

Efecto de la terapia hormonal con estrógenos en el estrés oxidativo y la calidad de vida en mujeres posmenopáusicas*

Martha Asunción Sánchez Rodríguez,¹ Mariano Zacarías Flores,¹ Alicia Arronte Rosales,¹ Víctor Manuel Mendoza Núñez¹

RESUMEN

Antecedentes: se ha propuesto que la terapia hormonal con estrógenos tiene efecto antioxidante y mejora la calidad de vida, aunque no se han medido ambos en relación con el estrés oxidativo.

Objetivo: determinar el efecto de la terapia hormonal con estrógenos en la calidad de vida y el estrés oxidativo en la posmenopausia.

Pacientes y método: ensayo clínico controlado efectuado con 111 mujeres perimenopáusicas (40 a 60 años de edad) de la Ciudad de México. Se conformaron tres grupos: 1) control, con 39 mujeres premenopáusicas; 2) 33 mujeres posmenopáusicas con tratamiento de estrógenos conjugados vía oral (0.625 mg/d + 5 mg/d de medroxiprogesterona durante 10 días); y 3) 33 mujeres posmenopáusicas que recibían placebo. Antes del tratamiento y después de seis meses se midieron los marcadores bioquímicos de estrés oxidativo: lipoperoxidos plasmáticos (TBARS), actividad de las enzimas SOD y GPx y la capacidad plasmática antioxidante total (Randox Laboratories). Se aplicó el cuestionario de calidad de vida de la Organización Mundial de la Salud en versión breve (WHOQoL-Brief).

Resultados: los lipoperoxidos fueron más altos en ambos grupos de mujeres posmenopáusicas con calidad de vida basal promedio-mala que en mujeres premenopáusicas con calidad de vida alta (0.357 ± 0.06 vs 0.315 ± 0.04 $\mu\text{mol/L}$, $p < 0.05$). Los lipoperoxidos disminuyeron en mujeres que reciben tratamiento con calidad de vida promedio-mala después de seis meses (0.357 ± 0.06 vs 0.293 ± 0.08 $\mu\text{mol/L}$, $p < 0.01$); también se observó reducción en la proporción de mujeres en tratamiento que inicialmente tenían lipoperoxidos altos y calidad de vida promedio-mala ($p < 0.05$). En los demás grupos no se encontró diferencia.

Conclusión: la terapia hormonal con estrógenos mejora la calidad de vida y disminuye el estrés oxidativo en la posmenopausia.

Palabras clave: estrés oxidativo, lipoperoxidos, calidad de vida, posmenopausia, terapia hormonal.

ABSTRACT

Background: Estrogen therapy has an antioxidant effect and improves quality of life. There is no report on estrogen therapy and quality of life in relation to oxidative stress.

Objective: To determine the effect of estrogen hormonal therapy on quality of life and oxidative stress in postmenopausal women.

Patients and methods: We carried out a controlled clinical trial including 111 perimenopausal women (40 to 60 years old) living in Mexico City. Women were assigned into three groups: 1) control group, 39 premenopausal women; 2) 33 postmenopausal women

receiving oral conjugated estrogens and medroxyprogesterone (0.625 mg/d plus medroxyprogesterone 5 mg/d for 10 days); 3) 33 postmenopausal women taking placebo pills. We measured at baseline and at six months biochemical markers of oxidative stress: lipoperoxides by TBARS assay, erythrocyte superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) and total antioxidant status (TAS) with Randox Laboratories, Ltd. kits. We also applied the World Health Organization Quality of Life, Brief (WHOQoL-Brief).

Results: Levels of lipoperoxides were higher in postmenopausal women with low quality of life vs premenopausal women with high quality of life (0.357 ± 0.06 vs 0.315 ± 0.04 $\mu\text{mol/L}$, $p < 0.05$). Plasma lipoperoxides diminished in women taking hormonal therapy with low quality of life after six months of treatment (0.357 ± 0.06 vs 0.293 ± 0.08 $\mu\text{mol/L}$, $p < 0.01$); also, the proportion of women in therapy with basal high lipoperoxides and quality of life average-low diminished ($p < 0.05$). There were no differences in the other groups.

Conclusion: Estrogen therapy improves quality of life and reduces lipoperoxides as oxidative stress biomarker in postmenopausal women.

Key words: oxidative stress, lipoperoxides, quality of life, postmenopausal women, hormone therapy.

RÉSUMÉ

Antécédents: Tout indique que la thérapie hormonale avec de l'œstrogène possède des propriétés antioxydantes et améliore la qualité de vie. Non mesurée à la fois en relation avec le stress oxydatif.

Objectif: Déterminer l'effet de l'hormonothérapie œstrogénique sur la qualité de vie et le stress oxydatif chez les femmes ménopausées.

Méthodes: Un essai clinique contrôlé mené chez 111 femmes en péri-ménopause (40-60 ans) dans la ville de Mexico. Trois groupes ont été formés: 1) le contrôle, 39 femmes pré-ménopausées, 2) 33 patients avec un traitement de post-ménopausées œstrogènes conjugués oraux (0,625 mg / j + 5 mg / j de médroxyprogestérone pendant 10 jours), 3) les 33 ont reçu un placebo. Marqueurs biochimiques du stress oxydatif ont été mesurés avant le traitement et après six mois: peroxydes lipidiques plasmatiques (TBARS), l'activité de la SOD et de la GPx et de la capacité antioxydante totale du plasma (Randox Laboratories). Le questionnaire suivant la qualité de vie de l'OMS version brève (WHOQOL-Brief).

Résultats: Les concentrations lipoperoxydes étaient plus élevées dans les deux groupes de la qualité de vie post-ménopausique vs valeur de base moyenne-faible qualité de vie élevée avant la ménopause ($0,357 \pm 0,315$ vs $0,06$ $0,04$ $\mu\text{mol} / \text{L}$, $p < 0,05$). Chez les femmes en traitement, qualité de vie, pauvre moyenne au bout de six mois, diminution lipoperoxydes ($0,357 \pm 0,06$ vs $0,293 \pm 0,08$

$\mu\text{mol} / \text{L}$, $p < 0,01$) diminution a également été observée dans la proportion de femmes qui ont été initialement traités lipoperoxydes qualité de vie élevée et moyenne-faible ($p < 0,05$) dans les autres groupes ne différaient pas.

Conclusion: Chez les femmes ménopausées atteintes d'un traitement hormonal oestrogène améliore la qualité de vie et diminue le stress oxydatif.

Mots-clés: stress oxydatif, peroxydes de lipide, de la qualité de la vie, l'hormonothérapie après la ménopause.

RESUMO

Antecedentes: Tudo indica que a terapia hormonal com estrogênio tem antioxidante e melhora a qualidade de vida. Não é medida tanto na ligação com o stress oxidativo.

Objetivo: Determinar o efeito da terapia hormonal de estrógeno na qualidade de vida e estresse oxidativo em mulheres na pós-menopausa.

