine with low BMD in the estrogen treatment (0.373 vs. 0.245 $\mu\text{mol/L}$, $p=0.0001$); in relation to the total hip, in normal BMD with tibolone (0.307 vs. 0.270 $\mu\text{mol/L}$, $p=0.057$) and in the estrogen group (0.346 vs. 0.263 $\mu\text{mol/L}$, $p=0.0001$).

Conclusion: the findings suggest that both hormonal therapies maintained bone mineral density in the lumbar spine and total hip. Likewise, they showed a beneficial effect by decreasing lipid oxidation levels in women with normal BMD, in addition, this effect was observed in women with low BMD who consumed estrogen therapy.

Keywords: oxidative stress, bone mineral density, tibolone, hormone therapy.

I. INTRODUCCIÓN

En 2020, en México, se contabilizaron 126 millones de personas, de las cuales 51.2% son mujeres. La esperanza de vida en la población femenina ha aumentado, se estima para el año 2050 será de 82.6 años, con este aumento en la población adulta madura y mayor, se requiere de especial atención en el proceso de envejecimiento.

En general se acepta que el envejecimiento comienza en la cuarta década de la vida y finaliza con la muerte, por lo que, en la mujer, el envejecimiento reproductivo coincide, en cierto momento, con el envejecimiento fisiológico. En este sentido, la menopausia puede considerarse como el inicio del envejecimiento.

La menopausia es el cese permanente de la menstruación debido a la pérdida de la función folicular ovárica, y aunque es un proceso natural significativo para la mujer, con descensos en los niveles de estrógenos (E2) y andrógenos en donde los primeros son de mayor impacto, no es del todo comprendido ni aceptado debido a sus implicaciones biológicas, psicológicas y sociales. Es definida por una amenorrea de 12 meses o si los niveles de E2 son menores de 25 pg/mL y los de FSH son superiores a 50 mUI/mL. Con esta modificación hormonal, las mujeres presentan cambios físicos, psicológicos y sociales que afectan su calidad de vida, estos síntomas o alteraciones son vasomotoras, en el tracto genitourinario, menstruales, psicosexuales, del sistema nervioso central, en el sistema cardiovascular y metabólicas. De las metabólicas, el remodelamiento óseo se ve afectado con un aumento de la resorción, siendo la expresión clínica la osteopenia y osteoporosis aumentando el riesgo de fractura considerablemente. Se estima que para el 2050 se produzcan 6.3 millones de fracturas por año en todo el mundo y más de la mitad ocurrirá en América Latina y Asia. En México se observa un 42% de osteopenia y un 17% de osteoporosis en mujeres mayores de 50 años.

Por otro lado, el estrés oxidante (EO) es un desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas (ER) y radicales libres (RL) que provocan daño oxidante a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes (AO). En este sentido, nuestro grupo de investigación encontró que la posmenopausia es un factor de riesgo para EO, aunado a esto, se tiene evidencia de que el EO puede alterar el remodelamiento óseo, siendo aún poco claro, el hueso es un órgano dinámico que se somete a un equilibrio entre resorción y formación ósea constantemente.

De acuerdo con lo anterior, la terapia estrogénica a pesar de ser una buena opción para disminuir los padecimientos posmenopáusicos se abandona entre el 5 y 10% por sangrado endometrial y temor al cáncer, además de dificultades para el reclutamiento de participantes por las diferentes creencias negativas con relación a la terapia hormonal.

La tibolona (TB) es un esteroide sintético regulador de actividad estrogénica selectiva que actúa en diferentes tejidos y órganos (cerebro, hueso, mamas, endometrio, tracto urogenital, sistema cardiovascular, etc), con posibilidades de tener también un efecto antioxidante. Los estudios con respecto al efecto de la TB sobre el EO han sido realizados principalmente en modelos animales enfocándose al tejido cerebral, en donde se observa una disminución de lípidos oxidados y un incremento en la capacidad antioxidante total, mostrando un posible efecto antioxidante. De los estudios en humanos se reporta que la TB disminuye los lipoperóxidos plasmáticos en la posmenopausia y mejora significativamente la sintomatología perimenopáusica, el bienestar sexual y la pérdida de masa ósea con la reducción en el riesgo de fracturas.

Por lo que se puede percibir que aún existe vacío en el conocimiento en relación con la posible actividad antioxidante de la TB sobre el estrés oxidante y la densidad mineral ósea, lo cual es motivo de esta investigación.

II. MARCO TEÓRICO

II.1. Estrés oxidante

La condición de estrés oxidante (EO) se conoce como el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas (ER) y los radicales libres (RL), que provocan daño oxidante en las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes (AO)^{1,2}.

Se ha propuesto a las especies reactivas de oxígeno (ROS) como la causa de numerosos problemas de salud, colocando al EO como el origen de estos padecimientos. El daño oxidante a macromoléculas favorece la presencia o complicaciones de los procesos inflamatorios en general, diabetes mellitus, enfermedades neurodegenerativas como Parkinson y Alzheimer, infarto de miocardio, distintos tipos de cáncer, disfunción endotelial, insuficiencia renal, aterosclerosis y osteoporosis, así como el envejecimiento³.

Para prevenir la formación de moléculas oxidantes y reparar el daño oxidante a los tejidos y biomoléculas, todos los organismos aeróbicos poseen sistemas de defensa antioxidante. Un antioxidante es una entidad química que, a bajas concentraciones, en comparación con el oxidante, retarda o previene significativamente la oxidación de un sustrato, incluyendo a las macromoléculas¹. En este sentido, los antioxidantes no son terapias aprobadas para enfermedades, pero no se descarta que el EO pueda ser un componente causal de la enfermedad⁴.

Se han utilizado una gran variedad de marcadores en muestras biológicas para evaluar el EO, incluye lípidos, proteínas y ADN oxidados, antioxidantes (enzimas u antioxidantes no enzimáticos). Además de oxidantes (especies reactivas de oxígeno)⁵. Se pueden medir las enzimas SOD y GPx para evaluar al sistema antioxidante, además de componentes no enzimáticos como la capacidad sérica antioxidante total (AT), GAP o brecha antioxidante, definido como los antioxidantes diferentes de albúmina y ácido úrico, no medidos en las técnicas para la determinación de AT. También, se ha propuesto como indicador diagnóstico del sistema enzimático a la razón SOD/GPx¹.

II.2. Menopausia

La transición a la menopausia es un proceso fisiológico complejo, a menudo se acompaña de los efectos adicionales del envejecimiento. Este periodo está caracterizado por la inicial inestabilidad de la función endocrina ovárica, la disminución de las hormonas ováricas y por último el cese del ciclo endometrial. La menopausia natural es el cese de los ciclos menstruales (último sangrado

endometrial) resultado de la secreción reducida de las hormonas estrógenos y progesterona y que se diagnostica después de 12 meses de amenorrea no asociada a una causa patológica. El último ciclo menstrual ocurre generalmente entre los 40 y 58 años de edad⁶. Para las mujeres de América Latina se ha reportado que la menopausia ocurre en el rango de 43.8 a 53 años⁷.

La colaboración STRAW (Stages of Reproductive Aging Work Shop), desarrolló un modelo para describir el envejecimiento reproductivo en la mujer en contextos clínicos y de investigación. Dividió la vida de la mujer adulta en grandes fases: reproductiva, transición a la menopausia y posmenopausia. Estas tres fases incluyen siete etapas, tres reproductivas, caracterizadas por ciclos menstruales regulares; dos en la transición menopáusica, con ciclos menstruales variables y valores elevados de FSH; y dos etapas de posmenopausia, comenzando con el último periodo menstrual y durando hasta el final de la vida (Figura 1)⁸.

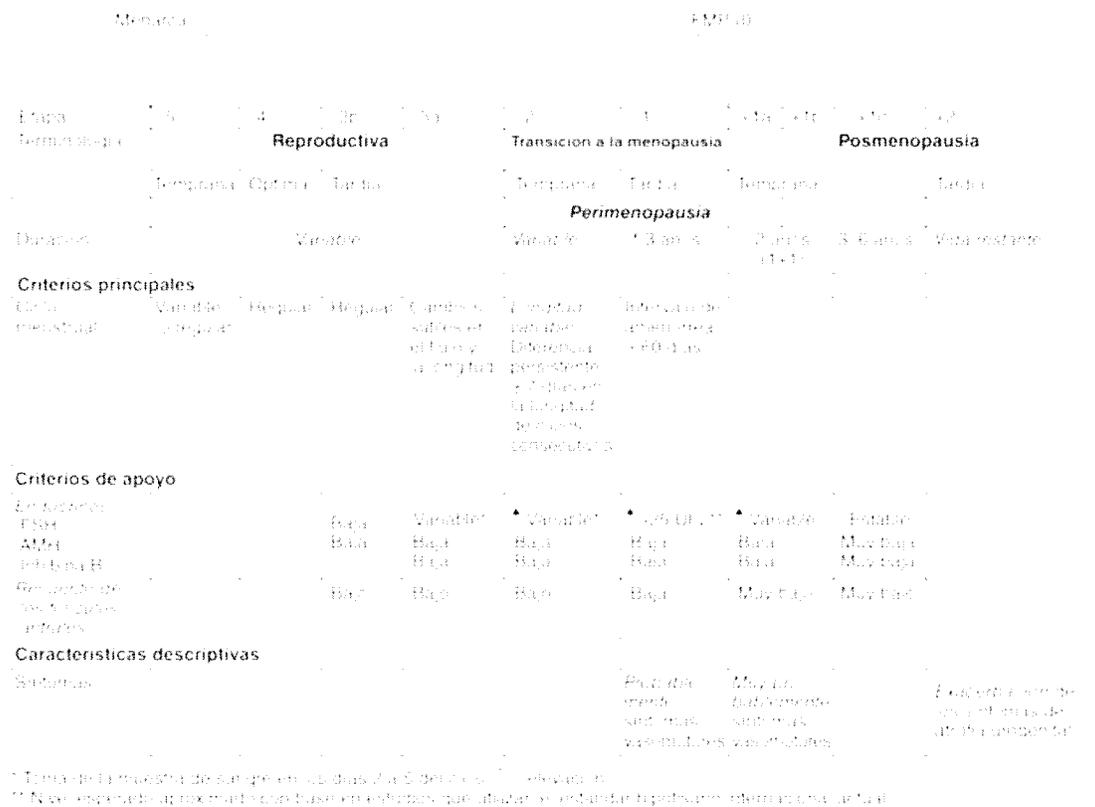


Figura 1. Sistema STRAW +10. Tomado de Harlow SD, et al. 2012⁸

En este contexto, en la posmenopausia se describen dos etapas: temprana y tardía. *Posmenopausia temprana*: La FSH continúa aumentando y el estradiol disminuyendo hasta aproximadamente 2 años después del último periodo menstrual, después, los niveles de cada una de estas hormonas se estabilizan. La

posmenopausia temprana se subdivide en tres subestadios (+1a, +1b y +1c), las etapas +1a y +1b duran 1 año y finalizan en el momento en el que se estabilizan los niveles de FSH y estradiol. La etapa +1a marca el final del período de 12 meses de amenorrea requerido para definir que el último período menstrual ha ocurrido. Corresponde al final de la "perimenopausia", un término aún de uso común que comienza en la etapa -2 y finaliza 12 meses después de última menstruación. La etapa +1b incluye el resto del período de cambios rápidos en los niveles medios de FSH y estradiol. Se estima que las etapas +1a y +1b juntas duran en promedio 2 años. Los síntomas, especialmente los vasomotores, tienen más probabilidades de ocurrir durante esta etapa. La etapa +1c representa el período de estabilización de niveles altos de FSH y valores bajos de estradiol que se estima que duran de 3 a 6 años; por lo tanto, toda la posmenopausia temprana dura aproximadamente de 5 a 8 años. *Posmenopausia tardía (etapa +2)*: Los cambios en la función endocrina reproductiva son más limitados y los procesos de envejecimiento somático se convierten en una preocupación primordial. Los síntomas de sequedad vaginal y atrofia urogenital son cada vez más frecuentes en este momento⁸.

En esta etapa, con el incremento de las gonadotropinas y debido a que los tejidos sensibles a las hormonas se ven privados de los estrógenos, los receptores de estrógenos no ejercen su efecto sobre los órganos urogenitales, los huesos, el sistema cardiovascular y el sistema nervioso central, traduciéndose clínicamente, en signos y síntomas que pueden afectar considerablemente la vida personal y social de la mujer^{6,9}. Algunos signos y síntomas que experimentan las mujeres en la posmenopausia son:

- a. Sistema nervioso central: síntomas vasomotores (bochornos y sudoraciones), inestabilidad emocional, trastornos del sueño, depresión y ansiedad, cambios cognitivos como alteraciones en la memoria y concentración, migraña.
- b. Función sexual: disminución en el deseo sexual, dispareunia.
- c. Sistema urogenital: sequedad vaginal, picazón y ardor vulvar, disuria, frecuencia urinaria, urgencia, recurrentes infecciones del tracto urinario bajo.
- d. Cambios en piel, mucosa y cabello: reducción del grosor de la piel, elasticidad e hidratación reducida, aumento de las arrugas, pérdida de cabello.
- e. Peso y cambios metabólicos: aumento de peso, adiposidad visceral y de la circunferencia de cintura.
- f. Cambios cardiovasculares: aumenta el riesgo de eventos adversos cardiovasculares y la aterosclerosis, el perfil de lípidos tienden a volverse aterogénicos.
- g. Sistema musculoesquelético: dolor articular, sarcopenia, afectación en el remodelamiento óseo (aumento de la resorción).

II.2.1. Estrógenos como antioxidantes

Los estrógenos son hormonas esteroideas formados por tres anillos ciclohexanos (A, B, C) y un anillo ciclopentano (D), son compuestos fenólicos porque tienen un grupo hidroxilo unido a un anillo aromático. Bajo este aspecto, los estrógenos se clasifican como Compuestos Fenólicos Policíclicos (PPCs), la estructura fundamental del estradiol que le confiere el efecto antioxidante es el anillo fenólico A, aromático con un OH en C3¹⁰.

La actividad antioxidante de los estrógenos y sus metabolitos se ha demostrado tanto *in vivo* como *in vitro*, son moléculas lipofílicas capaces de intercalarse en las membranas celulares y mitocondriales. La mayor potencia de los estrógenos podría ser el resultado de su capacidad de donar el hidrógeno hidroxílico desde varias posiciones del anillo A. De esta donación de hidrógeno se produce una forma de estradiol oxidada relativamente estable (radical fenoxi), intermediario que puede evitar la cascada de peroxidación lipídica y ser reducido nuevamente a fenol por otros antioxidantes celulares¹⁰. Se ha descrito que el efecto antioxidante de los estrógenos está mediado de varias formas: reducción de la producción de ROS, neutralización del exceso de ROS y mejora de la defensa fisiológica antioxidante¹¹.

II.3. Anatomía y fisiología del hueso

El hueso es un órgano compuesto por diversos tejidos (tejido óseo, cartilaginoso, conectivo denso, tejido adiposo y nervioso) que funcionan en forma coordinada¹². Toda la estructura de los huesos constituye el sistema esquelético. Se han clasificado tres funciones principales del sistema esquelético, 1) Mecánico: sitio de fijación muscular para músculos, tendones y ligamentos, así como protección para órganos vitales, 2) Formación de células hematopoyéticas, 3) Metabolismo: homeostasis mineral y equilibrio ácido base. También, desde un punto de vista estructural, el hueso se clasifica en dos variedades: cortical y trabecular^{12,13}.

El tejido óseo cortical o compacto tiene pocos espacios y es la forma más resistente de tejido óseo. Se halla por debajo del periostio de todo hueso y constituye la mayor parte de la diáfisis de los huesos largos como el fémur y la tibia, así como en la capa externa del hueso trabecular. Tres cuartas partes del esqueleto adulto corresponden a hueso cortical. Es muy resistente a la flexión, la torsión y la compresión y es mucho más denso con un papel mínimo en el metabolismo. El hueso compacto está compuesto por unidades estructurales básicas llamadas osteonas. Vasos sanguíneos y nervios del periostio penetran el hueso compacto a través de conductos perforantes^{12,13}.

El tejido óseo trabecular o esponjoso es una red de trabéculas delgadas y calcificadas que constituyen la mayor parte del tejido óseo interno de los huesos cortos, planos, sesamoideos y de forma irregular. Una cuarta parte del esqueleto adulto corresponde a hueso trabecular. Responde ocho veces más rápido a los cambios de carga, lo que lo hace más dinámico. En los huesos largos, este tejido forma el centro de la epífisis por debajo de la fina capa de hueso compacto o cortical y forma un borde angosto que bordea la cavidad medular de la diáfisis^{12,13}.

Hay diferencias estructurales y funcionales en los subtipos de hueso. De acuerdo con la estructura, el 80% - 90% del hueso cortical está calcificado, lo que le da mayor dureza, frente a un 15% - 25% del trabecular que contiene mayor cantidad de médula ósea, vasos sanguíneos y tejido conectivo¹⁴. El hueso cortical cumple funciones mecánicas y protectoras, mientras que el hueso trabecular principalmente tiene una actividad metabólica (casi 10 veces mayor que el cortical¹⁵), aunque las trabéculas también participan en la función biomecánica particularmente en las vértebras¹⁴. La porosidad de la estructura ósea cortical está íntimamente relacionada con la remodelación y resistencia ósea. Se ha observado asociación entre el aumento de la porosidad cortical y el aumento de fracturas por fragilidad¹⁴.

II.3.1. Matriz ósea

El tejido óseo combina células vivas (células progenitoras, osteocitos, osteoblastos y osteoclastos) y una matriz ósea con componentes orgánicos e inorgánicos. Los componentes orgánicos son en 90% fibras de colágeno tipo I, proteínas no colágenas como glucoproteínas, proteoglicanos, proteínas con ácido γ -carboxiglutámico, sialoproteínas y, las enzimas fosfatasa alcalina y metaloproteasas¹⁴. Los materiales inorgánicos están constituidos en su mayor parte por depósitos de fosfato de calcio que se combina con hidróxido de calcio¹² para formar cristales de hidroxiapatita, además contiene iones como magnesio y sodio¹⁶.

Las células progenitoras óseas son las únicas sometidas a división celular y se diferencian en osteoblastos. Se encuentran en los canales óseos, el endostio, el periostio y la médula¹⁶.

Los osteocitos representan el 90% de todas las células óseas¹⁶. Una vez que el osteoide se ha mineralizado, el osteoblasto que queda atrapado en la matriz ósea que produjo se conoce como osteocito o célula ósea madura¹⁴. El osteocito desempeña un papel en la formación y reabsorción ósea al transmitir señales a otros osteocitos. Son mecanosensibles al detectar la carga mecánica a través de la deformación física de la matriz ósea y regulan el flujo de líquido dentro del hueso en respuesta a estas tensiones mecánicas¹⁶.

El osteoblasto sintetiza y secreta matriz ósea (osteóide) rico en colágeno tipo I y proteínas no colágenas. Los osteoblastos regulan la mineralización del osteóide, su actividad está dada de forma autocrina y paracrina. Poseen receptores para una gran variedad de hormonas endocrinas, como la hormona paratiroidea y hormonas esteroides¹⁴. Los osteoblastos tienen uno de dos destinos, permanecen inactivos en el revestimiento o se convierten en osteocitos. También, regulan la formación de osteoclastos y osteocitos¹⁶.

Los osteoclastos son células grandes multinucleadas responsables de la resorción ósea. Tienen de cuatro a veinte núcleos, abundantes complejos de Golgi, mitocondrias y vesículas cargadas de enzimas lisosomales¹⁴. Los iones de hidrógeno que secretan los osteoclastos acidifican el compartimento de reabsorción para disolver el componente mineral, mientras que la catépsina K y la fosfatasa ácida resistente al tartrato digieren la matriz proteica¹⁶.

11.3.2. Remodelación de huesos

El tejido óseo experimenta a lo largo de la vida un proceso de remodelado óseo continuo, ordenado y secuencial de reabsorción y formación de hueso. Resorción ósea (eliminación de minerales y fibras de colágeno) por osteoclastos y depósito óseo (acumulación de minerales y fibras de colágeno) por osteoblastos¹⁴. El proceso involucra cuatro fases distintas pero superpuestas: 1) iniciación o activación en un sitio específico, 2) reabsorción y reclutamiento de células osteoprogenitoras, 3) diferenciación y síntesis de osteóide por osteoblastos y, 4) mineralización del osteóide y finalización de la remodelación ósea¹⁶, el ciclo completo de remodelación dura aproximadamente 3 meses¹⁴.

Este proceso brinda la oportunidad de cambiar la forma, la arquitectura o la densidad del esqueleto¹⁴. En un adulto joven se renueva cada año alrededor de un 3% de hueso cortical y un 25% de trabecular¹⁵, por lo que aproximadamente el 30% de la masa esquelética total se renueva cada año¹⁴. La masa ósea máxima se mantiene con pequeñas variaciones entre los 30 y 50 años, edad a partir de la cual empieza a declinar¹⁵.

El remodelado óseo está influido por una serie de factores interrelacionados entre sí, como los genéticos, alimentarios, mecánicos, locales y hormonales. Hay evidencia de que el pico de masa ósea se encuentra determinado *genéticamente*. De acuerdo con la *alimentación*, se necesita un aporte de calcio y otros minerales para permitir la mineralización, asimismo, se conoce que hábitos tóxicos como tabaco, cafeína, alcohol y exceso de sal constituyen factores de riesgo para aparición de osteopenia. Con las variaciones en las cargas de presión y torsión derivadas de la *actividad muscular*, transmite al hueso una tensión que es detectada

por la red de osteocitos, produciendo mediadores que estimulan la formación ósea. Entre los factores *locales* se destacan los factores de crecimiento, las citocinas y las proteínas de la matriz ósea¹⁵.

El desarrollo fisiológico del tejido óseo precisa la normalidad del sistema endocrino. Hipotálamo, hipófisis, tiroides, paratiroides, páncreas, suprarrenales y gónadas intervienen¹⁵. Las *hormonas* más importantes son^{12,15}:

- *Tiroideas*. Estimulan la síntesis osteoide por los osteoblastos y su mineralización, lo que favorece la síntesis de IGF-I. También estimula la reabsorción al aumentar el número y función de los osteoclastos.
- *Factores de crecimiento semejante a la insulina (IGF)*. Estimula los osteoblastos y aumenta la síntesis de proteínas necesarias.
- *Hormona paratiroidea (PTH)*. Estimula la absorción de calcio en el túbulo distal y la síntesis renal de calcitriol, facilitando la absorción intestinal de calcio y fosfato. También, facilita la maduración de preosteoclastos y la activación de los osteoclastos maduros.
- *Calcitonina*. Debido a sus receptores en la membrana del osteoclasto, inhibe la resorción ósea.
- *Leptina*. Inhibe la formación ósea en un efecto mediado por el sistema nervioso simpático y los receptores adrenérgicos β_2 presentes en osteoblastos.
- *1,25(OH)₂ vitamina D₃ o calcitriol*. Hormona esteroidea que favorece la absorción intestinal de calcio y fosfato; por tanto, la mineralización ósea.
- *Andrógenos*. Tienen un efecto anabolizante sobre el hueso, a través del estímulo de los receptores de los osteoblastos. Asimismo, actúan de mediadores en el pico de GH existente en la pubertad.
- *Estrógenos*. Los estrógenos tienen un doble efecto sobre el metabolismo óseo: por un lado, favorecen la formación ósea al aumentar el número y función de los osteoblastos y, por otro lado, disminuyen la reabsorción. Se han descrito receptores de estrógenos en osteoblastos, osteocitos y osteoclastos humanos. Se ha comprobado que los estrógenos pueden aumentar los niveles de osteoprotegerina (OPG), proteína producida por los osteoblastos que inhibe la reabsorción, por lo que podrían jugar un papel importante en la regulación de la osteoclastogénesis.
- *Progesterona*. Es igualmente anabolizante sobre el hueso, directamente, a través de los osteoblastos, que poseen receptores para la hormona o bien de forma indirecta, mediante la competencia por los receptores osteoblásticos de los glucocorticoides.
- *Insulina*. Estimula directamente la síntesis de matriz osteoide por osteoblastos e, indirectamente, favorece la síntesis de IGF-1; modulando el desarrollo óseo.

- *Glucocorticoides*. A dosis altas tienen efectos catabólicos sobre el hueso, a dosis fisiológicas favorecen la diferenciación osteoblástica.
- *Hormona de crecimiento (somatotropina)*. La GH actúa directamente sobre los osteoblastos, con receptores para la hormona, estimulando su actividad, lo que produce un aumento en la síntesis de colágeno, osteocalcina y fosfatasa alcalina. La acción indirecta se produce a través del aumento de la síntesis de IGF-I y II por los osteoblastos. Estos factores favorecen la proliferación y diferenciación de los osteoblastos, aumentando su número y función.

II.3.3. Metabolismo mineral óseo. Paratiroides, calcitonina, vitamina D

El hueso es el mayor depósito de calcio del cuerpo, con un 99% del total. El intercambio de Ca^{2+} está regulado por hormonas, y la más importante es la PTH. La presencia de mayores concentraciones de PTH aumenta la cantidad y la actividad de los osteoclastos, que fijan el ritmo de la resorción ósea. La consecuente liberación de Ca^{2+} desde el hueso hacia la sangre normaliza la concentración de Ca^{2+} en la sangre. La PTH también actúa en los riñones para disminuir la pérdida de Ca^{2+} a través de la orina. Además, la PTH estimula la formación de calcitriol (la forma activa de la vitamina D), una hormona que promueve la absorción del calcio de los alimentos desde el tubo digestivo hacia la sangre. Cuando el Ca^{2+} en sangre aumenta por encima de lo normal, la calcitonina inhibe la actividad de los osteoclastos, acelera la recaptación de Ca^{2+} desde la sangre hacia el hueso y el depósito de Ca^{2+} en los huesos. El resultado neto es que la calcitonina promueve la formación ósea y disminuye la concentración de Ca^{2+} en sangre¹⁷.

