

# Trabajos de Revisión

## EL ESTRÉS OXIDATIVO EN LA POSMENOPAUSIA

César Barrio

Entre los factores actualmente más estudiados, que contribuyen al envejecimiento, está el papel crítico que juega el daño oxidativo, principalmente generado por la disfunción mitocondrial propia de la senescencia. La agresión permanente, por los radicales libres producidos endógenamente, es la expresión principal de las alteraciones mitocondriales.

La actividad metabólica tiene su precio: los subproductos oxidantes, derivados del metabolismo energético normal, dañan al ADN, a las proteínas, a los lípidos y a otras moléculas de las células, y ese daño aumenta con la edad, lo que les toca a todos, hombres y mujeres.

En el envejecimiento se produce un desbalance entre los niveles de la capacidad antioxidante endógena y la producción de los radicales libres, provocando un estrés oxidativo destructivo. Los radicales libres forman parte de procesos fisiológicos, pero su exceso, o la deficiencia antioxidante, genera procesos patológicos. En el proceso de la senescencia, la generación mitocondrial de radicales libres aumenta, mientras que con los niveles de los antioxidantes endógenos no hay una relación uniforme.

A lo que se suma el que los radicales libres se forman también por contaminantes ambientales. Los problemas surgen cuando hay exceso de radicales libres o no se tiene la capacidad antioxidante necesaria, lo que puede producirse por:

### Niveles bajos de antioxidantes

- deficiencia alimentaria
- hábito de fumar
- exposición a contaminantes ambientales
- menor producción (menopausia)

### Exceso en la producción de radicales

- metabolismo elevado
- ejercicio intenso
- procesos inflamatorios
- envejecimiento

En este caso, vamos a revisar aspectos relacionados con la mujer en edad posmenopáusica.

### PROCESO DE ENVEJECIMIENTO

El papel protector de los antioxidantes en el envejecimiento se está investigando en estudios que comprenden grupos muy grandes de mujeres posmenopáusicas, particularmente en Francia<sup>1,4</sup>. Uno de ellos concluirá el año 2002, habiendo comenzado en 1994, y se orienta al efecto de la suplementación con vitaminas y minerales antioxidantes<sup>2</sup>, suministrándolos una a tres veces diarias. Tabla 1.

Tabla 1. Suplementación con vitaminas y minerales antioxidantes

• Vitamina C	120 mg
• Vitamina E	30 mg
• Beta-caroteno	6 mg
• Selenio	100 mg
• Zinc	20 mg



El propósito es reducir las causas de muerte prematura (cáncer y enfermedades cardiovasculares) y los problemas de salud propios de los países industrializados, en las mujeres.

El otro estudio<sup>1,3,4</sup> ya está presentando resultados. La población está constituida por mayores de 60 años y encuentran que los niveles de Se, vitamina E y carotenoides son similares en las mujeres posmenopáusicas a los de las jóvenes, pero presentan niveles de peróxidos lipídicos más altos que las jóvenes, y también, un aumento en las patologías que comprometen lípidos: hiperlipemia 36,1 % más, hipertensión 30,4 % más.

Estas diferencias son proporciones mayores que las de los varones de la misma edad. El riesgo oxidativo aumenta si, además, hay presencia de diabetes, que se acompaña de bajos niveles de carotenoides<sup>4</sup>, siendo pertinente mencionar que las mujeres, de más de 60 años, tienen más carotenoides que los varones, así como más vitamina E<sup>3</sup>.

Entre las mujeres es frecuente el uso de fármacos para bajar los lípidos, por lo que es conveniente conocer que esos fármacos bajan los niveles de la vitamina E y del selenio, aunque no los carotenoides, reduciendo de todos modos la capacidad antioxidante<sup>3</sup>. Se ha evidenciado también que el consumo de tabaco baja los niveles de las vitaminas E y C<sup>3</sup>, lo que debe tomarse en cuenta en las recomendaciones a las mujeres posmenopáusicas.

Para expresar los niveles de peróxidos lipídicos, se recurre a las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), cuyo valor es mayor en las mujeres posmenopáusicas, y más aún en las que consumen alcohol<sup>3,5</sup> aunque se ha ya publicado el probable beneficio del vino<sup>6,7</sup>.