Métodos: Um ensaio clínico controlado realizado em 111 mulheres na perimenopausa (40-60 anos) na Cidade do México. Foram formados três grupos: 1) controle, 39 mulheres na pré-menopausa, 2) 33 pacientes com tratamento de pós-menopausa orais estrogênios

conjugados (0,625 mg / d + 5 mg / d de medroxiprogesterona por 10 dias), 3) o placebo 33 restantes receberam. Marcadores bioquímicos de estresse oxidativo foram medidos antes do tratamento e após seis meses: peróxidos lipídicos do plasma (TBARS), atividade de SOD e GPx e capacidade antioxidante do plasma total (Randox Laboratories). O questionário a seguir da qualidade de vida da OMS versão breve (WHOQOL-Brief).

Resultados: As concentrações de lipoperóxidos foram superiores nos dois grupos de qualidade de vida pós-menopausa vs linha de base de qualidade média-baixa de vida pré-menopausa elevado ($0,357 \pm 0,315$ vs $0,06 \pm 0,04 \mu\text{mol} / \text{L}$, $p < 0,05$). Em mulheres em tratamento, da qualidade de vida médio, pobre, depois de seis meses, a diminuição lipoperóxidos ($0,357$ vs $0,293 \pm 0,06 \pm 0,08 \mu\text{mol} / \text{L}$, $p < 0,01$) foi também observada diminuição na proporção de mulheres que foram inicialmente tratados lipoperóxidos alta qualidade de vida e média-baixa ($p < 0,05$) nos demais grupos não diferiram.

Conclusão: Em mulheres pós-menopáusicas com terapia hormonal de estrogênio melhora a qualidade de vida e diminui o stress oxidativo.

Palavras-chave: estresse oxidativo, os peróxidos lipídicos, qualidade de vida, a terapia hormonal pós-menopausa.

La terapia hormonal ha sido objeto de controversia desde la publicación de los estudios de la Iniciativa para la Salud de las Mujeres (WHI por sus siglas en inglés),^{1,2} el Estudio Corazón y Reemplazo con Estrógenos y Progestinas (HERS)³ y el Estudio del Millón de Mujeres⁴ en los años 2002 y 2003, con los que se intentó demostrar que su administración implicaba más riesgo que beneficio; sin embargo, la evidencia actual apoya el consenso de que es recomendable iniciar la terapia hormonal alrededor de la menopausia para tratar los síntomas que

causa y para prevenir o reducir a largo plazo el riesgo de algunos trastornos.⁵

La mayor parte de los estudios llevados a cabo a partir de 2002 se ha enfocado en un posible riesgo de causar o exacerbar diferentes padecimientos, como enfermedad cardiovascular, trombosis venosa y tromboembolia, cáncer de mama, fracturas y cáncer de colon, entre otros,⁶ pero pocos son los que se han realizado para conocer el riesgo-beneficio para la mujer sana, principalmente en su calidad de vida, y los que hay son controvertidos.

El concepto de calidad de vida es ampliamente utilizado; sin embargo, aún no hay consenso para su definición,⁷ ya que en él influyen numerosos factores subjetivos relacionados con la salud, como síntomas y sus efectos físicos, emocionales y de funcionalidad social.⁸ La mujer posmenopáusica experimenta una serie de síntomas negativos que afectan su calidad de vida: trastornos del estado de ánimo (depresión y ansiedad), bochornos, alteraciones del sueño, concentración y memoria, atrofia vaginal y pérdida de la masa ósea, entre otros.⁹ De hecho, el estado de salud después de la menopausia se asocia con sentimientos de cambio corporal y bajo bienestar psicológico, comparado con la etapa reproductiva.¹⁰

Otro aspecto poco explorado es el efecto de la terapia hormonal en el estrés oxidativo. Éste es un desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de

* Trabajo ganador del segundo lugar del Premio Dr. Luis Castella Ayala otorgado a los trabajos científicos de investigación clínica, presentados por escrito, en el 63° Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia, celebrado del 5 al 9 de agosto de 2012 en Guadalajara, Jal.

¹ Unidad de Investigación en Gerontología, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

Correspondencia: Dra. Martha Asunción Sánchez Rodríguez.
Correo electrónico: masanrod@yahoo.com.mx
Recibido: 31 de julio 2012. Aceptado: septiembre 2012.

Este artículo debe citarse como: Sánchez-Rodríguez MA, Zacarías-Flores M, Arronte-Rosales A, Mendoza-Núñez VM. Efecto de la terapia hormonal con estrógenos en el estrés oxidativo y la calidad de vida en mujeres posmenopáusicas. Ginecol Obstet Mex 2013;81:11-22.

especies reactivas y radicales libres que provocan daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes.¹¹ El daño oxidativo se acumula, y con la edad, el estrés oxidativo se incrementa,¹² aunado a las alteraciones funcionales del sistema nervioso central que experimentan las mujeres perimenopáusicas por la deficiencia de estrógenos.¹³ En este sentido, los estrógenos, además de ser hormonas sexuales, funcionan como antioxidantes, contrarrestando el estrés oxidativo; de ahí que en el momento en que la mujer comienza su declive gonadal y, por ende, la menor secreción de esteroides sexuales, esta protección se pierde y el estrés oxidativo aumenta, lo que indica que el estado posmenopáusico es un factor de riesgo para éste.¹⁴

Varios síntomas de la posmenopausia se consideran factores pro-oxidantes, como los somato-vegetativos, los trastornos del estado de ánimo y el insomnio,¹⁴⁻¹⁶ porque repercuten en el ámbito psicológico y social y, por ende, en la calidad de vida; por ello, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la terapia hormonal con estrógenos en el estrés oxidativo vinculado con la calidad de vida en la posmenopausia.

PACIENTES Y MÉTODO

Selección de participantes

Ensayo clínico controlado, doble ciego, efectuado en mujeres de 40 a 59 años de edad de la comunidad alemana a la facultad, que asistieron a pláticas informativas del proyecto y el tema de la menopausia. Acudieron 320, de las que se seleccionaron 135 que cumplieron con los criterios de inclusión: clínicamente sanas (sin enfermedad cardiovascular o cáncer), sin antecedentes depresivos, que se encontraran en la perimenopausia natural, con útero intacto, de nivel socioeconómico medio, nunca haber recibido terapia hormonal, sin ingestión de complementos antioxidantes en los últimos seis meses, y que firmaron el consentimiento informado.

Se incluyeron 135 mujeres perimenopáusicas que se dividieron en tres grupos de 45 mujeres cada uno; en el grupo 1 estaban las mujeres perimenopáusicas que aún tenían sangrado menstrual y a las cuales sólo se les hizo seguimiento; en el grupo 2, o de tratamiento, estaban las mujeres posmenopáusicas que tomaron por vía oral 0.625 mg diarios de estrógenos conjugados sintéticos [Sixdin®] durante 30 días, más 5 mg diarios de medroxiprogesterona

los últimos 10 días del calendario; en el grupo 3, o de placebo, estaban las mujeres posmenopáusicas que tomaron dos tabletas con las mismas características de las de tratamiento, una durante 30 días y otra los últimos 10 días del calendario.

La asignación a los grupos 2 y 3 se hizo mediante el método aleatorio simple con una calculadora científica, previo listado de las participantes de acuerdo con su ingreso al estudio.

El protocolo de investigación y el consentimiento informado fueron aprobados por el comité de ética de la Facultad de Estudios Zaragoza, UNAM.

