

**UNIVERSIDADE DE LISBOA**

**FACULDADE DE MEDICINA**



**CONTRIBUIÇÃO PARA A PREVENÇÃO DA OSTEOPOROSE**

**Avaliação de factores genéticos, antropométricos, ambientais,**

**laboratoriais e de dados densitométricos e de ultrasons**

**em portugueses de ambos os sexos**

**Helena Cristina de Matos Canhão**

**DOUTORAMENTO EM MEDICINA (REUMATOLOGIA)**

**Lisboa**

**Setembro 2007**

---

---

**UNIVERSIDADE DE LISBOA**

**FACULDADE DE MEDICINA**



**CONTRIBUIÇÃO PARA A PREVENÇÃO DA OSTEOPOROSE**

**Avaliação de factores genéticos, antropométricos, ambientais,**

**laboratoriais e de dados densitométricos e de ultrasons**

**em portugueses de ambos os sexos**

**Helena Cristina de Matos Canhão**

**DOUTORAMENTO EM MEDICINA (REUMATOLOGIA)**

**Tese orientada pelo Prof. Doutor Mário Viana Queiroz e**

**pela Prof<sup>a</sup> Doutora Maria Carlota Saldanha**

**Lisboa**

**Setembro 2007**

---

**A impressão desta dissertação foi aprovada pela Comissão Coordenadora do Conselho Científico da Faculdade de Medicina de Lisboa em reunião de 8 de Maio de 2007.**

**As opiniões expressas são da exclusiva responsabilidade do seu autor.**

---

## SUMÁRIO<sup>1</sup>

São escassos os dados da literatura sobre factores protectores do osso e, na população portuguesa, os factores de risco de osteoporose (OP) são também pouco conhecidos.

Os objectivos do nosso trabalho foram: a) identificar e avaliar a importância relativa dos factores de risco de OP e dos factores protectores do osso em ambos os sexos; b) determinar a relação entre massa óssea e parâmetros laboratoriais como o balanço fosfo-cálcico, hormonas, marcadores de remodelação óssea, leptina, osteoprotegerina, RANKL, interleucinas e factor de necrose tumoral (TNF) alfa; c) estudar a relação entre polimorfismos do promotor do gene do TNF alfa e massa óssea.

A investigação foi desenvolvida da seguinte forma:

1- Aplicação de um questionário para avaliação de factores de risco modificáveis de OP (hábitos tabágicos e alcoólicos, ingestão diária de cálcio e actividade física) em 301 indivíduos saudáveis estratificados por grupo etário e sexo. Os resultados apresentaram diferenças entre os grupos avaliados.

2- Avaliação quantitativa por ultrasons do calcâneo (QUS) de 1482 indivíduos que permitiu calcular os primeiros valores de referência do QUS para a população portuguesa. Os resultados do QUS variaram com o sexo, idade e índice de massa corporal (IMC) e, ainda, nas mulheres com os hábitos tabágicos e, no homem, com o aporte de cálcio.

3- Avaliação de parâmetros laboratoriais em 159 indivíduos, de ambos os sexos, estratificados por idade e por densidade mineral óssea (DMO) determinada por absorciometria radiológica de dupla energia (DEXA).

Os resultados obtidos permitem afirmar que na população portuguesa - idade jovem, sexo masculino, maior IMC, prática de actividade física, bom aporte de cálcio, evicção do tabaco, níveis séricos otimizados de cálcio e de zinco e valores séricos reduzidos de leptina - se associam a melhores resultados nos parâmetros ósseos avaliados por QUS e/ ou DEXA.

---

<sup>1</sup> Resumo até 300 palavras; de acordo com o artigo 40º do DR nº153, II série de 5 de Julho de 2003, que regulamenta a elaboração das Teses de Doutoramento

---

---

## SUMMARY<sup>2</sup>

Few data are available concerning bone protector factors. In the Portuguese population, osteoporosis (OP) risk factors are also poorly studied.

The aims of our work were: a) to identify and evaluate OP risk and bone protecting factors in both sexes; b) to study associations between bone mass and laboratorial parameters (calcium-phosphorus balance, hormones, bone turnover markers, leptin, osteoprotegerin, RANKL, interleukins and tumour necrosis factor (TNF) alpha; c) to study TNF alpha gene promoter polymorphisms and correlate them with bone mass.

Research was conducted by:

1- Assessment of modifiable OP risk factors in 301 healthy subjects, stratified by age and gender. Quantification of tobacco and ethanol habits, calcium intake and physical activity was performed using a questionnaire. Differences between groups were detected.

2- Quantitative ultrasound measurements (QUS) in 1482 subjects allowed us to determine the first reference values for QUS in the Portuguese population. QUS results were dependent on sex, age and body mass index (BMI). Tobacco habits in women and calcium intake in men have also influenced QUS results.

3- Assessment of laboratorial variables in 159 subjects stratified by age, sex and bone mass (evaluated by dual X-ray absorptiometry (DXA)).

Results showed that in the Portuguese population, young age, male gender, higher BMI, physical activity practice, adequate calcium intake, tobacco eviction, zinc and calcium optimal serum levels and leptin lower levels, were associated with improved bone parameters evaluated by QUS and/or DXA.

---

<sup>2</sup> Abstract up to 300 words; in accordance with the 40<sup>th</sup> article of DR n°153, II series of 5<sup>th</sup> of July 2003, which regulates PhD thesis elaboration

---

## **PALAVRAS-CHAVE**

Massa óssea normal; Osteoporose; Factores de protecção; Factores de risco; Marcadores laboratoriais

## **KEYWORDS**

Normal bone mass; Osteoporosis; Protection factors; Risk factors; Laboratorial markers

---

---

---

## ÍNDICE

<b>PREFÁCIO</b>	<b>13</b>
<b>RESUMO</b>	<b>17</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>21</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>25</b>
<b>PARTE I: INTRODUÇÃO</b>	<b>27</b>
<b>1) OSSO</b>	<b>29</b>
<b>1.1 – ESTRUTURA</b>	<b>29</b>
1.1.1 - Composição e Microestrutura do osso	29
1.1.2 - Macroestrutura e Geometria do Osso	31
<b>1.2 - FISILOGIA E METABOLISMO DO OSSO</b>	<b>33</b>
<b>1.3 - MECANISMOS DE FORMAÇÃO E REABSORÇÃO ÓSSEAS.</b>	
<b>REGULAÇÃO DA REMODELAÇÃO ÓSSEA</b>	<b>34</b>
1.3.1 – Osteócitos	35
1.3.2 – Osteoblastos e Formação óssea	37
1.3.3 – Regulação da osteoclastogénese	41
1.3.4 – Osteoclastos e Reabsorção óssea	44
<b>2) OSTEOPOROSE</b>	<b>47</b>
<b>2.1 - DEFINIÇÃO</b>	<b>47</b>
<b>2.2 – EPIDEMIOLOGIA, FACTORES DE RISCO DE OSTEOPOROSE</b>	
<b>E FACTORES DE PROTECÇÃO DO OSSO</b>	<b>49</b>
2.2.1 – Epidemiologia da Osteoporose	49
2.2.2 – Epidemiologia da Osteoporose em Portugal	49
2.2.3 – Factores de risco	52
2.2.4 – Factores de protecção	53
<b>2.3 - EPIDEMIOLOGIA, FACTORES DE RISCO E IMPACTO ECONÓMICO</b>	
<b>DAS FRACTURAS OSTEOPORÓTICAS</b>	<b>56</b>
2.3.1 – Epidemiologia das fracturas osteoporóticas	56
2.3.2 – Epidemiologia das fracturas osteoporóticas em Portugal	58
2.3.3 – Factores de risco e identificação dos indivíduos com elevado risco para fracturas osteoporóticas	59
2.3.4 – Impacto económico das fracturas osteoporóticas	60
<b>2.4 – FISIOPATOLOGIA</b>	<b>60</b>
2.4.1 – Fisiopatologia da Osteoporose	60
2.4.2 – Fisiopatologia das fracturas osteoporóticas	63
<b>2.5 - CLÍNICA DA OSTEOPOROSE PRIMÁRIA E DAS FRACTURAS</b>	
<b>OSTEOPORÓTICAS</b>	<b>66</b>