Lo que está bien definido, es el papel de los radicales de oxígeno libres y la peroxidación de los lípidos en la génesis de la senescencia normal y en la patogénesis de las enfermedades degenerativas<sup>5</sup>. Los lípidos peroxidados son más aterogénicos ( $LDL_{peroxidado} > LDL_{reducido}$ ). Después de los 60 años, las mujeres tienen más lípidos peroxidados que los varones, por disminución de los mecanismos detoxicantes; además, las mujeres posmenopáusicas son más sensibles al estrés oxidativo relacionado con la edad<sup>5</sup>.

En la senescencia, la íntima y la media de las carótidas se engrosan, lo que se puede combatir con vitamina E, pero no con los carotenoides ni selenio<sup>1</sup>. Los niveles de TBARS no tienen relación con dicho engrosamiento<sup>1</sup>.

Con el envejecimiento, aumenta el estrés oxidativo, al superarse la capacidad antioxidante, dando lugar al riesgo de daño tisular<sup>8</sup>. Bajan los niveles de antioxidantes exógenos y de la glutathionperoxidasa. Estos cambios contribuyen al incremento de la patología cardiovascular en las mujeres posmenopáusicas: superoxidodismutasa (SOD) y catalasa (CAT) sin cambios y la glutathionperoxidasa (GPX) disminuye. La disminución de la GPX se debe más a la edad que al estado hormonal, mientras que la SOD está elevada en la menopausia tardía<sup>9</sup>.

## CÁNCER MAMARIO

Esta patología es favorecida por la mayor peroxidación de los lípidos de membrana, lo que produce un aumento significativo de los peróxidos lipídicos<sup>10</sup>. La mayor producción de radicales libres da lugar a un deterioro del potencial antioxidante, por disminución tanto de las vitaminas antioxidantes como del selenio<sup>10</sup>. Como consecuencia, hay un incremento de los daños causados por los radicales libres<sup>11</sup>, como es el aumento de los peróxidos lipídicos, incrementándose la incidencia y desarrollo del cáncer mamario<sup>12</sup>, que tiene una latencia promedio de unos diez o más años<sup>13</sup>. La epidemiología ha demostrado la distribución desigual de las enfermedades crónicas, como los cánceres femeninos, que tienen mayor incidencia en el occidente (mamas, ovarios, endometrio)<sup>14</sup>.

Sabemos que el sedentarismo contribuye al incremento en la incidencia del cáncer mamario, por lo que un bajo nivel en la actividad física aumenta el riesgo<sup>15</sup>. En un estudio italiano, en 5000 mujeres posmenopáusicas, el riesgo de contraer cáncer mamario se relacionó principalmente con los factores<sup>15</sup> que muestra la Tabla 2.

Estos datos evidencian la importancia de la actividad física. La poca actividad física se expresa también en un índice corporal elevado (peso/talla), que también es un indicador de riesgo<sup>16</sup>. Usualmente, la poca actividad física se acompa-



**Tabla 2.** Incremento de riesgo de cáncer mamario

- 10 % por ingesta de alcohol
- 15 % por dieta pobre en carotenos
- 8,6 % por dieta pobre en vitamina E
- 11 % por bajo nivel de actividad física
- 10,2 % por sobrepeso
- 28,1 % si se suman alcohol y dieta baja en carotenos
- 32 % si se suman baja actividad física y dieta pobre en carotenos
- 33 % si se suman baja actividad física y alcohol

ña de ingesta no proporcional de alimentos, en exceso, entre lo que se encuentra la mayor ingesta de grasas, que reduce la supervivencia<sup>16</sup>; la ingesta no necesaria de nutrientes es muy frecuente en las mujeres posmenopáusicas. Definitivamente, hay mayor incidencia de cáncer mamario en las posmenopáusicas obesas y, curiosamente, en las mujeres más altas<sup>17</sup>, aunque la grasa por sí misma no es el factor directo, sino que se incrementa la disponibilidad de fuentes de energía, por acumulación<sup>17</sup>.