II.3.4. Envejecimiento del hueso

La edad avanzada representa un factor de riesgo para la disminución de la masa y fuerza ósea, por lo que la incidencia de fracturas aumenta¹⁸. En las mujeres, los primeros 3-5 años después de la menopausia la pérdida ósea es rápida, afectando principalmente al hueso trabecular, los siguientes 10-20 años la disminución ósea es en hueso trabecular y cortical⁹.

Con el envejecimiento, la cantidad de hueso reabsorbido por los osteoclastos no es completamente restaurado con el hueso depositado por los osteoblastos, este desequilibrio provoca pérdida de hueso¹⁹. Los osteoclastos derivan de células de linaje hematopoyético y los osteoblastos se originan de un linaje mesenquimal²⁰. La pérdida de la funcionalidad de las células madre mesenquimales podría ser debido a la acumulación de daño oxidante. Los osteocitos al ser células de “vida larga” son relativamente más susceptibles que los osteoblastos y osteoclastos a los cambios moleculares causados por el envejecimiento, es posible que el EO junto con otros

factores de la edad puedan alterar el remodelado óseo disminuyendo no solo el número de osteocitos si no también su capacidad de síntesis. Para explicar el desequilibrio entre la resorción y formación del hueso se han descrito mecanismos intrínsecos y extrínsecos de la disfunción celular¹⁸.

Mecanismos intrínsecos de la célula:

- a) Estrés oxidante. El daño causado por el EO ha sido considerado un componente clave en la degeneración de los tejidos asociado con envejecimiento, evidencia de estudios farmacológicos y genéticos en ratones apoyan esta teoría¹⁸. En ratones, los antioxidantes previenen la pérdida de hueso causada por gonadectomía o envejecimiento, inhibiendo la apoptosis de osteoblastos y osteocitos, el deterioro causado por el EO se observa en una disminución de osteoblastos y en la disminución de la formación de hueso, además se ha observado que el envejecimiento prematuro está asociado con daño oxidante causando osteoporosis¹⁹. La oxidación lipídica potencia el EO y puede contribuir a la reducción de la formación del hueso, estimulando la apoptosis de las células osteoblásticas¹⁸.
- b) Autofagia. La autofagia es un mecanismo que permite a las células sobrevivir en condiciones de estrés, es un modo de muerte celular programada. Se ha propuesto que la autofagia, con la vejez, puede ser menos eficiente. Y, se ha observado EO elevado en huesos de ratones con carencia de autofagia en osteocitos¹⁸.

Mecanismos extrínsecos de la célula:

- a) Pérdida de esteroides sexuales. Los receptores estrogénicos alfa presentes en osteoblastos y osteoclastos median un efecto protector en el hueso cortical y trabecular¹⁸. Los estrógenos disminuyen la generación y estimulan la apoptosis de los osteoclastos¹⁹.
- b) Exceso relativo de glucocorticoides endógenos. Modulan la resorción del hueso e incrementan la porosidad cortical. Los glucocorticoides son fuertes inhibidores de la formación de hueso, al menos en parte, por la estimulación de la apoptosis de los osteoblastos y osteocitos¹⁸.
- c) Adipogénesis ósea. Los adipocitos en la médula ósea se incrementan con el envejecimiento, particularmente en huesos largos. Evidencia en ratones propone que la expresión de un receptor para la adipogénesis está aumentada, comprometiendo a las células mesenquimales a la producción de adipocitos en lugar de osteoblastos. Los lípidos oxidados también estimulan la apoptosis de las células osteoblásticas e inhiben la diferenciación de osteoblastos¹⁸.
- d) Disminución de factores de crecimiento. Los factores de crecimiento como la hormona del crecimiento y el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) son críticos para el crecimiento del hueso, evidencia en ratones muestra que la

disminución de los niveles de IGF-1 en la médula ósea está asociada con la disminución de la masa ósea¹⁸.

- e) Otros cambios relacionados con la edad. La inflamación crónica y la actividad física reducida son factores que están a menudo asociados con el envejecimiento y potencialmente median algunos de los impactos negativos en el hueso¹⁸.

11.3.5. Osteoporosis

La osteoporosis es un trastorno metabólico de la vejez, se define como la reducción de la masa ósea por unidad de volumen de hueso anatómico²⁰, por lo que el envejecimiento y la osteoporosis están íntimamente ligados¹⁹. Después de la menopausia, la pérdida de hueso ocurre de manera más rápida, constanding el rol adverso de la deficiencia de estrógenos en la masa ósea y su contribución a la aceleración de la involución del esqueleto con la edad^{19,20}.

Se han descrito mecanismos relacionados con la disminución de la masa ósea tras la menopausia: acción de los estrógenos en el hueso, alteraciones de la PTH, alteraciones de la vitamina D, papel de la calcitonina, incremento de la excreción urinaria de calcio, disminución de la ingesta de calcio y otras alteraciones hormonales¹⁷.

La disminución de la masa ósea relacionada con la deprivación estrogénica puede ser explicada con algunos mecanismos: a) después de la menopausia se ha detectado aumento de la expresión y secreción de las citocinas proinflamatorias interleucina (IL)-1, IL-6 y factor de necrosis tumoral (TNF) alfa, la administración de los estrógenos inhibe su expresión. b) RANKL induce la proliferación de los osteoclastos. La actividad biológica del RANKL es neutralizada por su unión con la osteoprotegerina (OPG). Los estrógenos, de forma dosis dependiente, aumenta los niveles del mRNA de la OPG, por lo que los estrógenos pueden bloquear la acción estimulante del RANKL. c) Los estrógenos tienen efecto con otros mediadores celulares relacionados con la inflamación (TGF-beta, PG, M-CSF y GM-CSF)¹⁷. Por lo que la acción importante de los estrógenos es incrementar la secreción de OPG, disminuir M-CSF y RANK²¹. Las citocinas estimulan la formación de osteoclastos y osteoblastos, lo que provoca un aumento del recambio óseo y, finalmente, la pérdida de hueso. Específicamente, TNF alfa, contribuye a una mayor formación de osteoclastos. Además, los altos niveles de FSH durante la menopausia estimulan la diferenciación de osteoclastos y la producción de TNF alfa²².

El déficit estrogénico hace al hueso más sensible a la acción de las sustancias y hormonas reabsortivas, entre ellas la PTH, incrementándose por ello la reabsorción ósea. El calcio plasmático aumenta con el incremento de la reabsorción ósea, lo

cual produce consecuentemente una disminución de la secreción y/o síntesis de la PTH, hecho que provoca de manera secundaria una disminución de la síntesis renal de 1,25(OH)₂ vitamina D¹⁷.

La calcitonina participa en la regulación de la homeostasis mineral en un sentido contrario a PTH y vitamina D. Es la hormona hipocalcemiante por excelencia. Sin embargo, no es claro el papel de la calcitonina en el desarrollo de la osteopenia fisiológica de la menopausia; se conoce que la administración de estrógenos puede incrementar los niveles de calcitonina sérica¹⁷.

La excreción urinaria de calcio, condicionado por un aumento de la reabsorción ósea y de un incremento del paso de calcio del hueso al torrente circulatorio, está aumentada en la menopausia; diversos autores han sugerido que este incremento en la excreción urinaria de calcio podría contribuir al desarrollo de la osteopenia y que no fuera exclusivamente consecuencia de esta¹⁷.

Por otra parte, el diagnóstico de la osteoporosis se basa en la evaluación de la densidad mineral ósea (DMO) por absorciometría dual de rayos X (DXA), expresada como T-score y la presencia de fracturas por fragilidad (Cuadro 1). El T-score es el número de desviaciones estándar por encima o por debajo de la DMO media para los adultos jóvenes²³.

Cuadro 1. Definición de osteoporosis según la OMS.

Categoría	T – score
DMO normal	Entre +2.5 y –1.0
DMO baja (osteopenia)	–1.0 a –2.5
DMO baja (osteoporosis)	Por debajo de –2.5 y por debajo
Osteoporosis grave	Por debajo de –2.5 y una o más fracturas

Tomado de: Gambacciani M, et al. 2014²³.

La osteoporosis se caracteriza por una disminución de la fortaleza ósea que predispone a un mayor riesgo de fractura, siendo ésta la manifestación clínica más importante. La fuerza ósea integra DMO y calidad ósea, la DMO no siempre refleja riesgo de fractura, pero, el término calidad ósea implica una mayor tendencia a la fractura²¹.

Se ha observado que una mujer de 50 años tiene un riesgo de por vida del 16% de sufrir una fractura vertebral y, que el 70% de las fracturas de cadera ocurren en mujeres²³. La prevalencia de fracturas osteoporóticas aumenta del 4% en las mujeres de 50 a 59 años al 52% en las mujeres mayores de 80 años. Las fracturas osteoporóticas ocurren de forma secuencial, siendo el primer signo las fracturas del

extremo inferior del radio a partir de los 50 años, seguidas de las fracturas vertebrales a los 60-75 años y las fracturas de cadera a finales de los 70 años²¹.

Por otra parte, hay evidencia que sugiere que la mayoría de las fracturas por fragilidad ocurren en mujeres con osteopenia en lugar de osteoporosis²⁴. Las mujeres con osteopenia más una fractura prevalente tienen el mismo riesgo de fractura que las mujeres con osteoporosis²⁵ y, se ha observado anomalías estructurales en mujeres osteopénicas con fracturas²⁴.

II.3.6. Marcadores de estrés oxidante en osteoporosis posmenopáusica.

El EO u otros mecanismos intrínsecos de la edad son factores importantes que pueden alterar el remodelamiento óseo, siendo aún poco claro. A este respecto, se ha observado que las especies reactivas de oxígeno incrementan en el tejido óseo en el envejecimiento, y a la vez son esenciales para la formación y activación de los osteoclastos, así mismo, algunos antioxidantes previenen el incremento de la resorción del hueso cuando las células esteroideas se han perdido¹⁹.

Existe evidencia que muestra que el EO es un factor de riesgo para osteoporosis en adultos mayores²⁶. Una revisión sistemática con meta-análisis de estudios transversales en mujeres posmenopáusicas, mostró una asociación significativa entre el EO y la osteoporosis. Seis de doce marcadores de EO mostraron un cambio estadísticamente significativo en las pacientes con osteoporosis en comparación con los controles sanos: GPx, SOD, Homocisteína (Hcy), óxido nítrico (NO), folato y poder antioxidante total (TAP), mientras que no se encontraron diferencias estadísticas con respecto a los otros biomarcadores: CAT, proteína carbonilo, 3-nitrotirosina, vitaminas, peroxidación lipídica y TAS. En la actualidad no existe un consenso sobre los biomarcadores de EO más adecuados para osteoporosis en la posmenopausia, la validez de muchos de los biomarcadores en uso debe ser confirmada²⁷.

Finalmente, como se mencionó anteriormente, el déficit hormonal inducido por la menopausia se ha relacionado con un aumento de citocinas inflamatorias en el suero, como el TNF alfa, IL-4, IL-10 e IL-12²².

II.4. Terapia hormonal

La Sociedad Norteamericana sobre la Menopausia (*The North American Menopause Society-NAMS*) publicó en el 2008 un consenso sobre el uso de estrógenos y progestágenos en mujeres posmenopáusicas en donde se aclaran aseveraciones sobre los riesgos de la terapia hormonal (TH) que surgieron en con el *Women's Health Initiative Observational Study* (WHI) y el *Heart and*

Estrogen/Progestin Replacement Study Follow-up (HERS II), en donde advirtieron que la TH era un factor de riesgo para la aparición y desarrollo de una serie de enfermedades cardiovasculares, trombosis, cáncer de mama y ovario, entre otros²⁸.

En 2017, la NAMS publica que la TH como estrógeno solo (TE) o estrógeno combinado con un progestágeno (TEP), sigue siendo el tratamiento más eficaz para los síntomas vasomotores y el síndrome genitourinario de la menopausia. Además, la TH previene la pérdida de hueso mediante la inhibición de la reabsorción ósea de osteoclastos, reduce la tasa de remodelación ósea y, por tanto, las fracturas osteoporóticas que incluyen cadera, columna vertebral y todas las fracturas no espinales, incluso en las mujeres sin osteoporosis. La respuesta de la DMO hacia el estrógeno está relacionada con la dosis, con menos protección contra la pérdida ósea a dosis más bajas, especialmente para mujeres menores de 40 años. La administración prolongada de la TH es una opción para las mujeres con DMO baja para prevenir una mayor pérdida o reducir el riesgo de fracturas. Se ha observado que los beneficios de la TH en la masa ósea se disipan con la interrupción del tratamiento²⁹.

En mujeres posmenopáusicas con riesgo de fractura y menores de 60 años o hasta con 10 años de menopausia y sin contraindicaciones, la relación beneficio-riesgo es más favorable para el tratamiento de síntomas vasomotores y la TH puede ser considerada como una de las terapias para la prevención y tratamiento de fracturas relacionadas con la osteoporosis, siendo segura y efectiva^{23,29}. Para las mujeres que inician la TH a más de 10 o 20 años desde el inicio de la menopausia o que tienen 60 años o más, la relación beneficio-riesgo parece menos favorable debido a los mayores riesgos absolutos de enfermedad coronaria, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, tromboembolismo venoso y demencia²⁹.

En este sentido, una revisión sistemática de Cochrane "*Long-term hormone therapy for perimenopausal and postmenopausal women (Review)*" actualizada en 2017, evaluó los efectos de la TH a largo plazo (al menos un año) en 22 estudios con 43,637 mujeres posmenopáusicas. Se observó que la TH combinada continua, aumentó el riesgo de ataque cardíaco en tres años de seguimiento RR: 1.46(1.02 a 2.09), evento coronario en un año de seguimiento RR: 1.89(1.15 a 3.10), tromboembolia venosa en un año de seguimiento RR: 4.28(2.49 a 7.34), cáncer de mama después de 5.6 años de tratamiento RR: 1.27(1.03 a 1.56), colecistopatía seguimiento de 5.6 años RR: 1.64(1.30 a 2.06) y muerte por cáncer de pulmón con una mediana de 8 años de seguimiento RR: 1.74(1.18 a 2.55). El riesgo de fractura RR: 0.78(0.71 a 0.86), fue el único resultado para el que las pruebas sólidas mostraron un beneficio clínico derivado de la TH combinada después de 5.6 años. La calidad general de las pruebas para las comparaciones principales fue moderada, la limitación principal en la calidad de las pruebas fue que cerca del 30%

de las pacientes tenían de 50 a 59 años al inicio del tratamiento, más de la mitad de las participantes fueron mayores de 60 años³⁰.

A este respecto, para iniciar o continuar una TH se deben evaluar los riesgos-beneficios, momento de inicio desde la menopausia, tipo de tratamiento, dosis, formas farmacéuticas, duración de la terapia, uso de progestágeno y ser consistente con los objetivos del tratamiento. El tratamiento debe ser individualizado para maximizar los beneficios y minimizar los riesgos, con una reevaluación periódica para continuar o discontinuar la TH²⁹.

Los estrógenos más comúnmente prescritos son estrógenos conjugados equinos, estrógenos conjugados sintéticos, 17β estradiol micronizado y etinil estradiol. Se pueden prescribir en diferentes formas farmacéuticas como tabletas, parches, aerosoles, cremas, geles transdérmicos o anillos vaginales. Los progestágenos están disponibles en tabletas, parches combinados con estrógeno, sistemas intrauterinos, inyectables, geles o tabletas vaginales^{29,31}. Las vías de administración no orales (sistemas transdérmico, vaginal e intrauterino) puede ofrecer ventajas potenciales porque evitan el efecto hepático de primer paso²⁹.

A todas las mujeres con útero intacto que reciben terapia estrogénica sistémica debe prescribíseles un progestágeno adecuado para reducir el riesgo de hiperplasia de endometrio como medroxiprogesterona (MPA), acetato de noretindrona, drospirenona o progesterona micronizada^{29,31}, tienen efectos adversos sobre lípidos sanguíneos y es posible que puedan causar síntomas como cefalea, timpanismo abdominal y sensibilidad mamaria³⁰. Existen múltiples opciones de régimen de dosificación, dependen de la potencia del progestágeno y varían con la dosis de estrógeno. Diferentes tipos y dosis de progestágenos, vías de administración y tipos de régimen (secuencial o combinada continua) pueden tener diferentes resultados de salud³⁰.

Las contraindicaciones para la TH incluyen sangrado vaginal inexplicable, enfermedad hepática activa grave, cáncer de mama o endometrio sensible a estrógeno, cardiopatía coronaria, demencia, historia personal o alto riesgo hereditario de enfermedad tromboembólica, porfiria cutánea, hipertrigliceridemia, la migraña puede empeorar, la endometriosis podría reactivarse o los leiomiomas pueden crecer. Los efectos adversos más comunes incluyen náuseas, hinchazón, aumento de peso, retención de líquidos, cambios de humor (relacionados con el progestágeno), dolores de cabeza, sensibilidad en los senos²⁹ y alta incidencia de sangrado endometrial inesperado y/o manchado, además es la razón principal de la interrupción de la TH, estudios han reportado que un 20% a 50% de las mujeres sufren estos eventos^{29,31}.

Por otra parte, la TH contrarresta el estrés oxidante muy probablemente debido al efecto antioxidante de los estrógenos³², en mujeres con síndrome metabólico³³ y con bochornos³⁴, además, al disminuir los síntomas agudos de la posmenopausia se tiene una sensación de bienestar que modifica la percepción de la calidad de vida, lo que contribuye a la reducción del EO³². La evidencia muestra que la TH incrementa la capacidad antioxidante^{35,36}, reduce el nivel de proteínas carboniladas sugiriendo un efecto protector³⁷ y reduce la oxidación de lípidos directamente en la pared arterial³⁸.

II.5. Terapia con tibolona

La tibolona (TB) es un esteroide sintético para aliviar los síntomas climatéricos, se descompone en metabolitos con efectos estrogénico, androgénico y progestagénico³⁹. Estos metabolitos interactúan y potencian de forma variable y selectiva los receptores de esteroides en diferentes tejidos y órganos (cerebro, hueso, mamas, endometrio, tracto urogenital, sistema cardiovascular, etc)⁴⁰, por lo que se clasifica a la TB como un regulador selectivo de la actividad estrogénica (STEAR)³⁹. La configuración única de este fármaco determina su farmacocinética que, además de sus características físicoquímicas, permite su administración oral como una sola dosis diaria⁴¹.

Después de ser absorbida, la TB es metabolizada de diferente forma en diversos tejidos diana, produciendo los metabolitos 3α y 3β que circulan en su forma sulfatada inactiva y llegan a ser estrogénicamente activos cuando sufren desulfatación convirtiéndose en compuestos hidroxilados activos. La tibolona en sí, y su metabolito 3β se pueden convertir en un isómero Δ^4 , el cual puede unirse y transactivar los receptores de progesterona actuando como una protección concomitante del endometrio³⁹⁻⁴¹. La afinidad de la TB y sus diferentes metabolitos para los diferentes receptores esteroides (Cuadro 2)⁴¹ confiere un beneficio a la terapia con TB al no requerir el uso de un progestágeno para proteger el endometrio. Además, la TB tiene la capacidad de activar receptores androgénicos dando un beneficio en el bienestar sexual y estado anímico^{40,41}.

Cuadro 2. Afinidad de la tibolona y sus metabolitos a receptores de esteroides.

Esteroides	Receptor de esteroides		
	Estrógeno	Progesterona	Andrógeno
Tibolona	Débil	Débil	Débil
Isómero Δ^4	Nulo	Moderado	Moderado
3α - OH	Débil	Nulo	Nulo
3β - OH	Débil	Nulo	Nulo

Tomado de: Mendoza N, et al. 2013⁴¹.

Evidencia de calidad moderada sugiere que la TB es más eficaz que el placebo, pero menos eficaz que la TH para reducir los síntomas vasomotores⁴². Es eficaz en el tratamiento de la atrofia vaginal, el estado anímico, el bienestar sexual y tiene una eficacia clínica similar a la TH en prevenir pérdida de masa ósea^{23,40}.

En el hueso, la TB tiene un efecto similar a los estrógenos, es eficaz para preservar y/o aumentar la DMO hasta cuando la osteoporosis ya está diagnosticada, disminuyendo de esta manera las fracturas vertebrales y no vertebrales⁴⁰. La revisión sistemática Cochrane "*Short – term and long – term effects of tibolone in postmenopausal women*" actualizada en 2015, que incluye 46 ECA (19,976 mujeres), reporta que la mayoría de los estudios evaluaron la TB para tratar los síntomas vasomotores. Cinco artículos informaron otros objetivos, como la pérdida de hueso y la reducción de fracturas en mujeres con osteoporosis, sin embargo, los resultados no fueron analizados⁴². Ensayos clínicos han demostrado que la pérdida de hueso en columna y cadera se puede prevenir con 2.5 mg/día, además, una dosis de 1.25 mg/día también parece ser efectiva, especialmente en mujeres posmenopáusicas tardías⁴⁰.

Por otro lado, se ha sugerido que la TB cuando se toma más de cinco años, en caso de que sea esencial continuar, se requieren estudios frecuentes en mamas⁴³. La revisión sistemática Cochrane sobre los efectos de la TB demuestra que la TB se asocia con una tasa más alta de sangrado no programado que el placebo, pero con una tasa más baja que la TH. En comparación con el placebo, la TB aumenta las tasas de cáncer de mama recurrente en mujeres con antecedentes de cáncer de mama y puede aumentar las tasas de accidente cerebrovascular en mujeres mayores de 60 años. Así mismo, en la revisión sistemática se menciona que no hay evidencia que indique que la TB aumente el riesgo de otros eventos adversos a largo plazo, o que difiera de la TH con respecto a la seguridad a largo plazo⁴².

En relación con lo anterior, comparando con la TH, la TB se asocia con una menor tasa de sangrado OR: 0.32(0.24 a 0.41), lo que sugiere que si el 47% de las mujeres que toman TH combinada experimentan sangrado no programado, entre el 18% y el 27% de las mujeres que toman TB lo harán. Cuando se compara la TB con placebo, de acuerdo con los eventos adversos a largo plazo (seguimiento de dos a tres años), no se encontró diferencia entre los grupos de mujeres sin antecedentes de cáncer de mama OR: 0.52(0.21 a 1.25); siendo los estudios de baja calidad. Entre las mujeres con antecedentes de cáncer de mama, la TB se asoció con un mayor riesgo OR:1.5(1.21 a 1.85); en estudios de calidad moderada. No se encontraron pruebas concluyentes de diferencias entre los grupos en los eventos cerebrovasculares OR: 1.74(0.99 a 3.04); con estudios de baja calidad. De acuerdo con otros resultados, no hubo evidencia clara de diferencias entre los grupos, las estimaciones del efecto son: cáncer de endometrio OR: 2.04(0.79 a 5.24), eventos

cardiovasculares OR: 1.38(0.84 a 2.27), eventos tromboembólicos venosos OR: 0.85(0.37 a 1.97) y mortalidad por cualquier causa OR: 1.06(0.79 a 1.41); con evidencia de la calidad baja o muy baja⁴².

Por último, son escasos los reportes respecto al efecto de la tibolona sobre el estrés oxidante. Estudios en modelos animales han mostrado que la tibolona produce un aumento en la capacidad antioxidante total en la corteza cerebral⁴⁴, puede prevenir déficits de atención y de memoria al proporcionar un efecto protector contra el estrés oxidante⁴⁵ y prevenir la neurodegeneración causada por exposición a ozono⁴⁶, discrepando de otros estudios^{47,48}. Las investigaciones en mujeres posmenopáusicas también muestran controversia⁴⁸⁻⁵⁰.

Las terapias como agentes antirresortantes, estrógenos, antiestrógenos (principalmente raloxifeno), calcitonina, bifosfonatos y la hormona paratiroidea, son reconocidas para el tratamiento de la osteoporosis. Sin embargo, a excepción de los estrógenos, ninguna otra terapia alivia los síntomas climatéricos. Existe, por lo tanto, espacio para un agente terapéutico que trata tanto la prevención de la pérdida ósea como los síntomas de la menopausia. La tibolona como terapia para la sintomatología posmenopáusica y calidad de vida puede ser también un tratamiento para la prevención de osteoporosis a bajo costo, siendo una ventaja adicional importante en mujeres climatéricas que usen esta terapia; pero no hay evidencia consistente sobre su efecto en el estrés oxidante y la densidad mineral ósea en mujeres posmenopáusicas, lo cual es motivo de esta investigación.

II.6. Revisión de la literatura

De acuerdo con los temas antes descritos y tomando en cuenta el acrónimo PICO (Cuadro 3) se exploró la literatura científica en MEDLINE a través de PubMed. Se diseñaron algoritmos de búsqueda con términos MeSH y palabras clave para cubrir los estudios clínicos y experimentales en modelos animales relacionados con el estrés oxidante y, estudios clínicos relacionados con la densidad mineral ósea. El número de artículos en la búsqueda a enero de 2022 es:

Tibolona y estrés oxidante: 36 artículos

- ✓ tibolone AND oxidative stress: 14
- ✓ "tibolone" [Supplementary Concept] AND "Oxidative Stress" [Mesh]: 9
- ✓ ("tibolone" [Supplementary Concept]) AND ("oxidative stress" [Mesh] OR "lipid peroxides" [Mesh] OR "superoxide dismutase" [Mesh] OR "glutathione peroxidase" [Mesh] OR "total antioxidant status" [text word] OR "Uric Acid"[Mesh]): 10

- ✓ ("menopause" [Mesh] OR "postmenopause" [Mesh]) AND ("tibolone" [Supplementary Concept]) AND ("oxidative stress" [Mesh] OR "lipid peroxides" [Mesh] OR "superoxide dismutase" [Mesh] OR "glutathione peroxidase" [Mesh] OR "total antioxidant status" [text word] OR "Uric Acid"[Mesh]): 3

Tibolona y densidad mineral ósea: 135 artículos

- ✓ ("tibolone" [Supplementary Concept]) AND ("bone density" [Mesh] OR "osteoporosis, postmenopausal" [Mesh])

Tibolona, estrés oxidante y densidad mineral ósea: cero artículos.