Fase de seguimiento

El seguimiento se hizo durante medio año, con una medición basal, antes del tratamiento, y a los seis meses. Se mantuvo contacto telefónico con las participantes cada mes, y las que estuvieron en tratamiento asistían a recoger su dotación, también mensualmente. Todas las participantes debían regresar los frascos a cambio de los nuevos. Se realizó un conteo de tabletas sobrantes para verificar el apego a los esquemas. Como criterios de eliminación, se consideraron el no cumplimiento del tratamiento en un mes por lo menos y el abandono por cualquier causa. A las participantes de los grupos 2 y 3 se les practicó una mastografía y una citología vaginal (Papanicolaou) al inicio y al final del estudio. Los eventos adversos se registraron durante cada visita mientras la participante continuaba en el proyecto.

Nueve participantes de los grupos de tratamiento y placebo y seis del grupo control no terminaron el seguimiento. Las del grupo placebo abandonaron por no experimentar alivio de los síntomas, y sólo una refirió malestar provocado por el tratamiento al tercer mes. Del grupo de tratamiento, cinco abandonaron sin razón aparente, una por sangrado endometrial a los tres meses, dos por molestias no especificadas a los cinco meses y una por indicación médica fuera del estudio en el segundo mes. Las del grupo control manifestaron no tener tiempo para acudir a las mediciones. Finalmente, quedaron en el estudio 39 pacientes en el grupo control y 36 en los otros dos grupos (Figura 1).

Medición del estado de salud

El estado de salud fue evaluado por un ginecólogo certificado mediante la aplicación del expediente clínico orientado

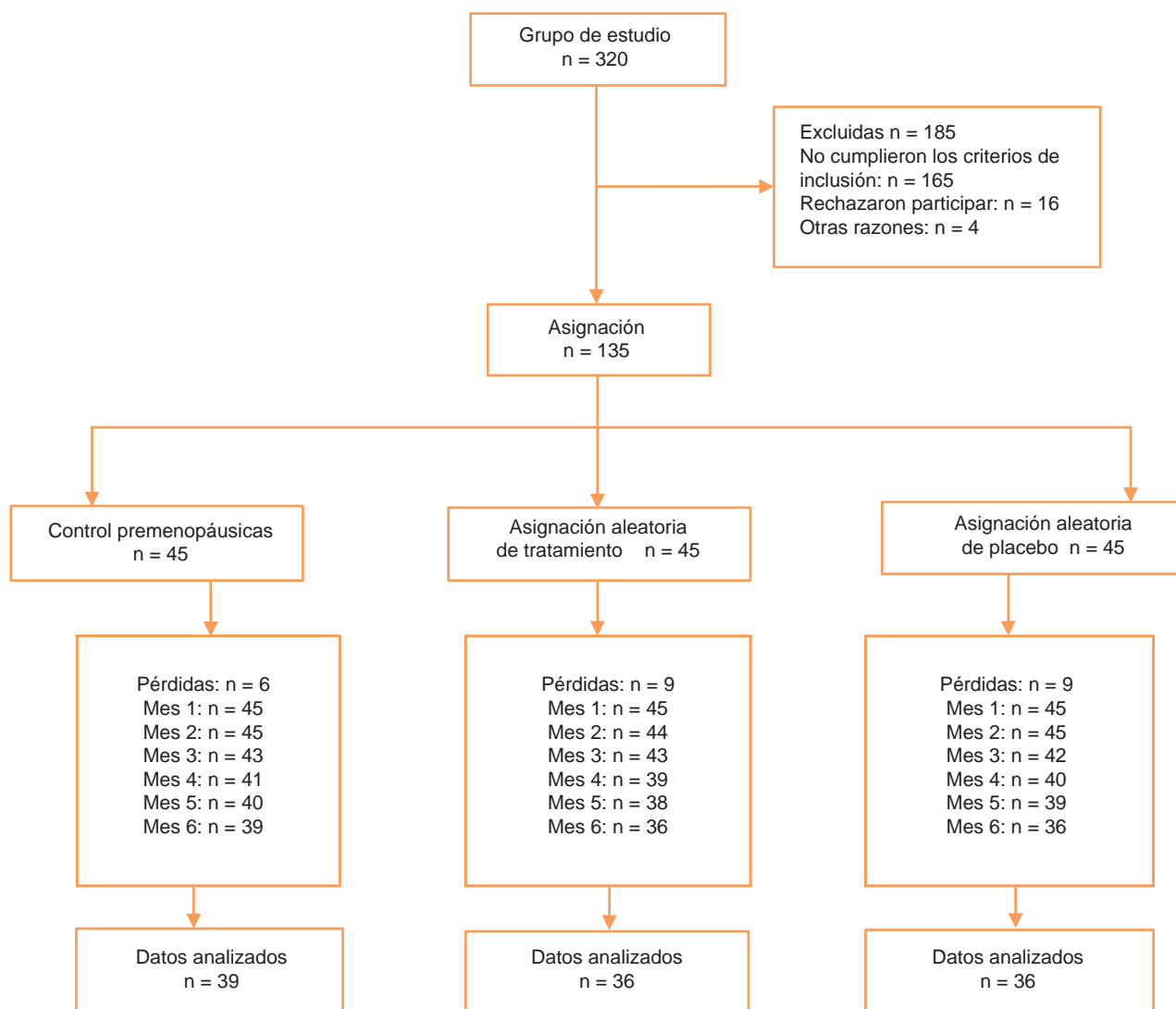


Figura 1. Diagrama de seguimiento de las mujeres en el ensayo clínico.

por problemas, en el que se consideran diagnósticos previos y de detección, la tensión arterial y el índice de masa corporal. El peso se calculó con las participantes en ropa interior, en ayuno y después de evacuar, en una báscula Torino (Tecnológica Mexicana, TLM; México) calibrada antes de cada medición. La talla se obtuvo con un estadímetro de aluminio graduado en milímetros. Cada participante se colocó de pie y con la espalda y la cabeza en contacto con el estadímetro en un plano Frankfurt horizontal. El índice de masa corporal (IMC) se calculó dividiendo el peso (en kilogramos) entre la talla (en metros y milímetros) al cuadrado. Se consideró

sobrepeso un IMC mayor de 25 kg/m².¹⁷ A todas las mujeres se les aplicó un cuestionario semiestructurado para registrar las variables de tabaquismo, ingestión de alcohol, consumo de bebidas con cafeína, ejercicio físico y escolaridad. Se consideraron factores de riesgo pro-oxidante el tabaquismo de más de dos cigarrillos al día, el consumo de más de dos copas de alcohol al día, el consumo de más de dos tazas de bebidas con cafeína al día y practicar menos de 30 minutos al día de actividad física programada. Las mediciones antropométricas y de tensión arterial se tomaron en las dos citas de seguimiento.

Mediciones sanguíneas

Se tomaron muestras sanguíneas en tubos al vacío con EDTA y heparina como anticoagulantes y sin anticoagulante (Becton-Dickinson, México), entre 7:00 y 9:00 am, con un ayuno mínimo de ocho horas. Se hizo la biometría hemática en las muestras con EDTA en un equipo automatizado Celly 70 (Chronolab, México).

