



ARTICULOS ORIGINALES
ORIGINAL PAPERS

ANTIOXIDANTES EN EL MANEJO DE LA OSTEOPOROSIS POSMENOPÁUSICA

Resumen

La osteoporosis en la posmenopausia es la forma más frecuente de esta enfermedad del hueso y se debe a la deficiencia estrogénica; esta favorece un estado de mayor resorción ósea por aumento de la osteoclastogénesis y actividad osteoclástica secundarias a mayor estado inflamatorio, caracterizado por la activación de cadenas de señales proinflamatorias, mayor síntesis de citoquinas proinflamatorias y producción de especies reactivas de oxígeno. El uso de algunas sustancias antioxidantes presentes en la dieta (ascorbato) o farmacológicas (N-acetil cisteína y nitroglicerina) ha demostrado ser beneficioso en fomentar o preservar una mayor función osteoblástica, recomendándose su uso como parte del manejo de la osteoporosis en la mujer posmenopáusica.

Palabras clave: Osteoporosis, estrés oxidativo, antioxidantes.

**José Luis Paz-Ibarra^{1,2},
Tania Vitorino¹**

¹ Servicio de Endocrinología y Metabolismo, Departamento de Enfermedades Sistémicas, Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, EsSalud, Lima, Perú

² Departamento de Medicina, Facultad de Medicina de San Fernando, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Correspondencia:
Dr. José Luis Paz Ibarra
Celular: (51 1) 997 378 870
jlpi_09@hotmail.com

Rev Per Ginecol Obstet. 2010;56:101-107.

Antioxidants in postmenopausal osteoporosis treatment

ABSTRACT

Postmenopausal osteoporosis is the most common presentation of bone disease and is caused by estrogen deficiency that promotes bone resorption, increased osteoclastogenesis and osteoclast activity secondary to an inflammatory state due to activation of proinflammatory signal chains, increased synthesis of proinflammatory cytokines and production of reactive oxygen species. The use of antioxidants present in the diet (ascorbate) or drugs (N-acetyl cysteine and nitroglycerin) has proven to be beneficial in promoting or preserving osteoblastic function, recommending their use as part of the management of osteoporosis in postmenopausal women.

Key words: Osteoporosis, oxidative stress, antioxidants.

OSTEOPOROSIS POSMENOPÁUSICA

En las mujeres, después de alcanzar el pico de masa ósea alrededor de los 30 años, esta se mantiene constante hasta la perimenopausia, cuando la den-

sidad mineral ósea (DMO) empieza a disminuir, fundamentalmente desde la perimenopausia tardía (definida como la ausencia de menstruación en 3 a 11 de los últimos 12 meses) y la posmenopausia, como se demostró en el estudio SWAN (*The Study of Women's Health Across the Nation*), donde se evaluó la pérdida anual de la masa ósea en las mujeres de EE UU, siendo la raza blanca la más afectada, a diferencia de las mujeres latinas o de raza negra (figura 1) ¹.

La concepción antigua del tejido óseo como un tejido inerte y cuya función era solo de soporte y protección de estructuras nobles ha cambiado en los últimos años, por la visión actual del tejido óseo como un sistema metabólico, hormonal e inmunológicamente activo, existiendo una interacción

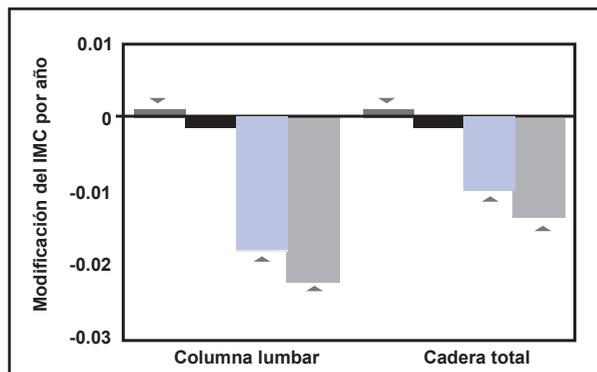


Figura 1. Disminución anual de la DMO, en columna vertebral lumbar (izquierda) y cadera total (derecha), como función del estado menopáusico (tomado de Neer. *Ann NY Acad Sci.* 2010;1192:66-71.).



dinámica y paracrina entre las células estromales, osteoblastos, osteocitos y osteoclastos (figura 2), así como una estrecha interrelación entre las células óseas y el sistema inmunológico (figura 3)².