Se ha demostrado, particularmente en las mujeres posmenopáusicas que, además de reducir el riesgo relacionado con la baja actividad física<sup>15</sup>, el ejercicio físico moderado, con combinación de actividad aerobia y anaerobia, de carga progresiva y dieta restrictiva, proporciona otros beneficios, que son mucho mejores que los de la dieta restrictiva sola<sup>18,19</sup>. Tabla 3.

En la reprogramación del estilo de vida, en las mujeres posmenopáusicas, debe tomarse en cuenta que el ejercicio debe ser siempre moderado, debido a que el músculo es el principal productor

**Tabla 3.** Beneficios del ejercicio y dieta

- Mayor pérdida de peso corporal
- Mayor pérdida de grasa corporal
- No hay pérdida de masa magra (muscular)
- Puede aumentar masa muscular
- Incrementa el V O<sub>2</sub> máx
- Aumenta el metabolismo basal
- Aumenta el contenido de calcio óseo
- Efecto positivo sobre riesgos cardiovasculares

de radicales libres, lo que obliga a un adecuado balance con los antioxidantes.

El cáncer posmenopáusico está más ligado al consumo alto de grasas en la alimentación, en alta proporción en la carne de res. El tipo de grasa beneficiosa para inhibir el desarrollo del cáncer es la grasa rica en  $\omega$ -3, propia del pescado<sup>14</sup>. La vitamina C reduce el riesgo de cáncer de mama<sup>14</sup>.

Se han hecho muchos estudios sobre los probables beneficios de la administración de vitaminas antioxidantes en las mujeres posmenopáusicas<sup>11,13,17,20-22</sup>, y no se encuentran resultados importantes, ni determinantes, sobre todo para combatir el cáncer mamario hormonodependiente<sup>20</sup>, aunque sí el papel protector preventivo de las vitaminas E, C y los carotenoides. Incluso se encuentra que, las portadoras de cáncer mamario, tienen más vitamina E y menos malondialdehído que las sanas, diferencia que va disminuyendo con la edad<sup>21</sup>. Más aún, a mayor tamaño y progresión tumoral, aumenta la relación vitamina E/colesterol total, que disminuye si aumenta la densidad de los receptores estrogénicos<sup>21</sup>. Pero, aún así, la ingesta de vitamina E reduce algo la incidencia del cáncer mamario, tal vez gracias a su liposolubilidad<sup>22</sup>. Algunos autores han encontrado mayor presencia de betacarotenos en el carcinoma mamario, sin presentar cambios en los niveles del alfatocoferol<sup>11</sup>. Lo que es muy interesante es la distribución heterogénea de los agentes antioxidantes (vitaminas en particular) con una marcada especificidad de órgano<sup>11</sup>, es decir se encuentran concentraciones diferentes locales, según la ubicación del cáncer.

Estudios hechos en Finlandia y China muestran resultados muy modestos por la ingesta de beta-caroteno<sup>13</sup>, como intento de protección contra la incidencia de cáncer mamario, aunque otros atribuyen a los carotenoides un papel protector<sup>14</sup>.

Los estrógenos son poderosos antioxidantes<sup>23</sup>, solos o asociados a las progestinas, por lo que la menopausia significa la pérdida de esos agentes antioxidantes. Su reemplazo resulta también pertinente por protección antioxidante, de lo que trataremos más adelante.



Uno de los productos más utilizado en la terapia del cáncer mamario, el tamoxifeno, es un potente supresor de la peroxidación lipídica, protegiendo las membranas y las partículas de LDL contra la oxidación<sup>12,24</sup>. Resulta sustituyendo el papel del estrógeno, sea endógeno o exógeno, bajando incluso los niveles del colesterol plasmático<sup>24</sup>. Luego de tres a seis meses de terapia o profilaxis con tamoxifeno, se encuentra un aumento en los niveles de las enzimas antioxidantes, de los antioxidantes no enzimáticos y de las vitaminas C, E y b-caroteno, junto a la disminución del malondialdehído, que es un producto de la peroxidación de los lípidos<sup>12</sup>.