De las muestras sin anticoagulantes se separó el suero y se realizaron las mediciones de glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, colesterol, triglicéridos, c-HDL y albúmina con un autoanalizador Hitachi 911 (Roche-Hitachi, Basilea, Suiza), así como de estradiol y FSH para establecer el estado de posmenopausia. Se calculó la concentración de c-LDL utilizando la fórmula:

$$\text{c-LDL} = [\text{colesterol mg/dL}] - [\text{C-HDL mg/dL} + \text{triglicéridos mg/dL}] / 5$$

Estas mediciones se realizaron para establecer el diagnóstico de las participantes y se interpretaron con los valores de referencia obtenidos en la Unidad de Investigación en Gerontología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.¹⁸

Con las muestras con heparina se midieron los marcadores de estrés oxidativo: actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx) eritrocitarias, en tanto que la capacidad plasmática antioxidante total y los lipoperoxidos plasmáticos se calcularon a través de la medición de sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico (TBARS). Los métodos fueron validados en el laboratorio y la precisión intra-corrida para los marcadores fue: 3.8, 4.6, 4.3 y 6%, respectivamente. La formación artificial de sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico en las muestras se evitó adicionando 10 µL de butiril-hidroxitolueno, 2 mM en etanol a 95% inmediatamente después de la separación del plasma. También se calculó la razón SOD/GPx como marcador oxidante. Todas estas mediciones se efectuaron durante el seguimiento.

Mediciones bioquímicas

Las concentraciones de glucosa se midieron con el método de glucosa oxidasa-Trinder, la urea con el método de ureasa de Berthelot, la creatinina con el método de Jaffé sin desproteinización y el ácido úrico con el método de uricase colorimétrico. La albúmina se calculó con la técnica de verde de bromocresol, el colesterol con el método

de colesterol oxidasa-Trinder (CHOD-PAP) y los triglicéridos con la técnica de glicerol-fosfato oxidasa-Trinder, mientras que el c-HDL se midió con el método de CHOD-PAP después de la precipitación de LDL y VLDL con una solución de ácido fosfotúngstico-cloruro de magnesio. Todos los reactivos utilizados fueron de Randox Laboratories, Ltd. (Crumlin, Co, Antrim, UK). Se incluyeron sueros de control con valores normal y alto como control de calidad (Randox Laboratories, Ltd.). Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron menores a 5% en todas las determinaciones.

La concentración de estradiol se midió con radioinmunoensayo (Siemens) y la de FSH con quimioluminiscencia (Siemens). La precisión intra-corrida para estos métodos fue de 3.1 y 7.4%, respectivamente, y la sensibilidad analítica para la medición de estradiol fue de 8 pg/mL. Se considera posmenopausia debida a hipoestrogenismo por pérdida de la función ovárica folicular cuando las cifras de estradiol son menores de 25 pg/mL y las de FSH son mayores de 50 U/mL.

Medición de marcadores de estrés oxidativo

Lipoperóxidos plasmáticos

Se utilizó el método de Jentzsch y col.¹⁹ que mide las sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico (TBARS), en el cual una molécula de malondialdehído (MDA) reacciona con dos moléculas de ácido tiobarbitúrico con la producción de un compuesto color rosa que absorbe a 535 nm. La amplificación de la peroxidación durante el ensayo fue prevenida con la adición del antioxidante butiril-hidroxitolueno (BHT). En el ensayo, 400 µL de plasma o del estándar de malondialdehído (0.2-4.0 µmol/L) preparado por la hidrólisis de 1,1,3,3-tetrametoxipropano (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) se mezclaron con 400 µL de ácido ortofosfórico 0.2 M (Sigma Chemical Co.) y 50 µL de butiril-hidroxitolueno 2 mM (Sigma Chemical Co.) en tubos de 12 x 75 mm. Posteriormente se agregaron 50 µL de reactivo de ácido tiobarbitúrico (0.11 mol/L en 0.1 mol/L NaOH; Fluka, Buchs, Suiza) y se mezcló; después, la reacción se incubó a 90°C durante 45 minutos en baño María. Al cabo del tiempo, los tubos se colocaron en un baño de hielo para detener la reacción. Las sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico se extrajeron con 1,000 µL de n-butanol (Sigma Chemical Co.). La fase superior fue leída a 535 y 572 nm para corregir la absorción basal, en un espectrofotómetro Shimadzu UV-1601 UV-Vis (Kyoto, Japón). Los equivalentes de malondialdehído (sustancias

reactivas de ácido tiobarbitúrico) se calcularon utilizando la diferencia de absorción entre las dos longitudes de onda y la cuantificación se realizó con la curva de calibración.

Sistema antioxidante

Se llevó a cabo la medición de la actividad eritrocitaria de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx), además de la capacidad plasmática antioxidante total, por métodos cinéticos colorimétricos comerciales (Randox Laboratories Ltd.). La cinética de las reacciones se midió con un espectrofotómetro Shimadzu UV-1601 UV-Vis.

Medición de la calidad de vida

Para la evaluación de la calidad de vida se aplicó el cuestionario desarrollado por la Organización Mundial de la Salud en su versión breve (WHOQoL-Brief, del inglés, World Health Organization Quality of Life, Brief), el cual ha sido validado para población mexicana.²⁰ Este instrumento está conformado por 26 ítems, 24 de ellos corresponden a facetas incorporadas en cuatro dominios: salud física, salud psicológica, relaciones sociales y medio ambiente, y dos preguntas globales referentes a la calidad de vida y el estado de salud general. Todas las preguntas se calificaron con un puntaje de 1 a 5 y se catalogó la calidad de vida como mala, promedio y buena, considerando el puntaje crudo por área y global. El cuestionario se aplicó al inicio y a los seis meses.

Análisis estadístico

Se calcularon la media y desviación estándar para las variables de estado de salud, puntuación del cuestionario de calidad de vida y marcadores de estrés oxidativo al inicio del estudio y después de seis meses, así como las frecuencias y proporciones de los factores prooxidantes.

Los resultados cuantitativos se compararon mediante el análisis de la variancia de un factor con prueba de Dunnett como *posthoc*, considerando el grupo de premenopáusicas como control. Para la comparación de los valores de los biomarcadores al inicio vs después de seis meses del tratamiento, se utilizó la prueba *t* pareada. Asimismo, se estratificaron las participantes de acuerdo con el valor de corte en el cuestionario de calidad de vida menor de 95, en dos subgrupos por tratamiento: 1) calidad de vida alta y 2) calidad de vida promedio-mala.

Para determinar la diferencia entre los tres grupos de seguimiento, se consideró como valor de corte para lipoperóxidos altos un valor mayor de 0.320 $\mu\text{mol/L}$, definido con base en el percentil 90 de los valores de sujetos jóvenes sanos. De ahí que se separaron cuatro subgrupos por tratamiento: 1) mujeres con lipoperóxidos normales y calidad de vida alta, 2) mujeres con lipoperóxidos normales y calidad de vida promedio-mala, 3) mujeres con lipoperóxidos altos y calidad de vida alta y 4) mujeres con lipoperóxidos altos y calidad de vida promedio-mala, de acuerdo con un valor de corte en el cuestionario de calidad de vida menor de 95; lo ideal era estar en el grupo 1 y lo peor, en el grupo 4. Las proporciones se compararon con la prueba de McNemar. Un valor de *p* menor de 0.05 se consideró estadísticamente significativo. El análisis se hizo con el paquete estadístico SPSS V. 17.0 (SPSS Inc. Chicago, IL).

