



## REVISIÓN

## Fisiopatología del envejecimiento óseo

Sergio Portal-Núñez<sup>a,\*</sup>, Daniel Lozano<sup>a,1</sup>, Mónica de la Fuente<sup>b,2</sup> y Pedro Esbrit<sup>a,1</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Metabolismo Mineral y Óseo, Instituto de Investigación Sanitaria-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, España

<sup>b</sup> Departamento de Fisiología Animal (Fisiología Animal II), Universidad Complutense, Madrid, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 4 de julio de 2011

Aceptado el 1 de septiembre de 2011

On-line el 14 de diciembre de 2011

#### Palabras clave:

Envejecimiento  
Osteoporosis  
Estrés oxidativo

#### Keywords:

Ageing  
Osteoporosis  
Oxidative stress

### R E S U M E N

El deterioro funcional de los órganos y sistemas es la manifestación principal del envejecimiento. En el caso del hueso, se considera que el envejecimiento constituye un factor de riesgo primordial en la pérdida de masa y calidad ósea, lo que trae como consecuencia un aumento de la incidencia de fracturas. Múltiples factores parecen contribuir a esta situación, entre los que se pueden incluir los cambios metabólicos que tienen lugar en el propio tejido óseo al envejecer. La mayoría de los conocimientos actuales sobre los mecanismos asociados a la osteopenia/osteoporosis durante el envejecimiento se han generado a partir de estudios en modelos animales (fundamentalmente, ratas y ratones) y en cultivos celulares obtenidos de sujetos de distinta edad. En este trabajo, hemos revisado y compendiado estos estudios, que han permitido establecer las bases fisiológicas y moleculares que subyacen en las alteraciones óseas asociadas al envejecimiento.

© 2011 SEGG. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

### Pathophysiology of aging bone

#### A B S T R A C T

Deterioration of organ and systems function are the principal signs of aging. Aging is also believed to be a major factor in the loss of bone mass and quality, which in turn leads to an increase in the risk of fractures. Several factors seem to contribute to this scenario, with metabolic changes related to aging in the bone tissue itself being among them. Most of the current knowledge on the mechanisms associated with osteopenia/osteoporosis during aging has been generated from research in animal models (mainly rats and mice) and cell cultures derived from subjects of different ages. In this work, we have reviewed and summarised these studies, which have begun to establish the physiological and molecular basis of the bone alterations related to aging.

© 2011 SEGG. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

### Introducción

En el envejecimiento tiene lugar un deterioro funcional de los tejidos, órganos y sistemas del organismo, especialmente de aquellos que mantienen la homeostasis corporal y, consecuentemente, la salud del individuo, lo que supone una mayor morbilidad y mortalidad con la edad<sup>1</sup>. Estudios epidemiológicos han demostrado una pérdida de masa ósea a partir de la tercera década de la vida, tanto en hombres como en mujeres, momento en el que se alcanza el

pico máximo de dicha masa ósea<sup>2,3</sup>. En un principio, esta pérdida de masa ósea va a afectar principalmente al hueso trabecular, pero en una fase posterior del proceso de envejecimiento también afecta al hueso cortical, siendo este hecho independiente de los cambios que tengan lugar en las hormonas sexuales<sup>2-4</sup>. No obstante, tras la menopausia, la osteopenia se acelera como consecuencia de la pérdida del papel protector de los estrógenos<sup>5</sup>.

Actualmente, se considera que el envejecimiento constituye un factor de riesgo primordial en la pérdida de masa y de resistencia ósea, que lleva como consecuencia un aumento de la incidencia de fracturas. Es más, la edad *per se* puede contribuir al aumento del riesgo de sufrir una fractura en relación con múltiples factores; algunos extraóseos, como las alteraciones neuromusculares relacionadas con la inmovilidad, el exceso de glucocorticoides y la insuficiencia renal (causante de un hiperparatiroidismo secundario debido al déficit de calcitriol)<sup>6</sup>. También hay que considerar en este contexto los cambios metabólicos que tienen lugar con la edad

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [sportal@fjd.es](mailto:sportal@fjd.es) (S. Portal-Núñez).

<sup>1</sup> Red Temática de Investigación Cooperativa en Envejecimiento y Fragilidad (RETICEF; RD006/0013/1002) del Instituto de Salud Carlos III, Madrid.

<sup>2</sup> Red Temática de Investigación Cooperativa en Envejecimiento y Fragilidad (RETICEF; RD006/0013/0003) del Instituto de Salud Carlos III, Madrid.

en el propio tejido óseo, como: 1) la peor calidad de las fibras de colágeno<sup>7</sup>; 2) la menor capacidad de reparación de microfracturas<sup>8</sup>; y 3) el aumento relativo de resorción ósea frente a la formación ósea<sup>9</sup>.

### Cambios histológicos en el tejido óseo con la edad

Los modelos en roedores (ratones y ratas) son una poderosa herramienta para la investigación de diversas afecciones humanas, y la osteopenia/osteoporosis asociada al envejecimiento no constituye una excepción. Al igual que sucede en los seres humanos, las ratas sufren una pérdida de masa ósea con la edad<sup>10</sup>. Además, la mineralización del osteoide tras la ablación medular en el fémur disminuye de forma significativa de los 6 a los 24 meses de edad (de la edad adulta a la vejez) en ratas Wistar macho<sup>11</sup>. Esta respuesta disminuida de la regeneración ósea asociada a la edad se refleja también en las propiedades histomorfométricas y estructurales del hueso<sup>12</sup>. La pérdida de masa ósea con la edad, tanto en el hueso cortical como en el trabecular, depende de la estirpe de rata estudiada<sup>10,13</sup>. Además, estudios en ratas envejecidas demuestran un aumento en la relación osteoclastos/osteoblastos asociado a la pérdida de hueso trabecular<sup>14</sup>.

Así mismo, tanto en ratones no-consanguíneos<sup>15-17</sup> como en cepas consanguíneas<sup>18-22</sup> se han observado cambios en la masa ósea asociados a la edad. Los ratones no-consanguíneos de la cepa CW-1 desarrollan su pico de masa ósea a los 12, 15 y 18 meses de edad en el hueso cortical, trabecular y subcondral, respectivamente, y sufren una pérdida de masa ósea cortical y trabecular entre un 20 y un 60%, respectivamente, hasta la etapa final del proceso de envejecimiento (alrededor de 30 meses)<sup>15,17</sup>. Esta pérdida de masa ósea se relaciona en estos animales con una insuficiente actividad osteoblástica y con una resorción ósea aumentada<sup>16,17</sup>. En ratones consanguíneos, de las cepas C57BL/6J, C3H/HeJ, BALB/cByJ y DBA/2J, la masa ósea está regulada por factores genéticos<sup>18,23-25</sup>, observándose una disminución de la masa ósea a partir de los 12 meses de edad<sup>18</sup>. De manera similar a lo que ocurre en las hembras CW-1, ratones macho de la cepa C57BL/6J pierden el 60% del volumen óseo trabecular y el 12% del espesor trabecular en la tibia entre los 6 y los 24 meses de edad, a la vez que disminuye la masa ósea total un 10%<sup>26</sup>. Utilizando cultivos primarios de células de ratones viejos (24 meses) C57BL/6 y BALB/c, se observó un moderado aumento en el número total de células de la médula ósea, de acuerdo con un aumento del tamaño cavitario<sup>27</sup>. El ratón macho de la estirpe C57BL/6 alcanza la madurez a las 12 semanas, no habiendo cambios significativos en la densidad mineral ósea ni en las propiedades mecánicas del fémur hasta las 42 semanas. Sin embargo, entre las 4 y las 22 semanas, desciende tanto la velocidad de formación ósea, como la tasa de aposición mineral y la superficie de hueso erosionada<sup>28</sup>.