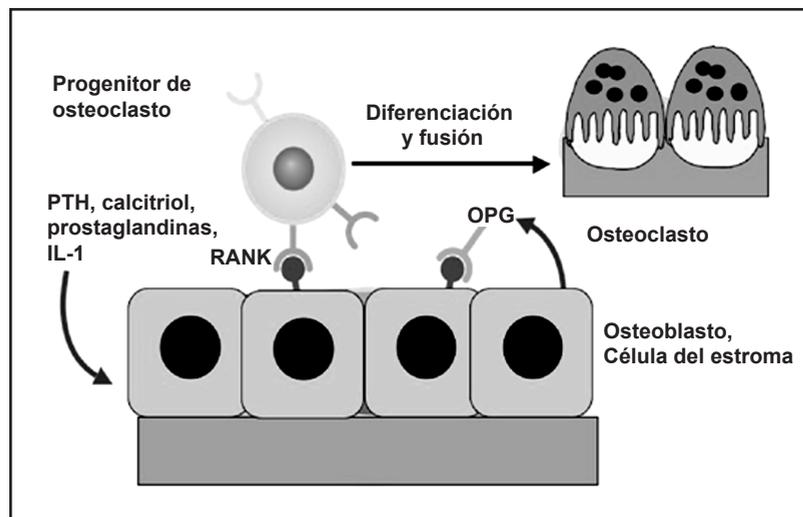


Figura 2. Sistema RANK, RANKL, OPG. El ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B (RANKL) es producido dentro de los osteoblastos y células estromales en respuesta a la parathormona (PTH), calcitriol y otros estimuladores de la resorción ósea que actúan vía osteoblastos. RANKL actúa vía su receptor activador del factor nuclear kappa B (RANK) en los progenitores de los osteoclastos, para promover su diferenciación y posterior activación. RANKL puede ser bloqueado por el receptor señuelo, osteoprotegerina (OPG). (tomado de Graham-Rusell. *Curr Opin Rheumat.* 2006;18(suppl 1):S3-S10.).

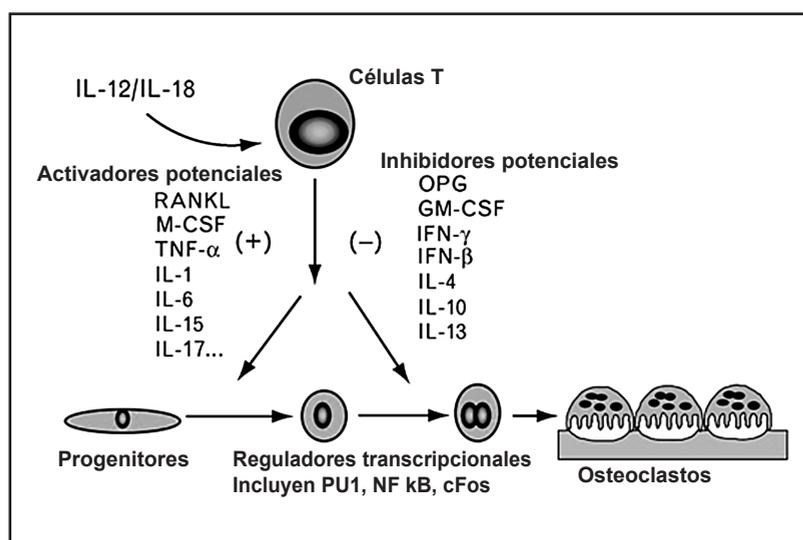


Figura 3. Modulación de la diferenciación y actividad osteoclástica por el sistema inmune. Algunas de las potenciales vías estimulantes e inhibitorias de la regulación osteoclástica por las células T son ilustradas aquí. GM-CSF, factor estimulante de colonias de granulocito-macrófago; M-CSF, factor estimulante de colonias de macrófago; OPG, osteoprotegerina; PU1, factor de transcripción PU; RANKL, ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B; TNF- α , factor de necrosis tumoral alfa. (tomado de Graham, Rusell. *Curr Opin Rheumat.* 2006;18(suppl 1):S3-S10.).