RESULTADOS

Características de los grupos de estudio

Los resultados de edad, hormonas sexuales, parámetros bioquímico-hematológicos, índice de masa corporal (IMC), tensión arterial y factores pro-oxidantes se muestran en el Cuadro 1. Se aprecia una diferencia estadísticamente significativa en los valores de leucocitos y c-LDL a favor de las mujeres premenopáusicas ($p < 0.01$) en comparación con los otros dos grupos. Los dos grupos de posmenopáusicas fueron similares en todos los parámetros ($p > 0.05$).

Estrés oxidativo en mujeres pre y posmenopáusicas

Los resultados muestran que las cifras de lipoperóxidos fueron significativamente más altas en los dos grupos de posmenopáusicas que en las premenopáusicas ($p < 0.01$). También se observa que la capacidad antioxidante total del grupo control fue estadísticamente menor que en los otros dos grupos ($p < 0.05$). Los demás marcadores no mostraron diferencia (Cuadro 2).

Los lipoperóxidos se encontraron más altos en las mujeres posmenopáusicas con calidad de vida promedio mala antes del seguimiento ($0.357 \pm 0.06 \mu\text{mol/L}$) en ambos grupos, lo que mostró una diferencia estadísticamente significativa al compararlas con las premenopáusicas con calidad de vida alta (0.315 ± 0.04 , $p < 0.05$) [Figura 2].

Cuadro 1. Descripción de los grupos de estudio. Media \pm desviación estándar para variables cuantitativas y frecuencias (%) para cualitativas

Variable	Premenopáusicas (n = 39)	Posmenopáusicas	
		Tratamiento (n = 36)	Placebo (n = 36)
Edad (años)	45.4 \pm 2.7*	52.0 \pm 3.4	53.1 \pm 3.7
Estradiol (pg/mL)	102.0 \pm 67*	15.4 \pm 5.0	13.4 \pm 6.0
FSH (mU/mL)	11.0 \pm 7.0*	58.0 \pm 34.0	55.0 \pm 30.0
Hemoglobina (g/dL)	13.9 \pm 1.4	14.0 \pm 1.9	14.3 \pm 1.1
Hematócrito (%)	42.8 \pm 3.8	43.1 \pm 4.9	44.4 \pm 3.0
Eritrocitos (X 10 ⁶ cel/mm ³)	4.6 \pm 0.5	4.6 \pm 0.6	4.7 \pm 0.5
Leucocitos (cel/mm ³)	6,433 \pm 1,628	5,425 \pm 1,341	5,452 \pm 115
CMHG (%)	32.4 \pm 1.3	32.3 \pm 1.7	33.0 \pm 1.4
Glucosa (mg/dL)	93 \pm 20	112 \pm 55	108 \pm 49
Urea (mg/dL)	26 \pm 5	28 \pm 7	29 \pm 7
Creatinina (mg/dL)	0.79 \pm 0.1	0.80 \pm 0.2	0.82 \pm 0.1
Ácido úrico (mg/dL)	4.5 \pm 0.6	4.5 \pm 0.5	4.7 \pm 0.4
Colesterol (mg/dL)	201 \pm 25	214 \pm 42	210 \pm 41
Triglicéridos (mg/dL)	173 \pm 82	175 \pm 83	168 \pm 76
Colesterol-LDL (mg/dL)	106 \pm 23	127 \pm 29	125 \pm 33
Colesterol-HDL (mg/dL)	61 \pm 14	63 \pm 17	59 \pm 13
Índice de masa corporal (kg/m ²)	28.00 \pm 4.13	28.71 \pm 3.88	28.20 \pm 3.61
Tensión arterial sistólica (mmHg)	118 \pm 10	122 \pm 15	123 \pm 14
Tensión arterial diastólica (mmHg)	81 \pm 7	83 \pm 9	84 \pm 8
Tabaquismo (\geq 2 cigarros/d)	1 (3%)	2 (7%)	3 (9%)
Ingestión de alcohol (\geq 2 copas/d)	0	1 (3%)	1 (3%)
Ingestión de cafeína (\geq 2 tazas/d)	9 (24%)	8 (24%)	4 (12%)
Sedentarismo (\leq 30 min/d)	26 (67%)	25 (69%)	21 (59%)

Análisis de la variancia de un factor con prueba de Dunnett como *posthoc*, * $p < 0.0001$.

Cuadro 2. Marcadores de estrés oxidativo en los grupos de estudio antes del seguimiento

Variable	Premenopáusicas (n = 39)	Posmenopáusicas	
		Tratamiento (n = 36)	Placebo (n = 36)
Lipoperóxidos (μ mol/L)	0.328 \pm 0.04*	0.353 \pm 0.05	0.358 \pm 0.05
Superóxido dismutasa (U/g Hb)	1.22 \pm 0.15	1.24 \pm 0.23	1.20 \pm 0.1
Glutación peroxidasa (U/g Hb)	53.6 \pm 16.5	52.7 \pm 16.0	50.3 \pm 14.2
Capacidad sérica antioxidante total (μ mol/L)	964 \pm 164+	1,038 \pm 167	1,055 \pm 175
Razón SOD/GPx	0.023 \pm 0.008	0.024 \pm 0.010	0.024 \pm 0.012

Análisis de la variancia de un factor con prueba de Dunnett como *posthoc*, * $p < 0.01$, + $p < 0.05$.

Efecto de la terapia hormonal en la calidad de vida y el estrés oxidativo

La puntuación total del cuestionario de calidad de vida y sus dimensiones, salud física y aspectos psicológicos, aumentó a los seis meses en el grupo que recibía tratamiento hormonal. El grupo control mostró también mejoría en su percepción de la calidad de vida total después de seis

meses; en el grupo placebo no hubo ninguna diferencia (Cuadro 3).

Si se consideran los lipoperóxidos, el marcador indicador de estrés oxidativo, se observa que sus cifras disminuyen estadísticamente en el grupo de mujeres en tratamiento que tuvieron una percepción de calidad de vida promedio-mala al inicio del estu-

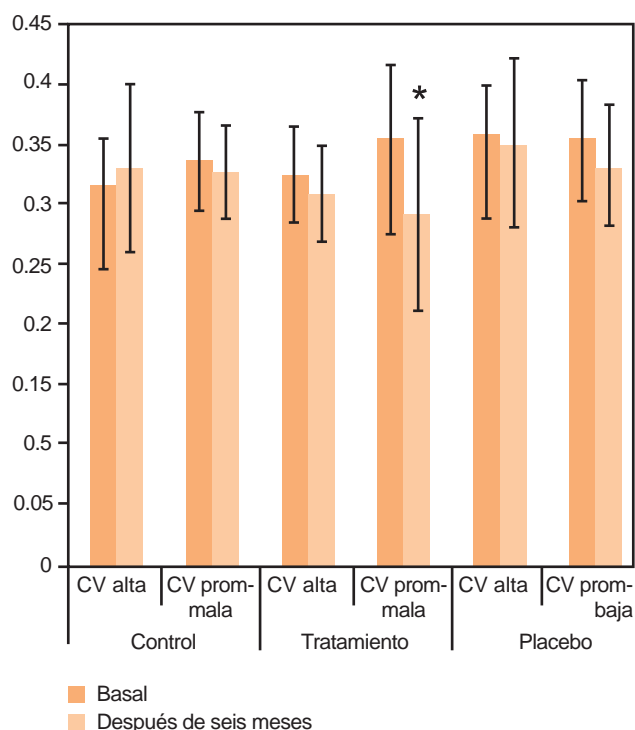


Figura 2. Media \pm desviación estándar de los valores de lipoperoxidos de los grupos estratificados por el nivel de calidad de vida (CV) al inicio del estudio y después de seis meses de seguimiento.
* Prueba *t* pareada, $p < 0.01$.

dio ($p < 0.01$); no se hallaron cambios en los demás grupos (Figura 2).