El tipo de patrón de osteopenia en ratones<sup>10,23</sup> se observa también en los seres humanos, donde existe una pérdida lineal de hueso trabecular con la edad, mucho mayor que en el hueso cortical<sup>3,29-31</sup>. El área cortical de la diáfisis femoral aumenta hasta los 70 años, pero después decae tanto en mujeres como en varones; mientras que entre los 21 y 97 años el área medular se triplica en las mujeres y se duplica en los varones<sup>32</sup>. Por otro lado, la edad se asocia a un aumento de la porosidad intracortical en el fémur<sup>32</sup>. Es de destacar, que en humanos la expansión de la cavidad medular y la disminución del hueso cortical son dos de los principales procesos relacionados con las fracturas osteoporóticas<sup>32,33</sup>.

El mantenimiento de las propiedades mecánicas del hueso es de gran importancia para evitar lesiones y fracturas. En ratones C57BL/6J se ha comprobado que con la edad se mantienen dichas propiedades mecánicas por mecanismos similares a los observados en humanos<sup>34</sup>. Este mantenimiento, se debe en parte al

**Tabla 1**  
Cambios en la masa ósea con la edad en roedores y en humanos

Especie	Descripción	Cita
Rata (S-D)	♂ Vértebra, reducción en hueso trabecular 49% (DMO)	10
	♂ Metáfisis del fémur, reducción en hueso trabecular 58% (DMO)	
	♂ Metáfisis de tibia, reducción en hueso trabecular 71% (DMO)	
Rata (F344)	♂ Vértebra, reducción en hueso trabecular 29% (DMO)	13
	♂ Metáfisis del fémur, reducción en hueso trabecular 11% (DMO)	
	♂ Metáfisis de tibia, reducción en hueso trabecular 58% (DMO)	
Ratón (CW-1)	♀ Metáfisis del fémur, reducción en hueso cortical 18% y trabecular 57% (DMO)	15
Ratón (C57BL/6J)	♂ Diáfisis de tibia, reducción en hueso cortical 12% (BV/TV)	26
	♂ Metáfisis de tibia, reducción en hueso trabecular 60% (BV/TV)	
Ratón (C57BL/6J)	Vértebra ♀ reducción en hueso trabecular 52% (BV/TV)	35
	♂ reducción en hueso trabecular 26% (BV/TV)	
	Fémur ♀ reducción en hueso trabecular 94% (BV/TV)	
Humano	♂ reducción en hueso trabecular 56% (BV/TV)	29
	♀ Vértebra, reducción global de 47% (DMO)	
	♀ Radio medio, reducción global de 30% (DMO)	
	♀ Radio distal, reducción global de 39% (DMO)	
Humano	♀ Pérdida de hueso trabecular en cuerpo total 37% (vDMO)	3
	♀ Pérdida de hueso cortical en cuerpo total 6% (vDMO)	
	♂ Pérdida de hueso trabecular en cuerpo total 42% (vDMO)	
	♂ Pérdida de hueso cortical en cuerpo total 15% (vDMO)	

BV/TV: volumen óseo/volumen tisular; DMO: densidad mineral ósea; S-D: Sprague-Dawley; vDMO: densidad mineral ósea volumétrica.

incremento del momento de inercia debido al aumento del diámetro del periostio, aunque con una mayor porosidad cortical observada en ratones C57BL/6 machos de más de dos años de edad<sup>28</sup>.

Las consecuencias del envejecimiento en el tejido óseo podrían estar matizadas por las diferencias sexuales en los modelos animales usados en el laboratorio. A este respecto, un estudio reciente en ratones de la estirpe C57BL/6J demuestra que, aunque la densidad mineral ósea (DMO) y el peso total del animal aumentan con la edad en ambos sexos, el volumen óseo trabecular disminuye a partir de las 8 semanas; siendo este descenso más pronunciado en las hembras. Además, en éstas se produce un descenso anticipado de DMO en vértebras y en el fémur distal con respecto a los machos<sup>35</sup>. Este descenso se relaciona con una disminución en el número de trabéculas y con un ligero aumento del grosor trabecular. Durante el envejecimiento, los ratones machos de esta estirpe presentan un menor número de trabéculas, junto a una disminución de la conectividad trabecular<sup>26</sup>. Como se ha mencionado, estos ratones macho llegan a perder el 60% del volumen de hueso esponjoso entre los 6 y los 24 meses, similar a lo que ocurre en humanos<sup>26</sup>. Se ha sugerido que este descenso del volumen trabecular podría estar relacionado con un descenso en la actividad física y, como consecuencia, un aumento de peso que disminuiría los estímulos mecánicos en el hueso<sup>36</sup>. La tabla 1 resume los cambios observados en la masa ósea en modelos de roedores y en humanos con la edad.

Uno de los factores que regulan la masa ósea es el cociente osteoprotegerina (OPG)/ligando del receptor activador del factor nuclear (NF)-κB (RANKL) y se ha demostrado que este cociente se ve alterado con la edad. De hecho, se ha encontrado que la relación OPG/RANKL es menor en las tibias de ratones C57BL/6 machos de 6-24 meses frente a aquéllos de un mes y medio de edad;

fundamentalmente debido al aumento de la expresión del RANKL<sup>37</sup>. Estos resultados son coherentes con los observados en cultivos de osteoprogenitores de la médula ósea procedentes de sujetos de distintos grupos de edad<sup>38-40</sup>. Un cociente OPG/RANKL disminuido con la edad indicaría que habría un mayor número de osteoclastos durante el envejecimiento; de hecho, se ha demostrado la existencia de un mayor número relativo de precursores osteoclasticos respecto al de osteoblastos en la médula ósea de ratones C57BL/6 viejos<sup>41</sup>.

En ratones envejecidos C57BL/6 se ha demostrado, que paralelamente a la edad, aumenta la producción de glucocorticoides endógenos a través de la activación de la enzima 11  $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1. Este hecho se relaciona con una reducción de la vida media de las células óseas (osteoblastos y osteoclastos), junto a la disminución del transporte de solutos a través de las conexiones canaliculares osteocíticas, así como de la angiogénesis, fundamental en el metabolismo óseo<sup>42,43</sup>. Todo ello puede deberse, al menos en parte, a que los glucocorticoides inhiben la activación del factor de hipoxia inducible-1 (HIF-1) que promueve la transcripción del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF)<sup>44</sup>.

Uno de los problemas asociados a los estudios del envejecimiento en este tipo de roedores es que requieren un tiempo relativamente largo (hasta dos años) para desarrollar el modelo en el que realizar la experimentación que corrobore las hipótesis planteadas. En este sentido, los modelos de ratones envejecidos prematuramente, con características similares a los envejecidos cronológicamente, presentan una serie de ventajas. Así, los ratones de la estirpe SAMP6, caracterizados en la década de los 80 como un modelo de senescencia, presentan un grosor cortical menor en el fémur y osteopenia a los 5 meses de edad, y una mayor tendencia a sufrir fracturas a edades avanzadas<sup>45,46</sup>. Se ha demostrado que a esta edad, las vértebras de estos ratones poseen un menor número de progenitores osteoblásticos y de osteoclastos y menor masa ósea<sup>47</sup>.