- ✓ ("tibolone" [Supplementary Concept]) AND ("oxidative stress" [Mesh]) AND ("bone density" [Mesh] OR "osteoporosis, postmenopausal" [Mesh])
- ✓ "tibolone" AND ("oxidative stress" [Mesh] OR "lipid peroxides" [Mesh] OR "superoxide dismutase" [Mesh] OR "glutathione peroxidase" [Mesh] OR "total antioxidant status" [text word] OR "Uric Acid"[Mesh]) AND ("bone density" [Mesh])

Cuadro 3. Componentes del acrónimo PICO.

Componentes de la pregunta de investigación	
Participantes	Mujeres posmenopáusicas
Intervención	Tratamiento con tibolona
Comparador	Tratamiento con estrógenos y/o placebo
Desenlace	<i>Estrés oxidante.</i> Medido a través de diferentes marcadores biológicos como: Lipoperóxidos plasmáticos, enzimas superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa, como componente no enzimático la capacidad sérica antioxidante total (antioxidantes totales) y ácido úrico. <i>Densidad mineral ósea</i>

Por último, en los cuadros 4 y 5 se resumen los principales resultados sobre la tibolona y el estrés oxidante en modelos animales y en humanos, respectivamente. El cuadro 6 muestra la evidencia con tibolona y densidad mineral ósea (columna vertebral, cuello femoral y cadera total) de los estudios clínicos con control, doble ciego y aleatorizado en mujeres posmenopáusicas.

Cuadro 4. Revisión de la literatura que muestra la evidencia de estudios con tibolona y estrés oxidante en animales.

Autor, año	Tipo de estudio	Población	Intervención	Marcadores de estrés oxidante	Tipo de muestra	Resultados	Conclusión
de Aguiar RB, et al., 2008 ⁴⁴	Experimental controlado	105 ratas hembra: a. Jóvenes b. Adultas c. Mayores Cada grupo estratificado con/sin tratamiento y con/sin ovariectomía	Valerato de estradiol 0,3 mg/Kg TB1 0.5 mg/Kg TB2 1mg/Kg Tratamiento: 12 semanas	Peroxidación lipídica (LPO) Especies reactivas de oxígeno (ERO) Capacidad antioxidante total (TOSC)	Corteza cerebral e hipocampo	Resultados con p<0.05 Corteza cerebral: J y M tratadas con TB2 y M sin tratamiento mostraron niveles menores de LPO comparadas con J sin Ovx y M con TB1 TB1 y TB2 aumentaron TOSC comparado con VE. Hipocampo: Las A con Ovx (sin tratamiento, con VE, TB1 y TB2) mostraron menores niveles de TOSC comparado con J sin Ovx. Las ERO fueron más altas en M comparadas con todas las J.	La TB disminuyó la peroxidación lipídica y aumentó la capacidad antioxidante total en la corteza cerebral.
de Oliveira MC, et al., 2011 ⁴⁷	Experimental controlado	Hígados de ratas hembra	TB 5 a 100 µM	Peroxidación lipídica Enzimas: glutatión, reductasa, peroxidasa, superóxido dismutasa, catalasa	Perfusiones hepáticas y mitocondrias aisladas	Perfusión hepática: TB vs. control (p<0.05) GR (34.13 vs. 25.04 nmol/min.mg) MDA 44.9% más elevado (9.47 vs. 5.21 nmol/mg) No hubo cambios estadísticamente significativos en la actividad de las enzimas GPx, SOD y catalasa	La TB aumenta el estrés oxidante en células del hígado y en mitocondrias aisladas.
Beltrán – Campos V, et al., 2014 ⁴⁸	Experimental aleatorizado, doble ciego, controlado	30 ratas hembra: a. control, b. Ovx c. Ovx – TB	TB 1mg/kg Tratamiento: 40 días	Peroxidación lipídica	Hipocampo	No hubo diferencia significativa entre los valores promedio de los tres grupos evaluados. ANDEVA de una vía (F _{2,25} =2,429, p=0.107)	La TB no redujo la peroxidación lipídica en el hipocampo.

TB: tibolona, J: jóvenes, A: adultas, M: mayores, Ovx: ovariectomía, VE: valerato de estradiol, GR: Glutatión reductasa, MDA: malondialdehído, GPx: Glutatión peroxidasa, SOD: superóxido dismutasa.

Cuadro 4. Continuación. Revisión de la literatura que muestra la evidencia de estudios con tibolona y estrés oxidante en animales.

Autor, año	Tipo de estudio	Población	Intervención	Marcadores de estrés oxidante	Tipo de muestra	Resultados	Conclusión
Farfán – García ED, et al., 2014 ⁴⁵	Experimental aleatorizado, controlado	100 ratas macho: a. Control b. TB Cuatro grupos expuestos a O ₃ (7, 15, 30 y 60 d). Cuatro grupos expuestos a O ₃ + TB (7, 15, 30 y 60 días).	TB 1mg/kg/día Tratamiento: Hasta 60 días	Superóxido dismutasa, peroxidación de lípidos 4-hidroxinonenal Nitrotirosina	Hipocampo	SOD incrementó y MDA disminuyó después de 60 d de exposición a O ₃ + TB, p<0.05 respecto a la exposición a O ₃ . La exposición al O ₃ aumentó el número de neuronas inmunopositivas para 4-HNE y NT, mientras que la administración de TB redujo estas expresiones, p<0.05.	La TB puede prevenir los déficits de memoria al proporcionar un efecto protector contra el estrés oxidante.
Pinto – Almazán R, et al., 2018 ⁴⁶	Experimental aleatorizado, controlado	60 ratas macho: a. Control b. Control + TB Cuatro grupos expuestos a O ₃ (7, 15, 30 y 60 d). Cuatro grupos expuestos a O ₃ + TB (7, 15, 30 y 60 días).	TB 1mg/kg/día Tratamiento: Hasta 60 días	Superóxido dismutasa, peroxidación de lípidos Nitrotirosina	Hipocampo	De 15 a 60 d de exposición a O ₃ , MDA y NT aumentaron y, SOD disminuyó, p<0.05. Con la administración de TB, los niveles de MDA y NT disminuyeron y, la actividad de la SOD incrementó, desde los 15 d y se mantuvo hasta los 60 d.	Los resultados sugieren que la TB es benéfica para prevenir la neurodegeneración causada por la exposición al O ₃ en ratas.
Estrada – Cruz NA, et al., 2019 ⁵¹	Experimental aleatorizado, controlado	Ratas hembra: Cuatro grupos sin Ovx (con/sin dieta alta en grasas y fructosa y, con/sin TB) Cuatro grupos con Ovx (con/sin dieta alta en grasas y fructosa y, con/sin TB)	TB 1mg/kg/día Tratamiento: 7 días	Enzimas: glutación, reductasa, peroxidasa, superóxido dismutasa. GSH/GSSG AGEs MDA	Suero	En el grupo con Ovx y dieta se observó que la TB redujo los niveles de AGEs, pero no la razón GSH/GSSG ni la actividad enzimática de SOD. Además, disminuyó la actividad del glutación peroxidasa y glutación reductasa, así como los niveles de MDA.	Los resultados sugieren que el tratamiento agudo con TB evitó el aumento de los niveles de MDA y AGEs inducidos por la Ovx y la dieta rica en grasas.

TB: tibolona, d: días, SOD: superóxido dismutasa, MDA: malondialdehído, 4-HNE: 4-hidroxinonenal, NT: Nitrotirosina, Ovx: ovariectomía, GSH: glutación reducido, GSSG: glutación oxidado, AGEs: productos finales de glicación avanzada.

Cuadro 5. Revisión de la literatura que muestra la evidencia de estudios con tibolona y estrés oxidante en humanos.

Autor, año	Tipo de estudio	Grupo de estudio / Control	Intervención	Marcadores de estrés oxidante	Resultados			Conclusión	
Vural P, et al., 2005 ⁴⁹	Ensayo clínico controlado	24 mujeres posmenopáusicas	TB 2.5 mg/día		Valores de los parámetros (media±DE) en mujeres posmenopáusicas			Aumentó el alfa tocoferol y disminuyeron los lipoperóxidos después de seis meses de tratamiento con TB, de manera significativa.	
		24 mujeres premenopáusicas	Tratamiento: 6 meses	Ácido ascórbico	µmol/L	51.7±13.6	48.8±14.2		<i>p</i>
				Alfa-tocoferol	µmol/L	14.9±5.5	18.8±3.4		<0.01
				Tioles totales	µmol/L	0.39±0.05	0.38±0.06		NS
				Caeruloplasmina	U/L	215±34	235±42		NS
		Glutation eritrocitaria (GSH)	mmol/L	1.84±0.27	2.03±0.26	NS			
		Peroxidación lipídica (MDA)	pmol/L	7.21±1.93	5.76±0.56	<0.01			
Vassalle C, et al., 2011 ⁵⁰	Ensayo clínico controlado	15 mujeres posmenopáusicas	TB 2.5 mg/día		Valores de los parámetros (media±DE) en mujeres posmenopáusicas			No empeora el estrés oxidante en las mujeres.	
		15 mujeres premenopáusicas	Tratamiento: 3 meses	Peroxidación lipídica (ROMs)	AU	269±79	299±86		<i>p</i>
				Capacidad antioxidante total (Oxy)	µmol HClO/mL	296±62	311±59		NS

TB: Tibolona, GSH: glutatión reducido, MDA: malondialdehído, ROMs: hidroperóxidos, Oxy: capacidad antioxidante total, NS: no significativo, DE: desviación estándar.

Cuadro 6. Evidencia de los ensayos clínicos controlados, doble ciego y aleatorizados en mujeres posmenopáusicas. Tibolona y densidad mineral ósea.

Autor, año	Seguimiento (meses)	Tibolona (dosis)	n	Control (dosis)	n	Evaluación de la DMO	Porcentaje de cambio en la DMO 12 y 24 meses de seguimiento		Conclusión	
							12m	24m		
Berning et al., 1996 ⁵²	24	2.5mg 1.25mg	33 34	Placebo	23	Columna vertebral (L1-L3) QCT	% de cambio		La TB previene la pérdida ósea en la posmenopausia temprana al inducir un aumento en la densidad del hueso trabecular.	
							TB 2.5mg	8.9		9.1
							TB 1.25mg	5.6		4.0
							Control	-1.6		-6.4
Bjarnason et al., 1996 ⁵³	24	2.5mg 1.25mg Ambos grupos con 400mg de calcio	28 28	Placebo + 400mg de calcio	13	Columna vertebral (L2-L4) DXA: Hologic	% de cambio		Ambas dosis de TB tienen efectos similares. La menor dosis puede ser efectiva.	
							TB 2.5mg	3.9		5.1
							TB 1.25mg	4.3		5.9
							Control	0.1		0.4
Gallagher, et al., 2001 ⁵⁴	24	0.3mg 0.625mg 1.25mg 2.5mg Todos los grupos con 500mg de calcio	132 136 127 131	Placebo + 500mg de calcio	130	Columna vertebral (L1-L4) Cuello femoral Cadera total DXA: Hologic y Lunar	% de cambio		En cada nivel de dosis, excepto 0.3 mg, la TB produjo un aumento progresivo en la DMO de la columna y la cadera total durante los 2 años de tratamiento; a 0.3 mg, se mantuvo la densidad total de la cadera. Sin embargo, sólo las dosis de 1,25 mg y 2,5 mg produjeron un aumento progresivo de la DMO de cuello femoral.	
							12m			24m
							Columna			
							TB 2.5mg	1.7		2.6
							TB 1.25mg	1.6		2.0
							Control	-1.7		-2.3
							Cuello			
							TB 2.5mg	0.7		1.0
							TB 1.25mg	0.3		0.5
							Control	-1.5		-2.6
							Cadera			
							TB 2.5mg	1.5		2.3
TB 1.25mg	1.2	1.5								
Control	-1.2	-1.9								

DMO: densidad mineral ósea, TB: tibolona, QCT: tomografía computarizada cuantitativa, DXA: absorciometría de rayos X de energía dual.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la menopausia la pérdida de estrógenos causa una serie de signos y síntomas que afectan la calidad de vida de la mujer. Estos síntomas vasomotores, genitourinarios, menstruales, psicosexuales, del sistema nervioso central, cardiovascular y alteraciones metabólicas afectan más a unas mujeres que a otras. Además, la disminución de la densidad mineral ósea en esta etapa provoca osteopenia y osteoporosis que aumentan el riesgo de fracturas, se estima que la cantidad de fracturas aumentará considerablemente.

La disminución de la densidad mineral ósea provoca la pérdida de hueso, con el envejecimiento, la cantidad de hueso reabsorbido por los osteoclastos no es completamente restaurado por los osteoblastos, por lo que, el envejecimiento y la osteoporosis están íntimamente ligados. La pérdida de hueso ocurre de manera más rápida en las mujeres en esta etapa. Dado que la osteoporosis en la mujer posmenopáusica es un problema de salud pública que se debe prevenir, es importante tomar en cuenta los procesos metabólicos en el hueso.

Por otro lado, hay evidencia de que la posmenopausia es un factor de riesgo para estrés oxidante (EO), así también, se ha observado, aunque no de manera clara que el EO altera el equilibrio de resorción y formación ósea.

Los estrógenos tienen actividad antioxidante, por lo que la terapia hormonal estrogénica además de aliviar la sintomatología posmenopáusica y mejorar la calidad del hueso, contrarresta el EO, sin embargo, a pesar de ser una buena opción terapéutica, las mujeres abandonan el tratamiento principalmente por sangrado endometrial y el temor al cáncer. Por otro lado, el esteroide sintético tibolona utilizado en países europeos y México, además de aliviar los síntomas climatéricos y prevenir la disminución de la densidad mineral ósea, es una opción terapéutica con actividad estrogénica y androgénica con mínimos efectos adversos como el retorno del sangrado cíclico y el dolor en mamas, con un posible efecto antioxidante.

De acuerdo con lo anterior, es posible que el estado oxidante y la densidad mineral ósea sea similar en las mujeres posmenopáusicas bajo tratamiento con tibolona y aquellas que tengan terapia hormonal estrogénica. Por lo que surge la siguiente pregunta de investigación.

¿Cuál es el efecto de la terapia con 2.5 mg/día de tibolona comparado con 0.625 mg/día de estrógenos o placebo sobre el estrés oxidante y la densidad mineral ósea en mujeres posmenopáusicas?

IV. JUSTIFICACIÓN

Se sabe que los estrógenos son potentes antioxidantes proporcionando protección contra el estrés oxidante (EO) durante la etapa reproductiva, que se pierde en la menopausia llegado el envejecimiento ovárico. Con la disminución de la producción de estrógenos y su consecuente depleción, la mujer presenta padecimientos y síntomas causado por ello, en donde el efecto en el hueso es evidente. En este sentido, se reporta que la mujer está más propensa a fracturas debido a la disminución de la densidad mineral ósea después de la menopausia.

Por otro lado, se ha observado, aunque no de manera clara, que el EO altera el equilibrio de resorción y formación ósea; además, hay evidencia de que la posmenopausia es un factor de riesgo para EO.

Actualmente sigue siendo controversial el manejo clínico de la menopausia. Cuando la mujer busca atención médica para aliviar sus síntomas, se recomienda la terapia hormonal de estrógenos con o sin progesterona, sin embargo, se abandona o se busca otra opción que no sea hormonal debido a sus efectos negativos a corto y largo plazo.

La tibolona al ser una molécula sintética con actividad estrogénica, progestágena y androgénica que provoca en menor frecuencia el efecto secundario sangrado endometrial y, en tratamientos a mediano plazo no existe riesgo de cáncer de mama ni endometrial, puede ser una alternativa para la mejoría de signos y síntomas que se presentan en la mujer, siendo uno de ellos la disminución de la densidad mineral ósea, además de presentar un posible efecto antioxidante. Debido a que solo hay dos estudios que evalúan su efecto sobre el EO en humanos con un tiempo de tratamiento de tres y seis meses y ninguno evalúa la densidad mineral ósea; consideramos que puede ser una alternativa terapéutica para las mujeres que no desean o abandonan el tratamiento con estrógenos, motivo de esta investigación.

V. OBJETIVOS

General

Evaluar el efecto de la terapia con 2.5 mg/d de tibolona comparado con 0.625 mg/d de estrógenos y placebo sobre el estrés oxidante y la densidad mineral ósea en mujeres posmenopáusicas, durante doce meses de tratamiento.

Específicos

- Determinar el estrés oxidante mediante los marcadores biológicos: Lipoperóxidos plasmáticos (LPO), enzimas superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx), razón SOD/GPx, capacidad sérica antioxidante total (AT), niveles de ácido úrico y la brecha antioxidante (GAP).
- Determinar la densidad mineral ósea en columna y cadera total para conocer el estado óseo.

Secundarios

- Determinar el riesgo de fractura.
- Analizar la frecuencia de los efectos adversos.

VI. HIPÓTESIS

La evidencia en modelos animales y en humanos muestra una controversia sobre el posible efecto antioxidante de la tibolona, por otro lado, es conocido su efecto positivo sobre la densidad mineral ósea, aunque el efecto de este esteroide sintético sobre ambas, estrés oxidante asociado a la baja densidad mineral ósea es incipiente. Por lo que suponemos que las mujeres con dosis de 2.5 mg/día de tibolona tendrán una disminución del 0.015 $\mu\text{mol/L}$ en el nivel de lipoperóxidos como marcador de estrés oxidante y una mejoría en la densidad mineral ósea de 1.7% en columna y 1.5% en cadera total, y de igual forma a las que ingieran 0.625 mg/día de estrógenos, durante doce meses de tratamiento.

VII. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

VII.1. TIPO DE ESTUDIO: Ensayo clínico controlado aleatorizado abierto.

VII.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Cálculo del tamaño de la muestra con el marcador de estrés oxidante lipoperóxidos.

Es un estudio paralelo de comparación de tres tratamientos ($k=3$) para observar el efecto de la terapia hormonal sobre el estrés oxidante, con estrógenos (tratamiento control activo), tibolona (tratamiento de estudio) y placebo. Por lo que se realizó un cálculo⁵⁵ de comparación simultánea para tres grupos.

En la revisión de la literatura se encontró que los dos ensayos que evalúan el efecto de la tibolona sobre el estrés oxidante coinciden en el marcador lipoperóxidos, tomando en cuenta el estudio de mayor seguimiento⁴⁹, después de seis meses de tratamiento los lipoperóxidos disminuyeron con una diferencia de medias de 0.015 $\mu\text{mol/L}$ ($\mu_T = 0.015$). La información para estrógenos y placebo se obtuvo a partir de un estudio³³ en donde se encontró que después de seis meses de tratamiento los lipoperóxidos plasmáticos disminuyeron en el grupo de estrógenos con una diferencia de medias de 0.039 $\mu\text{mol/L}$ ($\mu_E = 0.039$) y en el grupo placebo aumentaron con una diferencia de medias de 0.005 $\mu\text{mol/L}$ ($\mu_P = 0.005$). Se asumió una desviación constante de 0.05 $\mu\text{mol/L}$ ($\sigma = 0.05$) para los tres tratamientos. El tamaño de muestra necesario para lograr una potencia del 80% ($\beta = 0.20$) con un nivel de significancia del 5% ($\alpha = 0.05$), se puede obtener con la constante $\lambda = 9.64$. Por lo tanto, el tamaño de muestra requerido por grupo de tratamiento esta dado por $n = \lambda/\Delta$. Tomando en cuenta las variables de desenlace y las posibles pérdidas durante el seguimiento se aumentó un 20% al tamaño de muestra calculado, dando un total de 48 participantes por grupo.

<i>Terapia con estrógenos:</i>	$\mu_E = 0.039$	$\beta = 0.20$
<i>Terapia con tibolona:</i>	$\mu_T = 0.015$	$\alpha = 0.05$
<i>Placebo:</i>	$\mu_P = 0.005$	$\lambda = 9.64$
$\mu_{total} = 0.02$		
$\sigma = 0.05$		

$$\Delta = \frac{\sum (\mu_i - \mu_{total})^2}{\sigma^2} = \frac{0.000611}{(0.05)^2} = 0.2444 \quad n = \frac{\lambda}{\Delta}$$

$$n = \frac{9.64}{0.2444} = 39.44 = 40 \text{ participantes por grupo}$$

$$40 + 20\% = 48 \text{ participantes por grupo}$$

VII.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN

Criterios de inclusión

- Mujeres posmenopáusicas (FSH >50 mU/mL y estradiol <25 pg/mL) de 45 a 59 años o con al menos un año de amenorrea
- De acuerdo con el STRAW +10, posmenopausia temprana
- Con útero íntegro
- Con residencia en la Cd. de México
- Que hayan firmado el consentimiento informado

Criterios de exclusión

- Hipersensibilidad conocida a los estrógenos o progestágenos
- Tratamiento actual con cualquier tipo de hormonas
- Patología tumoral uterina o mamaria actual
- Presencia de cualquier neoplasia hormono-dependiente o antecedentes de cáncer de cualquier tipo
- Antecedentes de hepatopatías
- Endometriosis
- Sangrado genital anormal de etiología no diagnosticada
- Enfermedades mentales
- Enfermedades crónicas no transmisibles no controladas
- Antecedentes de cirugía gástrica y problemas de absorción de tubo digestivo
- Adicción a drogas o uso crónico de AINES o corticoides
- Antecedentes de enfermedad trombótica
- Reporte de infección por virus del papiloma humano
- Depresión patológica
- En los últimos seis meses: ingesta de suplementos con los antioxidantes más comunes (vitamina E, C, y A, betacaroteno y selenio) y suplementos con calcio
- Consumo de dietas vegetarianas o veganas
- Tratamiento para trastornos óseos metabólicos
- Historia de fractura
- Que no deseen participar en el proyecto
- Participación simultánea en algún otro estudio

Criterios de eliminación

- Que no cumplan con al menos un mes de tratamiento
- Que abandonen por cualquier motivo

VII.4. VARIABLES

Dependientes: Estrés oxidante y densidad mineral ósea

Independiente: Terapia suministrada de acuerdo con la selección aleatoria (tibolona, terapia estrogénica o placebo)

Covariables (factores pro-oxidantes): Tabaquismo, ingesta de alcohol, consumo de cafeína, sedentarismo, insomnio, obesidad.

VIII.4.1. Operacionalización de las variables

Variables	Definición	Nivel de medición	Categorías
<i>Dependiente</i>			
Estrés oxidante *	Desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas (ER) y los radicales libres (RL), que provocan daño oxidante a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes (AOx) ¹ . Medido a través de los niveles de lipoperóxidos plasmáticos, y los sistemas antioxidantes (enzimas antioxidantes SOD y GPx y capacidad sérica antioxidante total, antioxidantes no medidos y ácido úrico) ⁵ .	<ul style="list-style-type: none"> Cuantitativa continua <ul style="list-style-type: none"> Lipoperóxidos $\mu\text{mol/L}$ SOD U/ gHb GPx U/ gHb AT $\mu\text{mol/L}$ GAP $\mu\text{mol/L}$ SOD/GPx $\mu\text{mol/L}$ Ácido úrico $\mu\text{mol/L}$ Cualitativa nominal <ul style="list-style-type: none"> Lipoperóxidos Lipoperóxidos altos $\geq 0.320 \mu\text{mol/L}$ SOD SOD baja $\leq 1.20 \text{ U/gHb}$ GPx GPx baja $\leq 56.3 \text{ U/gHb}$ AT AT bajos $\leq 1030 \mu\text{mol/L}$ GAP GAP bajo $\leq 696 \mu\text{mol/L}$ SOD/GPx SOD/GPx ≥ 0.023 Ácido úrico Ácido úrico bajo $\leq 268 \mu\text{mol/L}$ 	

* Los límites para definir estrés oxidante se establecieron con los valores de corte del percentil 90 de un grupo control de adultos jóvenes de Actopan, Hidalgo.

VIII.4.1. Continuación. Operacionalización de las variables

Variables	Definición	Nivel de medición	Categorías
<i>Dependiente</i>			
Densidad mineral ósea	Cantidad de mineral por centímetro cuadrado de hueso ¹²	<ul style="list-style-type: none"> Cuantitativa continua Cualitativa ordinal (de acuerdo con T- score) Cualitativa nominal (de acuerdo con T- score) 	g/cm ² Puntuación T – score DMO normal: Entre +2.5 y –1.0 DE Osteopenia: –1.0 a –2.5 DE Osteoporosis: Por debajo de –2.5 DE y por debajo DMO normal: Entre +2.5 y –1.0 DE DMO baja: –1.0 a –2.5 DE y por debajo de –2.5 DE

VIII.4.1. Continuación. Operacionalización de las variables

Variables	Definición	Nivel de medición	Categorías
<i>Independiente</i>			
Terapia	<p>Terapia hormonal: Sistema de tratamiento médico, a base de estrógenos y progestágenos el cual puede disminuir el malestar causado por la depleción de estrógenos²⁹.</p> <p>Terapia con placebo: Tratamiento que es física y farmacológicamente inerte⁵⁶.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Cualitativa nominal 	<p>Con tibolona</p> <p>Con terapia estrogénica</p> <p>Con placebo</p>
<i>Intervinientes</i>			
Estilo de vida (factores pro-oxidantes)	Comportamientos que tienen impacto en la salud, que incluye: tabaquismo, ingesta de alcohol, inactividad física, horas de sueño y obesidad ⁵⁷ .	<ul style="list-style-type: none"> • Cualitativa nominal 	<p>a) El tabaquismo es positivo por más de 2 años, considerando el número de cigarrillos consumidos en un día.</p> <p>b) Ingesta de alcohol positiva por más de 2 años, considerando el número de copas ingeridas a la semana.</p> <p>c) Actividad física negativa, cuando se realice menos de 20 min. de actividad física aeróbica 3 veces a la semana.</p> <p>d) Dormir ≤ 6 h/día.</p> <p>e) Obesidad se considera cuando el IMC ≥ 27 kg/m²</p>

VII.5. MATERIAL Y MÉTODOS

VII.5.1. Descripción del estudio

Se trata de un estudio clínico controlado aleatorizado abierto en una población de mujeres posmenopáusicas de la ciudad de México, de nivel socioeconómico medio. Se incluyeron en el estudio mujeres posmenopáusicas (FSH >50 mU/mL y estradiol <25 pg/mL), diagnosticadas por un médico ginecólogo. Se seleccionaron de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión; se conformaron tres grupos por aleatorización, con seguimiento de doce meses. Los tratamientos consistieron en tabletas vía oral con dispensación mensual, así mismo, se llevó a cabo un registro de eventos adversos, luego de interrogar a las participantes con respecto a la aparición de cualquier signo o síntoma inusual. Los grupos conformados son: A. 2.5 mg/día de tibolona, B. 0.625 mg/día de estrógenos conjugados + 5 mg/10días de medroxiprogesterona y C. placebo.