Al estratificar los grupos de acuerdo con los valores de corte de lipoperoxidos y calidad de vida, se observó una

disminución en la proporción de mujeres en tratamiento que inicialmente tenían lipoperoxidos altos y calidad de vida promedio-mala ($p < 0.05$) [Figura 3].

DISCUSIÓN

El aumento de la expectativa de vida de la población general, debido a la mejoría de las condiciones sociales y al avance de la tecnología médica, ha hecho surgir en los últimos años un interés especial por estudiar la calidad de vida en general y de los colectivos específicos. Uno de estos colectivos ha sido la mujer, y en especial la posmenopáusica, puesto que un largo periodo de su vida se desarrolla en esta etapa.²¹ En este sentido, se estima que para el año 2030 aproximadamente 47 millones de mujeres alcanzarán la menopausia cada año, 75 a 80% de ellas experimentarán síntomas que afectarán su vida.²² Por ello, en los últimos años se han vuelto frecuentes los estudios que incorporan la medición de la calidad de vida como un aspecto para valorar la acción de intervenciones que la mejoren, entre las cuales se encuentra la terapia hormonal.

El propósito fundamental de la medición de la calidad de vida es proporcionar una evaluación más comprensiva, integral y válida del estado de salud de un individuo o grupo, que redundará en un conocimiento más preciso de los posibles beneficios y riesgos que pueden derivarse de la atención médica.²³

En este estudio se pretendió observar el efecto de la terapia hormonal en el estrés oxidativo y la calidad de vida en las mujeres posmenopáusicas; para ello, inicialmente se determinó el estado de salud de todas las

Cuadro 3. Puntuación en el cuestionario breve de calidad de vida de la OMS (WHOQoL-Brief) en los grupos de estudio antes y después de seis meses de seguimiento

Escala	Premenopáusicas (n = 39)		Tratamiento (n = 36)		Placebo (n = 36)	
	Posmenopáusicas					
	Basal	Después de seis meses	Basal	Después de seis meses	Basal	Después de seis meses
Global	93 \pm 13	98 \pm 14*	86 \pm 18	91 \pm 18*	87 \pm 14	88 \pm 13
Salud física	26 \pm 4	27 \pm 5	23 \pm 5	26 \pm 6+	24 \pm 6	24 \pm 6
Aspectos psicológicos	22 \pm 4	23 \pm 3	20 \pm 5	22 \pm 4*	22 \pm 4	22 \pm 4
Relaciones sociales	11 \pm 2	12 \pm 2	11 \pm 2	11 \pm 3	10 \pm 2	10 \pm 2
Medio ambiente	27 \pm 5	29 \pm 5*	25 \pm 6	27 \pm 6	25 \pm 5	26 \pm 5

Prueba *t* pareada, * $p < 0.05$, + $p < 0.01$.

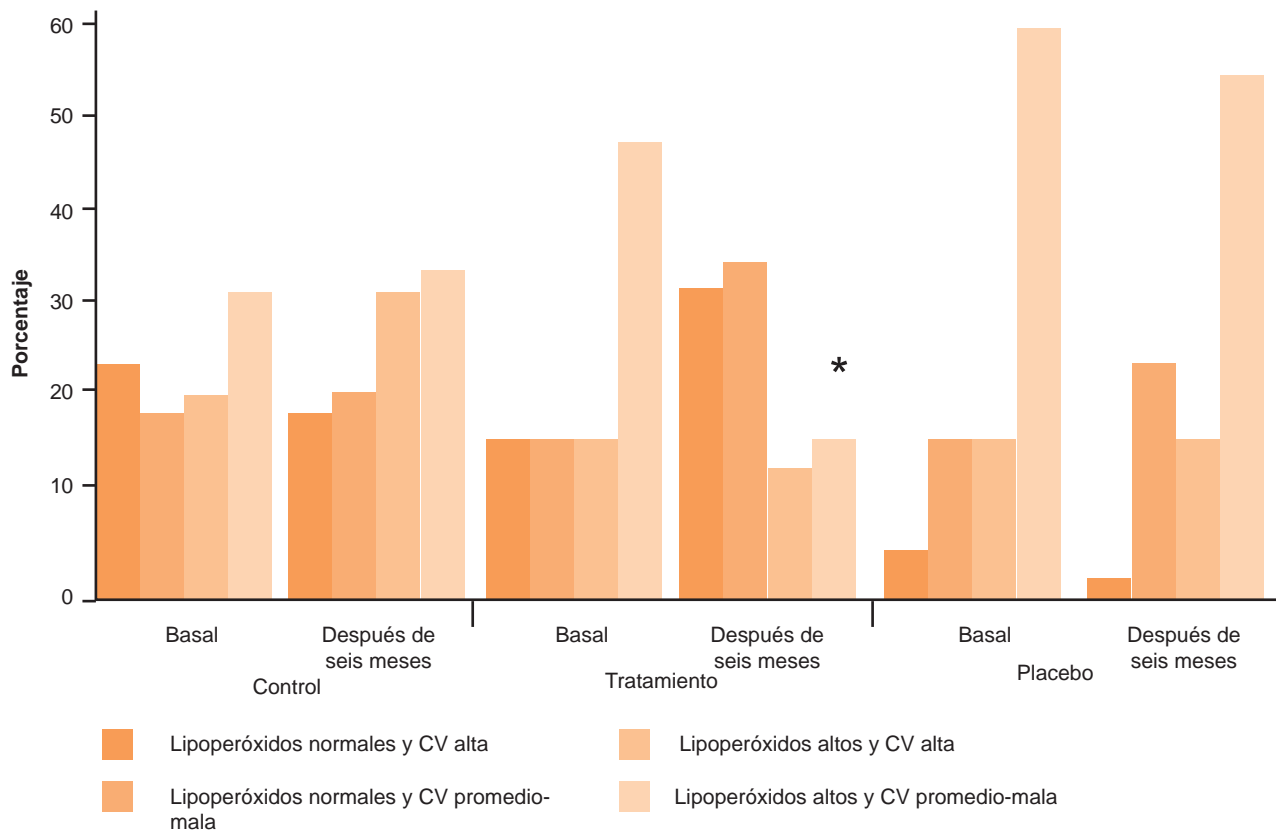


Figura 3. Proporción de mujeres en los tres grupos de estudio estratificadas por concentraciones de lipoperóxidos y nivel de calidad de vida antes y después de seis meses de seguimiento. * Prueba de McNemar, $p < 0.05$.

mujeres, y pudo apreciarse que no existe ninguna diferencia estadísticamente significativa en relación con los parámetros analizados, excepto en las concentraciones de C-LDL. Esto concuerda con lo reportado por Urdaneta y col.,²⁴ quienes encontraron en grupos de mujeres pre y posmenopáusicas valores dentro de los límites normales de las pruebas o parámetros bioquímico-hematológicos, aunque en este estudio se apreció que las concentraciones de colesterol LDL estaban ligeramente incrementadas en las mujeres posmenopáusicas, lo que también se ha descrito con anterioridad, ya que el proceso de envejecimiento incrementa los marcadores lipídicos del perfil aterogénico.²⁵