EL PAPEL DE LOS ESTRÓGENOS SOBRE LAS CÉLULAS ÓSEAS

Los receptores de estrógenos (E2) α (RE α) y β (RE β) están presentes en las células óseas, aunque su distribución es diferente: RE α predomina en hueso cortical, mientras RE β lo hace en el hueso trabecular. Sin embargo, la mayoría de los efectos de los estrógenos en el hueso se realizan a través del RE α . Los efectos de los estrógenos se producen mediante cambios conformacionales que promueven la dimerización de receptores y unión a secuencias específicas de ADN (elementos de respuesta a estrógenos, ERE), los cuales, con la unión posterior de elementos coactivadores, producen cambios en la maquinaria de transcripción del ADN.^{3,4}

Existen mecanismos adicionales por medio de los cuales los estrógenos pueden modificar la expresión de genes implicados en el proceso de remodelación ósea: unión de RE al NF- κ B, impidiendo su unión al ADN y la expresión de IL-6 y disminuyendo la actividad caseinquinasa 2 (CK2), lo cual reduce la fosforilación de Egr-1; a su vez incrementa la afinidad de esta por el activador transcripcional Sp-1 y limita la disponibilidad de este a nivel nuclear. Como consecuencia, se reduce la expresión del gen M-CSF. También se ha demostrado la capacidad de los estrógenos de suprimir la actividad quinasa de JNK (quinasa Jun-N-terminal), contribuyendo a una menor expresión de TNF y reduciendo la sensibilidad de los osteoclastos a la actividad RANK/RANKL.

La acción antiapoptótica de los E2 sobre los osteoblastos y proapoptótica sobre los osteoclastos se debe a su capacidad



para incrementar la fosforilación de las quinasas citoplasmáticas ERK 1 y 2 y suprimir la actividad JNK.⁵

El déficit de estrógenos produce incremento en el número de unidades de remodelación ósea activadas por unidad de tiempo, interactuando con células del sistema inmune, primordialmente por aumento de la formación de osteoclastos y reducción de su apoptosis.^{3,6}

La producción incrementada de citoquinas inflamatorias, como IL-7 y TNF, limita la actividad de los osteoblastos maduros. La terapia de reemplazo con estrógenos produce incremento de la apoptosis de los osteoclastos y disminución de la apoptosis de los osteoblastos.³

La deficiencia de estrógenos induce la producción de citoquinas proinflamatorias, como TNF, la cual estimula la osteoclastogénesis directamente y por medio de la producción de RANKL en las células precursoras de la médula ósea. Adicionalmente, la respuesta de los osteoclastos se incrementa y se produce aumento del RANK. Otro efecto que favorece el incremento neto de la resorción ósea es la disminución de la osteoblastogénesis. El estímulo de la osteoclastogénesis por TNF está mediado por interacciones a nivel del NF- κ B y señales AP1.^{3,7}

Los estudios experimentales en animales transgénicos insensibles a TNF (déficit de receptor o un receptor soluble) han demostrado que estos animales se encuentran protegidos contra la pérdida ósea inducida por la ooforectomía. Existe evidencia del aumento de TNF en mujeres posmenopáusicas.^{3,8}

Las células T activadas también producen IFN- α e IFN- γ , las cuales tienen efecto antiosteoclastogénico al

suprimir la actividad NF- κ B y JNK en determinadas circunstancias; durante estados inflamatorios y durante la deficiencia de estrógenos predomina la producción de un perfil de citoquinas que favorece la resorción ósea.^{3,9}

La deficiencia de E2 produce incremento de las moléculas del CMH clase II, proceso que es mediado por la expresión del gen transactivador de clase II (CIITA) y que es inducido por IFN- γ , hecho demostrado por la falta de respuesta de pérdida ósea inducida por ooforectomía en los ratones que carecen del receptor de IFN- γ . El IFN- γ también tiene efectos osteoclastogénicos mediados por la vía RANKL.¹⁰

El incremento en la producción de IFN- γ en la deficiencia de estrógenos está mediado por la disminución del TGF- β , ya que el estrógeno es inductor de su producción por medio de acciones genómicas en el promotor del TGF- β . El TGF- β es un potente inmunosupresor que inhibe la proliferación y activación de las células T y su producción de citoquinas inflamatorias como IFN- γ .^{3,10} Un dato muy importante en los modelos de ratones transgénicos con bloqueo de la acción del TGF- β es su resistencia a los efectos protectores del hueso mediados por estrógenos, asociado a una falla en la supresión de IFN- γ , con el consecuente incremento en la activación y proliferación de las células T, lo cual conlleva a niveles incrementados de TNF.