Se invitaron a mujeres de 45 a 59 años a participar en el proyecto. A todas las interesadas se les dio una cita en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza UNAM para que el grupo de investigación les informara sobre el proyecto. Las que decidieron participar llenaron un cuestionario de datos generales de climaterio (Anexo 1), consentimiento informado (Anexo 2), cuestionario de estado de salud y polifarmacia (Anexo 3) y cuestionario de estilo de vida validado (Anexo 4). Se les explicó que serían citadas en tres ocasiones para la toma de muestra sanguínea, evaluación antropométrica y para estudios de densitometría ósea, al inicio del estudio, a los seis y doce meses. Así mismo, como control de tratamiento, se les citó en el laboratorio de diagnóstico CHOPO para estudios de mastografía y citología vaginal al inicio y al final del proyecto.

A las participantes, se les realizó una historia clínica, exploración física y medidas antropométricas (peso, talla y el cálculo del índice de masa corporal [IMC]). Se tomó muestras sanguíneas en tubos al vacío con EDTA y heparina como anticoagulantes y sin anticoagulante, entre 8-9 am con un ayuno de 8 horas. Como pruebas de tamizaje clínico, se cuantificó biometría hemática, química sanguínea de seis elementos: glucosa, ácido úrico, colesterol, triglicéridos, HDLc y albúmina. Las tomas de muestra se llevaron a cabo en la Clínica Universitaria de Atención a la Salud Zaragoza de la FES Zaragoza, UNAM. Enfermeras y Químicos Farmacéuticos Biólogos tesistas capacitados, realizaron las tomas de muestra, medidas antropométricas, apoyaron en el análisis bioquímico-hematológico y en la entrega de tratamientos.

También se midieron las concentraciones plasmáticas de FSH y estradiol por medio de quimioluminiscencia y RIA respectivamente, para determinar el estado de

menopausia. Así mismo, se evaluó la densidad mineral ósea en columna y cadera total por medio de absorciometría de rayos X de energía dual (DXA) en la Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica del Hospital Infantil de México, Federico Gómez. Para conocer el riesgo de fractura se utilizó el algoritmo disponible en línea de FRAX México (Anexo 5).

El estrés oxidante se determinó mediante la cuantificación de los marcadores: lípidos plasmáticos oxidados, actividad de las enzimas SOD y GPx en eritrocitos, nivel sérico de ácido úrico y capacidad plasmática de antioxidante total (AT) en una muestra de sangre heparinizada. Se utilizó el método del malondialdehído (MDA) midiendo TBARS como lipoperóxidos, la actividad de las enzimas SOD y GPx en eritrocitos y capacidad plasmática de antioxidantes totales, utilizando métodos comerciales (Randox Laboratorios, Ltd). Los antioxidantes no medidos (brecha de antioxidantes-GAP) se calcularon con los datos de antioxidantes totales, albúmina y ácido úrico. También se calculó la razón SOD/GPx.

Se muestra el diseño arquitectónico del estudio clínico en la figura 2.

► *Intervención.*

Durante doce meses a todas las participantes se les entregó mes con mes dos frascos de color ámbar de tamaños iguales y con etiquetas homogéneas. Un frasco con treinta tabletas de estrógenos conjugados 0.625mg/día, tibolona 2.5mg/día o placebo (Frasco 1) y el otro frasco con diez tabletas de medroxiprogesterona 5 mg/10días o placebo para los otros dos grupos (Frasco 2), vía oral, etiquetados con el número de tratamiento dado por la aleatorización.

Esquema de dosificación. Cíclico continuo (continuo-secuencial), el cual consiste en tomar una tableta diaria de estrógenos por mes y los últimos diez días del respectivo mes tomar una tableta de medroxiprogesterona. El mismo esquema se utilizó para el tratamiento con tibolona y placebo.

Vía de administración: Oral, las tabletas fueron consumidas con un vaso de agua.

Apego al tratamiento. Se les explicó a las participantes cómo tomar sus comprimidos con base en un calendario que se les entregó como control de tratamiento. La comunicación con las participantes fue por medio de llamadas telefónicas y aquellas que consintieron, por medio de mensajes de texto al número celular que proporcionaron. Las participantes llevaron mes con mes sus frascos a la Clínica Universitaria Zaragoza, para que las tabletas que no fueron consumidas fueran contadas. El control de entrega de tratamientos fue con un carnet (Anexo 6) en donde se registró la entrega mensual. Las participantes que abandonaron el estudio por cualquier causa y las que no recogieron al menos un mes de tratamiento, no se

eliminaron del análisis estadístico, siempre y cuando tuvieran mediciones de las variables de desenlace. Se consideró como apego al tratamiento el consumir al menos el 90% de tabletas por mes.

Cada uno de los meses del ensayo se realizó el monitoreo de posibles eventos adversos atribuidos a la administración de los tratamientos, registrando su presencia en el expediente clínico de acuerdo con lo establecido en la NOM-220-SSA1 2016, Instalación y operación de la farmacovigilancia. Se consideraron como eventos adversos: náuseas, hinchazón, aumento de peso, retención de líquidos, cambios de humor, sangrado o manchado de origen vaginal, dolor de cabeza, hipersensibilidad en senos. Los eventos adversos se atendieron por un médico ginecólogo certificado por el Consejo Mexicano de Ginecología y Obstetricia, colaborador del proyecto. El tratamiento se suspende con sangrado anormal valorado por el médico ginecólogo en dos meses consecutivos.

- ▶ *Cegamiento.* Este estudio es un ensayo abierto.
- ▶ *Aleatorización.*

El proceso de asignación al azar en donde cada participante tiene la misma oportunidad de ser asignada a un grupo o a otro, lo realizó un colaborador del ensayo clínico que no participó en el análisis de las muestras ni de los datos. Se realizó un listado conforme las participantes ingresaron al estudio, sin orden alguno. La aleatorización fue simple, con una lista generada por computadora, la ocultación de la aleatorización se garantizó con números de tratamiento consecutivos para evitar predecir el tipo de tratamiento asignado.

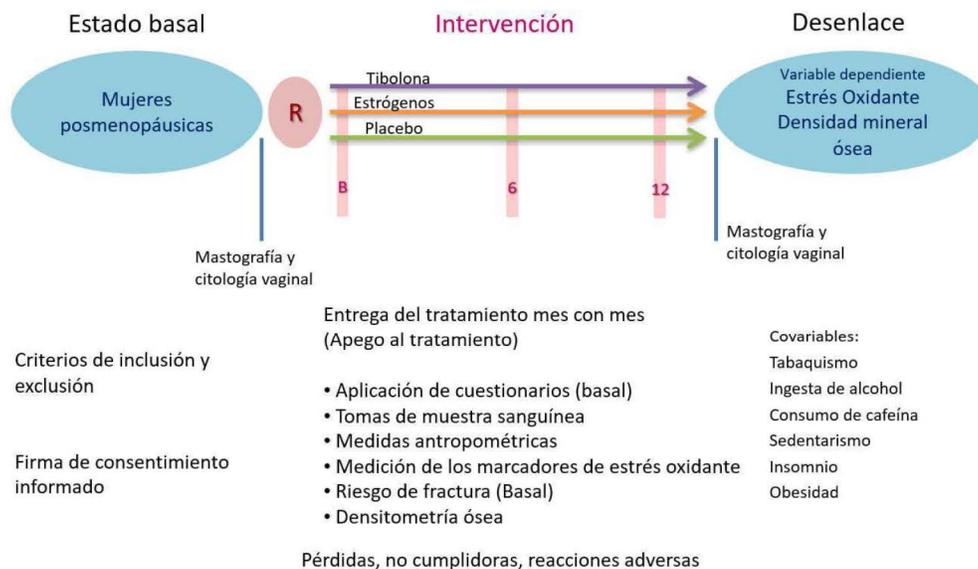


Figura 2. Diseño arquitectónico del estudio clínico.

VII.5.2. Técnicas.

VII.5.2.1. Lipoperoxidación. Método de ácido tiobarbitúrico (TBARS) modificado⁵⁸

Principio del análisis: El malonildialdehído (MDA), considerado un marcador de lipoperoxidación, reacciona con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) formando aductos (TBARS) que se miden espectrofotométricamente a 532 nm. Durante la reacción se incrementan los TBARS por auto-oxidación, agregando butiril-hidroxitolueno (BHT) se reduce la formación de lipoperóxidos *in vitro*.

Método: Preparar una curva de calibración de MDA por hidrólisis de tetrametoxipropano (TMP), a partir de una solución 0.2 mM de TMP, como sigue:

De la solución madre de TPM se toma 1 mL + 4 mL de H₂O dest., de esta solución se prepara el TMP 0.2 mM. Poner en un baño de agua a 90°C durante 45 min. en tubos tapados. Enfriar, extraer con 1.2 mL de n-butanol, tomar 500 µL de la fase de butanol y leer a 535 y 572 nm. Las muestras sanguíneas heparinizadas se centrifugan a 1724.31 g (3000 rpm) durante 5 min., separar el plasma y agregarles 10 µL de BHT en etanol (2 mmol/L), esto debe hacerse lo más rápido posible después de tomada la muestra.

Colocar 400 µL de plasma, 50 µL de BHT (12.6 mmol/L en etanol) y 400 µL de ácido orto-fosfórico (0.2 mol/L) en un tubo de 12X75 mm y mezclar en vortex durante 10 seg. Adicionar 50 µL de TBA (0.11 mol/L en NaOH) y mezclar en vortex nuevamente. Colocar los tubos tapados en un baño de agua a 90°C durante 45 min. Después de ese tiempo, enfriar en hielo y extraer las TBARS con 1.2 mL de n-butanol y 100µL de solución saturada de NaCl. Centrifugar los tubos a 4789.75 g (5000 rpm) por 2 min. Tomar 600 µL de la fase de butanol y leer en el espectro a 535 y 572 nm para corregir la absorción de la celda.

Preparación de la curva estándar:

Tubo	Solución TMP, µL	H ₂ O, µL
Blanco	0	1000
1	5	995
2	10	990
3	20	980
4	30	970
5	50	950
6	70	930
7	100	900

Solución de TMP 0.2 mM

Tubo	MDA μmol/L	Solución TMP μL	H ₃ PO ₄ 1% μL	TBA 0,6% μL
Blanco	0	400	400	50
1	0.2	400	400	50
2	0.4	400	400	50
3	0.8	400	400	50
4	1.2	400	400	50
5	2.0	400	400	50
6	2.8	400	400	50
7	4.0	400	400	50

Cálculos: Construir una gráfica de absorción vs. concentración de TBARS, utilizando la diferencia de absorción entre las dos longitudes de onda. Interpolar los resultados de los problemas en la gráfica.

VII.5.2.2. Capacidad sérica antioxidante total. Método colorimétrico reacción con ABTS⁺.

Principio del análisis: Formación del radical catión ABTS⁺ mediante la reacción entre peroxidasa (metamioglobina) con peróxido de hidrógeno y ABTS (2,2' –azido-di etilbenzotiazolin sulfonato). Este radical presenta una coloración verde-azulada que se mide a 600 nm, la presencia de antioxidantes en la muestra produce una supresión de la coloración, siendo proporcional a la concentración de antioxidantes.

Método: Para cada corrida se incluye un tubo blanco, un estándar y una muestra de control, los cuáles serán tratados igual que los problemas. Se colocan 20 μL de agua, estándar, muestra de control o problema en tubos de 12X75 mm identificados, agregar 1.0 mL del reactivo cromógeno (metahemoglobina, 6.1 μmol/L; ABTS, 610 μmol/L), mezclar bien y leer la absorción a 600 nm (A₁). Después, añadir 200 μL del sustrato (H₂O₂, 250 μmol/L), mezclar y empezar a cronometrar simultáneamente. Leer nuevamente la absorción al cabo de 3 min. exactamente (A₂).

Cálculos: Calcular la diferencia de las absorciones, ΔA = A₂ – A₁, (ΔA) para el blanco (ΔB), el estándar (ΔE) y los problemas (ΔM) y obtener el valor del factor (F).

$$F = \frac{[\text{Estándar}]}{\Delta B - \Delta E}$$

Calcular la concentración de antioxidantes totales: AT (mmol/L) = [ΔB – ΔM] F

VII.5.2.3. Superóxido dismutasa. Método cinético colorimétrico.

Principio del análisis: En este método se emplea xantina y xantina oxidasa (XO) para formar radicales superóxidos, los cuales reaccionan con cloruro de 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-fenil tetrazolio (INT) para formar un colorante formazán rojo. Se mide la actividad de la enzima por el grado de inhibición de esta reacción.

Método: Centrifugar 500 μ L de una muestra de sangre heparinizada durante 10 min. a 3000 rpm, separar el plasma y lavar los eritrocitos con 3 mL de solución salina fisiológica (NaCl 0.9%), centrifugando durante 10 min a 3000 rpm después del lavado. Repetir esta operación en 3 ocasiones.

Completar el paquete eritrocitario lavado con 2.0 mL de agua bidestilada fría, mezclar y dejar reposar durante 15 min. a 4°C. Diluir el lisado con una solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0 para tener una dilución final 1:100.

Colocar en tubos de 12X75 mm 50 μ L de la muestra diluida y 50 μ L del estándar S₁ (diluyente) y agregarles 1.7 mL de sustrato mixto de xantina/INT pH 10.2 y mezclar. Añadir 250 μ L de solución de xantina oxidasa (80 U/L), mezclar y leer la absorción (A₁) a 505 nm al cabo de 30 seg. y cronometrar el tiempo simultáneamente. Leer nuevamente después de 3 min. de comenzada la reacción (A₂).

Cálculos: El índice de la muestra diluyente (S₁) es equivalente al índice de la reacción sin inhibir (100%).

Obtener el promedio de la diferencia de las absorciones (ΔA): $\frac{A_2 - A_1}{3} = \Delta A$

Todos los índices tanto de los estándares como de las muestras diluidas deben ser convertidos en porcentajes del índice del blanco y sustraídos del 100% para obtener el porcentaje de la inhibición:

$$100 - \frac{\Delta A_{\text{muestra/min}} \times 100}{\Delta A_{S1/min}} = \% \text{inhibición}$$

Realizar una gráfica con los porcentajes de inhibición de los puntos de la curva estándar contra el logaritmo (Log₁₀) de la concentración del estándar en unidades SOD/mL. Utilizar el porcentaje de inhibición de la muestra para obtener las unidades SOD de la curva estándar:

SOD (U/mL de sangre entera) = SOD (U/mL) de la curva \times 100

SOD U/mL = [1.21 + (0.01 \times % Inhibición)] \times 100

SOD U/g Hb = (SOD U/mL \div Hb) / 10

VII.5.2.4. Glutación peroxidasa. Método cinético UV.

Principio del análisis: La enzima glutación peroxidasa (GPx) cataliza la oxidación del glutación (GSH) por el hidroperóxido de cumeno. El glutación oxidado (GSSG) en presencia de glutación reductasa (GR) y NADPH es convertido en su forma reducida con una oxidación concomitante de NADPH en NADP⁺. Se mide la disminución de la absorción a 340 nm.

Método: Diluir 50 µL de sangre heparinizada con 1.0 mL de solución diluyente, incubar durante 5 min. y añadir 1.0 mL de reactivo de Drabkin a doble concentración mezclando. Las muestras deben ser analizadas en los 20 min. después de la adición del reactivo de Drabkin.

Colocar en un tubo de ensayo de 12X75 mm 20 µL de la muestra diluida a la cual se le agregan 1.0 mL de reactivo de [GSH (4 mmol/L) /GR (≥ 5 U/L) /NADPH (0.34 mmol/L)] y 40 µL de hidroperóxido de cumeno (0.18 mmol/L). Mezclar y leer la absorción inicial a 340 nm al cabo de un minuto. Repetir la medición al cabo de 1 y 2 minutos después de la primera lectura. Preparar un tubo blanco con 20 µL de agua destilada, 1.0 mL de reactivo y 40 µL de hidroperóxido de cumeno y hacer las mismas mediciones. Restar el valor obtenido para el blanco a la muestra. Obtener el promedio de la diferencia de las absorciones/min. (ΔA)

Cálculos:

$$\text{GPx (U/L)} = (8412 \times \Delta A) \times 41$$
$$\text{GPx U/g Hb} = (\text{GPx U/L} \div \text{Hb}) / 10$$

VII.5.2.5. Ácido úrico

El ácido úrico es el producto final del metabolismo de la purina en el organismo humano. Se determinó in vitro cuantitativamente en suero humano en el sistema cobas c111 de Roche.

Principio del análisis: Es un método enzimático colorimétrico, el ácido úrico es oxidado por la uricasa en alantoína y peróxido de hidrógeno. El peróxido reacciona en presencia de peroxidasa (POD), la N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-metilanilina (TOOS) y la 4-amonofenazona para formar el colorante quinona-imina. La intensidad cromática del colorante rojo es proporcional a la concentración de ácido úrico y es determinada fotométricamente midiendo el aumento de la absorbancia.

Método: La recolección del suero se obtuvo de la manera usual en tubos al vacío sin anticoagulante, dentro de la primera hora de la recolección. El analizador semiautomatizado cobas c111 es calibrado por el operador, las muestras de suero se colocan en las cubetas dadas por el proveedor, el volumen de muestra necesario

que pipetea el equipo son 3µL para que se lleve a cabo la reacción enzimática antes mencionada y hacer la lectura fotométrica a una longitud de onda 552/659 nm. El analizador cobas c111 calcula automáticamente la concentración de analito de cada muestra.

VII.5.2.6. Razón SOD/GPx

El cálculo de la razón de SOD/GPx es el cociente entre los valores de la actividad enzimática obtenidos en U/gHb para las enzimas SOD y GPx.

VII.5.2.7. Brecha de antioxidantes (GAP)

Los antioxidantes no medidos (brecha de antioxidantes - GAP) se calcularon a través de la fórmula: $GAP = [AT - ((\text{albúmina} \times 0.151) + (\text{ácido úrico} \times 59.5))]$. Tanto la albúmina como el ácido úrico deben estar expresados como µmol/L.

VII.5.2.8. Evaluación de la densidad mineral ósea y riesgo de fractura.

Con la absorciometría dual de rayos X (DXA) se midió la densidad mineral ósea en columna y cadera total cada seis meses durante doce meses, se utilizó un densitómetro Lunar iDXA GE Healthcare, con un filtro de cerium que resulta en energía de 45 y 80keV. Emite una dosis de radiación menor a 6µSv. El equipo iDXA lunar se encuentra en la Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica del Hospital Infantil de México, Federico Gómez.

La metodología de la densitometría ósea con DXA axial con mesa estable requiere optimización y cuidadosa ejecución, acorde a las recomendaciones para el rendimiento y las aplicaciones clínicas de las pruebas de densidad ósea, según la Sociedad Internacional de Densitometría Clínica (ISCD), por lo que el estudio lo realizó un técnico certificado de la Unidad de Investigación.

Se le solicitó a la participante que utilizara ropa deportiva como pants con top o camiseta y shorts, para su comodidad. De ser necesario, se le solicitó que se quitara parte de su vestimenta o que utilizara una bata del hospital durante el examen. Se retiraron todos los objetos metálicos que portaban sobre el cuerpo (aretes, anillos, pulseras, collares, cierres, broches, hebillas o botones). Se excluyeron las situaciones que contraindican la prueba, como la administración de contraste oral en los 5 días previos, o la realización de estudios isotópicos en los dos días previos.

La participante se recuesta en una mesa acolchada. El generador de rayos X se ubica debajo del paciente y un dispositivo de imágenes, o detector, se posiciona arriba. En el estudio de cadera, la participante se coloca en decúbito supino con la pierna ligeramente en abducción para mantener recto el eje femoral, y en rotación

interna (15-30 grados), sujetando sus pies con una correa a una cuña de manera que en la imagen adquirida el trocánter menor no sea visible. La paciente permanece centrada, con rodillas hacia dentro y pies en rotación interna. La luz de centrado es a medio muslo, justo debajo de la sínfisis del pubis. El área de análisis para la cadera se sitúa en el cuello femoral evitando la superposición con otros huesos (rama isquiopubiana y trocánter mayor). El equipo calcula la inclinación del cuello y las demás áreas. El campo de visión debe incluir 1-2 centímetros por encima y debajo del área que se va a analizar, el detector pasa lentamente por el área, generando imágenes en un monitor de computadora. Mientras la participante esta recostada sobre la mesa, es posible que se le pida que mantenga una posición incómoda durante un tiempo corto, mientras el brazo de la máquina pasa por encima de su cuerpo. La participante deberá permanecer lo más quieta posible durante el examen, esto ayudará a crear una imagen clara y útil de sus huesos, reduciendo la posibilidad de que ésta resulte borrosa.

Para conocer el riesgo de fractura, se utilizó la herramienta FRAX, en donde se requiere conocer los factores de riesgo: edad, fractura previa, fractura de cadera en alguno de los padres, consumo de alcohol, tabaquismo, uso de glucocorticoides sistémicos, padecimientos como artritis reumatoide y osteoporosis secundaria. La probabilidad de fractura se calculó con el algoritmo disponible en línea de FRAX México.

VII.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico, se tomó en cuenta la normalidad de los parámetros con la prueba Shapiro Wilk. Se realizó el cálculo de medidas descriptivas, frecuencias y porcentajes en los parámetros cualitativos, y media y desviación estándar en los cuantitativos. Para comparar a los tres grupos en la medición basal, se utilizó ANOVA de un factor con prueba de Scheffé como posthoc y chi cuadrada para k muestras independientes. Se utilizó ANOVA de medidas repetidas y t pareada y, Q-Cochran y McNemar en cada uno de los grupos para comparar la medición basal, seis y doce meses de seguimiento. Como medidas de asociación se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson y Rho de Spearman.

Los resultados se presentan con el análisis por de intención de tratar (ITT), es decir, todas las mujeres aleatorizadas que tenían la medición inicial y al menos una evaluación de DMO y un marcador de EO posterior al inicio, como la forma menos sesgada de realizar la estimación de los efectos de la intervención. Para el análisis de eventos adversos se realizó la prueba chi cuadrada, examinando a todas las participantes del ensayo.

Se consideró un intervalo de confianza al 95% y como prueba estadísticamente significativa un valor de $p < 0.05$. Todos los análisis se llevaron a cabo con el programa estadístico SPSS V 20.0.

VIII. CONSIDERACIONES ÉTICAS

➤ *Riesgo de la investigación.*

Se consideró a este estudio con riesgo mayor que el mínimo de acuerdo con el título segundo, artículo 17 del reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, ya que la intervención fue con métodos comunes de diagnóstico y el tratamiento con medicamentos de uso común autorizado para su venta, empleando indicaciones, dosis y vías de administración establecidas. También, se emplea el método aleatorio de asignación a esquemas terapéuticos y tiene control con placebo.

➤ *Beneficios*

Las participantes con terapia recibieron como beneficio la mejora de su sintomatología, el posible mejoramiento del estrés oxidante y de la disminución de la resorción ósea. Las participantes con placebo tuvieron el beneficio del seguimiento. No se realizó ningún pago por su participación. Los resultados de este estudio permitirán clarificar la controversia respecto al efecto de la tibolona sobre el estrés oxidante y la densidad mineral ósea. Si los resultados son favorables será útil para sustentar el uso de tibolona para mejorar la densidad mineral ósea y prevenir osteoporosis y sus consecuentes fracturas, asociado con el estrés oxidante. A las participantes que concluyeron el seguimiento del ensayo clínico, se les dio cita con el ginecólogo colaborador para indicarles el tratamiento a seguir si deseaban continuar con él, y a las participantes en placebo se les presentó las diferentes opciones terapéuticas para que seleccionaran.

➤ *Confidencialidad.*

Toda la información obtenida durante del estudio se mantuvo confidencial. Únicamente el grupo de investigación autorizado de la Unidad de Investigación en Gerontología de la FES Zaragoza tuvo acceso a dicha información para la captura y procesamiento de ésta. Los datos obtenidos se utilizan sin nombre (se asignó una clave), en caso de que se publicaran los hallazgos de este estudio no se dará información que pueda revelar la identidad. La confidencialidad del expediente clínico se apega a la NOM-004-SSA3-2012.

➤ *Consentimiento informado*

Se pidió a las participantes su firma para el consentimiento informado, para autorizar su participación en el estudio. Se explicaron los procedimientos y objetivos del estudio, así como los riesgos, beneficios y confidencialidad del estudio. El

consentimiento se extendió por duplicado, quedando un ejemplar en poder de la participante y otro en poder del investigador. El contenido del consentimiento informado se apega al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud artículos 13 al 27.

➤ *Comité de ética.*

El proyecto fue aprobado el 12 de enero de 2017, por parte de la Comisión de Bioética y Bioseguridad de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM con número de registro FESZ/DEPI/CI/004/17 (Anexo 7). Así mismo, el ensayo clínico está registrado en BioMed Central con el ID: ISRCTN14939779. Esta investigación se apegó a las normas éticas, a Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación, a las Buenas Prácticas Clínicas (ICH E6 R2) y a la Declaración de Helsinki, 64ª Asamblea General, octubre 2013.