### CÁNCER GINECOLÓGICO

La presencia de las vitaminas antioxidantes tiene una distribución heterogénea, que se evidencia claramente en el cáncer que compromete el área genital. Por ejemplo, el beta-caroteno está disminuido en el tejido cervical<sup>11,14</sup> y endometrial tumoral, mientras que está aumentado en los ovarios y vulva invadidos de tejido canceroso<sup>11</sup>. Al contrario, en el tejido canceroso cervical y endometrial, la presencia de alfa-tocoferol está aumentada y no tiene cambios si el compromiso es en el ovario o la vulva<sup>11</sup>. Otros autores refieren niveles bajos de alfa-tocoferol en la displasia y cáncer cervical<sup>20</sup>. La presencia mayor o menor de las vitaminas antioxidantes estaría en relación con la necesidad de mayor actividad antioxidante.

### INFARTO DE MIOCARDIO

Esta patología se relaciona con el incremento de los lípidos sanguíneos, la glucosa y las enzimas cardíacas<sup>25</sup>, pero también con la disminución de las vitaminas C, E y los betacarotenos, y aumento de los peróxidos lipídicos<sup>25</sup>. En las arritmias hay aún mayor reducción de las vitaminas antioxidantes<sup>25</sup>; las fumadoras y las diabéticas también tienen bajos niveles de vitamina C y betacaroteno, incluso con presencia de más peróxidos lipídicos en las fumadoras<sup>25</sup>; este tipo de patología aumenta en la posmenopausia.

Los estrógenos tienen propiedades cardioprotectoras, por lo que la terapia de reemplazo hormonal (TRH) constituye una medida de protección cardíaca que también debe considerarse<sup>26</sup>.

La ingesta de vitaminas antioxidantes tiene diferentes resultados. La vitamina E claramente reduce el riesgo de muerte por enfermedad coronaria<sup>27</sup>, a la que las mujeres posmenopáusicas están más expuestas que las mujeres en edad reproductiva, que tienen protección estrogénica. El b-caroteno y la vitamina C no tienen asociación directa demostrada con la patología coronaria, pero sí indirecta, por los cambios en la química sanguínea, donde una mayor presencia de b-caroteno permite considerar un menor riesgo de infarto agudo de miocardio<sup>28</sup>, aunque esta consideración disminuye con la edad de la mujer.

Usualmente, las bebedoras de vino ingieren más vitamina C y más carotenoides, de lo que resulta que están aparentemente mejor protegidas contra el infarto del miocardio<sup>6,7</sup>. Las bebedoras de vino usualmente son más delgadas que las abstemias, lo que es un beneficio adicional<sup>7</sup>.

### ARTRITIS REUMATOIDEA

Patología de alta incidencia en la posmenopausia, está en relación con un bajo índice antioxidante, incluyendo los niveles bajos de alfa-tocoferol, betacaroteno y selenio. Los radicales de oxígeno libres tienen alta responsabilidad en el daño tisular<sup>29</sup>. Recordemos que, en los procesos inflamatorios, se genera gran cantidad de radicales libres (\*O<sub>2</sub>\*, \*NO, OHOO-).

### CÁNCER DEL TRACTO DIGESTIVO

La ingesta de carotenos y vitaminas C y E está asociada a un menor riesgo de cáncer oral, faríngeo, esofágico y gástrico<sup>30</sup>, en las mujeres posmenopáusicas.

### DETERIORO DE LAS FUNCIONES DEL SISTEMA NERVIOSO

Los procesos oxidativos acompañan al deterioro de la función mitocondrial, generando neurotoxicidad. Las deficiencias de la función mitocondrial pueden conducir a la degeneración mitocondrial y muerte neuronal, por sensibilización a los efectos excitotóxicos del glutamato endógeno, que es un neurotransmisor excitatorio en condiciones normales. Los efectos neurotóxicos de los aminoácidos excitatorios están involucrados en numerosos procesos degenerativos. Tabla 4.





**Tabla 4.** Efectos neurotóxicos de los aminoácidos excitatorios involucrados los procesos degenerativos

- Enfermedad de Huntington
- Enfermedad de Parkinson
- Enfermedad de Alzheimer
- Esclerosis amiotrófica lateral
- Complejo de demencia por SIDA
- Trastornos neurológicos (epilepsia, trauma, dolor neuropático, enfermedad cerebrovascular)

Fuera de sus funciones fisiológicas, el óxido nítrico (NO) es una neurotoxina bajo condiciones de producción excesiva, y está comprometido en las enfermedades neurodegenerativas. Hay evidencias que lo relacionan con la excitotoxicidad como mecanismo de muerte neuronal. La producción de NO en la neurona es resultado del incremento del  $Ca^{++}$  intracelular. El NO inhibe enzimas del metabolismo, daña al ADN, depleta el glutathion intracelular y reacciona con el superóxido para formar peroxinitrito<sup>31</sup>.