Otro importante mecanismo de modulación en la remodelación ósea mediada por estrógenos implica la intervención de la IL-7, la cual tiene un efecto proinflamatorio y estimulador de la resorción ósea. Los mecanismos por los cuales la IL-7 favorece la resorción ósea implican actividad del RANKL y el TNF.¹¹

En la ooforectomía experimental se ha demostrado incremento en los niveles de IL-7, y la falta de expresión de esta citoquina protege de la pérdida ósea inducida por ooforectomía.¹²

Los mecanismos proinflamatorios de la IL-7 incluyen la expansión de las células T al disminuir su tolerancia antigénica e incrementan la presentación antigénica mediada por IFN- γ , disminuyendo los niveles de TGF- β . La IL-7 tiene efectos estimulatorios tanto en células T y B; estas últimas podrían tener un papel en la génesis de la osteoporosis mediada por actividad RANKL.³

Tanto los andrógenos como los estrógenos son potentes supresores de la actividad tímica, pues promueven la apoptosis y la detención de la diferenciación de células del sistema inmune; la castración induce la proliferación de células tímicas y su liberación a la periferia.³

El timo aporta aproximadamente el 50% del incremento en las células T inducido por la ooforectomía, y la timectomía reduce la pérdida ósea en un 50%. Estos hallazgos deben ser confirmados en seres humanos.¹³

En modelos de osteoporosis posmenopáusica se ha demostrado que la deficiencia de estrógenos induce la producción de oxidantes, especies reactivas de oxígeno (EROs), y disminuye la producción de antioxidantes; el suplemento con agentes antioxidantes como la N-acetilcisteína previene la pérdida ósea en un ambiente bajo en estrógenos.¹⁴

Las EROs tienen la capacidad de promover la generación y diferenciación de los osteoclastos, mecanismo mediado por la inhibición reversible de fosfatasa y la expresión de tioredoxina, la cual promueve la generación de los osteoclastos.¹⁵



Los estrógenos promueven la producción de glutatión peroxidasa en los osteoclastos, enzima que degrada el peróxido de hidrógeno, un poderoso oxidante.¹⁶ La generación de TNF en los osteoclastos es inducida por radicales libres, un proceso con gran similitud a los estados de deficiencia estrogénica. Las especies reactivas de oxígeno son estimuladores potentes de la actividad de las células inflamatorias, induciendo la actividad de las células presentadoras de antígenos, la expresión de moléculas coestimuladoras y favoreciendo la actividad de las células T.¹⁷

ANTIOXIDANTES EN EL MANEJO DE LA OSTEOPOROSIS POSMENOPÁUSICA

N-acetil cisteína: El suplemento con agentes antioxidantes como la N-acetilcisteína previene la pérdida ósea en un ambiente bajo en estrógenos (figura 4).¹⁸

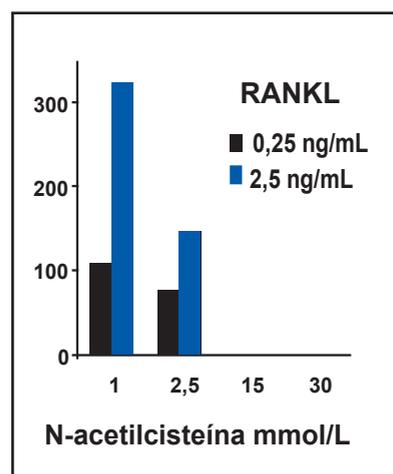


Figura 4. Supresión de la formación de osteoclastos mediado por RANKL por N-acetilcisteína en células RAW 264.7 (tomado de Satish Srinivasan. Ann NY Acad Sci. 1192;2010:245-52).

Licopeno: El papel del licopeno en la salud de los huesos está basado en sus propiedades como potente antioxidante; son bien conocidos el papel del estrés oxidativo en la salud

de los huesos y los reportes limitados de estudios del efecto del licopeno en cultivos de células de huesos.