IX. RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD

La FES Zaragoza, UNAM desde 1992 ha impulsado el desarrollo de la investigación científica gerontológica con un enfoque multidisciplinario, de ahí que en 1997 se fundara la Unidad de Investigación en Gerontología en donde se llevan a cabo proyectos de investigación sobre el proceso de envejecimiento bajo el paradigma ecológico de calidad de vida. Para tal efecto contamos con el equipo básico para evaluar el estado bioquímico-hematológico y el estrés oxidante: Ultracongelador a -80°C, autoanalizador automático Cobas C111 (Roche Diagnostics), un autoanalizador de hematología Celly 70 y un espectrofotómetro UV-Visible de doble haz Shimadzu con controlador de temperatura. Para medir la composición corporal: antropómetro y báscula de alta precisión.

Así mismo, contamos con un equipo de investigadores de tipo multidisciplinario en donde participan médicos, enfermeras, psicólogas y químicos farmacéutico biólogos, con lo cual se logra una interpretación más holística del fenómeno de envejecimiento vinculando lo social con lo biológico, ahora extrapolado al inicio del proceso de envejecimiento en la mujer a partir de la etapa posmenopáusica. Por otro lado, se cuenta con el apoyo técnico e intelectual de un ginecólogo certificado y especialista en menopausia.

Esta investigación formó parte de un proyecto más grande que fue sometido a concurso para financiamiento por parte de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM, en su programa PAPIIT con número de registro IN306517. Así mismo, se contó con el apoyo de la Facultad.

En cuanto a los análisis de laboratorio clínico y proceso de las pruebas de estrés oxidante se realizaron dentro de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza,

UNAM, en el Laboratorio clínico de la Clínica Universitaria de Atención a la Salud Zaragoza y en el Laboratorio de Bioquímica Clínica y Envejecimiento de la Unidad de Investigación en Gerontología en la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza (UMIEZ).

También, se tuvo una colaboración con la Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica del Hospital Infantil de México, Federico Gómez, para evaluar la densidad mineral ósea. Cada seis meses las participantes fueron citadas en el hospital para la realización de las densitometrías óseas, midiendo columna y cadera total.

La ejecución de la investigación se apega al título sexto del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud artículos 113 al 120 y a la NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos.

X. RESULTADOS

X.1. Descripción del reclutamiento y seguimiento de las participantes.

La difusión del proyecto se realizó en enero de 2017, alumnos tesistas y de servicio social colocaron carteles en lugares cercanos a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza UNAM y en la Clínica Universitaria de Atención a la Salud Zaragoza, así mismo se entregaron volantes cerca de la Facultad. También, se buscó apoyo en el instituto INMujeres, en donde se impartió una plática con la información pertinente para que el personal hiciera la difusión entre las usuarias.

Una vez hecha la difusión, las mujeres llamaron por teléfono, mandaron mensajes de texto o correo electrónico para pedir informes. Dada la cantidad de mujeres que atendieron la convocatoria, se realizaron cinco sesiones de reclutamiento las cuales consistieron en pláticas por parte de la investigadora principal y un médico ginecólogo certificado por el Consejo Mexicano de Ginecología y Obstetricia, colaborador del proyecto. Las mujeres que ingresaron al proyecto de investigación se citaron por grupos para una mejor atención, por lo que no todas llevaron el mismo tiempo de seguimiento.

El diagrama de seguimiento, CONSORT (Figura 3), muestra que, en total, asistieron a las pláticas 192 mujeres de las cuales fueron excluidas 100. De estas últimas, 10 cumplían con los criterios de inclusión, pero no desearon participar, 90 no cumplían con los criterios de selección: cincuenta y tres no estaban en posmenopausia, seis tenían más de diez años en posmenopausia, dos presentaban algún factor de riesgo, siete ya estaban en tratamiento hormonal para los síntomas de la

posmenopausia, seis eran mayores de 60 años y dieciséis tuvieron histerectomía, dispositivo intrauterino o tomaban suplementos con calcio.

Por lo que en el grupo con tibolona tuvimos 33 participantes, en el tratamiento con estrógenos 30, y en el grupo con placebo 29 participantes. De acuerdo con el conteo de tabletas no consumidas por las participantes, se tuvo un 93.9% de apego al tratamiento. Los abandonos por grupo, a doce meses de seguimiento son: 11 en el tratamiento con tibolona, 5 en el tratamiento con estrógenos y 6 en el grupo placebo. De manera que el porcentaje de pérdidas a doce meses de seguimiento es 24%, el detalle de los abandonos a doce meses de tratamiento es:

- Tibolona: de 33 participantes se retiraron 11 (33% de pérdidas).

En el primer trimestre, a una mujer le realizaron colecistectomía, una refirió falta de tiempo por cuestiones laborales y tres mostraron desinterés en participar al no contestar mensajes o llamadas. En el segundo trimestre, una se retiró por problemas de esófago y con tres se perdió el contacto al no responder llamadas ni asistir más. En el cuarto trimestre, una mencionó no tener interés en la medición de doce meses por falta de tiempo para asistir al hospital en donde se les realizaba la densitometría ósea y otra padeció el fallecimiento de su hija. Quedando a los doce meses de tratamiento 22 participantes.

- Estrógenos: de 30 participantes se retiraron 5 (17% de pérdidas).

En el primer trimestre, una refiere mareos, sueño, presión alta, zumbidos, cambios de ánimo desfavorables y otra fue afectada por el sismo del 19 de septiembre de 2017, por lo que su salud dejó de ser prioridad para ella. En el tercer trimestre, una dejó de contestar llamadas, una refirió falta de tiempo y otra cambió de domicilio a otro estado. Quedando a los doce meses de tratamiento 25 participantes.

- Placebo: de 29 participantes se retiraron 6 (21% de pérdidas).

En el primer trimestre una mujer cambió de domicilio y otra contestaba llamadas, pero no recogía su tratamiento, mostrando desinterés. En el segundo trimestre, una dejó de contestar mensajes y llamadas y otra estuvo internada por una cirugía maxilofacial. En el cuarto trimestre, una refirió falta de tiempo y otra dejó de asistir debido al trabajo. Quedando a los doce meses de tratamiento 23 participantes.

Descripción de la población de estudio.

Se presentan, en el cuadro 7, los parámetros bioquímicos, antropométricos y estilos de vida basales de las participantes, observándose diferencia estadísticamente significativa en el peso e índice de masa corporal entre las mujeres con tibolona y estrógenos. En el cuadro 8 se muestran los valores basales de estrés oxidante,

densidad mineral ósea y riesgo de fractura en los grupos de estudio, sin observar diferencia estadísticamente significativa entre los grupos.

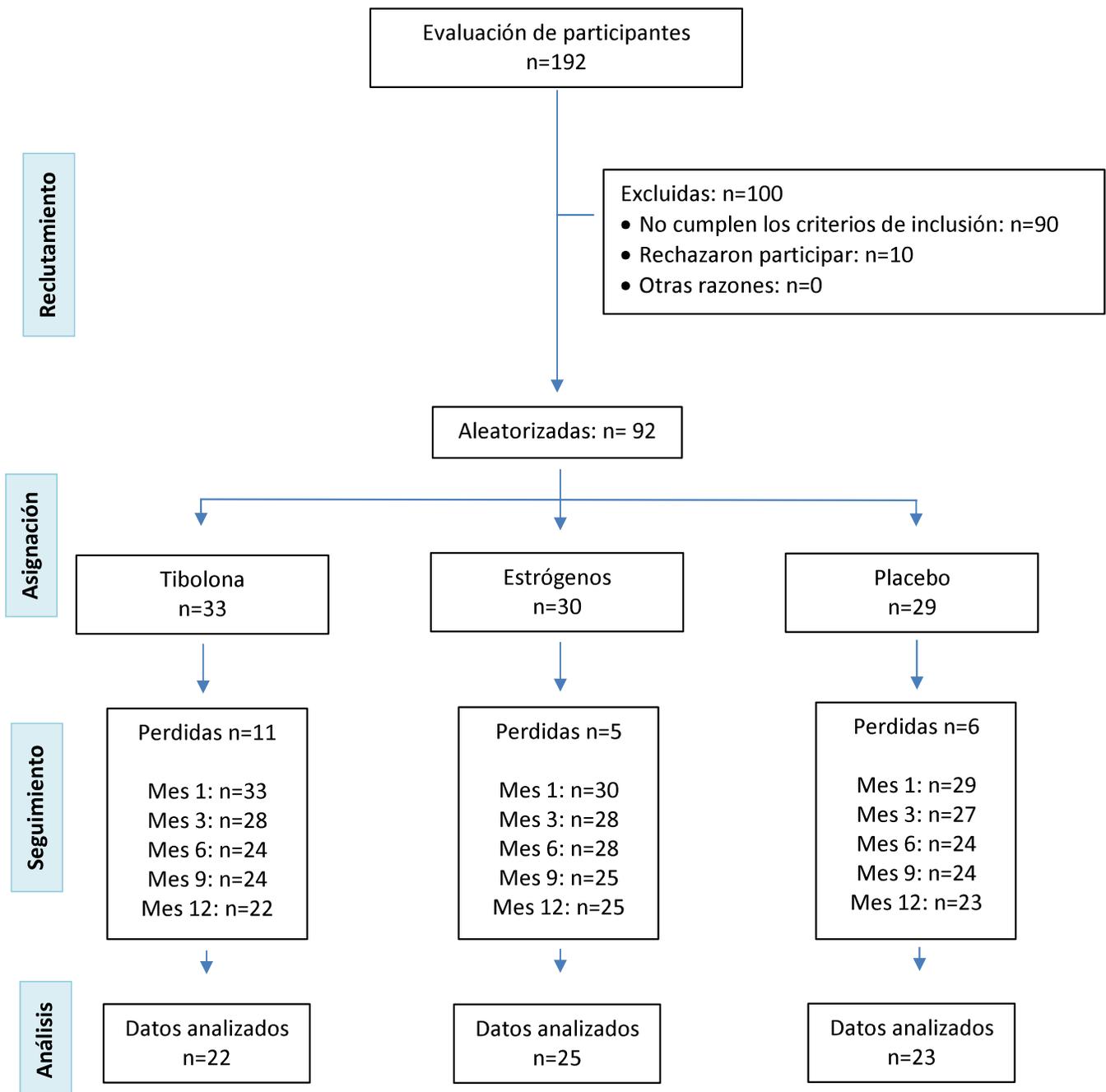


Figura 3. Diagrama de seguimiento, CONSORT. Doce meses de tratamiento

Cuadro 7. Descripción de la población de estudio.

Parámetros	Tibolona (n=33)	Estrógenos (n=30)	Placebo (n=29)
Edad (años)	52±3.2	51±3.4	52±4.7
Glucosa (mg/dL)	98±27	99±47	94±14
Colesterol (mg/dL)	197±41	212±46	204±42
Triglicéridos (mg/dL)	160±89	191±146	143±72
Ácido úrico (mg/dL)	4.9±0.9	4.9±1.08	4.6±0.9
HDL (mg/dL)	44±12	47±15	48±12
Albúmina (g/dL)	4.5±0.4	4.6±0.6	4.4±0.3
Hemoglobina (g/dL)	14.0±1.38	14.1±0.93	13.5±1.92
Hematocrito (%)	43±4.4	43±2.5	42±5.8
Leucocitos (cel/mm ³)	6309±2005	6360±1008	5825±1564
Eritrocitos (cel/mm ³)	4.65±0.44	4.68±0.34	4.65±0.51
CMHG (%)	32.66±1.32	32.61±1.38	31.70±1.66
Peso (Kg)	74.57±12.37	65.54±8.57 *	70.52±14.00
Talla (m)	1.55± 0.05	1.53± 0.05	1.53± 0.05
IMC (kg/m ²)	30.86±3.9	27.88±3.4 *	30.15±5.6
Sobrepeso y obesidad (≥25 IMC)	31(94%)	26(87%)	25(86%)
Sueño (≤6h/día)	18(55%)	12(40%)	10(34%)
Tabaquismo(≥1cigarro/día)	3(9%)	7(23%)	2(7%)
Consumo de cafeína (≥3 tazas/día)	8(24%)	9(30%)	6(21%)
Sedentarismo(<30min/día)	15(45%)	13(43%)	11(38%)
Años de menopausia	2.6±1.8	2.0±1.7	2.4±2.1
FSH (mUI/mL)	56.6±25.0	58.4±28.6	55.2±33.4
Estradiol (pg/mL)	11.7±6.2	13.4±6.0	15.4±5.7

Promedio ± desviación estándar para las variables cuantitativas. Frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas.

HDL: lipoproteínas de alta densidad, CMHG: concentración de hemoglobina corpuscular media, IMC: índice de masa corporal, FSH: hormona foliculoestimulante.

ANOVA de un factor con Scheffé como posthoc. Tibolona vs. estrógenos *p<0.05.

Chi cuadrada para k muestras independientes p<0.05.

Cuadro 8. Valores basales de los marcadores de estrés oxidante y densidad mineral ósea en los grupos de estudio.

Variable	Tibolona (n=33)	Estrógenos (n=30)	Placebo (n=29)
LPO ($\mu\text{mol/L}$)	0.311 \pm 0.064	0.347 \pm 0.078	0.303 \pm 0.082
SOD (U/gHb)	1.23 \pm 0.224	1.24 \pm 0.091	1.29 \pm 0.208
GPx (U/gHb)	64.3 \pm 22	62.9 \pm 21	67.6 \pm 23
AT ($\mu\text{mol/L}$)	1071 \pm 270	1129 \pm 252	1086 \pm 334
GAP ($\mu\text{mol/L}$)	785 \pm 267	833 \pm 253	825 \pm 317
SOD/GPx	0.022 \pm 0.009	0.022 \pm 0.007	0.021 \pm 0.007
Ácido úrico ($\mu\text{mol/L}$)	292 \pm 55.6	293 \pm 64.5	273 \pm 53.3
<i>DMO columna</i>			
T-score	-0.397 \pm 1.1	-1.020 \pm 1.0	-0.687 \pm 1.4
g/cm ²	1.15 \pm 0.14	1.07 \pm 0.12	1.11 \pm 0.17
Baja (por debajo de -1.0 DE)	13(39%)	17(57%)	10(34%)
<i>DMO cadera total</i>			
T-score	0.319 \pm 0.8	0.044 \pm 0.9	0.444 \pm 1.2
g/cm ²	1.05 \pm 0.10	1.01 \pm 0.11	1.06 \pm 0.15
Baja (por debajo de -1.0 DE)	2(6%)	4(13%)	4(14%)
Riesgo de fractura (%)	2.3 \pm 1.1	2.1 \pm 0.6	2.5 \pm 1.1

Promedio \pm desviación estándar para las variables cuantitativas. Frecuencias y porcentajes para las cualitativas.

LPO: lipoperóxidos plasmáticos, SOD: superóxido dismutasa, GPx: glutatión peroxidasa, AT: capacidad antioxidante total, GAP: brecha antioxidante, DMO: densidad mineral ósea. ANOVA de un factor con prueba de Scheffé como posthoc $p < 0.05$.

Chi cuadrada para k muestras independientes $p < 0.05$.

X.II. Estrés oxidante.

De acuerdo con los marcadores de estrés oxidante, se observó una disminución al año de tratamiento en los niveles de lipoperoxidos en las mujeres que consumieron tibolona (0.303 vs. 0.269 $\mu\text{mol/L}$, $p=0.041$) y en las mujeres con estrógenos se observó una disminución a los seis (0.349 vs. 0.280 $\mu\text{mol/L}$, $p<0.0001$) y doce meses de tratamiento (0.349 vs. 0.262 $\mu\text{mol/L}$, $p<0.0001$). Así mismo, en la figura 4 se presenta la interacción entre el tipo de terapia y tiempo de seguimiento del marcador de estrés oxidante lipoperoxidos ($p<0.0001$), en donde se observa la disminución en ambas terapias hormonales, no así en placebo. De acuerdo con la actividad de las enzimas, en el grupo de estrógenos se observó un aumento limítrofe de la enzima superóxido dismutasa de seis a doce meses (1.23 vs. 1.27 U/gHb, $p=0.051$). También, hubo un aumento a los seis meses en los niveles de ácido úrico en la terapia con tibolona (289 vs. 317 $\mu\text{mol/L}$, $p=0.011$) y en el grupo placebo (271 vs. 298 $\mu\text{mol/L}$, $p=0.021$) (Cuadro 9).

En este sentido, cuando se considera a los marcadores de estrés oxidante como riesgo (Cuadro 10), se observa que la proporción de mujeres con niveles de lipoperoxidos altos disminuye de manera significativa a los doce meses en el grupo tibolona (48% vs. 14%, $p=0.039$) y, a los seis (60% vs. 29%, $p=0.022$) y doce meses (60% vs. 8%, $p=0.003$) en el grupo estrógenos. Respecto a las enzimas antioxidantes, en el grupo placebo, de seis a doce meses de seguimiento, se observa una disminución en la proporción de mujeres con glutatión peroxidasa baja (42% vs. 13%, $p=0.016$) y una disminución en la proporción de mujeres con la razón SOD/GPx alta (40% vs. 13%, $p=0.039$).

X.III. Densidad mineral ósea.

La densidad mineral ósea en columna, medida a través del tiempo, no mostró diferencia significativa en ningún grupo de tratamiento (Cuadros 9 y 10). Por el contrario, en la cadera, en el grupo placebo, la densidad mineral ósea medida a través del tiempo tiene una disminución significativa, en la puntuación T-score a los seis (0.579 vs. 0.501, $p=0.020$) y doce meses (0.579 vs. 0.484, $p=0.040$); igualmente se observa una disminución en la cantidad de mineral (g/cm^2) a los seis (1.08 vs. 1.07, $p=0.021$) y doce meses (1.08 vs. 1.07, $p=0.044$) (Cuadro 9). Cuando se estratifica por densidad baja no se observa ningún cambio significativo en las terapias (Cuadro 10).

Cuadro 9. Valores de los marcadores de estrés oxidante y densidad mineral ósea en los grupos de estudio a doce meses.

Variable	Tibolona			Estrógenos			Placebo		
	Basal n=33	Seis n=24	Doce n=22	Basal n=30	Seis n=28	Doce n=25	Basal n=29	Seis n=24	Doce n=23
LPO (μmol/L)	0.303±0.071	0.275±0.065	0.269±0.058 †	0.349±0.082	0.280±0.049 *	0.262±0.051 †	0.298±0.087	0.332±0.073	0.313±0.069
SOD (U/gHb)	1.16±0.128	1.15±0.095	1.14±0.086	1.23±0.099	1.23±0.086	1.27±0.114 §	1.33±0.227	1.30±0.180	1.34±0.237
GPx (U/gHb)	65±23	56±19	64±20	64±22	60±19	70±24	66±20	68±25	73±19
AT (μmol/L)	1145±270	1131±167	1158±203	1112±196	1102±221	1054±182	1066±310	1031±178	1081±199
GAP (μmol/L)	873±260	809±140	867±157	821±205	810±206	762±173	813±299	731±164	799±157
SOD/GPx	0.021±0.009	0.023±0.008	0.020±0.007	0.021±0.008	0.023±0.008	0.021±0.008	0.021±0.007	0.021±0.005	0.019±0.004
Ácido úrico (μmol/L)	289±54	317±58 *	300±85	291±65	298±69	304±66	271±50	298±66 *	293±83
<i>DMO columna</i>									
T-score	-0.328±1.0	-0.251±1.0	-0.277±1.0	-1.067±1.0	-1.124±1.0	-1.106±1.0	-0.437±1.3	-0.376±1.2	-0.494±1.2
g/cm ²	1.15±0.12	1.16±0.13	1.16±0.12	1.06±0.12	1.06±0.12	1.05±0.12	1.14±0.14	1.15±0.15	1.13±0.15
<i>DMO cadera total</i>									
T-score	0.352±0.8	0.364±0.8	0.379±0.8	0.013±0.9	-0.032±0.9	-0.079±0.9	0.579±1.1	0.501±1.0 *	0.484±1.0 †
g/cm ²	1.05±0.10	1.05±1.10	1.06±1.10	1.01±0.12	1.00±0.11	1.00±0.11	1.08±0.14	1.07±0.13 *	1.07±0.13 †

LPO: lipoperóxidos plasmáticos, SOD: superóxido dismutasa, GPx: glutatión peroxidasa, AT: capacidad antioxidante total, GAP: brecha antioxidante, DMO: densidad mineral ósea.

ANOVA de medidas repetidas, comparaciones a través del tiempo, t pareada: basal vs. seis meses *p<0.05, basal vs. doce meses †p<0.05, seis meses vs. doce meses §p<0.05.

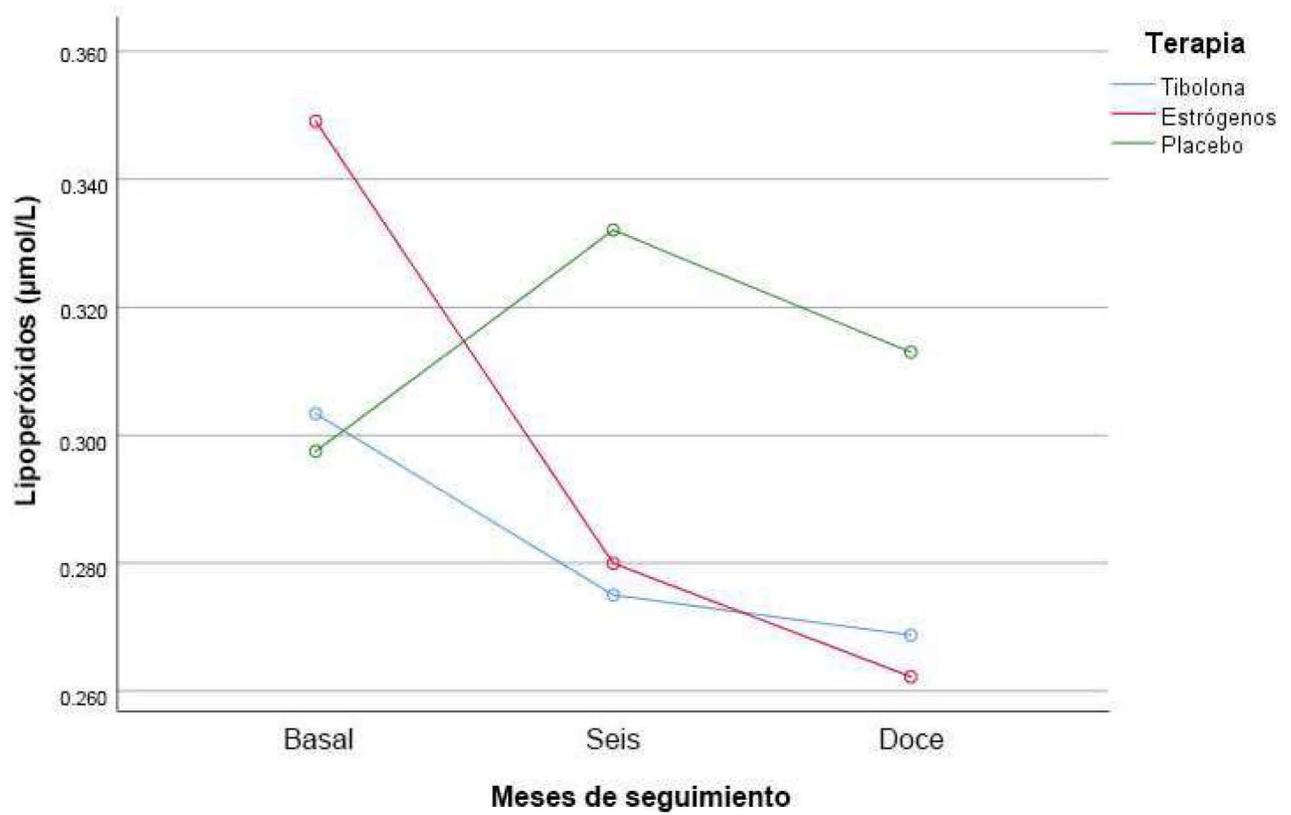


Figura 4. Interacción entre el tipo de terapia y tiempo de seguimiento ($p < 0.0001$), niveles séricos de lipoperóxidos.

Cuadro 10. Valores de los marcadores de estrés oxidante y densidad mineral ósea en los grupos de estudio a doce meses.

Variable	Tibolona			Estrógenos			Placebo		
	Basal n=33	Seis n=24	Doce n=22	Basal n=30	Seis n=28	Doce n=25	Basal n=29	Seis n=24	Doce n=23
LPO ($\geq 0.320 \mu\text{mol/L}$)	16(48%)	7(29%)	3(14%) [†]	18(60%)	8(29%) [*]	2(8%) [†]	11(38%)	11(46%)	8(35%)
SOD ($\leq 1.20 \text{ U/gHb}$)	19(58%)	15(63%)	16(72%)	10(33%)	9(32%)	4(16%)	14(48%)	8(33%)	4(17%)
GPx ($\leq 56.3 \text{ U/gHb}$)	14(42%)	11(46%)	7(32%)	13(43%)	11(39%)	7(28%)	11(38%)	10(42%)	3(13%) [§]
AT ($\leq 1030 \mu\text{mol/L}$)	15(45%)	7(29%)	3(14%)	11(37%)	12(43%)	7(28%)	13(45%)	11(46%)	7(30%)
GAP ($\leq 696 \mu\text{mol/L}$)	12(36%)	5(21%)	3(14%)	10(33%)	12(43%)	5(20%)	10(34%)	13(54%)	5(22%)
SOD/GPx (≥ 0.023)	9(27%)	8(33%)	6(27%)	12(40%)	10(36%)	6(24%)	10(34%)	10(42%)	3(13%) [§]
Ácido úrico ($\leq 268 \mu\text{mol/L}$)	14(42%)	6(25%)	8(36%)	13(43%)	12(43%)	7(28%)	16(55%)	9(38%)	10(43%)
<i>DMO columna</i>									
Baja (por debajo de -1.0 DE)	13(39%)	6(25%)	5(23%)	17(57%)	16(57%)	15(60%)	10(34%)	7(29%)	7(30%)
<i>DMO cadera total</i>									
Baja (por debajo de -1.0 DE)	2(6%)	1(4%)	1(5%)	4(13%)	4(14%)	4(16%)	4(14%)	3(13%)	3(13%)

LPO: lipoperóxidos plasmáticos, SOD: superóxido dismutasa, GPx: glutatión peroxidasa, AT: capacidad antioxidante total, GAP: brecha antioxidante, DMO: densidad mineral ósea. Q-Cochran para muestras dependientes, $p < 0.05$. Prueba McNemar: basal vs. seis $*p < 0.05$, basal vs. doce $^{\dagger}p < 0.05$, seis vs. doce $^{\S}p < 0.05$.