En resumen, un análisis meticuloso de los efectos óseos de la edad en ratas y ratones demuestra la utilidad de estos modelos animales en el estudio de la osteopenia/osteoporosis durante el envejecimiento en humanos. En particular, el ratón presenta la ventaja de una gran disponibilidad de estirpes transgénicas. Sin embargo, hay que tener en cuenta algunas particularidades de los modelos en roedores a la hora de extrapolar los resultados obtenidos en estos modelos a la práctica clínica. Entre ellos se pueden mencionar: el continuo crecimiento óseo (modelado) a partir de la placa de crecimiento; la falta de menopausia; y la ausencia de sistema haversiano y de remodelado cortical. En este sentido, un estudio desarrollado con primates del nuevo mundo (*Challitrix jacchus*) envejecidos, ha demostrado la idoneidad de este tipo de simios para investigar el envejecimiento óseo<sup>48</sup>.

### Alteraciones de la reparación ósea con la edad

Se sabe que la tasa de reparación de una fractura disminuye a partir de los 30 años, aunque se conocen mal los mecanismos moleculares subyacentes. En la actualidad, el déficit de regeneración ósea tras una fractura en la población envejecida es un problema clínico de gran importancia<sup>49</sup>. Está bien documentado que durante el envejecimiento existe una disminución de las células osteoprogenitoras, un aumento del potencial adipogénico en la médula ósea a expensas de la condrogénesis y la osteogénesis, junto con una alteración de la competencia osteoblástica para modular la osteoclastogénesis<sup>41,50,51</sup>. Estos factores pueden influir negativamente en la reparación de fracturas. Además, también se ha observado una disminución con la edad de las células endoteliales y de los factores y las vías de señalización que las modulan,

indicando que la formación de vasos sanguíneos, impedida al envejecer, afecta al proceso de reparación ósea<sup>52,53</sup>.

### Cambios en la función osteoblástica con la edad

Los mecanismos fisiopatológicos de la osteopenia relacionada con la edad aún no están totalmente esclarecidos. Actualmente se considera clave el déficit de formación ósea al avanzar la edad, produciéndose una disminución drástica de las superficies de formación ósea frente a las de resorción, lo que indica una falta de capacidad osteoblástica para reconstituir el hueso resorbido en las unidades de remodelado óseo<sup>14,26,54,55</sup>. En principio, este hecho se atribuye a una disminución del número de osteoprogenitores derivados de células mesenquimales de la médula ósea, a costa de otros linajes alternativos (fibroblastos, adipocitos y condrocitos) compartidos por estas células mesenquimales<sup>56</sup>. Alternativamente, el envejecimiento parece afectar al crecimiento y/o a la función de las células osteoformadoras (osteoblastos). Diversas evidencias experimentales sugieren que este último tipo de mecanismo sería el predominante para explicar el déficit de formación ósea al envejecer<sup>14,57,58</sup>.

Se ha descrito una disminución asociada a la edad en el contenido total óseo de osteocalcina en los seres humanos<sup>59</sup>, así como en la actividad del promotor del gen de osteocalcina en ratones transgénicos que lo sobreexpresan<sup>60</sup>. Además, se sabe que el aumento de la osteocalcina, tanto ósea como circulante, en respuesta al calcitriol, disminuye con la edad<sup>61</sup>. Así mismo, la respuesta de otra proteína que responde a esta hormona, la calbindina D, disminuye con la edad en el duodeno de rata<sup>62</sup>.

Teniendo en cuenta la correlación entre la formación ósea objetivada mediante histomorfometría y el crecimiento de células osteoblásticas en cultivo primario *ex vivo*<sup>63,64</sup>, se han utilizado estos cultivos humanos (células hOB) como correlato de la situación *in vivo*. De este modo, se ha descrito una disminución, relacionada con el envejecimiento, de la capacidad de proliferación celular basal y tras estimulación con varios factores de crecimiento<sup>65-67</sup>; por el contrario, con la edad, las células hOB secretan más fosfatasa alcalina<sup>65</sup>. Estos hallazgos indican una mayor maduración osteoblástica durante el envejecimiento.

Las células osteoblásticas interaccionan con una variedad de factores locales y endocrinos que actúan como moduladores del remodelado óseo<sup>68,69</sup>. Entre estos últimos, la parathormona (PTH) y el metabolito activo de la vitamina D<sub>3</sub>, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> o calcitriol, son importantes reguladores de la función osteoblástica. Se ha observado que la respuesta a la PTH varía en las células hOB con la edad del donante de estos cultivos<sup>67,70</sup>. En esta situación, nuestro grupo ha demostrado una disminución de la expresión (génica y proteica) de la proteína relacionada con la PTH (PTHrP), un importante modulador local de la formación ósea, asociada a la del VEGF en las células hOB durante el envejecimiento<sup>71</sup>.

La respuesta ósea al calcitriol también disminuye con la edad. Así, se ha demostrado que la acción anabólica de la vitamina D depende del tipo de hueso (trabecular o cortical) y de la edad del receptor<sup>72-74</sup>. En respuesta al calcitriol, disminuye la secreción del péptido C-terminal del procolágeno tipo I y de la fosfatasa alcalina —marcadores tempranos de maduración osteoblástica—, mientras la producción de osteocalcina (a nivel de expresión génica y de proteína) —un marcador más tardío— se atenúa en las células hOB aisladas de la cadera (un hueso de composición predominantemente cortical) de sujetos mayores de 70 años<sup>75,76</sup>. La base molecular de esta deficiente respuesta al calcitriol la ha suministrado, al menos en parte, el hecho de que los niveles del ARNm de su receptor (evaluados por RT-PCR), están disminuidos en las células hOB de estos sujetos ancianos<sup>76</sup>. De acuerdo con estos hallazgos, se ha observado una disminución similar en la respuesta al

calcitriol de células hOB procedentes de pacientes con bajo remodelado óseo<sup>77</sup>, así como una resistencia a la acción de la PTH sobre la  $1\alpha$ -hidroxilasa renal en ratas viejas<sup>78</sup>.

Así mismo, estudios *in vitro* en células hOB e *in vivo* en roedores indican que la capacidad osteogénica de una diversidad de factores locales, como el factor transformante del crecimiento  $\beta$ , la proteína morfogénica del hueso-2 o el factor similar a la insulina tipo 1, disminuyen con la edad<sup>67,79</sup>. Es interesante resaltar en este contexto que se ha demostrado una disminución del contenido de este último factor, paralelo al de osteocalcina, en la cabeza femoral con la edad<sup>59</sup>.

Recientemente, se ha demostrado que el tratamiento de pacientes ancianos hipertensos y osteoporóticos con antagonistas de los receptores de angiotensina II aumenta la masa ósea<sup>80,81</sup>. Este efecto beneficioso se atribuye al efecto de estos fármacos impidiendo la acción inhibitoria de la angiotensina II sobre la expresión de osteocalcina y la actividad de fosfatasa alcalina<sup>82,83</sup>. Dichos efectos inhibitorios de la angiotensina II son probablemente debidos a que este péptido, a través del aumento de AMPc, disminuye la expresión del factor de transcripción relacionado con runt 2 que regula la expresión de los marcadores osteoblásticos citados<sup>84</sup>. Este aumento de AMPc produce a su vez el incremento de la expresión de RANKL, favoreciendo así la diferenciación osteoclástica<sup>85</sup>.