Los estudios sobre los efectos del licopeno sobre los osteoblastos se limitan a solo dos. Uno de ellos mostró que el licopeno estimula la proliferación celular y el otro no; sin embargo, ambos encontraron que el licopeno tenía un efecto estimulador sobre la actividad ALP, un marcador de diferenciación osteoblástica en células más maduras. La discrepancia en el efecto del licopeno sobre la proliferación de las células puede ser diferente en especies o condiciones experimentales diferentes y se requiere más estudios para clarificar el papel del licopeno sobre los osteoblastos¹⁹

Rao y col. investigaron la correlación inversa entre el licopeno sérico y parámetros de estrés oxidativo y marcadores de volumen de hueso en mujeres posmenopáusicas que tuvieran riesgo de osteoporosis. Treinta y tres mujeres de entre 50 y 60 años fueron evaluadas durante siete días en un reporte de ingesta dietaria, antes de hacerles pruebas de sangre. Parámetros de estrés oxidativo, capacidad antioxidante total, licopeno sérico y marcadores de volumen de hueso ALP (formación de hueso) y colágeno tipo I de N-telo péptidos ligados (NTx) (resorción de hueso) fueron medidos en las muestras séricas. Los resultados más relevantes fueron: una correlación entre el licopeno ingerido y el licopeno sérico; el licopeno fue rápidamente absorbido por el cuerpo; hubo una significativa disminución en la oxidación de proteínas, que indicaba el incremento de tioles, y una disminución de los valores NTx, conforme los niveles de licopeno sérico se incrementaron.

Mientras hay una significativa correlación positiva entre el licopeno sérico

y el licopeno dietario como determinante del reporte de alimento estimado, las comunicaciones sostienen la hipótesis de que el licopeno dietario actúa como un antioxidante efectivo y reduce el estrés oxidativo y los marcadores de volumen del hueso. Estas observaciones sugieren un importante papel del licopeno mediante sus propiedades antioxidantes, al reducir el riesgo de padecer osteoporosis.^{19,20}

Vitamina A y retinol: Otros antioxidantes, como la vitamina A en exceso ha demostrado reducir la DMO y aumentar el riesgo de fracturas de cadera en las mujeres del norte de Europa, un grupo demográfico conocido por su alta incidencia de fractura de cadera. Feskanich y col. evaluaron los resultados del estudio the Nurses' Health Study for hip fracture and vitamin A intake y encontraron una fuerte asociación positiva entre el consumo de retinol y la tasa de fracturas en mujeres posmenopáusicas que no tomaban terapia de reemplazo hormonal. La vitamina A en forma de beta-caroteno (de origen vegetal) no tuvo un efecto significativo en el riesgo de fractura. Un total de 72 337 mujeres de 34 a 77 años de edad participaron en el estudio; la ingesta alimenticia fue evaluada en 1980, 1984, 1986, 1990 y 1994 utilizando un cuestionario semicuantitativo de frecuencia de alimentos. Las multivitaminas fueron la mayor fuente de retinol total, mientras que el hígado fue la mayor fuente dietética de retinol. El riesgo de fractura de cadera casi se duplicó en las mujeres con la ingesta de retinol de aproximadamente 2 000 mg/día o más, en comparación con las mujeres cuya ingesta era aproximadamente menos de 500 mg/d. El consumo diario de vitamina A recomendado para mujeres actualmente es de 700 mg/d, con un límite superior



tolerable de 3 000 mg/d. Michaelsson y col. también encontraron una fuerte asociación entre la alta ingesta de vitamina A y un mayor riesgo de fractura; los investigadores reclutaron 2 322 hombres de 49 a 51 años en un estudio longitudinal prospectivo de 30 años de seguimiento. El nivel de retinol sérico, pero no los niveles de beta-caroteno, se asoció positivamente con la tasa de fracturas. Por cada aumento de una desviación estándar en vitamina A, hubo un mayor riesgo de fracturas en 26%. Los resultados de estos dos estudios recientes no apoyan la recomendación de una excesiva ingesta de vitamina A. Aunque las relaciones de causa y efecto no pueden ser rescatados de estudios epidemiológicos, es probable que sea racional; por tanto, la suplementación de vitamina A no debe darse a menos que se justifique médicamente^{21,22}.