X.IV. Estrés oxidante y densidad mineral ósea

La densidad mineral ósea en columna muestra una correlación negativa con los niveles de lipoperóxidos ($r = -0.225$, $p = 0.031$) y una correlación positiva con los niveles de la enzima glutatión peroxidasa ($r = 0.238$, $p = 0.024$). En la cadera no se observan correlaciones estadísticamente significativas (Cuadro 11).

Cuadro 11. Correlación entre estrés oxidante y densidad mineral ósea en las participantes.

Estrés oxidante	Columna (n=92)		Cadera total (n=92)	
	r	p	r	p
<i>Marcador</i>				
Lipoperóxidos (LPO)	-0.225	0.031	-0.129	0.221
Superóxido dismutasa (SOD)	0.146 ^a	0.168	0.143 ^a	0.176
Glutatión peroxidasa (GPx)	0.238	0.024	0.186	0.079
Capacidad antioxidante total (AT)	-0.157	0.139	-0.196	0.064
Brecha antioxidante (GAP)	-0.171	0.111	-0.205	0.056
SOD/GPx	-0.162 ^a	0.129	-0.127 ^a	0.236
Ácido úrico	0.024 ^a	0.819	0.125 ^a	0.236

Coeficiente de correlación de Pearson

^a Coeficiente de correlación Rho de Spearman

De acuerdo con el marcador de oxidación, lipoperóxidos, se compararon los niveles plasmáticos a través del tiempo, con la DMO estratificada por normal y baja, en columna y cadera total (Figuras 5 y 6). En este sentido, en la columna con DMO normal se observó una disminución significativa a los doce meses de tratamiento con tibolona (0.320 vs. 0.268 $\mu\text{mol/L}$, $p = 0.021$) y en estrógenos (0.304 vs. 0.245 $\mu\text{mol/L}$, $p = 0.029$); no así en el placebo en donde se observa un aumento a los seis (0.273 vs. 0.324 $\mu\text{mol/L}$, $p = 0.019$) y doce meses (0.273 vs. 0.314 $\mu\text{mol/L}$, $p = 0.014$) de seguimiento. Por otro lado, en la columna con DMO baja se observó una disminución de los lipoperóxidos en el tratamiento con estrógenos a los seis (0.373 vs. 0.279 $\mu\text{mol/L}$, $p = 0.0001$) y doce meses (0.373 vs. 0.245 $\mu\text{mol/L}$, $p = 0.0001$) de seguimiento (Figura 5).

Con relación a la cadera, en DMO normal los niveles de lipoperóxidos disminuyeron a los doce meses de tratamiento, aunque no de manera significativa en el grupo con tibolona (0.307 vs. 0.270 $\mu\text{mol/L}$, $p = 0.057$) y en el grupo con estrógenos se observó una disminución a los seis (0.346 vs. 0.271 $\mu\text{mol/L}$, $p = 0.002$) y doce meses (0.346 vs. 0.263 $\mu\text{mol/L}$, $p = 0.0001$) de seguimiento; por el contrario, en el grupo placebo se observa un aumento a los seis meses de tratamiento (0.283 vs. 0.332 $\mu\text{mol/L}$,

p=0.018). En cuanto a la DMO baja, en el grupo con estrógenos, se observa una disminución de los niveles de lipoperóxidos a los doce meses (0.364 vs. 0.261 $\mu\text{mol/L}$, p=0.011) y, una disminución no significativa de seis a doce meses (0.322 vs. 0.261 $\mu\text{mol/L}$, p=0.054) (Figura 6).

Por otro lado, con lo que respecta a los demás marcadores de estrés oxidante, en la columna con DMO baja se observó un aumento de la enzima SOD a los doce meses de tratamiento con estrógenos, aunque no de manera significativa (1.21 vs. 1.26 U/gHb, p=0.055) y una disminución en la razón SOD/GPx (0.025 vs. 0.018, p=0.039) en el grupo tibolona de seis a doce meses de tratamiento. Además, se observaron cambios en el ácido úrico, en la columna con DMO normal, un aumento a los seis meses con tibolona (292 vs. 330 $\mu\text{mol/L}$, p=0.014) y en el grupo placebo (264 vs. 303 $\mu\text{mol/L}$, p=0.002). Ahora bien, en la cadera con DMO normal, también se observó un aumento de ácido úrico a los seis meses con tibolona (288 vs. 314 $\mu\text{mol/L}$, p=0.039) y placebo (267 vs. 301 $\mu\text{mol/L}$, p=0.006); y, un aumento en el grupo estrógenos con DMO baja (274 vs. 341 $\mu\text{mol/L}$, p=0.012).

Finalmente, cuando se estratifica a la población por niveles de lipoperóxidos normales – DMO normal y niveles de lipoperóxidos altos – DMO normal, se observa disminución de la proporción de mujeres con esta última categoría en el grupo tibolona a los doce meses de tratamiento en columna (27% vs. 9%, p<0.05) y cadera (45% vs. 14%, p<0.05); y, en el grupo con estrógenos se observa también una disminución a los seis (50% vs. 21%, p<0.05) y doce meses (50% vs. 8%, p<0.05) en la cadera. (Cuadro 12)

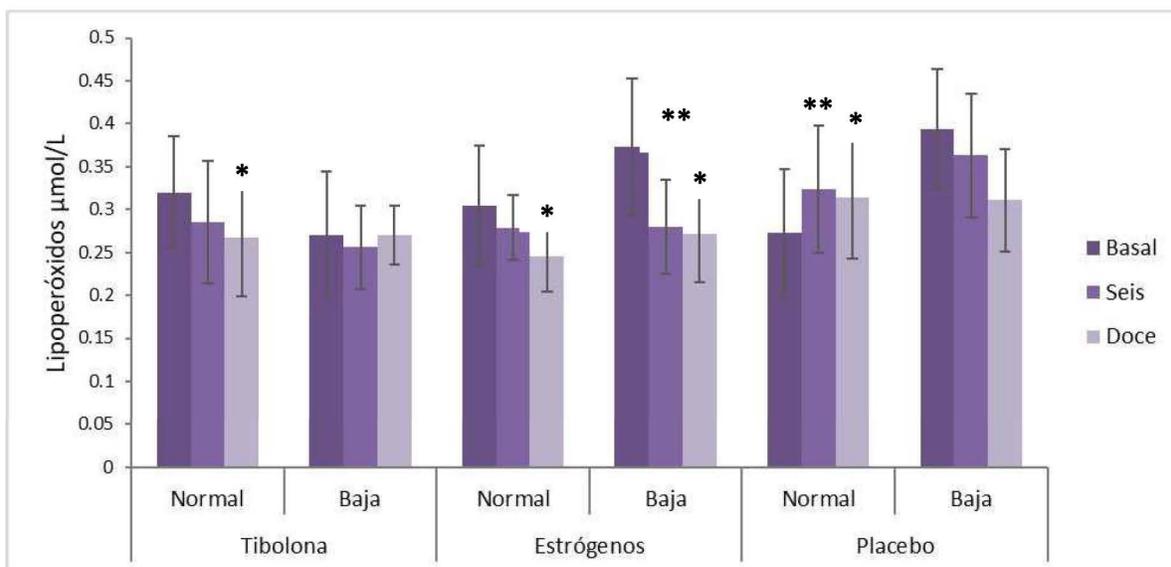


Figura 5. Niveles de lipoperóxidos en las diferentes terapias, estratificados por densidad mineral ósea (normal – baja) basal en columna. Media \pm desviación estándar. ANOVA de medidas repetidas, comparaciones a través del tiempo, t pareada: basal vs. seis meses ** $p < 0.05$, basal vs. doce meses * $p < 0.05$.

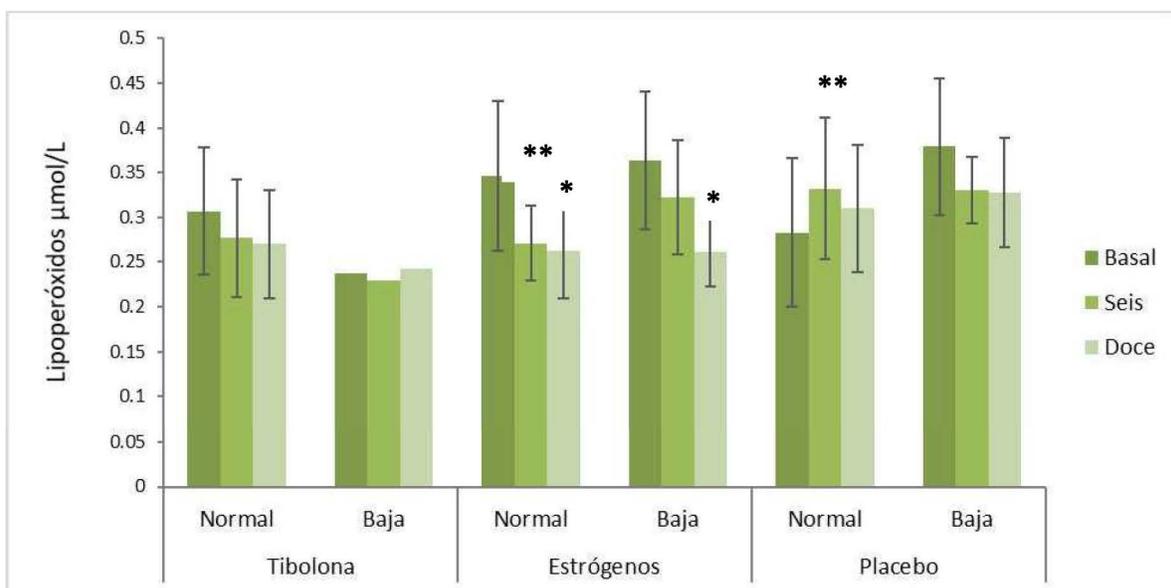


Figura 6. Niveles de lipoperóxidos de las diferentes terapias, estratificados por densidad mineral ósea (normal – baja) basal en cadera total. Media \pm desviación estándar. ANOVA de medidas repetidas, comparaciones a través del tiempo, t pareada: basal vs. seis meses ** $p < 0.05$, basal vs. doce meses * $p < 0.05$.

Cuadro 12. Proporción de mujeres estratificadas por lipoperóxidos plasmáticos y densidad mineral en los grupos de estudio a doce meses.

Variable	Tibolona			Estrógenos			Placebo		
	Basal n=33	Seis n=24	Doce n=22	Basal n=30	Seis n=28	Doce n=25	Basal n=29	Seis n=24	Doce n=23
<i>DMO columna</i>									
LPO normal – DMO normal	11(33%)	12(50%)	13(59%)	6(20%)	9(32%)	9(36%)	13(45%)	8(33%)	10(43%)
LPO normal – DMO baja	6(18%)	5(21%)	4(18%)	6(20%)	11(39%)	12(48%)	5(17%)	3(13%)	4(17%)
LPO alto – DMO normal	9(27%)	6(25%)	2(9%)**	7(23%)	3(11%)	0(0%)	6(21%)	9(38%)	5(22%)
LPO alto – DMO baja	7(21%)	1(4%)	1(5%)	11(37%)	5(18%)	2(8%)	5(17%)	2(8%)	3(13%)
<i>DMO cadera total</i>									
LPO normal – DMO normal	16(48%)	16(67%)	16(73%)	11(37%)	18(64%)	17(68%)	16(55%)	10(42%)	12(52%)
LPO normal – DMO baja	1(3%)	1(4%)	1(5%)	1(3%)	2(7%)	4(16%)	2(7%)	1(4%)	2(9%)
LPO alto – DMO normal	15(45%)	7(29%)	3(14%)**	15(50%)	6(21%)*	2(8%)**	9(31%)	9(38%)	7(30%)
LPO alto – DMO baja	1(3%)	0(0%)	0(0%)	3(10%)	2(7%)	0(0%)	2(7%)	2(8%)	1(4%)

DMO: densidad mineral ósea, LPO: lipoperóxidos plasmáticos. Prueba McNemar: basal vs. seis meses *p<0.05, basal vs. doce meses **p<0.05.

X.V. Eventos adversos

Durante el año de investigación, se presentó al menos algún evento indeseable (sangrado vaginal, sensibilidad en senos, dolor de cabeza y ganancia de peso) en un 30% de las participantes. Estos sucesos no necesariamente tuvieron una relación causal con la terapia administrada y no difirieron significativamente entre los grupos de estudio (Cuadro 13).

En este sentido, de acuerdo con los abandonos, se observó que ninguna mujer en el grupo tibolona presentó estos eventos adversos. En el grupo que consumió estrógenos, tres no tuvieron ningún evento adverso, una presentó un evento y otra presentó los cuatro eventos adversos, por lo que posiblemente este haya sido el motivo de abandono, aunque la participante refirió otra razón y abandonó a los seis meses de seguimiento. En el grupo placebo, dos participantes no tuvieron eventos adversos, tres tuvieron un evento y una presentó dos eventos.

Por otro lado, algunas mujeres reportaron acné, hirsutismo y ansiedad. Acné 5/33 (15%) en el grupo tibolona, 1/30 (3%) en estrógenos y 1/29 (3%) en el grupo placebo. Hirsutismo 1/29 (3%) en el grupo placebo. Y ansiedad, 1/30 (3%) en estrógenos y 3/29 (10%) en el grupo placebo; sin diferencia significativa entre los grupos de estudio. Por último, no se presentó ningún acontecimiento adverso valorado por el médico ginecólogo a razón de suspender el tratamiento.

Cuadro 13. Porcentaje de eventos adversos reportados en el año de tratamiento.

Evento	Tibolona (n=33)	Estrógenos (n=30)	Placebo (n=29)
Sangrado vaginal	3(9%)	2(7%)	3(10%)
Sensibilidad en senos	3(9%)	2(7%)	1(3%)
Dolor de cabeza	3(9%)	4(13%)	1(3%)
Ganancia de peso	6(18%)	4(13%)	4(14%)

Chi cuadrada para k muestras independientes.

XI. DISCUSIÓN

La menopausia es el resultado del agotamiento de la función endocrina ovárica y la pérdida de esteroides gonadales. De acuerdo con el modelo para describir el envejecimiento reproductivo, la posmenopausia se divide en dos etapas: temprana y tardía. Se estima que la posmenopausia temprana dura aproximadamente de 5 a 8 años, mientras que la posmenopausia tardía se refiere al resto de la vida⁸. La

posmenopausia afecta a las mujeres del todo el mundo de forma física, mental y emocional, en la mayoría provoca molestos síntomas y signos que pueden afectar considerablemente la salud y calidad de vida⁹. Por otro lado, la esperanza de vida ha aumentado, en la población femenina mexicana se estima que para el año 2050 será de 82.6 años⁵⁹, por lo que las mujeres vivirán en posmenopausia aproximadamente un tercio de su vida.

La terapia hormonal (TH) es el tratamiento más efectivo para el alivio de los síntomas vasomotores y el síndrome genitourinario de la menopausia. La prescripción de la TH se ha visto obstaculizada por las preocupaciones sobre los riesgos desde los resultados *Women's Health Initiative Observational Study* (WHI) y el *Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study Follow-up* (HERS II), sin embargo, con los reanálisis posteriores y otros estudios clínicos, ahora se conoce que la relación beneficio-riesgo es más favorable para las mujeres sanas menores de 60 años o que están dentro de los diez años posteriores a la menopausia²⁹.

En esta etapa, con el envejecimiento y el déficit de estrógenos, la pérdida de hueso ocurre de manera más rápida dentro de los primeros 2 a 3 años después de la transición a la menopausia, siendo la manifestación clínica más importante la osteoporosis. En este sentido, la TH previene la pérdida ósea y reduce significativamente el riesgo de fractura en todos los sitios óseos, hasta en mujeres sin osteoporosis^{23,29}. La tibolona es un esteroide sintético, análogo de la progestina noretinodrel, con efectos en tejidos específicos sobre los receptores y enzimas que influyen en la síntesis y metabolismo de los estrógenos, andrógenos y progesterona, capaz de prevenir pérdida de masa ósea y aliviar los síntomas climatéricos^{40,41}, con un posible efecto antioxidante^{49,50}, siendo eficaz y segura⁴².

Se ha descrito que los estrógenos tienen propiedad antioxidante, por lo que, en la menopausia con el déficit hormonal, la mujer sufre un desbalance en el estado redox^{10,11}. Evidencia sólida asocia la condición de estrés oxidante (EO) con diversas enfermedades⁴, una de ellas la osteoporosis en la posmenopausia²⁷.

Por lo tanto, la TH además de aliviar la sintomatología posmenopáusica y mejorar la densidad mineral puede contrarrestar el EO, así mismo la tibolona. Sin embargo, no hay estudios que evalúen el efecto sobre el EO y la DMO en mujeres posmenopáusicas, lo cual fue motivo de este proyecto de investigación.

XI.1. Estrés oxidante

El concepto de estrés oxidante (EO) ha evolucionado con el conocimiento sobre los oxidantes y antioxidantes y las estrategias de defensa antioxidante, así mismo, los avances en la comprensión sobre la regulación, detección y señalización redox

llevaron a actualizar el concepto como "un desequilibrio entre los oxidantes y los antioxidantes a favor de los oxidantes, lo que conduce a una interrupción de la señalización redox y el control y/o daño molecular"⁶⁰.

La mayoría de los procesos de la enfermedad, tienen un componente redox. La teoría de que el EO está en la base de muchas enfermedades es muy popular, sin embargo, la mayoría de las enfermedades son multifactoriales por lo que no se puede discernir fácilmente si los procesos redox son la causa o la consecuencia de diversos estados patológicos⁴. Una de las dificultades para medir el EO para el diagnóstico de salud o enfermedad en humanos es la gran cantidad de técnicas y analitos que se han utilizado y sus consecuencias con la sensibilidad y especificidad que son propiamente difíciles de resolver, por lo que hay varias propuestas que, a pesar de ser diferentes, parecen ser equivalentes en la interpretación⁵.

En este contexto, se ha demostrado la actividad antioxidante de los estrógenos y el posible efecto antioxidante de la tibolona y sus metabolitos que tienen afinidad a receptores de esteroides. En este estudio, de acuerdo con las biomoléculas oxidadas como marcadores de oxidación, observamos una disminución de los lipoperóxidos a los doce meses de tratamiento con tibolona. La evidencia en la literatura, con la misma dosis de tibolona (2.5mg/día), son dos ensayos clínicos controlados; nuestros resultados son similares a uno de ellos en donde se observó una disminución significativa de la peroxidación lipídica a seis meses de tratamiento⁴⁹, no así en el otro estudio en donde se observa un aumento de la peroxidación lipídica a tres meses de seguimiento sin ser estadísticamente significativo⁵⁰.

En este sentido, la determinación del grado de peroxidación de lípidos para determinar citotoxicidad en los sistemas biológicos es desafiante debido a la complejidad de los diferentes productos en los procesos de oxidación. Los productos de oxidación primaria, como lipoperóxidos, hidroperóxidos de lípidos y dienos conjugados, son fundamentales para el análisis de peroxidación de lípidos, que se centra en las alteraciones/modificaciones/pérdida físicas y químicas de la oxidación de lípidos poliinsaturados, fosfolípidos y lipoproteínas. Además de los lípidos poliinsaturados oxidados, la formación de productos secundarios que incluyen malondialdehído (MDA), F2-isoprostanos, 4-hidroxi-2E-nonenal pueden proporcionar índices confiables de peroxidación lipídica en los sistemas biológicos, siendo el MDA y los F2-isoprostanos los productos más utilizados en el entorno clínico⁶¹. Por lo que cabe mencionar que en el ensayo a tres meses midieron los hidroperóxidos totales por dROMs (derivados de los metabolitos reactivos del oxígeno) con una técnica adaptada a la automatización⁵⁰, mientras en nuestro estudio medimos el MDA como marcador de lipoperoxidación.

De acuerdo con el grupo que consumió estrógenos, la disminución de lipoperóxidos se observó desde los seis meses de consumir la terapia. Con la misma dosis de estrógenos conjugados (0.625 mg/día) a seis meses de seguimiento, nuestros datos concuerdan con un estudio en donde el MDA disminuye de manera significativa⁶², por el contrario se reporta aumento significativo de TBARS⁶³ y también se describe que las mujeres que llevaban un poco más de un año consumiendo el tratamiento, los niveles de TBARS se encontraban más bajos, no de manera significativa en comparación con el grupo control⁶⁴. Evidencia con otros marcadores de lípidos oxidados, con dosis, formulaciones y tiempos de seguimiento diferentes también muestran resultados inconsistentes^{34,35,65-70}. En este sentido, los estrógenos tienen diversas acciones fisiológicas, se cree que la especificidad de la célula, el tejido, el receptor y el contexto están todos involucrados en la decisión de las respuestas de la hormona estrógeno, por lo que hay evidencia que sugiere que los estrógenos pueden actuar como prooxidantes en algunos entornos experimentales¹¹.

De acuerdo con la actividad de las enzimas antioxidantes, en nuestro estudio observamos que en el grupo de mujeres que consumió estrógenos aumentó, la enzima superóxido dismutasa (SOD) de seis a doce meses de tratamiento, aunque no de manera significativa. Estos hallazgos son diferentes a un estudio con estrógenos conjugados (0.625 mg/día) a seis meses de seguimiento en donde se señala que la actividad de la enzima SOD disminuyó significativamente⁶³ y a un estudio con 2mg de valerato de estradiol en donde la SOD disminuyó significativamente a un año de seguimiento⁷⁰. Tres estudios con menos de seis meses de seguimiento y dosis diferente a la de nuestro ensayo, señalan que no hubo cambios significativos en la actividad de la enzima SOD después del tratamiento^{35,67,71}. Además, un estudio transversal señala que no había diferencia significativa en la actividad de SOD en mujeres que consumían 0.625 mg/día de estrógenos conjugados en comparación con las mujeres sin terapia hormonal (TH)⁷², por otro lado, la evidencia también indica que la SOD es mayor en mujeres con TH que en mujeres sin TH^{36,73}.

Las enzimas antioxidantes como SOD, catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx) y la peroxirredxina (PRx) se reconocen como la primera línea de defensa, gracias a su capacidad única para convertir ROS y especies reactivas de nitrógeno (RNS) en especies menos reactivas. El anión superóxido es dismutado por SOD a moléculas de oxígeno y peróxido de hidrógeno⁷⁴. En tal sentido, los estrógenos aumentan la actividad de la SOD, además, el grupo hidroxilo fenólico en el anillo A apaga las ROS¹¹, produciéndose una sinergia entre la actividad de las dos moléculas y por tanto se disminuye el estrés oxidante⁷⁵.

Mientras que la familia SOD representa las únicas enzimas capaces de eliminar específicamente el anión superóxido, varias clases de enzimas como la GPx utilizan

equivalentes reductores de GSH para reducir el peróxido de hidrógeno, hidroperóxidos lipídicos e hidroperóxidos orgánicos a agua o alcoholes correspondientes⁷⁶. Con lo que respecta a la enzima GPx, en el grupo placebo, de seis a doce meses de seguimiento, se observó una disminución en la proporción de mujeres con GPx baja y una disminución en la razón SOD/GPx alta.

En este sentido, aunque la desactivación de varias enzimas antioxidantes es perjudicial y su sobreproducción beneficiosa para la salud, también se ha observado en modelos animales cada vez más los impactos opuestos. Cuando se inactivan SOD1 y GPx1 se ha observado la mejora de la sensibilidad a la insulina. La sobreexpresión de GPx1 potencializa la toxicidad inducida por peroxinitrilo y produce hiperinsulinemia, hiperglucemia, hiperlipidemia, resistencia a la insulina, hipertrofia de células β y obesidad a los 6 meses de edad en ratones no obesos. La inactivación confiere protección contra la neurotoxicidad inducida por ácido kaínico⁷⁷.

Para la comprensión de los mecanismos en estos resultados paradójicos, se ha sugerido evaluar tres factores: 1) las propiedades y roles de sustratos y productos ROS/RNS, 2) las actividades y funciones de las enzimas antioxidantes, y 3) los contextos metabólicos en los que interactúan estas entidades. Cabe mencionar que, la dosis, la reactividad y la localización de los sustratos de ROS/RNS pueden generar impactos diferentes en el estrés oxidante y las vías de señalización redox⁷⁷. Así mismo, la evidencia señala que la expresión de GPx y los fenómenos de regulación deben investigarse más a fondo en la fisiología humana con respecto a la salud, ya que la mayoría de los hallazgos recopilados se derivan de modelos en animales o cultivos de tejidos⁷⁶.

Con lo que respecta a la disminución en la razón SOD/GPx alta en el grupo placebo, en teoría, el equilibrio de estas enzimas sugiere que cantidades mayores de SOD en relación con GPx podría conducir a una mayor producción de peróxido de hidrógeno responsable, en parte, del estrés oxidante. Por lo que es posible, que en el grupo placebo, la disminución de la razón SOD/GPx y la respuesta de la enzima GPx sea en virtud de mantener el equilibrio de la homeostasis metabólica, en vista de que no es claro cómo responden las enzimas antioxidantes a las demandas de los sustratos o productos en los tejidos específicos de todo el cuerpo.