---

<b>2.6 – CAUSAS DE OSTEOPOROSE SECUNDÁRIA</b>	<b>67</b>
<b>2.7 - AVALIAÇÃO E DIAGNÓSTICO</b>	<b>68</b>
2.7.1 – História clínica e Exame objectivo	68
2.7.2 – Avaliação laboratorial	68
2.7.3 – Marcadores de remodelação óssea	69
2.7.4 – Avaliação radiológica	70
2.7.5 – Absorciometria radiológica de dupla energia	70
2.7.6 – Métodos de avaliação da qualidade óssea	73
<b>2. 8 – TERAPÊUTICA</b>	<b>74</b>
2.8.1 – Medidas gerais	75
2.8.2 – Critérios para tratamento	76
2.8.3 – Fármacos anti-reabsortivos	76
2.8.4 – Fármacos formadores	77
2.8.5 – Associação de fármacos	78
<b>2.9 – PERSPECTIVAS FUTURAS</b>	<b>78</b>
<b>PARTE II: TRABALHO DE INVESTIGAÇÃO</b>	<b>79</b>
<b>1- OBJECTIVOS E PLANO DE TRABALHO</b>	<b>81</b>
1.1 – OBJECTIVOS	81
1.2 – PLANO DE TRABALHO	81
<b>2 - RESULTADOS (apresentados sob a forma de artigo):</b>	<b>82</b>
2.1 - ARTIGO 1: QUESTIONÁRIO PARA IDENTIFICAÇÃO DE FACTORES DE RISCO DE OSTEOPOROSE	85
2.2 - ARTIGO 2: AVALIAÇÃO DE HÁBITOS ALIMENTARES E ESTILOS DE VIDA NUMA POPULAÇÃO PORTUGUESA – FACTORES DE RISCO E DE PROTECÇÃO PARA A OSTEOPOROSE	95
2.3 - ARTIGO 3: VALORES DE REFERÊNCIA PARA UMA POPULAÇÃO URBANA PORTUGUESA DA AVALIAÇÃO QUANTITATIVA POR ULTRASSONS DO CALCÂNEO	107
2.4 - ARTIGO 4: FACTORS INFLUENCING CALCANEUS QUANTITATIVE ULTRASOUND MEASUREMENTS IN AN URBAN POPULATION	119
2.5 - ARTIGO 5: ASSESSMENT OF LABORATORY MEASUREMENTS AND -308 TNF ALPHA GENE PROMOTER POLYMORPHISMS IN NORMAL BONE MINERAL DENSITY	139
<b>PARTE III: DISCUSSÃO, CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>151</b>
<b>1 – DISCUSSÃO</b>	<b>153</b>
<b>2 – CONCLUSÕES</b>	<b>161</b>
<b>3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>162</b>
<b>PARTE IV: BIBLIOGRAFIA</b>	<b>165</b>

---

## **PREFÁCIO**

Tive a sorte de, ao escolher a vaga da especialidade de Reumatologia no Hospital de Santa Maria (HSM), ficar integrada numa equipa excelente do ponto de vista humano e de relacionamento, com um empenho intrínseco no ensino e na formação dos internos e um grande interesse pela investigação. Tinha optado pela licenciatura de Medicina pelo gosto pela clínica e interesse pela investigação aplicada à Medicina e, posteriormente, pela especialidade de Reumatologia devido à variedade e riqueza das patologias que esta especialidade aborda e pelas amplas possibilidades de investigação nestas doenças.

O meu primeiro contacto mais estruturado com actividades de investigação ocorreu durante o 6º ano da licenciatura e, depois, durante o Internato Geral, através de projectos de investigação coordenados pela Profª Doutora Teresa Paiva. Desde o início do Internato Complementar, em 1994, o Prof. Doutor M. Viana de Queiroz incitou e estimulou a prática de actividade de investigação paralela à actividade clínica. Em 1997, através de contactos entre o Prof. Doutor J. Martins e Silva e o Prof. Doutor M. Viana Queiroz, iniciei a actividade como assistente convidada de Bioquímica da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa (FMUL). A actividade de docência, inicialmente na Bioquímica e, posteriormente, também na Reumatologia foi muito contributiva para a minha formação e desempenho como clínica e como investigadora.

O trabalho de investigação apresentado nesta tese resultou da conjugação de acontecimentos, esforços, boa-vontade e condições logísticas que importa destacar.

A fisiologia do osso e as doenças ósseas-metabólicas como a osteoporose (OP) são áreas de interesse transversal de várias especialidades médicas, nomeadamente, da Reumatologia. No Serviço de Reumatologia e Doenças Ósseas Metabólicas do HSM funciona, desde há vários anos, uma consulta específica de doenças ósseas metabólicas coordenada pelo Dr. José Carlos Romeu, que se dedica especificamente à avaliação e

---

seguimento de doentes com OP grave, doença óssea de Paget, hiperparatiroidismo, entre outras. Por esse motivo, desde muito cedo contactei na prática clínica com doentes com OP e com o impacto que esta patologia e as fracturas de fragilidade associadas induz na qualidade de vida dos doentes e os sintomas algícos, incapacidade e dependência de terceiros que acarreta, mesmo em indivíduos que do ponto de vista de outras patologias e estado geral são saudáveis.

Na década de 90, registaram-se avanços importantes no conhecimento da fisiopatologia da OP e paralelamente surgiram fármacos com demonstração de eficácia na prevenção de fracturas. No entanto, o aumento da sobrevida tem potenciado exponencialmente a prevalência da doença e os custos associados, frequentemente os fármacos não são utilizados da forma mais adequada nem em quem efectivamente precisa de modo a otimizar a resposta e, na prática clínica, não dispomos de meios adequados de avaliação da qualidade óssea. A prevenção é essencial porque apesar dos fármacos espessarem as trabéculas e interferirem melhorando a microarquitECTURA, nem sempre restabelecem as ligações entre trabéculas que já sofreram rotura. A falta de conhecimento e de dados na literatura sobre factores protectores do osso e a escassa documentação sobre factores de risco e de protecção na população portuguesa, fez-me interessar por este tema e investir na investigação nesta área.

O apoio e incentivo do Prof. Doutor M. Viana Queiroz para que prosseguisse o trabalho de investigação manteve-se sempre, mesmo quando estive ausente do HSM durante 18 meses, por ter ingressado no Hospital Garcia de Orta como Reumatologista do Quadro desse hospital. Mantive também sempre a actividade como docente da FMUL e a colaboração com a Prof<sup>a</sup>. Doutora Carlota Saldanha, que estimulou o interesse na investigação. Quando regresssei ao HSM em Outubro de 2004, já como especialista do Quadro deste Hospital, foi possível prosseguir o trabalho de investigação

---

de uma forma mais sistemática. Foi entretanto criado o Instituto de Medicina Molecular e o Prof. Doutor João Eurico Fonseca, com o apoio dos Profs. Doutores Maria do Carmo Fonseca e M. Viana de Queiroz, passou a coordenar a Unidade de Investigação em Reumatologia (UIR), inicialmente designada Unidade de Artrite Reumatoide, onde me foram dadas todas as condições para desenvolver a parte laboratorial do trabalho.