#### Procesos activados por el peroxinitrito

- peroxidación lipídica
- hidroxilación y nitración de aminoácidos
- oxidación de proteínas

La enfermedad de Alzheimer tiene niveles anormalmente altos de estrés oxidativo; las placas amiloides son un foco de oxidación molecular y celular. Se promueve cascadas degenerativas excitotóxicas y apoptóticas, con sobrecarga de  $Ca^{++}$  intracelular. Se establece una relación entre los genes presenilinas, el estrés oxidativo y la enfermedad de Alzheimer<sup>32</sup>. El efecto prooxidante, en la activación del receptor de glutamato, es amplificarla cuando está comprometida la función mitocondrial, y aumenta la peroxidación de los lípidos de membrana.

Como podría suponerse, muchos problemas en el sistema nervioso se pueden reducir por acción estrogénica. Hay evidencias de su papel en los procesos de memoria y su asociación con el menor riesgo de enfermedad de Alzheimer.

#### Incidencia de la enfermedad de Alzheimer

En las mujeres sin TRH la incidencia de la enfermedad de Alzheimer es 8,4 % y en las que reciben TRH es 2,7 %

Probablemente debido al aumento de las proyecciones neuronales (espinas dendríticas), que favorecen las interconexiones neuronales, bajando el riesgo de la enfermedad de Alzheimer y retardando el inicio de la pérdida de memoria.

#### SUPLEMENTOS ANTIOXIDANTES

Por lo que hemos visto, lo que debemos prioritariamente proteger son los lípidos, en particular las LDL, cuya oxidación es el primer paso para la aterogénesis<sup>33</sup>, lo que podemos hacer recurriendo a los suplementos antioxidantes. Está bien definido que la vitamina E es el antioxidante más importante para proteger los lípidos y las membranas, mientras que no hay beneficios evidentes por el consumo de vitamina C<sup>33-35</sup>. La ingesta de vitamina E es, por tanto, necesaria, más aún cuando sus niveles son bajos en la senectud<sup>36</sup>. Muchos problemas en la menopausia, como las cefaleas, rubor facial, escozor vaginal por sequedad, pueden reducirse con el suplemento de la vitamina E.

La ingesta de vitamina E también mejora de la función respiratoria, y por tanto la oxigenación de los tejidos, aumentando el FEV<sub>1</sub> (volumen espiratorio forzado en un minuto) y la FVC (capacidad vital forzada)<sup>37</sup>. La función respiratoria está también afectada en la posmenopausia, y se debe evitar o disminuir su deterioro.

En la alimentación usual de las mujeres posmenopáusicas, la ingesta de vitaminas antioxidantes está a un tercio de lo necesario<sup>36</sup>, por lo que se recomienda aumentar frutas y verduras, que proporcionan más azúcar intrínseca (fructosa), relacionada con fibras y vitaminas antioxidantes. La ingesta de azúcar extrínseca (sacarosa) está asociada a dietas pobres en antioxidantes y fibras, y el azúcar láctea (lactosa) tiene relación inversa con los antioxidantes<sup>38</sup>. Debe recordarse que las fumadoras consumen más antioxidantes y requieren, por tanto, mayor suplementación<sup>39</sup>. Posmenopausia y tábaco aceleran el deterioro orgánico.



Los estrógenos tienen actividad antioxidante y protegen a las mujeres contra la aterosclerosis. En la posmenopausia sus niveles están muy bajos, por el cese de la producción ovárica, por lo que debe considerarse su administración, desde el punto de vista de la capacidad antioxidativa<sup>23,35,40-42</sup>, aunque hay opiniones dudosas<sup>43</sup>.