Por otra parte, se ha propuesto que el ácido úrico (AU) puede representar uno de los antioxidantes de bajo peso molecular más importantes en los fluidos biológicos, se considera parte de la primera línea de defensa para eliminar ROS/RNS y por tanto previene o retrasa el estrés oxidante⁷⁸. En ese marco, observamos un aumento de los niveles de AU a los seis meses de tratamiento en el grupo tibolona, diferente a nuestros resultados, evidencia de un estudio de cohorte retrospectivo

muestra que el grupo de tibolona tuvo niveles de AU más bajos que el grupo de terapia sin hormonas, aunque esta diferencia no fue significativa, adicionalmente, los autores concluyen que es posible que la disminución de niveles de AU en el grupo que consumió terapia de estrógeno más progestágeno, de deba al efecto del progestágeno más que al estrógeno⁷⁹. Así mismo, observamos un aumento de ácido úrico a los seis meses en el grupo con placebo, respecto a estos resultados, evidencia de una muestra de mujeres estadounidenses señala que la menopausia se asocia de forma independiente con niveles más altos de ácido úrico en suero, mientras que el uso de hormonas posmenopáusicas se asocia con niveles más bajos de ácido úrico entre las mujeres posmenopáusicas⁸⁰.

Se ha propuesto que el AU puede actuar como agente protector contra el daño oxidante, principalmente como donante de electrones, eliminando radicales peroxilo, radicales hidroxilo y oxígeno singulete. También puede quelar metales de transición, como hierro y cobre, convirtiéndolos en formas menos reactivas incapaces de catalizar reacciones de radicales libres⁷⁸. Por otra parte se ha demostrado el efecto pro-oxidante del AU dependiendo del microambiente químico donde se encuentre⁸¹. Con la evidencia que ha surgido resulta paradójico el papel del AU como nocivo o protector.

XI.II. Densidad mineral ósea

Con el envejecimiento el proceso de remodelado óseo se ve afectado y en las mujeres, especialmente con la menopausia la pérdida ósea es mayor^{9,19}. A pesar del papel central de los estrógenos en el hueso, aún es difícil identificar los mecanismos por los cuales estas hormonas modulan el metabolismo óseo. Se han descrito dos mecanismo en donde los estrógenos son capaces de bloquear la resorción ósea: por interacción directa con osteocitos y osteoclastos como por regulación de la formación y actividad de células T y osteoblastos⁸².

En este sentido, la terapia hormonal reduce la tasa de remodelación ósea e incluso puede reducir el riesgo de fracturas, además es el tratamiento más eficaz para los síntomas vasomotores que padecen las mujeres con la llegada de la menopausia²⁹. Sobre este particular, en este estudio se mantuvo la densidad mineral ósea (DMO) en columna y cadera, dado que no observamos cambios significativos en los grupos de tratamiento. Por otro lado, hubo una disminución significativa en cadera en el grupo placebo.

En el ensayo WHI, en mujeres posmenopáusicas de 50 a 79 años, después de un año con 0.625mg de estrógenos conjugados con un progestágeno, la DMO aumentó 3.3% en columna y un 2.1% en la cadera total⁸³; en nuestro ensayo no se observó este aumento en la DMO probablemente debido al poco tamaño de muestra. Con

un seguimiento de tres años, la evidencia señala porcentajes de cambio mayores en la DMO. Con una dosis de 0.625mg de estrógenos conjugados con o sin un progestágeno, se observó un aumento significativo en la DMO en columna, con un rango entre el 3.5% y el 5.0% de la media total, y en cadera un incremento total medio de 1.7%. Las participantes en el grupo placebo disminuyeron 1.8% y 1.7% de DMO en columna y cadera, respectivamente⁸⁴.

En este orden de ideas, dos revisiones reportaron que prácticamente todos los regímenes de TH mantienen al menos la DMO en columna y cadera comparado con la medición basal⁸⁵ y que la TH tiene un efecto consistente y favorable sobre la DMO en todos los sitios⁸⁶. Recientemente, un subgrupo de la cohorte de prevención temprana de estrógenos de Kronos (KEEPS) en mujeres sanas recientemente posmenopáusicas mostró que la TH transdérmica (17β estradiol 50µg/día) o dosis bajas de estrógenos conjugados (0.45mg/día) mantienen la densidad mineral ósea⁸⁷.

Con lo que respecta al efecto de la tibolona (TB) sobre la DMO, nuestra revisión sistemática con meta-análisis demuestra que 2.5mg/día de TB aumenta la DMO comparado con controles no activos y que a los 24 meses no hay diferencia entre TB y terapia estrogénica en la columna vertebral, cuello femoral y cadera total⁸⁸. Además, la TB ha mostrado una reducción significativa de las fracturas vertebrales y no vertebrales⁸⁹.

En este ensayo clínico, si bien el porcentaje de mujeres con densidad baja no aumentó a los doce meses, cabe destacar que los porcentajes fueron mayores en columna que en cadera. En este sentido, el periodo perimenopáusico y posmenopáusico temprano se caracterizan por una pérdida ósea rápida, esta remodelación induce alteraciones en la microarquitectura ósea que son contribuyentes independientes de la fragilidad esquelética. Todas estas alteraciones son más marcadas en el hueso trabecular (columna vertebral, costillas y muñeca) que es metabólicamente el más activo y el más sensible a las variaciones hormonales al comienzo de la menopausia. De manera que las fracturas de muñeca, costilla y húmero se hacen notables en torno a la menopausia, en años posteriores las fracturas vertebrales, mientras que la incidencia de fracturas en la cadera aumenta a edades mucho más avanzadas⁹⁰.

La osteoporosis se asocia con un mayor riesgo de fracturas, representando una carga importante para la salud dado que la morbilidad, la mortalidad y el costo de las fracturas por fragilidad están aumentando^{89,91}. Sin embargo, más del 70% de las mujeres que sufren fracturas tienen osteopenia o DMO normal^{25,91}, además se han observado anomalías estructurales en hueso trabecular y cortical en mujeres osteopénicas con fracturas²⁴. Así que, se ha propuesto evaluar la fragilidad

estructural para cuantificar el deterioro cortical y trabecular para conocer el riesgo de fractura⁹¹.

En este sentido, varios fármacos con diferentes mecanismos de acción han demostrado la capacidad de prevenir la pérdida ósea y reducir el riesgo de fracturas en mujeres con osteoporosis posmenopáusica. Los agentes antirresortivos, terapéuticamente previenen la osteoporosis al inhibir la reabsorción y el recambio óseos, incluyen a los estrógenos, agonistas/antagonistas de estrógenos, bifosfonatos y denosumab. En México, se considera el uso de 2.5mg de TB para prevenir la pérdida de la DMO⁹². En ausencia de contraindicaciones, en la práctica clínica debe considerarse el uso de la TH como una primera opción para el mantenimiento de la salud ósea en aquellas mujeres posmenopáusicas tempranas que se encuentran en riesgo bajo/moderado de fractura en las que no se justifiquen medicamentos específicos con actividad ósea⁹⁰.

XI.III. Estrés oxidante y densidad mineral ósea

El aumento de ROS es un factor importante que contribuye a los cambios relacionados con el envejecimiento en todos los tejidos, incluido el hueso. Modelos animales sugieren que el estrés oxidante tiene un papel crucial en las alteraciones óseas y en estudios clínicos en humanos se ha observado el efecto positivo de los antioxidantes en la resorción ósea⁹³. En las mujeres, al EO se le ha considerado como un factor patógeno común para el “síndrome menopáusico” que incluye varios trastornos como molestias vasomotoras, deterioro cognitivo, distrofia urogenital y osteoporosis. Si bien existe inconsistencia de los datos epidemiológicos sobre la relación menopausia – EO, un gran consenso respalda el efecto antioxidante de los estrógenos⁸².

En el presente estudio, de acuerdo con el marcador de oxidación lipoperóxidos, observamos una asociación negativa y débil con la disminución de la DMO en la columna, resultados que concuerdan con un estudio en donde se observó esta correlación en el cuerpo total, columna y cadera total⁹⁴. De acuerdo con la literatura, un meta-análisis revela que el nivel de MDA no tuvo diferencia significativa entre mujeres con osteoporosis y el grupo control²⁷. Por el contrario, otro meta-análisis más reciente sugiere que el nivel de MDA es significativamente más alto en mujeres con osteoporosis que en el grupo control, indicando una actividad osteoclástica mayor⁹⁵.

De acuerdo con las enzimas, en este ensayo observamos una correlación positiva y débil entre los niveles de GPx y DMO en columna, resultados similares a un estudio en donde se midió la DMO en el cuello femoral en mujeres con osteoporosis⁹⁶, resultados contrarios se observaron en un estudio en donde no hubo

correlación entre los niveles de la enzima GPx y la DMO⁹⁷. Al respecto, el resultado agrupado de dos meta-análisis resumen que la actividad de la enzima GPx fue significativamente más baja en mujeres con osteoporosis que en los controles^{27,95}.

En general, en este ensayo clínico ambas terapias hormonales mostraron un efecto benéfico al disminuir los niveles de oxidación en las mujeres con DMO normal, tanto en columna como en cadera, disminuyendo el nivel de lipoperóxidos, y en las mujeres con DMO baja, el efecto fue notorio en el grupo que consumió estrógenos. Por otro lado, las mujeres con DMO baja en columna tuvieron un aumento de la enzima SOD, aunque no de manera significativa, cuando consumieron estrógenos, y una disminución de la razón SOD/GPx en el grupo tibolona, mostrando un efecto de ambos tratamientos sobre las enzimas antioxidantes. Cabe destacar que al respecto no hay estudios que relacionen el efecto de estas terapias sobre el estrés oxidante asociado a la DMO. La evidencia señala que la osteoclastogénesis es estimulada por un exceso de EO principalmente al potenciar la capacidad de respuesta de los precursores de osteoclastos RANKL y también por inducir citocinas osteoclastogénicas adicionales como IL-1, IL6 e IL7; por lo que es plausible el efecto benéfico de la terapia con estrógenos y tibolona para contrarrestar el EO y mejorar la DMO. Además de los posibles mecanismos de acción para el efecto antioxidante de los estrógenos que han sido señalados como la inhibición directa de los procesos oxidativos, el aumento de la expresión de enzimas antioxidantes y la supresión de las fuentes prooxidantes evitando la alteración del equilibrio redox⁸².

Con relación al ácido úrico, en los grupos tibolona y placebo se observó un aumento de los niveles de este antioxidante en las mujeres con DMO normal, tanto en columna y cadera; así como un incremento en las mujeres con DMO baja y que consumieron estrógenos. De igual forma, es importante mencionar que no hay estudios que relacionen el efecto de la terapia con estrógenos y tibolona sobre el estrés oxidante asociado a la DMO. En este sentido, la evidencia de un estudio señala que no hay asociación significativa entre los niveles basales de ácido úrico sérico y la DMO, ni una tendencia hacia cambios en la DMO en la columna y en el cuello femoral según los niveles séricos de este componente, no importa si las participantes fueron usuarias o no usuarias de TH⁹⁸. Por otro lado, datos longitudinales de DMO demostraron asociaciones significativas entre los niveles séricos de AU y las tasas anuales de cambio en la DMO en todos los sitios del esqueleto. Los niveles séricos más altos de AU parecen ser protectores para la pérdida ósea en mujeres peri y posmenopáusicas y esta relación no se ve afectada por cambios en las medidas de composición corporal⁹⁹. Con lo anterior se podría afirmar que el ácido úrico puede tener efecto benéfico en el metabolismo del hueso como antioxidante en mujeres posmenopáusicas¹⁰⁰, ya que entre la variedad de

antioxidantes con una asociación hipotética con la osteoporosis, los resultados con el ácido úrico han sido los más consistentes y convincentes⁸².

En consecuencia, no es posible hacer una conclusión firme sobre el papel causal del EO en la disminución de la densidad mineral ósea, estudios más rigurosos hacen falta para comprender los mecanismo biológicos, la farmacología clínica¹⁰¹ y hasta un posible perfil metabólico en población humana¹⁰².

Por último, la tibolona además de aliviar los síntomas climatéricos y prevenir la pérdida de la densidad mineral ósea, es un tratamiento que se sugiere se administre a mujeres sin contraindicaciones para el uso de hormonas o a las que han experimentado un aumento en el dolor en mamas o problemas persistentes de sangrado con la terapia con estrógenos. Cabe señalar que el porcentaje de eventos adversos en este ensayo no difirió entre las terapias, así mismo, estos eventos son los previamente reportados en la literatura^{42,54,103,104}.

Este ensayo clínico tiene dos limitaciones principales, el diseño de estudio abierto y el reducido tamaño de muestra. A pesar de estas limitaciones, una fortaleza es que es el único estudio longitudinal que relaciona el efecto de la tibolona y terapia con estrógenos sobre el estrés oxidante y la densidad mineral ósea en mujeres posmenopáusicas.

Finalmente, con el estrés oxidante como un componente del proceso de envejecimiento y posible cofactor patogénico de la osteoporosis posmenopáusica, es importante considerar el beneficio farmacológico antioxidante de la terapia con tibolona para prevenir la pérdida de la densidad mineral ósea en mujeres sin contraindicaciones para su uso.

XII. CONCLUSIONES

Nuestros hallazgos sugieren que la terapia con 2.5mg/día de tibolona refleja una respuesta protectora, al disminuir los niveles del marcador de lipoperoxidación MDA y al aumentar los niveles de ácido úrico. En la terapia con 0.625mg/día de estrógenos también se observó una disminución en los lipoperóxidos y una tendencia de aumento en la enzima antioxidante SOD. En torno al placebo se encontró un aumento de los niveles de ácido úrico y una respuesta paradójica con GPx y la razón SOD/GPx.

Con relación a la densidad mineral ósea en columna y cadera, no se observaron cambios significativos con el uso de las terapias, lo que sugiere el mantenimiento de la densidad ósea. También, en columna observamos una correlación con la DMO

negativa y positiva con el marcador de oxidación lipoperóxidos y GPx, respectivamente.

Asimismo, ambas terapias hormonales mostraron un efecto benéfico al disminuir los niveles de oxidación lipídica tanto en columna como en cadera con DMO normal y, en el grupo que consumió estrógenos este efecto se observó en las mujeres con DMO baja. El ácido úrico aumentó en las mujeres con DMO normal en columna y cadera, en los grupos tibolona y placebo, y en las participantes con DMO baja y que consumieron estrógenos.

XIII. REFERENCIAS

1. 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.
2. González-Torres MC, Betancourt-Rule M, Ortiz-Muñiz R. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquímica*. 2000;25(1):3–9.
3. Sánchez-Rodríguez MA, Mendoza-Núñez VM. Envejecimiento, enfermedades crónicas y antioxidantes. México: Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2003.
4. Ghezzi P, Jaquet V, Marcucci F, Schmidt HHHW. The oxidative stress theory of disease: levels of evidence and epistemological aspects. *Br J Pharmacol*. 2017;174(12):1784. doi: 10.1111/bph.13544.
5. Sánchez-Rodríguez MA, Mendoza-Núñez VM. Oxidative stress indexes for diagnosis of health or disease in humans. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:4128152. doi: 10.1155/2019/4128152.
6. Nelson HD. Menopause. *Lancet*. 2008;371(9614):760-70. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60346-3.
7. Palacios S, Henderson VW, Siseles N, Tan D, Villaseca P. Age of menopause and impact of climacteric symptoms by geographical region. *Climacteric*. 2010;13(5):419–28. doi: 10.3109/13697137.2010.507886.
8. Harlow SD, Gass M, Hall JE, Lobo R, Maki P, Rebar RW, et al. Executive summary of the stages of reproductive aging workshop + 10: addressing the unfinished agenda of staging reproductive aging. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(4): 1159–68. doi: 10.1210/jc.2011-3362.
9. Monteleone P, Mascagni G, Giannini A, Genazzani AR, Simoncini T. Symptoms of menopause - global prevalence, physiology and implications. *Nat Rev Endocrinol*. 2018;14(4):199–215. doi: 10.1038/nrendo.2017.180.
10. Pansini F, Mollica G, Bergamini C. Management of the menopausal disturbances and oxidative stress. *Curr Pharm Des*. 2005;11(16):2063–73. doi: 10.2174/1381612054065819.
11. Kumar S, Lata K, Mukhopadhyay S, Mukherjee TK. Role of estrogen receptors in pro-oxidative and anti-oxidative actions of estrogens : a perspective. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1800(10):1127–35. doi:10.1016/j.bbagen.2010.04.011.

12. Tortora GJ, Derrickson B. Principios de anatomía y fisiología. 15a ed. México: Médica Panamericana; 2018.
13. Baig MA, Bacha D. Histology, bone. [Updated 2022 May 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541132/>
14. Moreira CA, Dempster DW, Baron R. Anatomy and ultrastructure of bone – histogenesis, growth and remodeling. [Updated 2019 Jun 5]. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDTText.com, Inc.; 2000-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279149/>
15. Fernández-Tresguerres J. Fisiología humana. 4a ed. México: McGraw-Hill; 2010.
16. El Sayed SA, Nezwek TA, Varacallo M. Physiology, Bone. [Updated 2021 Oct 9]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441968/>
17. Jara Albarrán A. Endocrinología. 2a ed. México: Médica Panamericana; 2011.
18. 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):1197–208. doi: 10.1093/gerona/glt079.
19. Almeida M. Aging mechanisms in bone. *Bonekey Rep*. 2012;1:102. doi:10.1038/bonekey.2012.102
20. Manolagas SC, Parfitt AM. What old means to bone. *Trends Endocrinol Metab*. 2010;21(6):369–74. doi: 10.1016/j.tem.2010.01.010.
21. Tella SH, Gallagher JC. Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014;142:155-70. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.09.008.
22. Doshi SB, Agarwal A. The role of oxidative stress in menopause. *J Midlife Health*. 2013;4(3):140-6. doi: 10.4103/0976-7800.118990.
23. Gambacciani M, Levancini M. Hormone replacement therapy and the prevention of postmenopausal osteoporosis. *Prz Menopauzalny*. 2014;13(4):213–20. doi: 10.5114/pm.2014.44996.
24. Stein EM, Kepley A, Walker M, Nickolas TL, Nishiyama K, Zhou B, et al. Skeletal structure in postmenopausal women with osteopenia and fractures is characterized by abnormal trabecular plates and cortical thinning. *J Bone Miner Res*. 2014;29(5):1101–9. doi: 10.1002/jbmr.2144.
25. Pasco JA, Seeman E, Henry MJ, Merriman EN, Nicholson GC, Kotowicz MA. The population burden of fractures originates in women with osteopenia, not osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2006;17(9):1404–9. doi: 10.1007/s00198-006-0135-9.
26. Sánchez-Rodríguez MA, Ruiz-Ramos M, Correa-Muñoz E, Mendoza-Núñez VM. Oxidative stress as a risk factor for osteoporosis in elderly Mexicans as characterized by antioxidant enzymes. *BMC Musculoskelet Disord*. 2007;8:124. doi: 10.1186/1471-2474-8-124.
27. Zhou Q, Zhu L, Zhang D, Li N, Li Q, Dai P, et al. Oxidative stress-related biomarkers in postmenopausal osteoporosis: a systematic review and meta-analyses. *Dis Markers*. 2016;2016:7067984. doi: 10.1155/2016/7067984.

28. Utian WH, Archer DF, Bachmann GA, Gallagher C, Grodstein Fn, Heiman JR, et al. Estrogen and progestogen use in postmenopausal women: July 2008 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*. 2008;15(4):584-602. doi:10.1097/gme.0b013e31817b076a.
29. The NAMS 2017 Hormone Therapy Position Statement Advisory Panel. The 2017 hormone therapy position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*. 2017;24(7):728-53. doi: 10.1097/GME.0000000000000921.
30. Marjoribanks J, Farquhar C, Roberts H, Lethaby A, Lee J. Long-term hormone therapy for perimenopausal and postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;1(1): CD004143. doi: 10.1002/14651858.CD004143.pub5.
31. Archer DF. Lower doses of oral estrogen and progestogens as treatment for postmenopausal women. *Semin Reprod Med*. 2005;23(2):188–95. doi: 10.1055/s-2005-869487.
32. 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(1):11–22.
33. Sánchez-Rodríguez MA, Zacarías-Flores M, Castrejón-Delgado L, Ruiz-Rodríguez AK, Mendoza-Núñez VM. Effects of hormone therapy on oxidative stress in postmenopausal women with metabolic syndrome. *Int J Mol Sci*. 2016;17(9):1388. doi: 10.3390/ijms17091388.
34. Leal M, Díaz J, Serrano E, Abellán J, Carbonell LF. Hormone replacement therapy for oxidative stress in postmenopausal women with hot flashes. *Obstet Gynecol*. 2000;95(6):804–9. doi: 10.1016/s0029-7844(00)00822-x.
35. Shafin N, Zakaria R, Hussain NH, Othman Z. Association of oxidative stress and memory performance in postmenopausal women receiving estrogen-progestin therapy. *Menopause*. 2013;20(6):661–6. doi: 10.1097/GME.0b013e31827758c6.
36. Unfer TC, Figueiredo CG, Zanchi MM, Maurer LH, Kemerich DM, Duarte MM, et al. Estrogen plus progestin increase superoxide dismutase and total antioxidant capacity in postmenopausal women. *Climacteric*. 2015;18(3):379–88. doi: 10.3109/13697137.2014.964669.
37. Polac I, Borowiecka M, Wilamowska A, Nowak P. Oxidative stress measured by carbonyl groups level in postmenopausal women after oral and transdermal hormone therapy. *J Obstet Gynaecol Res*. 2012;38(9):1177–81. doi: 10.1111/j.1447-0756.2011.01842.x.
38. Escalante CG, Mora SQ, Bolanós LN. Hormone replacement therapy reduces lipid oxidation directly at the arterial wall: a possible link to estrogens' cardioprotective effect through atherosclerosis prevention. *J Midlife Health*. 2017;8(1):11-16. doi: 10.4103/0976-7800.201967.
39. Kloosterboer HJ. Historical milestones in the development of tibolone (Livial®). *Climacteric*. 2011;14(6):609–21. doi: 10.3109/13697137.2011.580639.
40. Biglia N, Maffei S, Lello S, Nappi RE. Tibolone in postmenopausal women: a review based on recent randomised controlled clinical trials. *Gynecol*

- Endocrinol. 2010;26(11):804–14. doi: 10.3109/09513590.2010.495437.
41. Mendoza N, Abad P, Baró F, Cancelo MJ, Llaneza P, Manubens M, et al. Spanish Menopause Society position statement: use of tibolone in postmenopausal women. *Menopause*. 2013;20(7):754–60. doi: 10.1097/GME.0b013e31827b18c5.
 42. Formoso G, Perrone E, Maltoni S, Balduzzi S, Wilkinson J, Basevi V, et al. Short-term and long-term effects of tibolone in postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;10(10): CD008536. doi: 10.1002/14651858.CD008536.pub3.
 43. Potdar J. Non-conventional hormone therapy - tissue-specific tibolone-caution. *J Midlife Health*. 2010;1(2):59-62. doi: 10.4103/0976-7800.76213.
 44. de Aguiar RB, Dickel OE, Cunha RW, Monserrat JM, Barros DM, Martinez PE. Estradiol valerate and tibolone: effects upon brain oxidative stress and blood biochemistry during aging in female rats. *Biogerontology*. 2008;9(5):285–98. doi: 10.1007/s10522-008-9137-7.
 45. Farfán-García ED, Castillo-Hernández MC, Pinto-Almazán R, Rivas-Arancibia S, Gallardo JM, Guerra-Araiza C. Tibolone prevents oxidation and ameliorates cholinergic deficit induced by ozone exposure in the male rat hippocampus. *Neurochem Res*. 2014;39(9):1776–86. doi: 10.1007/s11064-014-1385-0.
 46. Pinto-Almazán R, Segura-Urbe JJ, Soriano-Ursúa MA, Farfán-García ED, Gallardo JM, Guerra-Araiza C. Effect of tibolone pretreatment on kinases and phosphatases that regulate the expression and phosphorylation of Tau in the hippocampus of rats exposed to ozone. *Neural Regen Res*. 2018;13(3):440–8. doi: 10.4103/1673-5374.228726.
 47. de Oliveira MC, Martins-Maciel ER, Comar JF, Yamamoto NS, Bracht A, Ishii-Iwamoto EL, et al. Tibolone impairs glucose and fatty acid metabolism and induces oxidative stress in livers from female rats. *Eur J Pharmacol*. 2011;668(1-2):248-56. doi: 10.1016/j.ejphar.2011.06.043.
 48. Beltrán-Campos V, Díaz-Ruiz A, Padilla-Gómez E, Aguilar Zavala H, Ríos C, Díaz Cintra S. Efecto de la tibolona en la densidad de las espinas dendríticas en el hipocampo de la rata. *Neurología*. 2015;30(7):401–6. doi.org/10.1016/j.nrl.2014.03.002.
 49. Vural P, Akgül C, Canbaz M. Effects of the menopause and tibolone on antioxidants in postmenopausal women. *Ann Clin Biochem*. 2005;42(3): 220-3. doi: 10.1258/0004563053857941. Erratum in: *Ann Clin Biochem*. 2005;42(4)316.
 50. Vassalle C, Cicinelli E, Lello S, Mercuri A, Battaglia D, Maffei S. Effects of menopause and tibolone on different cardiovascular biomarkers in healthy women. *Gynecol Endocrinol*. 2011;27(3):163–9. doi: 10.3109/09513590.2010.488770.
 51. Estrada Cruz NA, Almanza Pérez JC, Fortis Barrera Á, Gallardo JM, Manuel Apolinar L, Segura Uribe JJ, et al. Acute administration of tibolone prevents oxidative stress in ovariectomized rats fed high-fat-and-fructose diet. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2019;127(6):396–404. doi: 10.1055/a-0659-9928.
 52. 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):395–9. doi: 10.1016/s8756-3282(96)00219-0.
53. Bjarnason NH, Bjarnason K, Haarbo J, Rosenquist C, Christiansen C. Tibolone: prevention of bone loss in late postmenopausal women. *J Clin Endocrinol*. 1996;81(7):2419–22. doi: 10.1210/jcem.81.7.8675554.
 54. 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):4717–26. doi: 10.1210/jcem.86.10.7937.
 55. Wang H, Chow SC. Sample size calculation for comparing means. *Wiley StatsRef Stat Ref Online*. 2014;1–14.
 56. Wager TD, Atlas LY. The neuroscience of placebo effects: Connecting context, learning and health. *Nat Rev Neurosci*. 2015;16(7):403–18. doi: 10.1038/nrn3976.
 57. Montoya Guerrero LR, León Salazar A. Estilo de vida y salud: un problema socioeducativo. *Antecedentes. Educere*. 2010;14(49):287–95.
 58. Jentsch AM, Bachmann H, Fürst P, Biesalski HK. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radic Biol Med*. 1996;20(2):251–6. doi: 10.1016/0891-5849(95)02043-8.
 59. Consejo Nacional de Población: Indicadores Demográficos de México de 1950 a 2050. Disponible en: http://www.conapo.gob.mx/work/models/CONAPO/Mapa_Ind_Dem18/index_2.html
 60. Sies H. Findings in redox biology: from H₂O₂ to oxidative stress. *J Biol Chem*. 2020;295(39):13458–13473. doi: 10.1074/jbc.X120.015651.
 61. Kodali ST, Kauffman P, Kotha SR, et al. Oxidative Lipidomics: Analysis of Oxidized Lipids and Lipid Peroxidation in Biological Systems with Relevance to Health and Disease. 2020 Aug 9. In: Berliner LJ, Parinandi NL, editors. *Measuring Oxidants and Oxidative Stress in Biological Systems [Internet]*. Cham (CH): Springer; 2020. Chapter 5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK566435/> doi: 10.1007/978-3-030-47318-1_5
 62. Topçuoğlu A, Uzun H, Aydin S, Kahraman N, Vehid S, Zeybek G, et al. The effect of hormone replacement therapy on oxidized low density lipoprotein levels and paraoxonase activity in postmenopausal women. *Tohoku J Exp Med*. 2005;205(1):79–86. doi: 10.1620/tjem.205.79.
 63. Akçay T, Dinçer Y, Kayali R, Çolgar U, Oral E, Çakatay U. Effects of hormone replacement therapy on lipid peroxides and oxidation system in postmenopausal women. *J Toxicol Environ Health A*. 2000;59(1):1–5. doi: 10.1080/009841000157023.
 64. Escalante Gómez C, Quesada Mora S. HRT decreases DNA and lipid oxidation in postmenopausal women. *Climacteric*. 2013;16(1):104–10. doi: 10.3109/13697137.2012.660711.
 65. Falkeborn M, Lithell H, Persson I, Vessby B, Naessén T. Lipids and antioxidative effects of estradiol and sequential norethisterone acetate treatment in a 3-month randomized controlled trial. *Climacteric*. 2002;5(3):240–8.