Outra feliz ocorrência foi a colaboração, iniciada em 2003, entre a Sociedade Portuguesa de Reumatologia (SPR) e o Serviço de Higiene e Epidemiologia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (SHEFMUP) que estabeleceram um protocolo de colaboração para o desenvolvimento de um projecto, o Observatório Nacional das Doenças Reumáticas (ONDOR). Este acordo foi possível devido ao trabalho e esforço do então Presidente da SPR, Prof. Doutor Jaime Branco e do Director do SHEFMUP, Prof. Doutor Henrique de Barros. Na altura, eu assumia na Direcção da SPR, o cargo de Secretária-Geral. Através do Prof. Doutor Jaime Branco estabeleceram-se os contactos e foi possível desenvolver, em conjunto, os trabalhos de investigação no osso com avaliação quantitativa por ultrasons do calcâneo, que se apresentam nesta tese.

Como já referido, o trabalho desenvolvido e aqui apresentado, resulta da conjugação de vários acontecimentos felizes e da colaboração inextinguível e imprescindível de várias pessoas. Não quero por isso deixar de agradecer aqui o esforço e a generosidade de todos, nomeadamente ao Prof. Doutor Viana de Queiroz, Prof. Doutor J. Martins e Silva, Prof<sup>a</sup>. Doutora Carlota Saldanha, Prof. Doutor João Eurico Fonseca, Prof. Doutor Jaime Branco e Prof. Doutor Henrique de Barros; e ainda agradecer à Dra. Catarina Resende, Dr. J.A. Pereira da Silva, Dr. J.C. Teixeira da Costa, Dr. J.C. Romeu, Dra. Cristina Catita e a todos os meus colegas do Serviço de Reumatologia do HSM que constituíram sempre um apoio fundamental; ao Dr. Canas da Silva, Dra. Viviana Tavares, Dra. Maria José Santos, Dra. Ana Rita Cravo e a todos os colegas do HGO que

---

me acolheram com carinho durante 18 meses; aos colaboradores da UIR, nomeadamente à Dra. Joana Caetano-Lopes; à Dra. Raquel Lucas do SHEFMUP; aos meus amigos, à minha família, aos meus pais, ao Zé, à Margarida e ao Miguel toda a contribuição que deram para que este trabalho fosse realizado.

---

## RESUMO

**Introdução:** Ao contrário do que se verifica para os factores de risco da osteoporose (OP), não é possível enumerar de forma simples uma lista de factores protectores. A identificação de variáveis que se associam a melhor qualidade óssea, entendida como a optimização do balanço entre estrutura, geometria, microarquitectura, massa, composição e função, é fundamental porque os conhecimentos sobre esses parâmetros poderão ajudar-nos a obter e manter um osso de melhor qualidade, com uma massa óssea que permaneça acima do limiar fracturário. Por outro lado, a compreensão dos factores que determinam uma massa óssea mais elevada e uma melhor qualidade do osso, poderá contribuir para o desenvolvimento de terapêuticas capazes de restabelecer o equilíbrio da remodelação óssea.

### **Objectivos:**

- 1- Identificar e avaliar a importância relativa dos factores de risco e protectores de OP em ambos os sexos;
- 2- Estabelecer associações entre parâmetros laboratoriais como o balanço fosfo-cálcico, marcadores de remodelação óssea, hormonas sexuais, hormonas relacionadas com o crescimento e a massa corporal, citocinas envolvidas na inflamação e na remodelação óssea e a massa óssea;
- 3- Estudar a associação de polimorfismos na posição – 308 do promotor do gene do factor de necrose tumoral (TNF) alfa e a massa óssea.

**Métodos:** Os trabalhos de investigação foram desenvolvidos no Serviço de Reumatologia do Hospital de Santa Maria (Director: Prof. Doutor M. Viana Queiroz), na Unidade de Investigação em Reumatologia do Instituto de Medicina Molecular (Coordenador: Prof. Doutor João Eurico Fonseca) e no Serviço de Higiene e Epidemiologia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (Director: Prof.

---

Doutor Henrique de Barros). A investigação foi estruturada e desenvolvida da seguinte forma:

a) Aplicação de um questionário para avaliação de factores de risco modificáveis de OP (hábitos tabágicos e alcoólicos, ingestão diária de cálcio e actividade física) em 301 indivíduos saudáveis estratificados por grupo etário e sexo.

b) Avaliação quantitativa por ultrasons do calcâneo (QUS) em 1482 indivíduos, de ambos os sexos e com idades compreendidas entre os 18 e os 92 anos, de modo a determinar os valores de referência do QUS para a população portuguesa e avaliar o impacto dos factores de risco de OP nos parâmetros do QUS.

c) Avaliação de parâmetros laboratoriais que incluíram hemograma, ureia, creatinina, creatinúria de 24 horas, transaminases, fosfatase alcalina,  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase, amilase, lipase, colesterol, triglicéridos, apolipoproteína E, ácido úrico, homocisteína, magnésio, zinco, ionograma, balanço fosfo-cálcico sérico e urinário, marcadores de remodelação óssea (osteocalcina, fosfatase alcalina óssea, pro-peptidos do procólágeno I (P1NP), desoxipiridolinas, N-telopeptidos urinários do colágeno tipo I (NTX), C-telopeptidos séricos do colágeno tipo I (CTX  $\beta$ -crosslaps), hormonas tiroideias, hormona tireotrófica, paratormona, hormonas sexuais (foliculo-estimulante, luteinizante, progesterona, estradiol, D4-androsteniona, dihidroepiandrosterona, testosterona), hormonas relacionadas com o crescimento e a massa corporal (hormona de crescimento, factor de crescimento insulina-like, leptina), citocinas envolvidas na inflamação e na remodelação óssea (interleucina (IL)-1, IL-6, TNF alfa, RANKL, osteoprotegerina) e caracterização genotípica do polimorfismo – 308 do promotor do gene do TNF alfa, em 159 indivíduos, de ambos os sexos, estratificados por idade (20-30 anos e idade igual ou superior a 50 anos) e por massa óssea determinada por absorciometria radiológica de dupla energia (DEXA).

---

**Resultados:** A avaliação de factores de risco modificáveis de OP em 301 indivíduos, 199 do sexo feminino e 102 do sexo masculino, estratificados por grupo etário, utilizando um questionário que foi desenvolvido em trabalho prévio, permitiu quantificar hábitos tabágicos e alcoólicos, ingestão diária de cálcio e actividade física. Todos os indivíduos apresentaram consumo de cálcio abaixo dos níveis recomendados e, excepto para o grupo de indivíduos jovens do sexo masculino, prática de actividade física muito reduzida. Os hábitos tabágicos eram superiores nas jovens do sexo feminino e foram iniciados em idade precoce. Os hábitos alcoólicos foram superiores nos indivíduos do sexo masculino com mais de 49 anos.

A avaliação quantitativa por ultrasons do calcâneo (QUS) em 1482 indivíduos (1010 mulheres e 472 homens) com idades compreendidas entre os 18 e os 92 anos, que constituíam uma amostra representativa da população, permitiu calcular pela primeira vez, os valores de referência do QUS para a população portuguesa e constatar que eram sobreponíveis aos de outros países do sul da Europa. Posteriormente, foi estudada a influência de potenciais factores de risco de OP nos parâmetros do QUS. Concluímos que todos os parâmetros do QUS eram dependentes do sexo (mais elevados nos homens), da idade (mais elevados nos jovens) e do índice de massa corporal (IMC). As diferenças entre os sexos aumentavam com o envelhecimento. Nas mulheres, os hábitos tabágicos e no homem, o aporte de cálcio, estavam associados de forma significativa aos resultados do QUS. Alguns factores como a actividade física, o aporte de vitamina D e de álcool, a pontuação no inventário de depressão de Beck, o SF-36, a idade da menarca e o número de gravidezes não mostraram qualquer efeito significativo nos parâmetros de QUS.