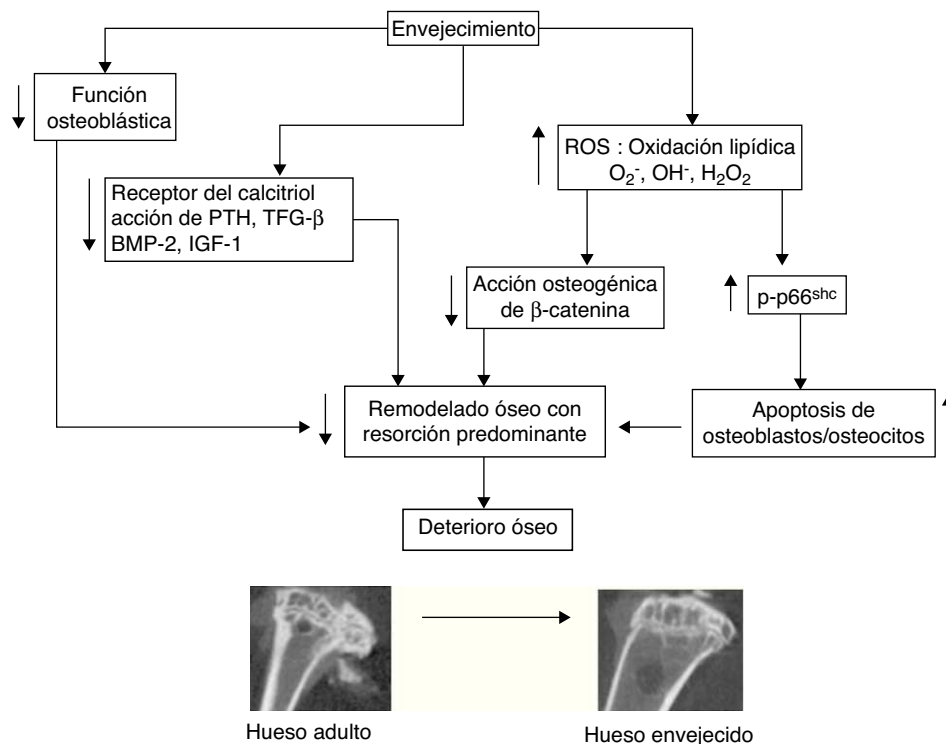
Un importante modulador del envejecimiento celular es el producto del gen *Klotho*<sup>86</sup>. Ratones carentes de este gen sufren un envejecimiento acelerado acompañado de osteopenia. Esta osteopenia se caracteriza por una reducción del grosor cortical en fémur, tibia y vértebras, en porcentajes que varían de 20 al 40%, acompañada de un descenso del remodelado óseo (tanto en la formación ósea como en la resorción ósea). Además, células

estromales de la médula ósea de estos ratones poseen una disminución de su capacidad de formación de nódulos mineralizados y de la actividad de fosfatasa alcalina<sup>87</sup>. Paradójicamente, estos ratones deficientes en *Klotho* poseen un aumento del porcentaje de volumen óseo/volumen tisular en el hueso trabecular de las vértebras y de las metáfisis de los huesos largos; un efecto atribuido al aumento selectivo de actividad de la vía Wnt en ausencia de *Klotho* en estas localizaciones<sup>87,88</sup>.

Uno de los factores que contribuyen a la senescencia celular es la disminución de la actividad de la telomerasa en las células somáticas<sup>89</sup>. De hecho, se ha demostrado que ratones con ausencia de telomerasa presentan un descenso en la masa ósea a los tres meses del nacimiento, asociado a una reducción de formación ósea y a defectos en la proliferación y diferenciación de los osteoblastos<sup>90</sup>. Por ello, células precursoras que mantengan sus telómeros intactos y diferenciables a osteoblastos sería una estrategia adecuada para regenerar el tejido óseo en situación de osteopenia. En este sentido, se ha demostrado que células estromales que conservan sus telómeros intactos derivadas del tejido adiposo de ratones *SAMP6*, que presentan un déficit de osteoprogenitores, pueden ser derivadas a células osteoblásticas con la misma capacidad de mineralización y actividad de fosfatasa alcalina que las procedentes de ratones controles<sup>91</sup>.

### Papel del estrés oxidativo en la osteopenia asociada al envejecimiento

El envejecimiento se explica mayoritariamente como una consecuencia del desequilibrio en los niveles de agentes oxidantes y antioxidantes, con una mayor presencia de los primeros, en lo que se denomina «estrés oxidativo». Este aumento de la oxidación con



**Figura 1.** Mecanismos propuestos por los cuales el envejecimiento produce deterioro óseo. Al envejecer, tiene lugar una disminución de la función osteoblástica, de la expresión del receptor del calcitriol y de la respuesta por parte de los osteoblastos a la acción de la PTH, factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) y factor de crecimiento similar a insulina tipo-1 (IGF-1). El envejecimiento produce un aumento de estrés oxidativo que se traduce en unos mayores niveles de ROS. Esto provoca que el factor de transcripción  $\beta$ -catenina se una a FoxO para transcribir genes relacionados con la respuesta oxidativa en vez de genes osteogénicos. La aparición de ROS induce la fosforilación de p66<sup>shc</sup>, lo que conlleva a un aumento de la apoptosis de osteoblastos y osteocitos. Todo ello, en conjunto contribuye al deterioro de la masa y de la calidad ósea. Imagen: microtomografía computarizada ( $\mu$ CT) de la tibia de ratones CD-1 hembras de 6 meses (izquierda) y de 18 meses (derecha) de edad, realizada por la Dra. Francisca Mulero en la Unidad de Imagen del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO, Madrid).



la edad conduce a la disfunción de los sistemas de regulación metabólica y al aumento del riesgo de enfermedad<sup>92,93</sup>. En condiciones normales, la mitocondria produce niveles moderados de especies reactivas de oxígeno (ROS, utilizando las siglas inglesas de *reactive oxygen species*). Las alteraciones de este orgánulo durante el envejecimiento, el cual se ha considerado la primera diana de las ROS<sup>1</sup>, dan lugar a una producción excesiva de ROS, que inducen daño celular y apoptosis<sup>94,95</sup>.

La disminución de la masa y la resistencia ósea con la edad y en la menopausia parece asociarse con el estrés oxidativo tanto en roedores como en humanos<sup>55,96</sup>. La generación de ROS —anión superóxido ( $O_2^-$ ), radicales  $OH^-$  y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ )— por la oxidación de ácidos grasos o en respuesta a la inflamación, disminuye la supervivencia osteoblástica<sup>55</sup>. Las ROS se asocian a la fosforilación de p66<sup>Shc</sup>, una proteína responsable de amplificar la respuesta oxidativa y de la inducción de apoptosis osteoblástica y osteocítica<sup>55,97</sup>.