Uno de los beneficios de la terapia de reemplazo hormonal (TRH) es la disminución del LDL-colesterol y del colesterol total, aumentando el HDL-colesterol<sup>23</sup>. La terapia hormonal con estrógenos, con o sin progestinas, tiene efecto antioxidante, manteniendo a la LDL en estado reducido<sup>23,41</sup>, entre otros efectos, como aumentar la relación a-tocoferol/LDL y betacaroteno / LDL<sup>23</sup>.

La administración de estradiol, sólo o con progesterona (progestinas), baja las VLDL y LDL y aumenta las HDL, sin interferir con las enzimas antioxidantes (SOD,GPX), y si se añade vitamina E, el aumento de las HDL es aún mayor<sup>42</sup>, en las mujeres posmenopáusicas. Tabla 5.

La progesterona (o sus sustitutos), por sí sola, administrada por vía oral, reduce los niveles de los peróxidos, pero los estrógenos son más específicos en reducir la oxidación lipídica, aunque la disminución de la peroxidación lipídica depende de la acción combinada de ambos esteroides sexuales<sup>40</sup>; está así justificada la terapia combinada o sólo progestágenos, cuando no se puede administrar estrógenos, en relación al balance oxidativo<sup>40</sup>. Hasta quienes no dan importancia al papel antioxidante de los estrógenos, muestran que el estradiol reduce las LDL y aumenta las HDL, y si se le suma progesterona disminuyen más las LDL y se reduce el colesterol total<sup>43</sup>. Tabla 6.

Debe estudiarse bien qué compuesto va a ser utilizados en la TRH, pues algunas combinaciones con progestágenos pudieran ser perjudiciales para las HDL. El uso de hormonas tiene efectos disímiles,

Tabla 5. Cambios en las lipoproteínas por TRH

• Estradiol (E)	↓ VLDL	↓ LDL	↑ HDL
• (E) + progesterona (PG)	↓ VLDL	↓↓ LDL	↑ HDL
• (E) + (PG) + vitamina E	↓ VLDL	↓↓ LDL	↑↑ HDL

Tabla 6. Cambio plasmáticos por reemplazo hormonal

	Colesterol total	LDL	HDL
• Estradiol (E)	—	-7,8 %	+7,1 %
• (E) + progesterona	-9,3 %	-12,7 %	—

según la etapa de la vida, así los anticonceptivos orales con estrógeno disminuyen los niveles de vitamina E en las mujeres en edad reproductiva, mientras que no se alteran en la posmenopausia<sup>35</sup>. Mas los estrógenos, en la TRH, pueden disminuir el efecto de la vitamina E, por lo que es mayor la necesidad de esta vitamina.

Otro antioxidante importante es la melatonina que, sobre todo actúa sobre el radical \*OH; como sus niveles aumentan en las horas de sueño, es conveniente favorecerlo; además de acelerar el paso, de la fase I del sueño de ondas lentas, a la fase 2<sup>44</sup>.

En la posmenopausia es frecuente la hipomagnesemia, que se acompaña de la disminución de los niveles de vitamina C, E y betacarotenos, y del aumento de la peroxidación de los lípidos y dienos conjugados<sup>45</sup>. Debe considerarse la indicación de magnesio.

En resumen, para mejorar la capacidad antioxidativa en la posmenopausia, es conveniente<sup>15,41,46</sup>:

- La suplementación de vitaminas antioxidantes (más la vitamina E)
- Considerar la TRH
- Llevar una dieta que no induzca a la obesidad
- Incremento en la actividad física
- No fumar
- Si ingiere bebidas alcohólicas: sólo vino moderado.

Para lo que el principal argumento es que la senescencia se acompaña de un incremento en la producción de radicales libres, sin un incremento paralelo de la capacidad antioxidante<sup>47</sup>, e incluso disminución en las mujeres posmenopáusicas<sup>23</sup>. El incremento se debe, fundamentalmente, a un mayor porcentaje del oxígeno, utilizado por las mitocondrias, convertido en radicales libres, debido a deficiencias enzimáticas. Hay una relación clara entre envejecimiento, o expectativa de vida, y la velocidad del incremento en la producción de los



radicales libres. Las mujeres, al perder la producción de los estrógenos ováricos, pierden un poderoso antioxidante, reduciendo su capacidad de neutralizar los radicales oxidantes libres<sup>9,23,41</sup>.