Finalmente, foram avaliadas variáveis laboratoriais em 159 indivíduos, de ambos os sexos, estratificados por idade e por massa óssea determinada por absorciometria

---

radiológica de dupla energia (DEXA) (massa óssea normal vs OP). Quantificámos valores mais elevados de zinco sérico nos homens quando comparados com as mulheres e nos indivíduos com massa óssea normal quando comparados com osteoporóticos. A calcémia apresentou em todos os grupos doseamentos dentro da normalidade, mas com os grupos osteoporóticos com mais de 50 anos, a revelarem valores significativamente inferiores. Os níveis séricos de leptina foram significativamente mais elevados no sexo feminino. Os marcadores de remodelação óssea, CTX sérico e osteocalcina, apresentaram valores inferiores nos indivíduos com massa óssea normal comparativamente com os osteoporóticos. No entanto, a sua variabilidade não permitiu detectar diferenças significativas. Da mesma forma não se observaram diferenças significativas nos níveis séricos de osteoprotegerina. Os genotipos GG e GA/AA -308 do promotor do gene do TNF alfa apresentaram a mesma distribuição de frequências entre os grupos estudados.

**Conclusão:** Apesar de ainda não ser possível estabelecer uma lista de factores protectores do osso da forma como dispomos para os factores de risco de OP, os nossos trabalhos permitem afirmar que na população portuguesa, idade jovem, sexo masculino, IMC aumentado, prática de actividade física, um bom aporte de cálcio, a evicção do tabaco, níveis séricos otimizados de cálcio e de zinco e níveis séricos mais baixos de leptina, associam-se a melhores resultados nos parâmetros ósseos estudados por avaliação quantitativa por ultrasons (QUS) e/ou por absorciometria radiológica de dupla energia (DEXA).

---

## **ABSTRACT**

**Background:** A core set of variables was established in post-menopausal women as osteoporosis (OP) risk factors. However, the knowledge about bone protective factors is scarce and Portuguese data almost non-existent. The identification of variables associated with bone quality - which translates the optimal balance between structure, geometry, microarchitecture, mass, composition and function - could help to achieve a better bone quality with a bone mass above fracture level. In other hand, the knowledge of factors that lead to a higher bone mass could contribute for the development of therapies that are able to restore the bone turnover balance.

### **Objectives:**

- 1- To identify and evaluate OP risk factors and bone protective factors in both sexes;
- 2- To establish relationships between laboratorial parameters (calcium-phosphorus balance, bone turnover markers, sexual hormones, hormones related to growth and body mass, cytokines involved in inflammation and bone turnover) and bone mass.
- 3- To study polymorphisms of the tumour necrosis factor (TNF) alpha gene promoter at -308 position and correlate them with bone mass.

**Methods:** Research work was developed in the Serviço de Reumatologia, Hospital de Santa Maria (Head of Department: Prof. Doutor M. Viana Queiroz); in the Unidade de Investigação em Reumatologia of Instituto de Medicina Molecular (Head of Department: Prof. Doutor João Eurico Fonseca) and in the Serviço de Higiene e Epidemiologia of Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (Head of Department: Prof. Doutor Henrique de Barros). Research was developed by:

- a) Fill-in a questionnaire to capture information on modifiable OP risk factors (tobacco and alcohol habits, calcium intake and physical activity) from 301 Portuguese healthy subjects, stratified by age and gender.

---

b) Calcaneus quantitative ultrasound (QUS) evaluation of 1482 subjects of both sexes to determine normative values for QUS in the Portuguese population and to evaluate the influence of OP risk factors on QUS parameters.

c) Laboratorial assessments including total blood count, urea, creatinine, 24 hours creatinuria, transaminases, alkaline phosphatase,  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase, amylase, lipase, cholesterol, triglycerides, apolipoprotein E, uric acid, homocysteine, magnesium, zinc, sodium, potassium, serum and urine calcium and phosphorus, bone turnover markers (osteocalcin, bone alkaline phosphatase, aminoterminal propeptide of type I procollagen (P1NP), deoxypyridinoline, urinary N-telopeptides (NTX) of type I collagen I, serum C-telopeptides of type I collagen (CTX  $\beta$ -crosslaps), thyroid hormones, thyrotropin, parathormone, sexual hormones (follicle-stimulating, luteinizing, progesterone, estradiol, dehydroepiandrosterone, testosterone, D4-androstenione), hormones related to growth and body mass (growth hormone, insulin-like growth factor, leptin), cytokines involved in inflammation and bone turnover (interleukin (IL)-1, IL-6, TNF alpha, RANKL, osteoprotegerin) and genotyping evaluation of TNF alpha gene promoter at -308 position, in 159 subjects stratified by age, sex and bone mass assessed by dual X-ray absorptiometry (DXA).

**Results:** The evaluation of modifiable OP risk factors in 301 subjects, 199 females and 102 males, stratified by age showed differences among groups. All subjects presented a daily calcium intake under recommended levels. Physical activity was also insufficient (except for young male group). Young women were the group with more actual smokers and smoking was initiated early in life. Men aged over 50 were the biggest ethanol consumers.

Calcaneus quantitative ultrasounds measurements (QUS) were performed in 1482 subjects (1010 females and 472 males), aged between 18 and 92 years and, for the first

---

time, normal reference data for QUS measurements in the Portuguese population were calculated. Results were similar to other reported in Southern European countries. In addition, we have studied the influence of classical OP risk factors on QUS parameters. QUS measurements were dependent on gender (higher in men), age (higher in younger) and body mass index (BMI). Differences between sexes increased with age. Tobacco habits for women and calcium intake for men have also influenced QUS results. Physical activity, vitamin D and ethanol intake, Beck depression inventory score, SF-36, menarche age and number of pregnancies did not show a significant effect on QUS parameters.

Finally, we have evaluated laboratorial variables in 159 subjects, of both gender, stratified by age and by bone mass assessed by DXA (normal bone mass vs OP). We have detected higher serum zinc levels in men as compared to women and in normal bone mass as compared to osteoporotic subjects. Serum calcium were within normal values in all groups, however osteoporotic subjects over 50 years showed significant lower levels as compared to normal bone mass individuals. Leptin serum levels were higher in females. The bone turnover markers, CTX and osteocalcin, were higher in normal bone mass subjects when compared to osteoporotic subjects, although with no significant differences. Moreover, we did not observe significant differences in osteoprotegerin levels between groups. -308 GG and GA/AA TNF alpha gene promoter genotypes showed similar distribution among studied groups.

**Conclusion:** Even though it was not possible to present a core set of bone protector factors (as it is established for OP risk factors), our work showed that in Portuguese population, young age, male gender, higher BMI, physical activity practice, adequate calcium intake, tobacco eviction, zinc and calcium optimal serum levels and leptin

---

lower levels were associated with improved bone parameters evaluated by quantitative ultrasound measurements (QUS) and/or by dual X-ray absorptiometry (DXA).