Respecto al estrés oxidativo, se ha propuesto que la disminución de estrógenos durante la menopausia provoca cambios en el comportamiento oxidativo-antioxidativo de la mujer. En este estudio se observó un incremento en las concentraciones de lipoperóxidos séricos como

marcador de estrés oxidativo en las mujeres posmenopáusicas, lo que concuerda con otras investigaciones²⁶⁻²⁸ y con los resultados que previamente reportamos.¹⁴ En este sentido se menciona que los radicales libres productores de estrés oxidativo son un “un arma de dos filos”, sirven como moléculas clave de señalización en los procesos fisiológicos, pero también participan en los procesos patológicos del aparato reproductor femenino, así como en la enfermedad cardiovascular y otras enfermedades crónico-degenerativas.^{13,29,30,39-42}

La capacidad sérica antioxidante total está disminuida en las mujeres premenopáusicas; observación controvertida, ya que en la mayor parte de los estudios ésta es más alta en este grupo de mujeres o no se observan cambios.^{14,31} Este resultado puede deberse a que las mujeres premenopáusicas incluidas en el estudio probablemente tienen una dieta deficiente en antioxidantes nutricionales,¹³ lo que puede afectar la capacidad sérica total.

En relación con la medición de la calidad de vida, el cuestionario de la OMS (WHOQoL) valora cuatro dimensiones sobre las que repercute el proceso menopáusico: salud física, aspectos psicológicos, relaciones sociales y medio ambiente.²⁰ En los resultados de este estudio se encontró que la puntuación global y la de la dimensión salud física son mayores en las mujeres premenopáusicas que en las posmenopáusicas; sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa, probablemente debido a la variación existente en las puntuaciones. Esto es posible porque se reconoce que durante el climaterio los cambios se van dando gradualmente en función de la disminución de los estrógenos y tienen bajo efecto en la calidad de vida, pues los síntomas más agudos se manifiestan en el periodo posmenopáusico.³² Al respecto, en un estudio llevado a cabo en la Ciudad de México se encontró que los síntomas más prevalentes durante el climaterio fueron los vasomotores, seguidos de la depresión; como instrumento de medición se utilizó la escala de Greene.³³ En un estudio multicéntrico efectuado en América Latina, la prevalencia de mujeres con síntomas moderados a severos durante la posmenopausia fue mayor de 50% en todos los países,³⁴ lo que concuerda con lo que se observó, ya que estas manifestaciones modifican la percepción de la calidad de vida en la dimensión de salud física.

La terapia con estrógenos, con o sin progesterona, es un tratamiento efectivo contra los síntomas posmenopáusicos,³⁵ pero sus beneficios sobre el estrés oxidativo y la calidad de vida son motivo de controversia; esto último debido principalmente a la diferencia en los instrumentos utilizados para medirla. En este trabajo pudo observarse mejoría en la calidad de vida de las mujeres que recibieron terapia hormonal, en lo general, y en particular, en las escalas de salud física y aspectos psicológicos, comparando los datos basales *vs* los datos obtenidos después de seis meses, sin observar diferencia en los otros dos grupos. Resultados semejantes se reportaron en un estudio multicéntrico llevado a cabo en el Reino Unido, Australia y Nueva Zelanda —en el que se encontró mejoría de la función sexual y disminución de los síntomas vasomotores y los problemas de sueño después de un año de seguimiento—³⁶ y en otras investigaciones,^{37,38} pero la conclusión general ha sido que la terapia hormonal no influye en todos los aspectos de la calidad de vida de una mujer en el climaterio y la menopausia,^{37,38} como se apreció en este trabajo.

Al estratificar a las mujeres en cuanto a su nivel de oxidación medido a través de los lipoperoxidos y su calidad de vida, se observa que las mujeres posmenopáusicas con calidad de vida de promedio a mala tienen los lipoperoxidos más altos, y que éstos disminuyen después de seis meses de tratamiento, lo mismo que la proporción de mujeres con lipoperoxidos altos y calidad de vida de promedio a mala; a diferencia de las mujeres premenopáusicas y las que recibieron placebo, que no mostraron ningún cambio. Con estos resultados puede afirmarse que la terapia hormonal mejora la calidad de vida y disminuye el estrés oxidativo en la posmenopausia. En este sentido, aparentemente hay un efecto aditivo entre la deficiencia de estrógenos en la posmenopausia y los síntomas agudos que afectan la calidad de vida, provocando un círculo vicioso en el que el agotamiento de estrógenos causa los síntomas mencionados y el estrés oxidativo incrementa la severidad de los síntomas, lo que fue corroborado con el grupo placebo. En tales circunstancias, la terapia hormonal contrarresta el estrés oxidativo muy probablemente debido al efecto antioxidante de los estrógenos; además, al disminuir los síntomas agudos se tiene una sensación de bienestar que modifica la percepción de la calidad de vida, lo que contribuye a la reducción del estrés oxidativo. Al respecto, se ha señalado que existe una correlación positiva entre el estrés psicológico y las concentraciones de cortisol y beta-endorfinas, de ahí que la sensación de bienestar producida por la terapia hormonal con estrógenos pueda reaccionar con el sistema neurobioquímico disminuyendo las cifras de lipoperoxidos, de una manera semejante al efecto placebo o al obtenido con terapias no farmacológicas.^{40,43}

La acción antioxidante de los estrógenos está mediada por diferentes vías: la reducción en la producción de especies reactivas de oxígeno, la neutralización del exceso de estas moléculas y el incremento de las defensas celulares antioxidantes. Esta capacidad de los estrógenos para disminuir el estrés oxidativo se ha demostrado en cultivos celulares y en modelos animales;⁴³ de aquí que un aporte de este trabajo es la demostración de este efecto en las mujeres posmenopáusicas y su calidad de vida.

Este estudio tiene la limitante del reducido tamaño de la muestra; sin embargo, el seguimiento a seis meses es una ventaja, ya que los estudios que no han reportado efecto antioxidante han sido más breves.²⁷ Incrementar el tiempo de seguimiento y el tamaño de la muestra son alternativas para confirmar los resultados aquí mostrados.

Con lo anterior puede concluirse que la terapia hormonal con estrógenos mejora la calidad de vida y disminuye el estrés oxidativo en la posmenopausia.

Agradecimientos

A Laboratorios Senosiain, SA de CV por haber proporcionado los tratamientos y la elaboración del placebo.