La activación de factores de transcripción de la familia FoxO (del inglés *forkhead box protein*) tiene lugar como mecanismo de defensa contra el estrés oxidativo<sup>6</sup>. Este mecanismo implica la interacción de FoxOs con  $\beta$ -catenina para inducir la expresión de genes como el de la catalasa, evitando así la interacción de  $\beta$ -catenina con factores de transcripción de linfocitos T (TCF), necesaria para estimular la diferenciación osteoblástica<sup>55</sup>. Con la edad, se ha demostrado una disminución de la transcripción de genes diana de  $\beta$ -catenina/TCF, un aumento de los modulados por FoxOs en relación con el estrés oxidativo y la disminución de la formación ósea en ratones<sup>57</sup>. El papel crítico de FoxOs en el metabolismo óseo viene avalado por estudios en ratones con manipulación genética de su expresión. Así, la eliminación génica de FoxO 1, 3 y 4 aumenta el estrés oxidativo en el hueso e induce una pérdida de masa ósea (a nivel trabecular y cortical) debida a la mayor apoptosis osteoblástica y a la disminución de formación ósea en estos ratones<sup>98</sup>.

Por otra parte, la formación de lípidos oxidados dependiente de lipoxigenasas juega también un papel importante en la osteopenia del envejecimiento. Se ha comprobado que la expresión de varias lipoxigenasas (como Alox12 y Alox15), así como el 4-hidroxinonenal (un producto de peroxidación lipídica), aumentan en el hueso de ratón durante el envejecimiento. Estos cambios se asocian al aumento del receptor activador de la proliferación de peroxisomas (PPAR) —que aumenta la capacidad adipogénica en la médula ósea— y la osteopenia<sup>99</sup>.

Diversos estudios sugieren la posible interacción del estrés oxidativo con factores osteogénicos. Así, se ha demostrado que los productos de oxidación lipídica inhiben la acción de algunos de estos factores<sup>100,101</sup>. Además, recientemente, se ha demostrado en ratones un aumento de la acción anabólica ósea de la PTH con la edad, en relación con sus propiedades antioxidantes<sup>102</sup>. Por otra parte, las ROS actúan como moléculas de señalización para inducir la transcripción del VEGF por la angiotensina II, un factor proinflamatorio<sup>103</sup>. A este respecto, nuestro grupo ha demostrado que la PTHrP ejerce acciones pro-inflamatorias en varios tipos celulares incluyendo los osteoblastos, en parte a través de la inducción de genes sensibles al sistema redox, como la proteína quimiotáctica de monocitos-1 y la interleuquina-6<sup>104-106</sup>. Más recientemente, hemos encontrado que la PTHrP es capaz de contrarrestar el estrés oxidativo inducido por el  $H_2O_2$  en células osteoprogenitoras de ratón en relación con su acción osteogénica<sup>107</sup>.

Todos estos datos en conjunto apoyan la hipótesis de que el estrés oxidativo es primordial para explicar las alteraciones óseas asociadas al envejecimiento. De este modo, los mecanismos relacionados con dicho estrés podrían constituir posibles dianas moleculares para el diseño de agentes terapéuticos en el contexto de la pérdida de masa ósea asociada a la edad.

## Conclusiones

Los datos actuales sugieren que el deterioro óseo que tiene lugar al envejecer no es sólo consecuencia de alteraciones hormonales, sino que se debe en gran medida a un aumento del estrés oxidativo. Tanto la disminución de los niveles de hormonas sexuales, que a su vez contribuye a disminuir los mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo, como el aumento de la peroxidación lipídica y de los glucocorticoides endógenos (ambos hechos, en parte debidos también al estrés oxidativo) son procesos que promueven el deterioro óseo. Estos factores unidos a la pérdida de función osteoblástica y a la falta de respuesta a factores osteogénicos contribuyen a la aparición de la osteopenia/osteoporosis al avanzar la edad (fig. 1). Por todo ello, es de suma importancia el desarrollo de modelos animales que permitan estudiar de modo pleiotrópico estos mecanismos y su impacto relativo en la osteoporosis involutiva. Estos modelos serán de gran utilidad para diseñar terapias idóneas para promover la formación y la regeneración ósea en las fracturas en pacientes de edad avanzada.

## Agradecimientos

Los Dres. Sergio Portal-Núñez y Daniel Lozano poseen contratos post-doctorales del Instituto de Salud Carlos III (RETICEF RD006/0013/1002) y de la Comunidad Autónoma de Madrid (S-2009/MAT-1472), respectivamente. Los trabajos de nuestro grupo citados en esta revisión han sido llevados a cabo con ayudas del Ministerio de Ciencia e Innovación, del Instituto de Salud Carlos III y de la Comunidad Autónoma de Madrid.

## Bibliografía

1. De la Fuente M, Miquel J. An update of the oxidation-inflammation theory of aging: the involvement of the immune system in oxi-inflamm-aging. *Curr Pharm Des.* 2009;15:3003-26.
2. Nordin BE, Need AG, Bridges A, Horowitz M. Relative contributions of years since menopause, age, and weight to vertebral density in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;74:20-3.
3. Riggs BL, Melton LJ, Robb RA, Camp JJ, Atkinson EJ, McDaniel L, et al. A population-based assessment of rates of bone loss at multiple skeletal sites: evidence for substantial trabecular bone loss in young adult women and men. *J Bone Miner Res.* 2008;23:205-14.
4. Zebaze RM, Ghasem-Zadeh A, Bohte A, Iuliano-Burns S, Mirams M, Price RI, et al. Intracortical remodelling and porosity in the distal radius and post-mortem femurs of women: a cross-sectional study. *Lancet.* 2010;375:1729-36.
5. Khosla S, Riggs BL. Pathophysiology of age-related bone loss and osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2005;34:1015-30.
6. Manolagas SC. From estrogen-centric to aging and oxidative stress: a revised perspective of the pathogenesis of osteoporosis. *Endocr Rev.* 2010;31:266-300.
7. Bailey AJ, Knott L. Molecular changes in bone collagen in osteoporosis and osteoarthritis in the elderly. *Exp Gerontol.* 1999;34:337-51.
8. Verborgt O, Gibson GJ, Schaffler MB. Loss of osteocyte integrity in association with microdamage and bone remodeling after fatigue in vivo. *J Bone Miner Res.* 2000;15:60-7.
9. Heaney RP. Is the paradigm shifting? *Bone.* 2003;33:457-65.
10. Wang L, Banu J, McMahan CA, Kalu DN. Male rodent model of age-related bone loss in men. *Bone.* 2001;29:141-8.
11. Liang CT, Barnes J, Seedor JG, Quartuccio HA, Bolander M, Jeffrey JJ, et al. Impaired bone activity in aged rats: alterations at the cellular and molecular levels. *Bone.* 1992;13:435-41.
12. Kiebzak GM, Smith R, Gundberg CC, Howe JC, Sacktor B. Bone status of senescent male rats: chemical, morphometric, and mechanical analysis. *J Bone Miner Res.* 1988;3:37-45.
13. Banu J, Wang L, Kalu DN. Age-related changes in bone mineral content and density in intact male F344 rats. *Bone.* 2002;30:125-30.
14. Roholl PJ, Blauw E, Zurcher C, Dormans JA, Theuns HM. Evidence for a diminished maturation of preosteoblasts into osteoblasts during aging in rats: an ultrastructural analysis. *J Bone Miner Res.* 1994;9:355-66.
15. Weiss A, Arbell I, Steinhagen-Thiessen E, Silbermann M. Structural changes in aging bone: osteopenia in the proximal femurs of female mice. *Bone.* 1991;12:165-72.
16. Bar-Shira-Maymon B, Coleman R, Cohen A, Steinhagen-Thiessen E, Silbermann M. Age-related bone loss in lumbar vertebrae of CW-1 female mice: a histomorphometric study. *Calcif Tissue Int.* 1989;44:36-45.