---

## LISTA DE ABREVIATURAS<sup>3</sup>

AR – artrite reumatóide

BMD – bone mineral density (equivalente em português de densidade mineral óssea)

BMI – body mass index (equivalente em português de índice de massa corporal)

BMP – proteína morfogénica do osso

BUA – atenuação dos ultrasons (*broadband ultrasound attenuation*)

Cbfa1 – factor de ligação do *core a1*

CTX – C-telopéptidos do colagénio tipo I

DEXA – absorciometria radiológica de dupla energia

DMO – densidade mineral óssea

DXA – dual X-ray absorptiometry (equivalente em português de DEXA)

EBMD – densidade mineral óssea estimada (*estimated bone mineral density*)

EPOS – *European Prospective Osteoporosis Study*

EVOS – *European Vertebral Osteoporosis Study*

FGF – factor de crescimento dos fibroblastos

FMUL – Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

HSM – Hospital de Santa Maria

IGF – factor de crescimento insulina-*like*

IL – interleucina

IMC – índice de massa corporal

IMM – Instituto de Medicina Molecular

IOF – *International Osteoporosis Foundation*

LRP - proteína relacionada com o receptor da lipoproteína de baixa densidade (LDL)

MCSF – factor estimulador de colónias de macrófagos

MEDOS – *Mediterranean Osteoporosis Study*

NHANES III – *Third National Health and Nutrition Examination Survey*

NTX – N-telopéptidos do colagénio tipo I

---

<sup>3</sup> Reúne as abreviaturas em língua portuguesa e língua inglesa, utilizadas no documento

---

OMS – Organização Mundial de Saúde

OP – osteoporose

OPG – osteoprotegerina

OPPM – osteoporose pós-menopáusia

PDGF – factor de crescimento derivado das plaquetas

PPAR – receptor activador-proliferador peroxisomal (*peroxisome proliferator-activated receptor*)

Prof. – Professor

PTH – paratormona

QUI – índice quantitativo de ultrasons (*quantitative ultrasound index*)

QUS – avaliação quantitativa por ultrasons (*quantitative ultrasound*)

RANK – receptor de activação do factor nuclear kB (NF-kB)

RANKL – ligando do receptor de activação do factor nuclear kB (NF-kB)

SERM – Modulador selectivo dos receptores de estrogénios

SHEFMUP – Serviço de Higiene e Epidemiologia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

SOS – velocidade do som (*speed of sound*)

SPR – Sociedade Portuguesa de Reumatologia

TGF – factor de crescimento transformador

TNF – factor de necrose tumoral (*tumour necrosis factor*)

UIR – Unidade de Investigação em Reumatologia

US - ultrasons

---

## **PARTE I: INTRODUÇÃO**

---

---

## **PARTE I: INTRODUÇÃO**

Neste capítulo iremos abordar, em primeiro lugar, o osso (estrutura, fisiologia, metabolismo, mecanismos de formação e de reabsorção óssea e a sua regulação) e, posteriormente, a osteoporose (definição, epidemiologia, factores de risco e de protecção, fisiopatologia, clínica, avaliação diagnóstica e tratamento).

### **1. OSSO**

O osso é um tecido vivo e multicelular que possui uma estrutura complexa. Desempenha um papel fundamental no sistema músculo-esquelético; as suas funções são vitais e múltiplas e incluem protecção, suporte, movimento, hematopoiese (medula óssea), armazenamento e manutenção da homeostasia do cálcio.

Para realizar estas funções, o osso possui características estruturais e propriedades materiais que permitem manter em equilíbrio capacidades aparentemente opostas, como resistência e leveza, rigidez e flexibilidade<sup>1</sup>.

#### **1.1 - ESTRUTURA**

##### **1.1.1 - Composição e microestrutura do osso**

O osso é composto por uma matriz proteica constituída essencialmente por fibras de colagénio tipo I, reforçada por cristais de minerais<sup>2</sup>. O constituinte mineral mais importante do osso é a hidroxiapatite de cálcio, um composto formado por cálcio e fosfato, que constitui cerca de um quarto do volume e 60 a 70% do peso seco do osso adulto normal<sup>3</sup>. O restante peso seco é conferido pela matriz orgânica. Cerca de 95% da matriz proteica do osso é constituída por colagénio tipo I, organizado sob a forma de uma tripla hélice. A osteocalcina é a proteína não colagénica mais abundante. No osso

---

*in vivo*, 25% do peso é atribuído a água; cerca de 85% da água distribui-se na matriz orgânica e 15% nos canais e cavidades das zonas calcificadas.

A matriz extracelular é mineralizada logo após a sua deposição. O osso cortical e o osso trabecular diferem entre si nas unidades estruturais e na porosidade.

O **osso compacto ou cortical** é constituído por várias unidades microestruturais, os sistemas de Havers ou osteons, que se distribuem de forma circular, à volta do canal de Havers. Cada osteon é formado por várias lamelas intersticiais concêntricas. Perpendicularmente aos canais de Havers distribuem-se os canais de Volkmann, fundamentais para a vascularização do osso. Entre os sistemas de Havers, existe uma camada fina, de matriz não mineralizada, que se denomina linha cimentada. Estas zonas, são fundamentais para manter íntegras as propriedades do osso, na adaptação e resposta a cargas e microtraumatismos. Nalgumas situações patológicas, a espessura e a extensão dessa camada pode aumentar ou diminuir como por exemplo na osteomalácia, raquitismo, calo ósseo fracturário ou doença óssea de Paget<sup>4</sup>.

As unidades microestruturais do **osso trabecular ou esponjoso** são as trabéculas. As trabéculas ligam-se umas às outras formando uma estrutura em rede. A orientação das lamelas no osso trabecular é longitudinal, ao contrário da disposição concêntrica que se observa no osso cortical. A espessura e a conectividade das trabéculas é variável e, entre elas, observam-se cavidades que tornam o osso esponjoso muito mais poroso do que o osso compacto.

Idealmente, o tecido ósseo deve possuir a rigidez necessária para suportar a carga do corpo, a flexibilidade suficiente para absorver impactos sem fracturar e a leveza adequada para permitir movimentos rápidos<sup>5</sup>. Estas propriedades são-lhe conferidas pela sua estrutura, que funciona como um compósito bifásico natural: o componente

---

inorgânico ou hidroxiapatite é responsável pela dureza/rigidez e, o componente orgânico ou matriz, pela flexibilidade/resiliência.

A resistência final do osso é superior à dos seus componentes, quando avaliados isoladamente.

Em grande parte, estas características são moduladas pela quantidade de cristais de hidroxiapatite que são depositados na tripla hélice de colagénio tipo I. As variações na densidade mineral óssea (DMO), a composição e o grau de ligações cruzadas ou *cross-linking* do colagénio também podem alterar as suas propriedades<sup>6,7,8</sup>. Se o osso sofre desmineralização, como nalgumas situações em que ocorre aumento da reabsorção óssea, torna-se demasiado flexível, sobretudo durante a carga e fractura; se fica excessivamente mineralizado flexe pouco durante a carga e, também, fractura<sup>9</sup>. O aumento na DMO aumenta a rigidez, mas diminui a flexibilidade<sup>10,11</sup>. A tripla hélice do colagénio fornece resistência na tensão. Se as ligações cruzadas do colagénio forem escassas, as hélices podem separar-se; se estiverem presentes em excesso, a capacidade de absorver energia diminui. Quando o limite elástico é excedido, o osso pode ainda absorver energia, mas de uma forma plástica, que causa microdanos. Se a energia exceder as capacidades de deformação elástica e plástica do osso, este fractura<sup>1</sup>.

### **1.1.2 - Macroestrutura e Geometria do Osso**

A macroestrutura e a geometria do osso também contribuem para as suas propriedades materiais. Os ossos longos apresentam uma forma tubular e uma cavidade medular central; deste modo, a massa de osso cortical posiciona-se longe do eixo central, o que aumenta a resistência à flexão<sup>12</sup>. Pelo contrário, na coluna vertebral, os corpos vertebrais possuem uma fina camada periférica de osso compacto e uma região de osso trabecular,

---

de morfologia esponjosa e de localização central, que absorve energia durante as cargas de compressão e que reassume a forma original em repouso<sup>2</sup>.