Vitamina C: ante la evidencia experimental que el ácido ascórbico disminuye la actividad osteoclástica, M. Sugiura y col. evaluaron el patrón alimentario de vitaminas antioxidantes y el consumo de carotenoides y su asociación con la DMO en mujeres posmenopáusicas con osteoporosis; se reclutó 293 mujeres japonesas y se determinó la DMO radial mediante DEXA. La ingesta diaria de vitaminas antioxidantes y carotenoides se evaluó mediante un cuestionario validado de frecuencia de alimentos. Estos investigadores demostraron la asociación de la DMO con los hábitos alimentarios de vitaminas antioxidantes y carotenoides, puesto que sus resultados sugieren que la combinación de vitamina C y beta-criptoxantina podría proporcionar beneficios para la salud ósea en las mujeres posmenopáusicas²³. En la figura 5 se muestra la supresión de la formación de osteoclastos por la vitamina C.

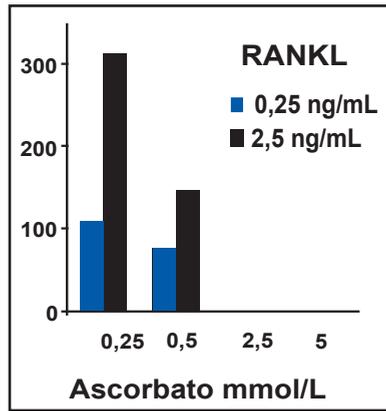


Figura 5. Supresión de la formación de osteoclastos mediado por RANKL por vitamina C, en células RAW 264.7 (tomado de Satish Srinivasan. Ann NY Acad Sci. 2010;1192:245–52).

Fuentes de óxido nítrico: La presencia de donantes de óxido nítrico (NO) previene la pérdida ósea inducida por ooforectomía; por el contrario, los inhibidores de la óxido-nítrico sintetasa hacen inefectiva la acción protectora del hueso mediada por estrógenos. Estudios

en humanos han demostrado que la nitroglicerina protege de fracturas por osteoporosis en las mujeres posmenopáusicas^{24,25}.

La figura 6 ilustra la eficacia, así como la equipotencia del donante de NO, nitroglicerina (NTG 30 mg/día), a los estrógenos, en el mantenimiento de la DMO en mujeres ooforectomizadas. Aunque esta dosis es inferior a la tomada por pacientes cardíacos para el alivio de la angina, la dosis es casi el doble de la que se utiliza en el estudio clínico NOVEL (teniendo en cuenta la adhesión). Por tanto, la dosis óptima es probable que sea entre 30 y 40 mg/d de NTG (o equivalencia). La figura 5B muestra los niveles de los marcadores bioquímicos urinarios N-telopéptido (NTx) (resorción ósea) y osteocalcina sérica (formación ósea) en este estudio en mujeres tratadas con donantes de NO (NTG) versus estrógenos²⁶.