17. Bar-Shira-Maymon B, Coleman R, Steinhagen-Thiessen E, Silbermann M. Correlation between alkaline and acid phosphatase activities and age-related osteopenia in murine vertebrae. *Calcif Tissue Int.* 1989;44:99-107.
18. Beamer WG, Donahue LR, Rosen CJ, Baylink DJ. Genetic variability in adult bone density among inbred strains of mice. *Bone.* 1996;18:397-403.
19. Gazit D, Zilberman Y, Ebner R, Kahn A. Bone loss (osteopenia) in old male mice results from diminished activity and availability of TGF-beta. *J Cell Biochem.* 1998;70:478-88.
20. Kobayashi Y, Goto S, Tanno T, Yamazaki M, Moriya H. Regional variations in the progression of bone loss in two different mouse osteopenia models. *Calcif Tissue Int.* 1998;62:426-36.
21. Rowlett C, Chesterman FC, Sheriff MU. Lifespan, age changes and tumour incidence in an ageing C57BL mouse colony. *Lab Anim.* 1976;10:419-42.
22. Silbermann M, Weiss A, Reznick AZ, Eilam Y, Szydel N, Gershon D. Age-related trend for osteopenia in femurs of female C57BL/6 mice. *Compr Gerontol A.* 1987;1:45-51.
23. Akhter MP, Iwaniec UT, Covey MA, Cullen DM, Kimmel DB, Recker RR. Genetic variations in bone density, histomorphometry, and strength in mice. *Calcif Tissue Int.* 2000;67:337-44.
24. Klein RF, Shea M, Gunness ME, Pelz GB, Belknap JK, Orwoll ES. Phenotypic characterization of mice bred for high and low peak bone mass. *J Bone Miner Res.* 2001;16:63-71.
25. Turner CH, Hsieh YF, Muller R, Bouxsein ML, Baylink DJ, Rosen CJ, et al. Genetic regulation of cortical and trabecular bone strength and microstructure in inbred strains of mice. *J Bone Miner Res.* 2000;15:1126-31.
26. Halloran BP, Ferguson VL, Simske SJ, Burghardt A, Venton LI, Majumdar S. Changes in bone structure and mass with advancing age in the male C57BL/6J mouse. *J Bone Miner Res.* 2002;17:1044-50.
27. Perkins SL, Gibbons R, Kling S, Kahn AJ. Age-related bone loss in mice is associated with an increased osteoclast progenitor pool. *Bone.* 1994;15:65-72.
28. Ferguson VL, Ayers RA, Bateman TA, Simske SJ. Bone development and age-related bone loss in male C57BL/6J mice. *Bone.* 2003;33:387-98.
29. Riggs BL, Wahner HW, Dunn WL, Mazess RB, Offord KP, Melton LJ. Differential changes in bone mineral density of the appendicular and axial skeleton with aging: relationship to spinal osteoporosis. *J Clin Invest.* 1981;67:328-35.
30. Rodin A, Murby B, Smith MA, Caleffi M, Fentiman I, Chapman MG, et al. Premenopausal bone loss in the lumbar spine and neck of femur: a study of 225 Caucasian women. *Bone.* 1990;11:1-5.
31. Schaad O, Bohr H. Different trends of age-related diminution of bone mineral content in the lumbar spine, femoral neck, and femoral shaft in women. *Calcif Tissue Int.* 1988;42:71-6.
32. Feik SA, Thomas CD, Clement JG. Age-related changes in cortical porosity of the midshaft of the human femur. *J Anat.* 1997;191:407-16.
33. Bell KL, Loveridge N, Power J, Garrahan N, Stanton M, Lunt M, et al. Structure of the femoral neck in hip fracture: cortical bone loss in the inferoanterior to superoposterior axis. *J Bone Miner Res.* 1999;14:111-9.
34. Stein MS, Thomas CD, Feik SA, Wark JD, Clement JG. Bone size and mechanics at the femoral diaphysis across age and sex. *J Biomech.* 1998;31:1101-10.
35. Glatt V, Canalis E, Stadmeier L, Bouxsein ML. Age-related changes in trabecular architecture differ in female and male C57BL/6J mice. *J Bone Miner Res.* 2007;22:1197-207.
36. Hamrick MW, Ding KH, Pennington C, Chao YJ, Wu YD, Howard B, et al. Age-related loss of muscle mass and bone strength in mice is associated with a decline in physical activity and serum leptin. *Bone.* 2006;39:845-53.
37. Cao J, Venton L, Sakata T, Halloran BP. Expression of RANKL and OPG correlates with age-related bone loss in male C57BL/6 mice. *J Bone Miner Res.* 2003;18:270-7.
38. Fazzalari NL, Kuliwaba JS, Atkins GJ, Forwood MR, Findlay DM. The ratio of messenger RNA levels of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand to osteoprotegerin correlates with bone remodeling indices in normal human cancellous bone but not in osteoarthritis. *J Bone Miner Res.* 2001;16:1015-27.
39. Makhlef HA, Mueller SM, Mizuno S, Glowacki J. Age-related decline in osteoprotegerin expression by human bone marrow cells cultured in three-dimensional collagen sponges. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;268:669-72.
40. Ikeda T, Utsuyama M, Hirokawa K. Expression profiles of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand, receptor activator of nuclear factor kappaB, and osteoprotegerin messenger RNA in aged and ovariectomized rat bones. *J Bone Miner Res.* 2001;16:1416-25.
41. Cao JJ, Wronski TJ, Iwaniec U, Phegler L, Kurimoto P, Boudignon B, et al. Aging increases stromal/osteoblastic cell-induced osteoclastogenesis and alters the osteoclast precursor pool in the mouse. *J Bone Miner Res.* 2005;20:1659-68.
42. Trueta J, Trias A. The vascular contribution to osteogenesis. IV. The effect of pressure upon the epiphyseal cartilage of the rabbit. *J Bone Joint Surg Br.* 1961;43-B:800-13.
43. Trueta J, Buhr AJ. The vascular contribution to osteogenesis. V. The vasculature supplying the epiphyseal cartilage in rachitic rats. *J Bone Joint Surg Br.* 1963;45:572-81.
44. Weinstein RS, Wan C, Liu Q, Wang Y, Almeida M, O'Brien CA, et al. Endogenous glucocorticoids decrease skeletal angiogenesis, vascularity, hydration, and strength in aged mice. *Aging Cell.* 2010;9:147-61.
45. Matsushita M, Tsuboyama T, Kasai R, Okumura H, Yamamuro T, Higuchi K, et al. Age-related changes in bone mass in the senescence-accelerated mouse (SAM). SAM-R/3 and SAM-P/6 as new murine models for senile osteoporosis. *Am J Pathol.* 1986;125:276-83.