A dimensão dos ossos determina algumas diferenças na resistência a cargas verificadas entre homens e mulheres e entre diferentes raças. Os homens e as mulheres de uma forma geral apresentam densidade volumétrica trabecular (dada pelo número e espessura das trabéculas num determinado volume) vertebral semelhante, mas o homem apresenta vértebras maiores e mais volumosas; este facto contribui para o aumento da resistência do osso no homem<sup>13</sup>. A raça negra tem corpos vertebrais mais largos e curtos do que a caucásica, maior densidade volumétrica trabecular vertebral e trabéculas mais espessas, o que a protege da perda óssea<sup>14</sup>.

Nos ossos longos, as diferenças que se verificam entre os sexos e as raças, na aposição perióstea do osso e na reabsorção endocortical, durante o crescimento e o envelhecimento, causam diferenças no diâmetro e na espessura da cortical óssea e, ainda, diferenças na distância entre a massa cortical periférica e o eixo central, o que se traduz por diferenças na resistência do osso<sup>13,15,16</sup>.

As vértebras, com a sua estrutura porosa, funcionam como uma esponja que, por comparação com os ossos longos, consegue deformar-se e absorver mais energia, sem sofrer microdanos. Mas, e ao contrário dos ossos longos, a sua estrutura não está programada para tolerar picos máximos de carga. As trabéculas vertebrais favorecem a leveza e a flexibilidade por oposição à rigidez<sup>14</sup>.

Embora a estrutura determine as cargas que o osso consegue suportar, o reverso também é verdade – as cargas condicionam a estrutura e a composição do osso. Essas adaptações podem, no entanto, ter maior ou menor sucesso<sup>17</sup>. Por exemplo, em modelos murinos de osteogénese imperfeita, quando se induz um aumento do colagénio, este, como é defeituoso, não corrige a fragilidade óssea. Assim, um osso saudável resulta do

---

equilíbrio entre estrutura, propriedades e massa óssea adequadas e as adaptações necessárias à sua função.

## **1.2 - FISIOLOGIA E METABOLISMO DO OSSO**

Os mecanismos celulares responsáveis pela adaptação do osso são a modelação (construção) e a remodelação (reconstrução). Estes mecanismos podem produzir alterações das dimensões, da forma e da microestrutura do osso, aumentando a espessura das corticais e das trabéculas durante o crescimento e, tornando-as mais finas, no envelhecimento. A remodelação óssea, que resulta do balanço entre a formação e a reabsorção ósseas, mantém-se ao longo de toda a vida e é uma função essencial do osso que assegura o equilíbrio do metabolismo do cálcio e do fósforo e também a reparação de microdanos do osso<sup>5</sup>. Durante o período de crescimento do indivíduo, a modelação e a remodelação são essenciais para o crescimento linear e estabelecem o pico de massa óssea. O pico de massa óssea é atingido entre os 20 e os 30 anos e é dependente em cerca de 60 a 80% de factores genéticos<sup>18</sup>. Durante a vida adulta, estes processos reparam microdanos e mantêm a resistência óssea. Em cada momento, a massa óssea resulta do balanço entre o pico de massa óssea obtido no fim da maturação do esqueleto e a taxa de perda óssea posterior<sup>19</sup>. As cargas e os traumatismos causam agressões e microdanos e o osso possui a capacidade de detectar a localização e a extensão da lesão, removê-la, substituí-la por osso novo, reconstruindo a composição e a micro e macro-arquitecturas ósseas<sup>20</sup>. Para que este processo ocorra é necessário que exista um equilíbrio entre a formação e a reabsorção e que o volume de osso reabsorvido seja equivalente ao do osso formado.

A remodelação é também essencial para a manutenção da homeostasia do cálcio. Os ossos são o principal depósito de cálcio do organismo e, através da reabsorção óssea ou da deposição de cálcio no osso, rapidamente se modificam os valores da calcémia. As

---

hormonas mais importantes na regulação da homeostasia do cálcio são a paratormona (PTH), a vitamina D e a calcitonina. Estas hormonas exercem acções no osso, intestino e rim, aumentando ou diminuindo a reabsorção de cálcio e paralelamente também a de fosfato<sup>21,22</sup>. Aumentos da PTH ou diminuição da vitamina D podem causar desmineralização óssea.

### **1.3 - MECANISMOS DE FORMAÇÃO E REABSORÇÃO ÓSSEAS.**

#### **REGULAÇÃO DA REMODELAÇÃO ÓSSEA**

A remodelação óssea é um processo cíclico e contínuo que ocorre a nível das unidades microscópicas de remodelação<sup>23</sup> e resulta das actividades acopladas de reabsorção óssea pelos osteoclastos e de formação óssea pelos osteoblastos. Depende, por isso, da normal formação, proliferação, função e sobrevivência dos osteoclastos, dos osteoblastos e, também, dos osteócitos. Cada ciclo de remodelação tem uma duração aproximada de 90 a 130 dias, sendo habitualmente a fase de reabsorção mais curta do que a de formação. Em indivíduos adultos, a remodelação óssea tem como principal objectivo a reparação do osso lesado<sup>24,25</sup>. Para que tal ocorra, é necessário que o osso, em fase quiescente, identifique o local e a extensão da lesão, inicie a reabsorção e controle a quantidade do osso a formar.

O processo de remodelação óssea decorre em 3 etapas: 1) a produção de matriz orgânica extracelular ou osteóide, 2) a mineralização da matriz com formação de osso e 3) a remodelação óssea com reabsorção, seguida da formação de novo osso. A actividade celular dos osteoblastos, osteócitos e osteoclastos é fundamental neste processo (Figura 1).

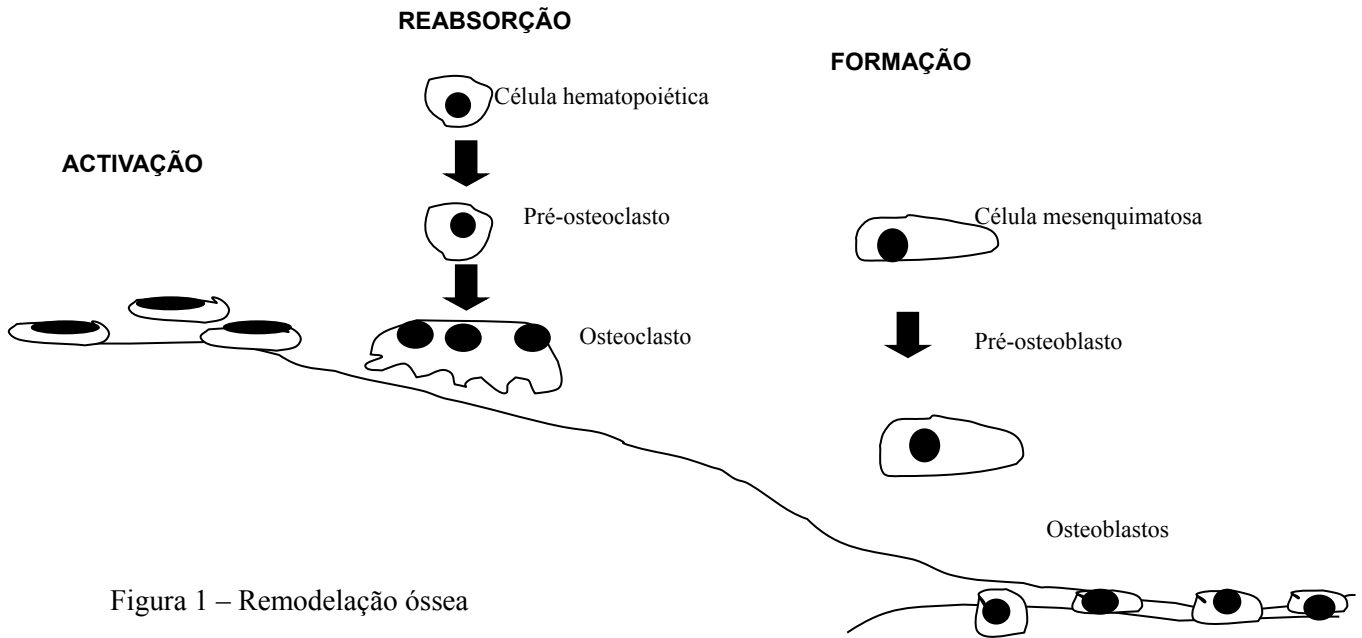


Figura 1 – Remodelação óssea  
(adaptado de H. Canhão et al.5)