REFERENCIAS

- Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, et al; Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288:321-333.
- Beral V, Banks E, Reeves G. Evidence from randomised trials on the long-term effects of hormone replacement therapy. *Lancet* 2002;360:942-944.
- Grady D, Yaffe K, Kristof M, Lin F, et al. Effect of postmenopausal hormone therapy on cognitive function: the Heart and Estrogen/progestin Replacement Study. *Am J Med* 2002;113:543-548.
- Beral V. Million Women Study Collaborators. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003;362:419-427.
- North American Menopause Society. The 2012 hormone therapy position statement of: The North American Menopause Society. *Menopause* 2012;19:257-271.
- Farquhar C, Marjoribanks J, Lethaby A, Suckling JA, Lamberts Q. Long term hormone therapy for perimenopausal and postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;(03):CD004143.
- Blumel JE, Casteio-Branco C, Binfa L, Gramegna G, et al. Quality of life after the menopause: a population study. *Maturitas* 2000;34:17-23.
- Guyatt GH, Veldhuyzen Van Zanten SJ, Feeny DH, Patrick DL. Measuring quality of life in clinical trials: a taxonomy and review. *CMAJ* 1989;140:1441-1448.
- Greendale GA, Lee NP. The menopause. *Lancet* 1999;353:571-580.
- McKinley NM. The developmental and cultural contexts of objectified body consciousness: a longitudinal analysis of two cohorts of women. *Dev Psychol* 2006;42:679-687.
- Harman D. Free radical theory of aging. *Mutat Res* 1992;275:257-266.
- Mendoza-Núñez VM, Ruiz-Ramos M, Sánchez-Rodríguez MA, Retana-Ugalde R, Muñoz-Sánchez JL. Aging-related oxidative stress in healthy humans. *Tohoku J Exp Med* 2007;213:261-268.
- Pansini F, Mollica G, Bergamini CM. Management of the menopausal disturbances and oxidative stress. *Curr Pharm Des* 2005;11:2063-2073.
- Sánchez-Rodríguez MA, Zacarías-Flores M, Arronte-Rosales A, Correa-Muñoz E, Mendoza-Núñez VM. Menopause as risk factor for oxidative stress. *Menopause* 2012;19:361-367.
- Irie M, Miyata M, Kasai H. Depression and possible cancer risk due to oxidative DNA damage. *J Psych Res* 2005;39:553-560.
- D'Almeida V, Hipólido DC, Lobo LL, de Oliveira AC, et al. Melatonin treatment does not prevent decreases in brain glutathione levels induced by sleep deprivation. *Eur J Pharmacol* 2000;390:299-302.
- Diario Oficial de la Federación. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes. 18 de enero del 2001. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/m015ssa24.html>. Consultado Junio 20, 2010.
- Sánchez-Rodríguez M, Mendoza-Núñez VM, García-Sánchez A, González-González B, et al. Valores de referencia para poblaciones senecta y adulta de la Ciudad de México. Parámetros bioquímicos y hematológicos. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 1998;32:397-405.
- Jentzsch AM, Bachmann H, Fürst P, Biesalski HK. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radic Biol Med* 1996;20:251-256.
- González-Celis RAL, Sánchez-Sosa JJ. Efectos de un programa cognitivo-conductual para mejorar la calidad de vida en adultos mayores. *Rev Mex Psicol* 2003;20:43-58.
- Secretaría de Salud. Expectativa de vida en México, Dirección de Epidemiología DF. México: Secretaría de Salud, 2006.
- Hill K. The demography of menopause. *Maturitas* 1996;23:113-127.
- Velarde-Jurado E, Ávila-Figueroa C. Evaluación de la calidad de vida. *Salud Publica Méx* 2002;44:349-361.
- Urdaneta MJ, Cepeda de VM, Guerra VM, Baabel.ZN, Contreras BA. Calidad de vida en mujeres menopáusicas con y sin terapia de remplazo hormonal. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2010;75:1.
- Abbey M, Owen A, Suzakawa M, Roach P, Nestel PJ. Effects of menopause and hormone replacement therapy on plasma lipids, lipoproteins and LDL-receptor activity. *Maturitas* 1999;33:259-269.
- Bednarek-Tupikowska G, Bohdanowicz-Pawlak A, Bidzicka B, Milewicz A, et al. Serum lipid peroxide levels and erythrocyte glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity in premenopausal and postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol* 2001;15:298-303.
- Signorelli SS, Neri S, Sciacchitano S, Pino LD, et al. Behaviour some indicators of oxidative stress in postmenopausal and fertile women. *Maturitas* 2006;53:77-82.
- Moreau KL, DePaulis AR, Gavin KM, Seals DR. Oxidative stress contributes to chronic leg vasoconstriction in estrogen-deficient postmenopausal women. *J Appl Physiol* 2007;102:890-895.
- Agarwal A, Gupta S, Sekhon L, Shah R. Redox considerations in female reproductive function and assisted reproduction: from molecular mechanisms to health implications. *Antioxid Redox Signal* 2008;10:1375-1403.
- Xing D, Nozell S, Chen YF, Hage F, Oparil S. Estrogen and mechanisms of vascular protection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:289-295.
- Leal M, Díaz J, Serrano E, Avellán J, Carbonell LF. Hormone replacement therapy for oxidative stress in postmenopausal women with hot flushes. *Obstet Gynecol* 2000;95:804-809.
- Avis NE, Colvin A, Bromberger JT, Hess R, et al. Change in health-related quality of life over the menopausal transition in a multiethnic cohort of middle-aged women: Study of Women's Health Across the Nation (SWAN). *Menopause* 2009;16:860-869.

33. Hernández-Valencia M, Córdova-Pérez N, Basurto L, Saucedo R y col. Frecuencia de los síntomas del síndrome climatérico. *Ginecol Obstet Méx* 2010;78:232-237.
34. Chedraui P, Blümel JE, Baron G, Belzares E, et al. Impaired quality of life among middle aged women: a multicentre Latin American study. *Maturitas* 2008;61:323-329.
35. Tao M, Teng Y, Shao H, Wu P, Mills EJ. Knowledge, perceptions and information about hormone therapy (HT) among menopausal women: a systematic review and meta-synthesis. *PLoS ONE* 2011;6(9):e24661. doi:10.1371/journal.pone.0024661.
36. Welton AJ, Vickers MR, Kim J, Ford D, et al. Health related quality of life after combined hormone replacement therapy: randomised controlled trial. *BMJ* 2008;337:a1190. doi:10.1136/bmj.a1190.
37. Téxon-Fernández O, Márquez-Celedonio FG. Calidad de vida en mujeres climatéricas con y sin terapia hormonal de reemplazo. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2006;44:541-545.
38. Veerus P, Fischer K, Hovi SL, Karro H, et al. Symptom reporting and quality of life in the Estonian Postmenopausal Hormone Therapy Trial. *BMC Women's Health* 2008;8:5. doi: 10.1186/1472-6874-8-5.
39. Subbiah MTR. Mechanisms of cardioprotection by estrogens. *Proc Soc Exper Biol Med* 1998;217:23-29.
40. Scarpellini F, Sbracia M, Scarpellini L. Psychological stress and lipoperoxidation in iscarriage. *Ann NY Acad Sci* 1994;709:210-213.
41. Schneider RH, Nidich SI, Salerno JW, Sharma HM, et al. Lower lipid peroxide levels in practitioners of transcendental meditation program. *Psychosom Med* 1998;60:38-41.
42. Johansen O, Brox J, Flaten MA. Placebo and nocebo responses, cortisol, and circulating betaendorphin. *Psychosom Med* 2003;65:786-790.
43. Sharma H, Sen S, Singh A, Bhardwaj NK, et al. Sudarshan Kriya practitioners exhibit better antioxidant status and lower blood lactate levels. *Biol Psychol* 2003;63:281-291.
44. 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;1800:1127-1135.