46. Takeda T, Hosokawa M, Takeshita S, Irino M, Higuchi K, Matsushita T, et al. A new murine model of accelerated senescence. *Mech Ageing Dev.* 1981;17:183-94.
47. Jilka RL, Weinstein RS, Takahashi K, Parfitt AM, Manolagas SC. Linkage of decreased bone mass with impaired osteoblastogenesis in a murine model of accelerated senescence. *J Clin Invest.* 1996;97:1732-40.
48. Bagi CM, Volberg M, Moalli M, Shen V, Olson E, Hanson N, et al. Age-related changes in marmoset trabecular and cortical bone and response to alendronate therapy resemble human bone physiology and architecture. *Anat Rec (Hoboken).* 2007;290:1005-16.
49. Adamo S, Adams J, Adams J, Alanay Y, Arnold A, Arteaga-Solis E, et al. Primer on the metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. Washington D.C.: The American Society for Bone and Mineral Research; 2008.
50. Hee HT, Wong HP, Low YP, Myers L. Predictors of outcome of floating knee injuries in adults: 89 patients followed for 2-12 years. *Acta Orthop Scand.* 2001;72:385-94.
51. Akune T, Ohba S, Kamekura S, Yamaguchi M, Chung UI, Kubota N, et al. PPARgamma insufficiency enhances osteogenesis through osteoblast formation from bone marrow progenitors. *J Clin Invest.* 2004;113:846-55.
52. Brandes RP, Fleming I, Busse R. Endothelial aging. *Cardiovasc Res.* 2005;66:286-94.
53. Edelberg JM, Reed MJ. Aging and angiogenesis. *Front Biosci.* 2003;8:s1199-209.
54. Lips P, Courpron P, Meunier PJ. Mean wall thickness of trabecular bone packets in the human iliac crest: changes with age. *Calcif Tissue Res.* 1978;26:13-7.
55. Almeida M, Han L, Martín-Millán M, Plotkin LI, Stewart SA, Roberson PK, et al. Skeletal involution by age-associated oxidative stress and its acceleration by loss of sex steroids. *J Biol Chem.* 2007;282:27285-97.
56. Shih MS, Cook MA, Spence CA, Palnitkar S, McElroy H, Parfitt AM. Relationship between bone formation rate and osteoblast surface on different subdivisions of the endosteal envelope in aging & osteoporosis. *Bone.* 1993;14:519-21.
57. Almeida M, Han L, Martín-Millán M, O'Brien CA, Manolagas SC. Oxidative stress antagonizes Wnt signaling in osteoblast precursors by diverting beta-catenin from T cell factor- to forkhead box O-mediated transcription. *J Biol Chem.* 2007;282:27298-305.
58. Hock JM, Onyia J, Bidwell J. Comparisons of in vivo and in vitro models of the response of osteoblasts to hormonal regulation with aging. *Calcif Tissue Int.* 1995;56 Suppl 1:S44-7.
59. Boonen S, Aerssens J, Dequeker J, Nicholson P, Cheng X, Lowet G, et al. Age-associated decline in human femoral neck cortical and trabecular content of insulin-like growth factor I: potential implications for age-related (type II) osteoporotic fracture occurrence. *Calcif Tissue Int.* 1997;61:173-8.
60. Frenkel B, Capparelli C, Van Auken M, Baran D, Bryan J, Stein JL, et al. Activity of the osteocalcin promoter in skeletal sites of transgenic mice and during osteoblast differentiation in bone marrow-derived stromal cell cultures: effects of age and sex. *Endocrinology.* 1997;128:2109-16.
61. Vanderschueren D, Gevers G, Raymaekers G, Devos P, Dequeker J. Sex- and age-related changes in bone and serum osteocalcin. *Calcif Tissue Int.* 1990;46:179-82.
62. Armbrecht HJ, Boltz MA, Christakos S, Bruns ME. Capacity of 1,25-dihydroxyvitamin D to stimulate expression of calbindin D changes with age in the rat. *Arch Biochem Biophys.* 1998;352:159-64.
63. Serrano S, Marinosa ML, Torres A, Lorenzo V, Keysers U, Lloreta J, et al. Osteoblastic proliferation in bone biopsies from patients with end-stage chronic renal failure. *J Bone Miner Res.* 1997;12:191-9.
64. Sánchez MC, Bajo MA, Selgas R, Mate A, Sánchez-Cabezudo MJ, López-Barea F, et al. Cultures of human osteoblastic cells from dialysis patients: influence of bone turnover rate on in vitro selection of interleukin-6 and osteoblastic cell makers. *Am J Kidney Dis.* 2001;37:30-7.
65. Martínez ME, del Campo MT, Medina S, Sánchez M, Sánchez-Cabezudo MJ, Esbrit P, et al. Influence of skeletal site of origin and donor age on osteoblastic cell growth and differentiation. *Calcif Tissue Int.* 1999;64:280-6.
66. Evans CE, Galasko CS, Ward C. Effect of donor age on the growth in vitro of cells obtained from human trabecular bone. *J Orthop Res.* 1990;8:234-7.
67. Pfeilschifter J, Diehl I, Pilz U, Brunotte K, Naumann A, Ziegler R. Mitogenic responsiveness of human bone cells in vitro to hormones and growth factors decreases with age. *J Bone Miner Res.* 1993;8:707-17.
68. Eriksen EF. Cellular mechanisms of bone remodeling. *Rev Endocr Metab Disord.* 2010;11:219-27.
69. St-Arnaud R. The direct role of vitamin D on bone homeostasis. *Arch Biochem Biophys.* 2008;473:225-30.
70. Wong MM, Rao LG, Ly H, Hamilton L, Ish-Shalom S, Sturtridge W, et al. In vitro study of osteoblastic cells from patients with idiopathic osteoporosis and comparison with cells from non-osteoporotic controls. *Osteoporos Int.* 1994;4:21-31.
71. Martínez P, Esbrit P, Rodrigo A, Álvarez-Arroyo MV, Martínez ME. Age-related changes in parathyroid hormone-related protein and vascular endothelial growth factor in human osteoblastic cells. *Osteoporos Int.* 2002;13:874-81.
72. Clarke BL, Khosla S. Physiology of bone loss. *Radiol Clin North Am.* 2010;48:483-95.
73. Ooms ME, Roos JC, Bezemer PD, van der Vijgh WJ, Bouter LM, Lips P. Prevention of bone loss by vitamin D supplementation in elderly women: a randomized double-blind trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80:1052-8.
74. Holick MF, Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007;357:266-81.
75. Martínez ME, Medina S, Sánchez M, del Campo MT, Esbrit P, Rodrigo A, et al. Influence of skeletal site of origin and donor age on 1,25(OH)2D3-induced