### 1.3.1 – Osteócitos

Os osteoblastos sintetizam os precursores moleculares da matriz óssea e regulam a sua mineralização. À medida que o processo de formação óssea progride, os osteoblastos preenchem as lacunas de reabsorção formadas pelos osteoclastos, produzem osteóide, ficam aprisionados na própria matriz e passam a denominar-se osteócitos<sup>26</sup>. Os osteócitos são as células ósseas mais numerosas, as que sobrevivem mais tempo e as menos estudadas. Os osteócitos comunicam entre si e com os osteoblastos achatados marginais (*lining cells*) através de prolongamentos citoplasmáticos, formando uma rede de comunicações densa, o que sugere que estas células participam no processo que assegura a integridade estrutural e material que resulta na manutenção da resistência óssea<sup>24-25,27,28</sup>. Provavelmente detectam as lesões ósseas e sinalizam a necessidade de adaptação da remodelação à dimensão e forma das lesões e à distribuição das forças que

---

se exercem sobre o osso. A apoptose dos osteócitos que ocorre em situações de deficiência de estrogénios, corticoterapia, envelhecimento e após agressão do osso, associa-se à perda de resistência, mesmo antes da perda de massa óssea ser detectada<sup>28,29</sup>. A morte destas células provavelmente sinaliza, através de estímulos bioquímicos e quimiotáticos, a existência e a localização do dano, marcando o alvo para a remodelação. A confirmar esta ideia existem trabalhos que mostram que as zonas com microdanos contêm osteócitos apoptóticos, por oposição às zonas não lesadas e quiescentes onde aqueles são inexistentes<sup>28</sup>. O número de osteócitos que sofre apoptose pode fornecer informações topográficas aos osteoclastos para iniciarem a reabsorção. Por isso, e ao contrário do que classicamente é afirmado, a primeira etapa da remodelação não será provavelmente a reabsorção. Primeiro os osteoclastos têm que ser formados e serem informados do local onde devem reabsorver osso e em que quantidade. Estas instruções podem provir de sinais produzidos no local da lesão ou pela morte dos osteócitos que definem a localização e a quantidade de reabsorção necessária. Os sinais são provavelmente parcialmente retransmitidos pelos processos citoplasmáticos que ligam os osteócitos às *lining cells*<sup>30</sup>. Estas formam uma cobertura parcial do compartimento onde ocorre a remodelação<sup>31</sup>. Neste microambiente intervêm factores locais que incluem factores de crescimento vascular, precursores dos osteoclastos, macrófagos e células T activadas que participam, juntamente com os precursores dos osteoblastos, na osteoclastogénese. Os precursores dos osteoblastos diferenciam-se até se transformarem em osteoblastos maduros capazes de produzir osteóide. Os produtos resultantes da matriz reabsorvida e os produtos produzidos ou exocitados pelos osteoclastos podem, eles próprios, funcionar como sinais para os osteoblastos e osteócitos e, assim, contribuir para acoplar os processos de formação e reabsorção ósseas<sup>32</sup>. Em resumo, o osteócito está envolvido no início da remodelação, e

---

a regulação subsequente local é bidireccional, com os precursores dos osteoblastos a controlarem a osteoclastogénese e os produtos dos osteoclastos e da matriz reabsorvida a modularem a formação óssea.

### **1.3.2 – Osteoblastos e Formação óssea**

Os osteoblastos, células-chave da formação óssea, têm origem em células progenitoras mesenquimatosas do estroma da medula óssea que também originam condroblastos, fibroblastos, adipocitos e miocitos<sup>33</sup>. Os precursores osteoblásticos mesenquimatosos diferenciam-se em células pré-osteoblásticas não funcionantes e posteriormente em osteoblastos maduros, capazes de formar osso<sup>33</sup>. A diferenciação acompanha-se da expressão de marcadores fenotípicos característicos do osteoblasto, como sejam a expressão do gene do colagénio tipo I, da fosfatase alcalina, da sialoproteína óssea e da osteocalcina<sup>34</sup>. Para que um precursor mesenquimatoso se diferencie na linhagem osteoblástica é necessária a presença de um factor de transcrição específico dos osteoblastos, o factor de ligação do *core a1* (*core binding factor a1*- Cbfa1)<sup>35</sup>. Os osteoblastos codificam 2 genes específicos: o factor de transcrição Cbfa1 e a osteocalcina<sup>36</sup>. O factor de transcrição Cbfa 1 é o mais precoce e específico marcador da osteogénese<sup>35</sup>. Induz a diferenciação dos osteoblastos, controla a formação óssea pelos osteoblastos diferenciados e regula a expressão da osteocalcina. Os ratos deficientes em Cbfa 1 possuem um esqueleto apenas formado por cartilagem pois os osteoblastos nunca se diferenciam<sup>37</sup>. Mas estes ratos são também desprovidos de osteoclastos, o que confirma a necessidade da presença de osteoblastos para que ocorra a diferenciação dos osteoclastos. Por enquanto não são ainda conhecidos todos os factores de transcrição que controlam a expressão do Cbfa1. Sabe-se no entanto que proteínas morfogénicas do osso (BMP) podem induzir a expressão de Cbfa 1 *in vitro*, que o factor de crescimento

---

transformador (*transforming growth factor  $\beta$*  - TGF  $\beta$ ) controla a diferenciação dos osteoblastos e modula a expressão do Cbfa 1 e que outros factores como o factor de crescimento dos fibroblastos (*fibroblast growth factor* - FGF) são também importantes na diferenciação dos osteoblastos<sup>36</sup>. O gene da osteocalcina é expresso apenas nos osteoblastos diferenciados terminais<sup>38</sup>. Nos últimos anos, têm aumentado as evidências de que a diferenciação dos osteoblastos, a partir de células estromais da medula óssea, está inversamente relacionada com a diferenciação dos adipócitos<sup>39</sup>. A apoiar este facto verifica-se que a estimulação de factores de transcrição através do receptor proliferador-activador peroxisomal (*peroxisome proliferator-activated receptor* - PPAR)  $\gamma$  induz aumento da adipogenese e inibição da osteoblastogenese.

Para além dos factores que interferem na diferenciação osteoblástica, têm sido estudados factores que podem potencialmente interferir com a sua função<sup>40</sup>. Os osteoblastos são uninucleados e apresentam forma variável que reflecte o nível da sua actividade celular. Nos estados maturativos tardios dispõem-se ao longo da superfície formadora do osso. Os osteoblastos sintetizam os precursores do colagénio tipo I, que constituem 90 a 95% da matriz orgânica do osso<sup>41</sup>. Os osteoblastos também produzem osteocalcina e proteoglicanos e são ricos em fosfatase alcalina, uma enzima que cliva compostos fosfatos orgânicos<sup>41,42</sup>. Outra característica importante dos osteoblastos é possuírem receptores para a PTH e provavelmente também para os estrogéneos<sup>43</sup>. Algumas substâncias como hormonas e factores de crescimento e outros estímulos como a actividade física, exercem efeitos no osso, actuando através dos osteoblastos<sup>44,45</sup>.