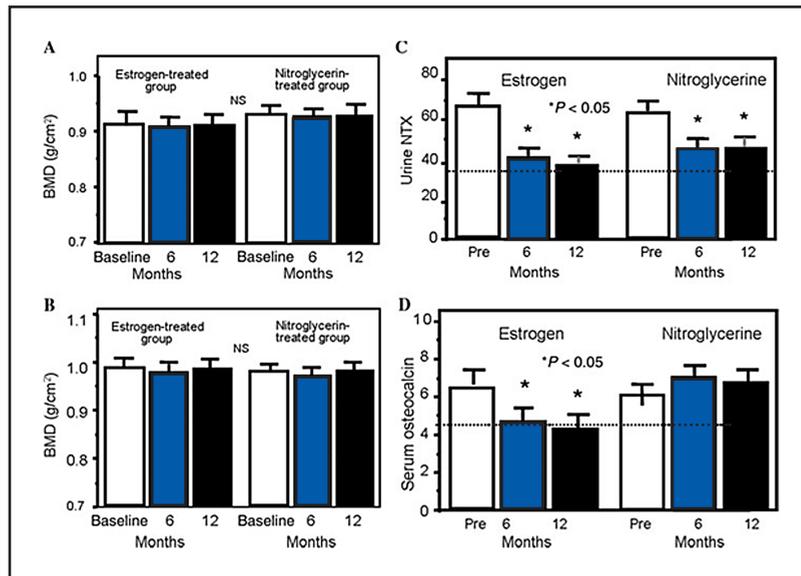


Figura 5. Equipotencia de nitroglicerina con terapia estrógena en mantener la DMO en mujeres en posmenopausia temprana. (A) DMO media (g/cm²) en columna lumbar, y (B) en cadera total en el grupo de mujeres ooforectomizadas tratadas con estrógenos (Premarin 0,625 mg/día) versus tratadas con nitroglicerina (30 mg/día) (n=7 por grupo; media ± SEM), al inicio (columnas abiertas), a los 6 meses (columnas sombreadas) y a los 12 meses (columnas sólidas) de tratamiento. No se observó diferencias estadísticas entre ambos grupos (es decir, las respuestas en los dos grupos fueron comparables). (C) Cambios en N-telopéptido urinario (NTx; nM BEC/mM creatinina) y (D) niveles de osteocalcina en sangre (ng/mL) en mujeres ooforectomizadas tratadas con estrógenos (Premarin 0,625 mg/día) versus nitroglicerina (30 mg/d) (n=7 por grupo; media ± SEM), basal y a los 6 y 12 meses. (Tomado de Wimalawansa. J Bone Miner Res. 15: 2240–4.)



CONCLUSIONES

El déficit de estrógenos induce la acción orquestada de hormonas y citoquinas que se integran para alterar el proceso de remodelación ósea. Los eventos iniciales pueden ser la disminución del TGF- β y el aumento de IGF-1, lo cual conduce a niveles incrementados de IL-7. Esta citoquina actúa sobre el timo, hueso y bazo, conduciendo a la activación de las células T.

La deficiencia de estrógenos produce disminución de los antioxidantes, la cual aumenta el nivel de especies reactivas de oxígeno, que amplifican la activación de las células T, la presentación antigénica, la osteoclastogénesis y la producción de TNF por los osteoclastos. Los efectos combinados de IFN- γ y las especies reactivas de oxígeno incrementan la presentación antigénica, la activación de las células T y promueven la liberación de factores osteoclastogénicos, como RANKL y TNF.

El TNF, al incrementar los niveles de IL-1, estimula la producción de RANKL y M-CSF en las células estromales y los osteoblastos, conduciendo a la formación de osteoclastos. Adicionalmente, el TNF y la IL-7 tienen efectos supresores sobre los osteoblastos.

Las mujeres con osteoporosis posmenopáusicas tienen un desequilibrio oxidativo que contribuye a una DMO reducida.

Los antioxidantes podrían tener un efecto protector contra las especies reactivas de oxígeno, controlando in vivo la resorción ósea. La suplementación de la terapia con una dieta enriquecida con antioxidantes podría ayudar en el

desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para la OP, fundamentalmente desde las etapas tempranas de la vida de la mujer.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Neer RM on behalf of the SWAN Investigators. Bone loss across the menopausal transition. *Ann NY Acad Sci.* 2010;1192:66-71.
2. Graham R, Russell G, Espina B, Hulley P. Bone biology and the pathogenesis of osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2006;18(suppl 1):S3-S10.
3. Rincón-Sierra O, Díaz-Yamal I, Pérez-Agudelo L. Patogénesis de la osteoporosis: papel de los estrógenos. *Rev Colomb Obstet Ginecol.* 2007;58(2).
4. Deroo BJ, Korach KS. Estrogen receptors and human disease. *J Clin Invest.* 2006;116:561-70.
5. Kousteni S, Han L, Chen JR, Almeida M, Plotkin LI, Bellido T, et al. Kinase-mediated regulation of common transcription factors accounts for the bone-protective effects of sex steroids. *J Clin Invest.* 2003;111:1651-64.
6. Weitzmann MN, Pacifici R. The role of T lymphocytes in bone metabolism. *Immunol Rev.* 2005;208:154-68.
7. Nanes MS. Tumor necrosis factor- α : molecular and cellular mechanisms in skeletal pathology. *Gene.* 2003;321:1-15.
8. Weitzmann MN, Pacifici R. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. *J Clin Invest.* 2006;116:1186-94.
9. Cenci S, Toraldo G, Weitzmann MN, Roggia C, Gao Y, Qian WP, et al. Estrogen deficiency induces bone loss by increasing T cell proliferation and lifespan through IFN- γ -induced class II transactivator. *Proc Natl Acad Sci.* 2003;100:10405-10.
10. Kotake S, Nanke Y, Mogi M, Kawamoto M, Furuya T, Yago T, et al. IFN- γ -producing human T cells directly induce

osteoclastogenesis from human monocytes via the expression of RANKL. *Eur J Immunol.* 2005;35:3353-63.