- response of various osteoblastic markers in human osteoblastic cells. *Bone*. 1999;24:203–9.
76. Martínez P, Moreno I, de Miguel F, Vila V, Esbrit P, Martínez ME. Changes in osteocalcin response to 1,25-dihydroxyvitamin D(3) stimulation and basal vitamin D receptor expression in human osteoblastic cells according to donor age and skeletal origin. *Bone*. 2001;29:35–41.
  77. Marie PJ, Sabbagh A, de Vernejoul MC, Lomri A. Osteocalcin and deoxyribonucleic acid synthesis in vitro and histomorphometric indices of bone formation in postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989;69:272–9.
  78. Friedlander J, Janulis M, Tembe V, Ro HK, Wong MS, Favus MJ. Loss of parathyroid hormone-stimulated 1,25-dihydroxyvitamin D3 production in aging does not involve protein kinase A or C pathways. *J Bone Miner Res*. 1994;9:339–45.
  79. Fleet JC, Cashman K, Cox K, Rosen V. The effects of aging on the bone inductive activity of recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Endocrinology*. 1996;137:4605–10.
  80. Lynn H, Kwok T, Wong SY, Woo J, Leung PC. Angiotensin converting enzyme inhibitor use is associated with higher bone mineral density in elderly Chinese. *Bone*. 2006;38:584–8.
  81. Rejnmark L, Vestergaard P, Mosekilde L. Treatment with beta-blockers, ACE inhibitors, and calcium-channel blockers is associated with a reduced fracture risk: a nationwide case-control study. *J Hypertens*. 2006;24:581–9.
  82. Hagiwara H, Hiruma Y, Inoue A, Yamaguchi A, Hirose S. Deceleration by angiotensin II of the differentiation and bone formation of rat calvarial osteoblastic cells. *J Endocrinol*. 1998;156:543–50.
  83. Franceschi RT. The developmental control of osteoblast-specific gene expression: role of specific transcription factors and the extracellular matrix environment. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1999;10:40–57.
  84. Guan XX, Zhou Y, Li JY. Reciprocal Roles of Angiotensin II and Angiotensin II Receptors Blockade (ARB) in Regulating Cbfa1/RANKL via cAMP Signaling Pathway: Possible Mechanism for Hypertension-Related Osteoporosis and Antagonistic Effect of ARB on Hypertension-Related Osteoporosis. *Int J Mol Sci*. 2011;12:4206–13.
  85. Shimizu H, Nakagami H, Osako MK, Hanayama R, Kunugiza Y, Kizawa T, et al. Angiotensin II accelerates osteoporosis by activating osteoclasts. *Faseb J*. 2008;22:2465–75.
  86. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, et al. Mutation of the mouse *klotho* gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*. 1997;390:45–51.
  87. Kawaguchi H, Manabe N, Miyaura C, Chikuda H, Nakamura K, Kuro-o M. Independent impairment of osteoblast and osteoclast differentiation in *klotho* mouse exhibiting low-turnover osteopenia. *J Clin Invest*. 1999;104:229–37.
  88. Yamashita T, Nifuji A, Furuya K, Nabeshima Y, Noda M. Elongation of the epiphyseal trabecular bone in transgenic mice carrying a *klotho* gene locus mutation that leads to a syndrome resembling aging. *J Endocrinol*. 1998;159:1–8.
  89. Jiang H, Ju Z, Rudolph KL. Telomere shortening and ageing. *Z Gerontol Geriatr*. 2007;40:314–24.
  90. Saeed H, Abdallah BM, Ditzel N, Catala-Lehnen P, Qiu W, Amling M, et al. Telomerase-deficient mice exhibit bone loss owing to defects in osteoblasts and increased osteoclastogenesis by inflammatory microenvironment. *J Bone Miner Res*. 2011;26:1494–505.
  91. Mirsaiidi A, Kleinhans KN, Rimann M, Tiaden AN, Stauber M, Rudolph KL, et al. Telomere length, telomerase activity and osteogenic differentiation are maintained in adipose-derived stromal cells from senile osteoporotic SAMP6 mice. *J Tissue Eng Regen Med*. En prensa 2011. doi:10.1002/term.440.
  92. de la Fuente M, Hernanz A, Vallejo MC. The immune system in the oxidative stress conditions of aging and hypertension: favorable effects of antioxidants and physical exercise. *Antioxid Redox Signal*. 2005;7:1356–66.
  93. Harman D. Origin and evolution of the free radical theory of aging: a brief personal history, 1954–2009. *Biogerontology*. 2009;10:773–81.
  94. Balaban RS, Nemoto S, Finkel T. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell*. 2005;120:483–95.
  95. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 2000;408:239–47.
  96. Trost Z, Trebbe R, Prezelj J, Komadina R, Logar DB, Marc J. A microarray based identification of osteoporosis-related genes in primary culture of human osteoblasts. *Bone*. 2010;46:72–80.
  97. Trinei M, Giorgio M, Cicalese A, Barozzi S, Ventura A, Migliaccio E, et al. A p53-p66Shc signalling pathway controls intracellular redox status, levels of oxidation-damaged DNA and oxidative stress-induced apoptosis. *Oncogene*. 2002;21:3872–8.
  98. Ambrogini E, Almeida M, Martín-Millán M, Paik JH, Depinho RA, Han L, et al. FoxO-mediated defense against oxidative stress in osteoblasts is indispensable for skeletal homeostasis in mice. *Cell Metab*. 2010;11:136–46.
  99. Almeida M, Ambrogini E, Han L, Manolagas SC, Jilka RL. Increased lipid oxidation causes oxidative stress, increased peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression, and diminished pro-osteogenic Wnt signaling in the skeleton. *J Biol Chem*. 2009;284:27438–48.
  100. Brodeur MR, Brissette L, Falstraull L, Ouellet P, Moreau R. Influence of oxidized low-density lipoproteins (LDL) on the viability of osteoblastic cells. *Free Radic Biol Med*. 2008;44:506–17.
  101. Huang MS, Morony S, Lu J, Zhang Z, Bezouglia O, Tseng W, et al. Atherogenic phospholipids attenuate osteogenic signaling by BMP-2 and parathyroid hormone in osteoblasts. *J Biol Chem*. 2007;282:21237–43.
  102. Jilka RL, Almeida M, Ambrogini E, Han L, Roberson PK, Weinstein RS, et al. Decreased oxidative stress and greater bone anabolism in the aged, when compared to the young, murine skeleton with parathyroid hormone administration. *Aging Cell*. 2010;9:851–67.
  103. Sánchez-López E, López AF, Esteban V, Yague S, Egido J, Ruiz-Ortega M, et al. Angiotensin II regulates vascular endothelial growth factor via hypoxia-inducible factor-1alpha induction and redox mechanisms in the kidney. *Antioxid Redox Signal*. 2005;7:1275–84.
  104. Guillén C, Martínez P, De Gortazar AR, Martínez ME, Esbrit P. Both N- and C-terminal domains of parathyroid hormone-related protein increase interleukin-6 by nuclear factor-kappa B activation in osteoblastic cells. *J Biol Chem*. 2002;277:28109–17.
  105. Martín-Ventura JL, Ortego M, Esbrit P, Hernández-Presa MA, Ortega L, Egido J. Possible role of parathyroid hormone-related protein as a proinflammatory cytokine in atherosclerosis. *Stroke*. 2003;34:1783–9.
  106. Ramila D, Ardura JA, Esteban V, Ortega A, Ruiz-Ortega M, Bosch RJ, et al. Parathyroid hormone-related protein promotes inflammation in the kidney with an obstructed ureter. *Kidney Int*. 2008;73:835–47.
  107. De Castro LF, Lozano D, Portal-Núñez S, Maycas M, de la Fuente M, Caeiro JR, et al. Comparison of the skeletal effects induced by daily administration of PTHrP (1–36) and PTHrP (107–139) to ovariectomized mice. *J Cell Physiol*. En prensa 2011. doi:10.1002/jcp.229020.