Recordemos, por último, que las mitocondrias son, fisiológicamente, la mayor fuente de oxidantes, consumen alrededor del 85 % del oxígeno usado por las células, del cual, al menos, un 2 % se convierte en radicales oxidantes, lo que no debe olvidarse al programar ejercicios en la posmenopausa, actividad que debiera ser manejada solamente por profesionales de la salud.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bonithon-Kopp C y col. Combined effect of lipid peroxidation and antioxidant status on carotid atherosclerosis in a population aged 59-71 y: the EVA study. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 121-7.
- Hercberg S y col. Background and rationale behind the SV.VI.Max Study, a prevention trial using nutritional doses of a combination of antioxidant vitamins and minerals to reduce cardiovascular diseases and cancers. *Int J Vitam Nutr Res* 1998; 68:2-20.
- Berr C y col. Demographic and cardiovascular risk factors in relation to antioxidant status: the EVA study. *Int J Vitam Nutr Res* 1998; 68: 26-35.
- Coudray C y col. Lipid peroxidation level and antioxidant micronutrient status in a pre-aging population; correlation with chronic disease prevalence in a french epidemiological study. *J Am Coll Nutr* 1997; 16: 584-91.
- Miquel J y col. Increase with age of serum lipid peroxides: implications for the prevention of atherosclerosis. *Mech Aging Dev* 1998; 100: 17-24.
- Klatsky AL, Armstrong MA, Friedman GD. Red wine, white wine, liquor, beer and risk for coronary artery disease hospitalization. *Am J Cardiol* 1997; 80: 416-20.
- Mannisto S y col. Alcohol beverage drinking, diet and body mass index in a cross-sectional survey. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51: 326-32.
- Brosalis MG y col. Acute phase response and plasma carotenoid concentrations in older women: findings from the nun study. *Nutrition* 1996; 12: 475-8.
- Gurdol F y col. Changes in enzymatic antioxidant defense system in blood and endometrial tissues of women after menopause. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997; 97: 38-46.
- Kumar K, Thangaraju M, Sachdanandam P. Changes observed in antioxidant system in the blood of postmenopausal women with breast cancer. *Biochem Int* 1991; 25:371-80.
- Palan PR y col. Lipid-soluble antioxidants: b-carotene and a-tocopherol levels in breast and gynecologic cancers. *Gynecol Oncol* 1994; 55:72-7.
- Thangaraju M, Vijayalakshmi T, Sachdanandam P. Effect of tamoxifen on lipid peroxide and antioxidative system in postmenopausal women with breast cancer. *Cancer* 1994; 74:78-82.
- Buring JV, Hennekens CH. b-carotene and cancer chemoprevention. *J Cell Biochem Suppl* 1995; 22:226-30.
- González MJ, López F. Antioxidantes en ginecoobstetricia. En: Pacheco J. *Ginecología y Obstetricia*. MAD Corp, Lima, 1999: 879-83.
- Mezetti M y col. Population attributable risk for breast cancer: diet, nutrition and physical exercise. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 389-94.
- Zhang S y col. Better breast cancer survival for postmenopausal women who are less overweight and eat less fat. The Iowa Women's Health Study. *Cancer* 1995; 76:275-83.
- Kohlmeir L, Medder M. Controversies surrounding diet and breast cancer. *Proc Nutr Soc* 1997; 56: 369-82.
- Dalsky GM y col. Weight-bearing exercise training and lumbar bone mineral content in postmenopausal women. *Ann Intern Med* 1988; 108:824-8.
- Svensden OL y col. Effect of energy-restrictive diet, with or without exercise, on lean tissue mass, resting metabolic rate, cardiovascular risk factors, and bone in overweight postmenopausal women. *Am J Med* 1993; 95: 181-40.
- Van't Veer P y col. Tissue antioxidants and postmenopausal elderly patients: analysed dietary intakes and biochemical status. *Eur J Clin Nutr* 1996; 50: 473-8.
- Gerber M y col. Oxidant-antioxidant status alterations in cancer patients: relationship to tumor progression. *J Nutr* 1996; 126: 1201s-7s.