11. Gao Y, Qian WP, Dark K, Toraldo G, Lin AS, Guldborg RE, et al. Estrogen prevents bone loss through transforming growth factor beta signaling in T cells. *Proc Natl Acad Sci.* 2004;101:16618-23.
12. Lee SK, Kalinowski JF, Jacquin C, Adams DJ, Gronowicz G, Lorenzo JA. Interleukin-7 influences osteoclast function in vivo but is not a critical factor in ovariectomy-induced bone loss. *J Bone Miner Res.* 2006;21:695-702.
13. Ryan MR, Shepherd R, Leavey JK, Gao Y, Grassi F, Schnell FJ, et al. An IL-7-dependent rebound in thymic T cell output contributes to the bone loss induced by estrogen deficiency. *Proc Natl Acad Sci.* 2005;102:16735-40.
14. Muthusami S, Ramachandran I, Muthusamy B, Vasudevan G, Prabhu V, Subramaniam V, et al. Ovariectomy induces oxidative stress and impairs bone antioxidant system in adult rats. *Clin Chim Acta.* 2005;360:81-6.
15. Lean J, Kirstein B, Urry Z, Chambers T, Fuller K. Thioredoxin-1 mediates osteoclast stimulation by reactive oxygen species. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;321:845-50.
16. Lean JM, Jagger CJ, Kirstein B, Fuller K, Chambers TJ. Hydrogen peroxide is essential for estrogen-deficiency bone loss and osteoclast formation. *Endocrinology.* 2005;146:728-35.
17. Jagger CJ, Lean JM, Davies JT, Chambers TJ. Tumor necrosis factor- α mediates osteopenia caused by depletion of antioxidants. *Endocrinology.* 2005;146:113-8.
18. Srinivasan S, Koenigstein A, Joseph J, Sun L, Kalyanaraman B, Zaidi M, Avadhani NG. Role of mitochondrial reactive oxygen species in osteoclast differentiation. *Ann NY Acad Sci.* 2010;1192:245-252
19. Rao LG, Mackinnon ES, Josse



- RG, Murray TM, Strauss A, Rao AV. Lycopene consumption decreases oxidative stress and bone resorption markers in postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 2007;18:109-15.
20. Waliszewski KN, Blasco G. Propiedades nutraceuticas del licopeno. *Salud Publica Mex.* 2010;52:254-65.
21. Feskanich D, Singh V, Willett WC, Colditz GA. Vitamin A intake and hip fractures among postmenopausal women. *JAMA.* 2002;287:47-54.
22. Kitchin B, Morgan S. Nutritional considerations in osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2003;15:476-80.
23. Sugiura M, Nakamura M, Ogawa K, Ikoma Y, Ando F, Shimokata H, Yano M. Dietary patterns of antioxidant vitamin and carotenoid intake associated with bone mineral density: findings from post-menopausal Japanese female subjects. *Osteoporosis International* 2010 Mayo 18. [Publicación antes de impresión].
24. Jamal SA, Cummings SR, Hawker GA. Isosorbide mononitrate increases bone formation and decreases bone resorption in postmenopausal women: a randomized trial. *J Bone Miner Res.* 2004;19:1512-7.
25. Hao YJ, Tang Y, Chen FB, Pei FX. Different doses of nitric oxide donor prevent osteoporosis in ovariectomized rats. *Clin Orthop Relat Res.* 2005;435:226-31.
26. Wimalawansa SJ. Nitroglycerin therapy is as efficacious as standard estrogen replacement therapy (Premarin) in prevention of oophorectomy-induced bone loss: a human pilot clinical study. *J Bone Miner Res.* 2000;15:2240-4.