66. Bednarek-Tupikowska G, Tupikowski K, Bidzińska B, Bohdanowicz-Pawlak A, Antonowicz-Juchniewicz J, Kosowska B, et al. Serum lipid peroxides and total antioxidant status in postmenopausal women on hormone replacement therapy. *Gynecol Endocrinol*. 2004;19(2):57–63. doi: 10.1080/09513590412331272328.
67. Bednarek-Tupikowska G, Tworowska U, Jedrychowska I, Radomska B, Tupikowski K, Bidzinska-Speichert B, et al. Effects of oestradiol and oestrogen on erythrocyte antioxidative enzyme system activity in postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006;64(4):463–8. doi: 10.1111/j.1365-2265.2006.02494.x.
68. Maffei S, Mercuri A, Prontera C, Zucchelli GC, Vassalle C. Vasoactive biomarkers and oxidative stress in healthy recently postmenopausal women treated with hormone replacement therapy. *Climacteric*. 2006;9(6):452–8. doi: 10.1080/13697130601014752.
69. Hermenegildo C, Oviedo PJ, Laguna A, García-Pérez MA, Tarín JJ, Cano A. Transdermal estradiol reduces F2alpha-isoprostane levels in postmenopausal women. *Menopause*. 2008;15(4):714–7. doi: 10.1097/gme.0b013e31815f8943.
70. Gokkusu C, Tata G, Ademoğlu E, Tamer S. The benefits of hormone replacement therapy on plasma and platelet antioxidant status and fatty acid composition in healthy postmenopausal women. *Platelets*. 2010;21(6):439–44. doi: 10.3109/09537104.2010.481475.
71. Radowicki S, Jankowska S, Kunicki M. Influence of hormone replacement therapy (oral and transdermal) on activity of erythrocyte Zn/Cu superoxide dismutase (Zn/Cu-SOD) in postmenopausal women. *Ginekol Pol*. 2003;74(4):282–7.
72. Akcay T, Dincer Y, Saygili EI, Seyisoglu H, Ertungalp E. Assessment of DNA nucleobase oxidation and antioxidant defense in postmenopausal women under hormone replacement therapy. *Indian J Med Sci*. 2010;64(1):17–25.
73. Unfer TC, Conterato GM, da Silva JC, Duarte MM, Emanuelli T. Influence of hormone replacement therapy on blood antioxidant enzymes in menopausal women. *Clin Chim Acta*. 2006;369(1):73–7. doi: 10.1016/j.cca.2006.01.006.
74. Fukai T, Ushio-Fukai M. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxid Redox Signal*. 2011;15(6):1583–606. doi: 10.1089/ars.2011.3999.
75. Simpkins JW, Gridley KE, Green PS, inventor; University of Florida University of Florida Research Foundation Inc., assignee. Composiciones para mejorar los efectos citoprotectores de compuestos fenolicos policiclicos mediante la interaccion sinergica con antioxidantes. Spain patent ES2217538T3. 2004 Nov 1.
76. Brigelius-Flohé R, Flohé L. Regulatory phenomena in the glutathione peroxidase superfamily. *Antioxid Redox Signal*. 2020;33(7):498–516. doi: 10.1089/ars.2019.7905.
77. Lei XG, Zhu JH, Cheng WH, Bao Y, Ho YS, Reddi AR, et al. Paradoxical roles of antioxidant enzymes: basic mechanisms and health implications. *Physiol Rev*. 2016;96(1):307–64. doi: 10.1152/physrev.00010.2014.
78. Glantzounis GK, Tsimoyiannis EC, Kappas AM, Galaris DA. Uric acid and

- oxidative stress. *Curr Pharm Des.* 2005;11(32):4145–51. doi: 10.2174/138161205774913255.
79. Jung JH, Song GG, Lee YH, Kim JH, Hyun MH, Choi SJ. Serum uric acid levels and hormone therapy type: a retrospective cohort study of postmenopausal women. *Menopause.* 2018;25(1):77-81. doi: 10.1097/GME.0000000000000953.
 80. Hak AE, Choi HK. Menopause, postmenopausal hormone use and serum uric acid levels in US women--the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(5).R116. doi: 10.1186/ar2519.
 81. Ruiz G, Souki A, Martínez S, Cano C, Vargas ME, Garcia M. Ácido úrico: antioxidante o factor de riesgo cardiovascular. *Dos caras de una misma moneda. Síndrome Cardiometabólico.* 2013;3(1):1–5.
 82. 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. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_524_18.
 83. Cauley JA, Robbins J, Chen Z, Cummings SR, Jackson RD, LaCroix AZ, et al. Effects of estrogen plus progestin on risk of fracture and bone mineral density: the Women's Health Initiative randomized trial. *JAMA.* 2003;290(13):1729–38. doi: 10.1001/jama.290.13.1729.
 84. Effects of hormone therapy on bone mineral density: results from the postmenopausal estrogen/progestin interventions (PEPI) trial. The writing group for the PEPI. *JAMA.* 1996;276(17):1389–96.
 85. Dören M, Nilsson JA, Johnell O. Effects of specific post-menopausal hormone therapies on bone mineral density in post-menopausal women: a meta-analysis. *Hum Reprod.* 2003;18(8):1737–46. doi: 10.1093/humrep/deg315.
 86. Wells G, Tugwell P, Shea B, Guyatt G, Peterson J, Zytaruk N, et al. Meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis. V. Meta-analysis of the efficacy of hormone replacement therapy in treating and preventing osteoporosis in postmenopausal women. *Endocr Rev.* 2002;23(4):529–39. doi: 10.1210/er.2001-5002.
 87. Miller VM, Naftolin F, Asthana S, Black DM, Brinton EA, Budoff MJ, et al. The Kronos Early Estrogen Prevention Study (KEEPS): what have we learned? *Menopause.* 2019;26(9):1071–84. doi: 10.1097/GME.0000000000001326.
 88. Castrejón-Delgado L, Castelán-Martínez OD, Clark P, Garduño-Espinosa J, Mendoza-Núñez VM, Sánchez-Rodríguez MA. Effect of tibolone on bone mineral density in postmenopausal women: systematic review and meta-analysis. *Biology (Basel).* 2021;10(3):211. doi: 10.3390/biology10030211.
 89. Barrionuevo P, Kapoor E, Asi N, Alahdab F, Mohammed K, Benkhadra K, et al. Efficacy of pharmacological therapies for the prevention of fractures in postmenopausal women: a network meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019;104(5):1623–30. doi: 10.1210/jc.2019-00192. Erratum in: *J Clin Endocrinol Metab.* 2021;106(3):e1494.
 90. Gosset A, Pouillès JM, Trémollières F. Menopausal hormone therapy for the management of osteoporosis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.*

- 2021;35(6):101551. doi: 10.1016/j.beem.2021.101551.
91. Chapurlat R, Bui M, Sornay-Rendu E, Zebaze R, Delmas PD, Liew D, et al. Deterioration of cortical and trabecular microstructure identifies women with osteopenia or normal bone mineral density at imminent and long-term risk for fragility fracture: a prospective study. *J Bone Miner Res.* 2020;35(5):833–44. doi: 10.1002/jbmr.3924.
 92. Management of osteoporosis in postmenopausal women: the 2021 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause.* 2021;28(9):973–97. doi: 10.1097/GME.0000000000001831.
 93. Corrado A, Cici D, Rotondo C, Maruotti N, Cantatore FP. Molecular basis of bone aging. *Int J Mol Sci.* 2020;21(10):3679. doi: 10.3390/ijms21103679.
 94. 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.* 2014;2014:569563. doi: 10.1155/2014/569563.
 95. Zhao F, Guo L, Wang X, Zhang Y. Correlation of oxidative stress-related biomarkers with postmenopausal osteoporosis: a systematic review and meta-analysis. *Arch Osteoporos.* 2021;16(1): 4. doi: 10.1007/s11657-020-00854-w.
 96. Maggio D, Barabani M, Pierandrei M, Polidori MC, Catani M, Mecocci P, et al. Marked decrease in plasma antioxidants in aged osteoporotic women: Results of a cross-sectional study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(4):1523–7. doi: 10.1210/jc.2002-021496.
 97. 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):491–7. doi: 10.4103/2230-8210.159053.
 98. Kang S, Kwon D, Lee J, Chung YJ, Kim MR, Namkung J, et al. Association between serum uric acid levels and bone mineral density in postmenopausal women: a cross-sectional and longitudinal study. *Healthcare (Basel).* 2021;9(12):1681. doi: 10.3390/healthcare9121681.
 99. Makovey J, Macara M, Chen JS, Hayward CS, March L, Seibel MJ, et al. Serum uric acid plays a protective role for bone loss in peri- and postmenopausal women: a longitudinal study. *Bone.* 2013;52(1):400–6. doi: 10.1016/j.bone.2012.10.025.
 100. Ahn SH, Lee SH, Kim BJ, Lim KH, Bae SJ, Kim EH, et al. Higher serum uric acid is associated with higher bone mass, lower bone turnover, and lower prevalence of vertebral fracture in healthy postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 2013;24(12):2961–70. doi: 10.1007/s00198-013-2377-7.
 101. Casas AI, Nogales C, Mucke HAM, Petrain A, Cuadrado A, Rojo AI, et al. On the clinical pharmacology of reactive oxygen species. *Pharmacol Rev.* 2020;72(4):801–28. doi: 10.1124/pr.120.019422.
 102. Uppu RM, Woods D, Parinandi NL. Measurement of Oxidative Stress Status in Human Populations: A Critical Need for a Metabolomic Profiling. 2020 Aug 9. In: Berliner LJ, Parinandi NL, editors. *Measuring Oxidants and Oxidative Stress in Biological Systems [Internet].* Cham (CH): Springer; 2020. Chapter 8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK566448/> doi: 10.1007/978-3-030-47318-1_8

103. Beardsworth SA, Kearney CE, Purdie DW. Prevention of postmenopausal bone loss at lumbar spine and upper femur with tibolone: a two-year randomised controlled trial. *Br J Obstet Gynaecol.* 1999;106(7):678–83. doi: 10.1111/j.1471-0528.1999.tb08367.x.
104. Kim SE, Lee DY, Choi D. Tissue-selective estrogen complex for women who experience breast discomfort or vaginal bleeding when on hormone therapy. *Menopause.* 2019;26(4):383–6. doi: 10.1097/GME.0000000000001244.

XIV. ANEXOS

1. Cuestionario de climaterio
2. Carta de Consentimiento informado
3. Cuestionario de Estado de salud y Polifarmacia
4. Cuestionario de Estilos de vida
5. Herramienta FRAX México
6. Control de entrega de tratamiento, carnet.
7. Aprobación por el comité de ética

ANEXO 1
Cuestionario de climaterio



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

Clave:

Cuestionario de climaterio

Nombre: _____ Edad: _____

1. Fecha de última regla: _____
2. ¿Le hicieron cirugía para quitarle la matriz? SI _____ NO _____
3. ¿Le quitaron los ovarios? SI _____ NO _____
4. ¿En qué fecha? _____ (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 2

Carta de 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 o prolongar una hospitalización, pongan en riesgo la vida del paciente o 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 QFB Ana Karen Ruíz Rodríguez al número 04455 3341 6713.

Declaración de consentimiento informado

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

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

Nombre y firma de la participante.

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

Nombre y firma de un familiar (testigo)

Nombre y firma de un testigo

Nombre y firma del investigador principal

Encargado de obtener el consentimiento informado

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

Nombre y firma del encargado de obtener el consentimiento informado

Ciudad de México, a _____ de _____ de _____.

ANEXO 3

Cuestionario de Estado de salud y Polifarmacia

Estado de Salud y Polifarmacia

Objetivo: Determinar el estado de salud y polifarmacia.

Características: Es un cuestionario semi-estructurado de autoreporte integrado y validado por consenso de expertos.

Estructura: El cuestionario está conformado por 19 preguntas integradas en 3 secciones.

Tiempo aproximado de aplicación: 10 minutos.

Material requerido: Cuestionario y lápiz.

Espacio físico recomendado: No se requiere privacidad, puede aplicarse en pequeños grupos (máximo 10 personas).

Protocolo de aplicación:

1. Explique a la persona el objetivo y relevancia del cuestionario: *“Le haremos algunas preguntas de tipo personal sobre fecha y lugar de nacimiento, religión, escolaridad, con quién vive, ingresos económicos, enfermedades que padece y medicamentos que consume”. “Es muy importante que responda correctamente, ya que la orientación o apoyo que se le proporcionará para mantener o mejorar su estado de salud y bienestar depende de la veracidad de las mismas”. “Esta información no será utilizada en programas gubernamentales de apoyo para personas adultas mayores”. “¿Está usted de acuerdo en responder el cuestionario?”.*
2. Especifique a la persona el número de preguntas que tiene el cuestionario y el tiempo aproximado de aplicación.
3. Pregúntele si sabe leer y escribir sin dificultad y si podría responderlo sin ayuda. Si la respuesta es afirmativa, indíquele que lo conteste, aclarándole que si tiene alguna duda usted está a sus órdenes para resolvérsela. Si la persona tiene dificultad para leer o escribir o usted considera que tendrá dificultades para responderlo, aplíquelo usted.
4. Asegúrese de que la persona no tiene problemas auditivos o cognitivos severos que le impidan escuchar o comprender las preguntas.
5. Preferentemente aplique el cuestionario sin la presencia de familiares.
6. Si la persona no puede responder el cuestionario, las respuestas las podrá emitir el cuidador primario, lo cual deberá especificar en el apartado de observaciones.

7. Proporcione el tiempo suficiente para responder a cada una de las preguntas.
8. Si nota alguna duda o vacilación en la respuesta, pregúntele nuevamente para asegurarse que la respuesta es correcta. **No induzca la respuesta.**
9. Debe considerar la escolaridad de la persona para utilizar el lenguaje apropiado, podrá hacer la pregunta de manera diferente a lo establecido en el cuestionario, siempre y cuando esté usted seguro(a) de que no está cambiando el sentido y objetivo de la pregunta, si tiene alguna duda corrobórelo con el supervisor.
10. Si en el apartado de ingresos económicos, usted observa que la persona no quiere responder, explíquele que la información es confidencial y que no será utilizada para otros fines, aunque si no quiere responder no insista.
11. Respecto a los medicamentos que consume, la persona deberá llevarlos el día que se aplique el cuestionario. Por tal motivo, usted tuvo que haberle informado en una sesión previa la necesidad de llevar los medicamentos. Si no se presenta con ellos, deje pendiente el apartado de medicamentos y cítelo en otra ocasión para completar con veracidad el cuestionario.
12. El instrumento debe ser llenado en su totalidad, revisado por el evaluador y el supervisor y ambos deben anotar su nombre en el espacio correspondiente.

Escala de evaluación: Descriptiva



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

CUESTIONARIO ESTADO DE SALUD Y POLIFARMACIA

Clave:

I. INFORMACIÓN GENERAL

Nombre(s) _____ Apellido Paterno _____ Apellido Materno _____

1. Fecha de nacimiento: _____ Edad: _____

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

4. Estado Civil: _____ 5. Religión: _____

6. Lugar de residencia en los últimos 5 años (marque con una X la opción):
 Urbano Suburbano Rural Cd. de México

Especifique el lugar: _____

¿Desde hace cuánto tiempo vive ahí? _____ años.

7. Escolaridad

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

Número de años de escolaridad _____
 Especificar _____

8. Ocupación(es) anterior(es): _____
 Por más de 5 años

9. Ocupación(es) actual(es): _____
 Por más de 2 años

10. ¿Con quién vive?

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

11. ¿Con cuántas personas vive?: _____

II. ASPECTOS SOCIOECONÓMICOS

12. Fuentes de ingreso económico:

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

13. Ingreso económico familiar mensual:

\$ _____

III. ASPECTOS DE SALUD

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

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

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

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

Medicamento	Indicado para	Dosis	Indicado por	Tiempo de consumo

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

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

SI NO

En caso afirmativo anótelos en los siguientes renglones.

18. ¿Cómo clasificaría su estado de salud?

Excelente Bueno Regular Malo Muy malo

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

Mejor Igual Peor

OBSERVACIONES: _____

Evaluador(a): _____

Supervisor(a): _____

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

ANEXO 4

Cuestionario de Estilos de vida

Cuestionario de Estilos de Vida

Objetivo: Identificar los estilos de vida adoptados por la persona en el presente y en el pasado. **Características:** Es un cuestionario semi-estructurado integrado y validado por consenso de expertos que evalúa los estilos de vida que la persona mantiene

Estructura: El cuestionario está conformado por 12 apartados que exploran el tabaquismo, el consumo de cafeína, bebidas alcohólicas, ejercicio físico, horas de sueño al día e higiene personal.

Tiempo aproximado de aplicación: 15 minutos.

Material requerido: Cuestionario y lápiz.

Espacio físico recomendado: Se requiere privacidad, para que responda con veracidad.

Protocolo de aplicación:

1. Para la evaluación de los estilos de vida que la persona mantiene en el presente, se considerarán los estilos adoptados durante el último año de manera ininterrumpida. Con respecto al pasado se evaluarán los estilos de vida adoptados de los 45 años a la fecha si fueron mantenidos por más de un año. En el caso de que la persona mantenga los estilos de vida desde los 45 años a la fecha se deberá anotar tanto en el apartado del pasado como del presente.
2. Los estilos de vida de menos de un año serán anotados en el apartado de observaciones.
3. Explique a la persona el objetivo y relevancia del cuestionario: *“Le haremos algunas preguntas de tipo personal sobre sus estilos de vida adoptados de los 45 años a la fecha”. “Es muy importante que responda correctamente, ya que la orientación o apoyo que se le proporcionará para mantener o mejorar su estado de salud y bienestar depende de la veracidad de las mismas”. “Esta información es confidencial”. ¿Está usted de acuerdo en responder el cuestionario?*
4. Especifíquese a la persona el número de preguntas que tiene el cuestionario y el tiempo aproximado de aplicación.
5. El cuestionario no es de auto-aplicación, debido a la confusión que pueden generar algunas preguntas.

6. Asegúrese de que la persona no tiene problemas auditivos o cognitivos severos que le impidan escuchar o comprender las preguntas.
7. Preferentemente aplique el cuestionario sin la presencia de familiares.
8. Si la persona no puede responder el cuestionario, las respuestas las podrá emitir el cuidador primario, lo cual deberá especificar en el apartado de observaciones.
9. Dé el tiempo suficiente para responder a cada una de las preguntas.
10. Si nota alguna duda o vacilación en la respuesta, vuelva a plantearla para asegurarse que la respuesta sea veraz.
11. Debe considerar la escolaridad de la persona para utilizar el lenguaje apropiado, podrá hacer la pregunta de manera diferente a lo establecido en el cuestionario, siempre y cuando esté usted seguro(a) de que no está cambiando el sentido y objetivo de la pregunta. Si tiene alguna duda corrobórelo con el supervisor.
12. El instrumento debe ser llenado en su totalidad, revisado por el evaluador y el supervisor y ambos deben anotar su nombre en el espacio correspondiente.

Escala de evaluación: Descriptiva.



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

CUESTIONARIO DE ESTILOS DE VIDA

Clave:

Nombre: _____

Edad: _____ Sexo: _____ Fecha de aplicación: _____

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

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

Número de cigarrillos por día	
Tiempo de consumo (años)	

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

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

Número de cigarrillos por día	
Tiempo de consumo (años)	

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

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

Número de cigarrillos por día	
Tiempo de exposición (años)	

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

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

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

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

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

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

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

SI NO

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

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

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

SI NO

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

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

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

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

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

SI NO

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

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

9. ¿Acostumbraba realizar ejercicio físico de los 45 años en adelante (cuatro veces por 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 5

Herramienta FRAX México

Herramienta de cálculo

Responda las preguntas a continuación para calcular la probabilidad de fractura de diez años con DMO.

País: mexico		Nombre / ID: <input type="text"/>		Sobre los factores de riesgo.	
Cuestionario:					
1. Edad (entre 40 y 90 años) o fecha de nacimiento			10. Osteoporosis secundaria		
Años:			<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí		
<input type="text"/>			11. Alcohol 3 o mas unidades / dia		
Fecha de nacimiento:			<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí		
Y: <input type="text"/>			12. DMO del cuello femoral (g / cm ²)		
METRO: <input type="text"/>			Seleccione BMD <input type="text"/>		
RE: <input type="text"/>			<input type="button" value="Claro"/> <input type="button" value="Calcular"/>		
2. Sexo		<input type="radio"/> Masculino <input type="radio"/> Hembra			
3. Peso (kg)		<input type="text"/>			
4. Altura (cm)		<input type="text"/>			
5. Fractura Anterior		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí			
6. Fractura de los padres		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí			
7. Fumar actual		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí			
8. Glucocorticoides		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí			
9. Artritis Reumatoide		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí			

ANEXO 6

Control de entrega de tratamiento (carnet)



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
“ZARAGOZA”

Laboratorio de Gerontología Clínica
Protocolo Menopausia y Estrés oxidativo
Carnet de registro de tratamiento

Estimada participante: _____

Clave: _____ Número de tratamiento: _____

Gracias por su interés en este proyecto. Ha sido seleccionada para la toma del tratamiento.

Se le entregarán mensualmente dos frascos. Frasco 1, con 30 tabletas, debe tomar una tableta diaria a la hora de la comida hasta cumplir un mes. Frasco 2, con 10 tabletas, debe tomar una, los últimos diez días de cada mes (junto con la del frasco uno a la hora de la comida).

Su tratamiento inicia el día: _____

En el siguiente cuadro se le indica qué día deberá regresar por su siguiente dosis. DEBE TRAER CONSIGO EL FRASCO DEL MES ANTERIOR PARA DARLE EL SIGUIENTE y este carnet de registro de tratamiento.

Gracias nuevamente.

Fecha de entrega de tratamiento	Firma de recibido	Fecha de entrega de tratamiento	Firma de recibido
M1		M10	
M2		M11	
M3		M12	
M4		M13	
M5		M14	
M6		M15	
M7		M16	
M8		M17	
M9		M18	

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Dra. Martha A. Sánchez Rodríguez
 Responsable del proyecto.

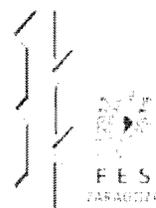
Proyecto

ANEXO 7

Aprobación por el comité de ética



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACION
COORDINACION DE INVESTIGACION



Oficio No. FESZ/DEP/CI/004/17
ASUNTO: Aprobación del Proyecto

DRA. MARTHA A. SÁNCHEZ RODRÍGUEZ
RESPONSABLE DE PROYECTO
P R E S E N T E

En respuesta a su solicitud de evaluación por parte de la Comisión de Bioética y Bioseguridad de nuestra Facultad, para el proyecto "EFECTO DE LA TIBOLONA SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO, DEPRESIÓN, AUTOESTIMA, INSOMNIO, CALIDAD DE VIDA Y DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN MUJERES POSMENOPAUSICAS. COMPARADO CON TERAPIA ESTROGENICA", del cual funge como responsable, me permito informarle que el dictamen por parte de dicha Comisión es **APROBADO**.

Si más por el momento, quedo de usted para cualquier duda o aclaración.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad de México, a 12 de enero de 2017


Q.F.B. JORGE LUIS GUEVARA DELOYA
COORDINADOR DE INVESTIGACION

Este documento es una copia electrónica de un documento original que se encuentra en el archivo de la Coordinación de Investigación de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Para más información, consulte el sitio web de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.