- Kimmick GG, Bell RA, Boslick RM. Vitamin E and breast cancer: a review. *Nutr Cancer* 1997; 27: 109-17.
- Clemente C y col. a-tocopherol and b-carotene serum levels in postmenopausal women with transdermal estradiol and medroxyprogesterone acetate. *Horm Metab Res* 1996; 28:558-61.
- Wiseman H. Tamoxifen as an antioxidant and cardioprotectant. *Biochem Soc Symp* 1995; 61:209-19.
- Singh RB y col. Plasma levels of antioxidant vitamins and oxidative stress in patients with acute myocardial infarction. *Acta Cardiol* 1994; 49:441-52.
- Wilcox JG y col. Cardioprotective effects of individual conjugated equine estrogens through their possible modulation of insulin resistance and oxidation of low density lipoprotein. *Fert Steril* 1997; 67:57-62.
- Kushi LM y col. Dietary antioxidant vitamins and death from coronary heart disease in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1996; 334:1156-62.
- Tavani A y col. b-carotene intake and risk of non fatal acute myocardial infarction in women. *Eur J Epidemiol* 1997; 13: 631-7.
- Heliovaara M y col. Serum antioxidants and risk of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1994;53:51-3.
- Zheng W y col. Retinol, antioxidant vitamins and cancers of the upper digestive tract in a prospective cohort study of postmenopausal women. *Am J Epidemiol* 1995; 142: 955-60.
- Kolesnikov y col. Functionally differentiating two neuronal nitric oxide synthase isoforms through antisense mapping. *PNAS* 1997; 94: 8220-5.
- Matson. Central rol of oxyradicals in the mechanism of amyloid b-peptide cytotoxicity. *Alz Dis Rev* 1997; 2: 1-14.
- Princeton HM y col. Supplementation with low doses of vitamin E protects LDL from liquid peroxidation in men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15:325-33.
- Anderson D y col. The effects of vitamin C supplementation on biomarkers of oxygen radical generated damage in human volunteers with "low" or "high" cholesterol levels. *Environ Mol Mutagen* 1997; 30: 161-74.
- Wen Y. y col. The effect of hormone replacement therapy on vitamin E status in postmenopausal women. *Maturitas* 1997; 26:121-4.
- Schmuck A y col. Antioxidant vitamins in hospitalized elderly patients: analysed dietary intakes and biochemical status. *Eur J Clin Nutr* 1996; 50:473-8.
- Dow L y col. Does dietary intake of vitamins C and E influence lung function in older people?. *Am J Resp Crit Care Med* 1996; 154:1401-4.
- Bolton-Smith C, Woodward W. Antioxidant vitamin adequacy in relation to consumption of sugars. *Eur J Clin Nutr* 1995; 49: 124-33.
- Zondervan KT, Ocke MC, Smit HA, Seidell JC. Do dietary and supplementary intake of antioxidants differ with smoking status? *Int J Epidemiol* 1996; 25: 70-9.
- Tranquilli AL y col. Transdermal estradiol and medroxyprogesterone acetate in hormone replacement therapy are both antioxidants. *Gynecol Endocrinol* 1995; 9:137-41.
- Shwaery GT, Vita JA, Keaney JF. Antioxidant protection of LDL by physiological concentration of 17-b-estradiol. Requirements for estradiol modification. *Circulation* 1997; 95: 1378-85.
- Inal M, Sunal E, Kanbak G, Zeytinoghi S. Effect of postmenopausal hormone replacement and a-tocopherol on the lipid profiles and antioxidant status. *Clin Chim Acta* 1997; 268: 21-9.
- Buring JE, Hennekens CH. b-carotene and cancer chemoprevention. *J Cell Biochem Suppl* 1995; 22:226-30.
- Lushington E y col. Daytime melatonin administration in elderly good and poor sleepers: effects on core body temperature and sleep latency. *Sleep* 1997; 20: 1135-44.
- Singh RB y col. Magnesium and antioxidant vitamin status and risk of complications of ageing in an elderly urban population. *Magnes Res* 1996; 9: 299-306.
- Wise GR, Schultz TT. Hiperlipidemia. When dose treatment make a difference?. *Postgrad Med* 1996; 100: 138-49.
- Sohal RS, Brunk UT. Mitochondrial production of pro-oxidants and cellular senescence. *Mutat Res* 1992; 275: 295-304.