A formação óssea é regulada por factores hormonais sistémicos e por factores locais<sup>33,46</sup>. A PTH, que é uma hormona que exerce efeitos predominantemente reabsortivos, quando administrada por via sub-cutânea intermitente, tem a capacidade de estimular a formação óssea<sup>47</sup>. Este facto deve-se a uma acção anti-apoptótica sobre o

---

osteoblasto maduro e sobre o osteócito, o que aumenta a capacidade dos osteoblastos sintetizarem proteínas matriciais<sup>48</sup>. Os corticosteróides exercem efeitos variados e complexos na formação óssea. São bem conhecidos os efeitos deletérios no osso da corticoterapia a longo prazo, provavelmente por exercer uma inibição da proliferação e da diferenciação dos precursores osteoblásticos e por um efeito pro-apoptótico nos osteoblastos maduros<sup>49</sup>. Mas, *in vitro*, o tratamento de culturas celulares de osteoblastos com glicocorticóides, estimula a actividade osteoblástica, com aumento da síntese de colagénio tipo I<sup>50,51</sup>.

Uma via de investigação recente tem sido a determinação de uma eventual regulação endócrina no controlo da formação óssea. A leptina é uma hormona sintetizada pelos adipocitos que funciona como um sinal de saciedade ao ligar-se a receptores no hipotálamo<sup>52,53</sup>. Vários trabalhos têm demonstrado que esta hormona, além de controlar a massa gorda, também regula a formação óssea. Ao nível do osso, a leptina pode exercer dois efeitos antagónicos. Através de uma via sistémica, provavelmente com ligação a receptores neuronais no hipotálamo, inibe a função dos osteoblastos. Mas pode ter um efeito local estimulador dos osteoblastos quando se liga a receptores no osso. O efeito predominante parece ser exercido de forma indirecta através dos receptores do hipotálamo, inibindo a função dos osteoblastos, não interferindo no número total ou na diferenciação destes, nem na função osteoclástica<sup>53</sup>. Os modelos animais não produtores de leptina têm uma obesidade mórbida e apresentam uma massa óssea superior ao normal<sup>54</sup>.

Os estrogéneos estimulam a formação óssea por um mecanismo indirecto através da produção osteoblástica de factores de crescimento como o TGF- $\beta$  e o factor de crescimento insulina-like (*insulin-like growth factor* - IGF-1)<sup>55</sup>. A insulina e a hormona de crescimento, também através do IGF-1, exercem um efeito anabolisante ósseo<sup>56</sup>.

---

Para além destes factores sistémicos, a presença de factores de crescimento locais, produzidos pelos próprios osteoblastos, pode estimular a formação óssea. A família dos TGF- $\beta$  é representada no tecido ósseo pelo TGF- $\beta_1$ , TGF- $\beta_2$ , TGF- $\beta_{333}$ . Estes são sintetizados pelo osteoblasto, sob a forma de precursores inactivos<sup>33</sup>. A concentração local de TGF- $\beta$  é regulada por hormonas como a PTH e os estrogéneos e ainda pelas proteases existentes na membrana ondulada dos osteoclastos, que clivam a forma latente inactiva<sup>57</sup>. Os TGF- $\beta$  estimulam a proliferação e a diferenciação dos precursores dos osteoblastos e estimulam a síntese de proteínas da matriz pelo osteoblasto maduro<sup>57</sup>. Deste modo, os TGF- $\beta$  estimulam a formação óssea e intervêm também no processo de interacção entre a formação e a reabsorção óssea. O TGF- $\beta$  que é libertado durante a reabsorção participa na apoptose dos osteoclastos, constituindo um sinal para o fim da reabsorção e recruta osteoblastos para a lacuna de reabsorção, o que permite reiniciar o processo de formação<sup>58</sup>. Outros membros da família do TGF- $\beta$ , muito importantes como indutores da formação óssea, são as proteínas morfogénicas ósseas (BMP), sobretudo as BMP numeradas de 2 a 8, que estruturalmente são muito semelhantes aos TGF- $\beta_1$  e TGF- $\beta_2$ <sup>59</sup>. As BMP actuam em receptores diferentes mas com acções muito semelhantes ao TGF- $\beta$ , sendo potentes indutores da diferenciação osteoblástica<sup>60</sup>. Actuam aumentando a expressão de factores de transcrição dos osteoblastos que controlam a expressão de diversos genes que codificam as proteínas da matriz. Actualmente considera-se que a via de sinalização Wnt, nomeadamente a via Wnt canónica ou Wnt/ $\beta$ -catenina, tem um papel muito relevante na diferenciação e proliferação dos osteoblastos<sup>46</sup>. Esta via é regulada por mediadores activadores e inibitórios. O co-receptor constituído pelas proteínas 5 e 6 relacionadas com o receptor da lipoproteína de baixa densidade (*low density lipoprotein receptor related protein 5/6* - LRP5/6) é uma das proteínas envolvidas nesta via e mutações neste co-receptor são causa de doenças

---

ósseas. Outros factores importantes na regulação óssea são o IGF-1 e IGF-2, o factor de crescimento derivado das plaquetas (*platelet derived growth factor* - PDGF), o FGF-1 e o FGF-2<sup>61,62,63</sup>. Todos estes factores são produzidos pelos osteoblastos e actuam no microambiente ósseo, estimulando a proliferação e a diferenciação dos precursores osteoblásticos ou aumentando a capacidade de síntese dos osteoblastos maduros. Com acção oposta, a esclerostina, um produto do gene SOST produzido pelos osteócitos, através da via de sinalização Wnt, liga-se e inibe a actividade do receptor LRP5/646<sup>64</sup>. Quando modulada desta forma, a via Wnt inibe a proliferação e a maturação dos osteoblastos e promove a sua apoptose<sup>65</sup>. A esclerostina parece ser essencial para a inibição e supressão da formação óssea; mutações que diminuem a expressão da esclerostina pelos osteócitos, são responsáveis pela formação aumentada do osso que ocorre na esclerosteosis.

### **1.3.3 – Regulação da osteoclastogénese**

Como já referido, a remodelação óssea depende da acção integrada e acoplada dos osteoblastos que formam osso e dos osteoclastos que o reabsorvem<sup>66</sup>. Os osteoblastos além de sintetizarem e efectuarem a deposição de proteínas da matriz extracelular óssea, são responsáveis pela síntese e secreção de moléculas que iniciam e controlam a diferenciação dos osteoclastos<sup>67</sup>.

Os osteoclastos, células fundamentais no processo de reabsorção óssea, são derivados de células hematopoiéticas da linhagem monocito-macrofágica<sup>67</sup>. A regulação da osteoclastogénese (diferenciação do macrófago em osteoclasto) depende da presença de osteoblastos<sup>68</sup> e é modulada pelo factor de estimulação das colónias de macrófagos (*macrophage colony stimulating factor* - MCSF) e pelo ligando do receptor de activação do factor nuclear kB (NF-kB), RANKL<sup>69</sup>. Este liga-se ao receptor RANK da família do

factor de necrose tumoral alfa (*tumour necrosis factor* - TNF), localizado na membrana do osteoclasto<sup>67</sup>. A osteoprotegerina (OPG) é uma proteína solúvel que impede a ligação do RANKL ao RANK, inibindo assim a osteoclastogénese<sup>70,71</sup>. O RANKL é um factor diferenciador dos osteoclastos, secretado pelas células do estroma e pelos osteoblastos, com localização transmembranar<sup>72</sup>. Também é expresso em abundância nos linfocitos T activados<sup>73</sup>. Estes podem despoletar a osteoclastogénese e provavelmente assumem um papel importante na destruição articular da artrite reumatóide<sup>74</sup>. Os osteoclastos e os seus precursores possuem receptores RANK. A OPG é um receptor solúvel com alta afinidade para o RANKL e que compete com o RANK na ligação deste com o RANKL (Figura 2).

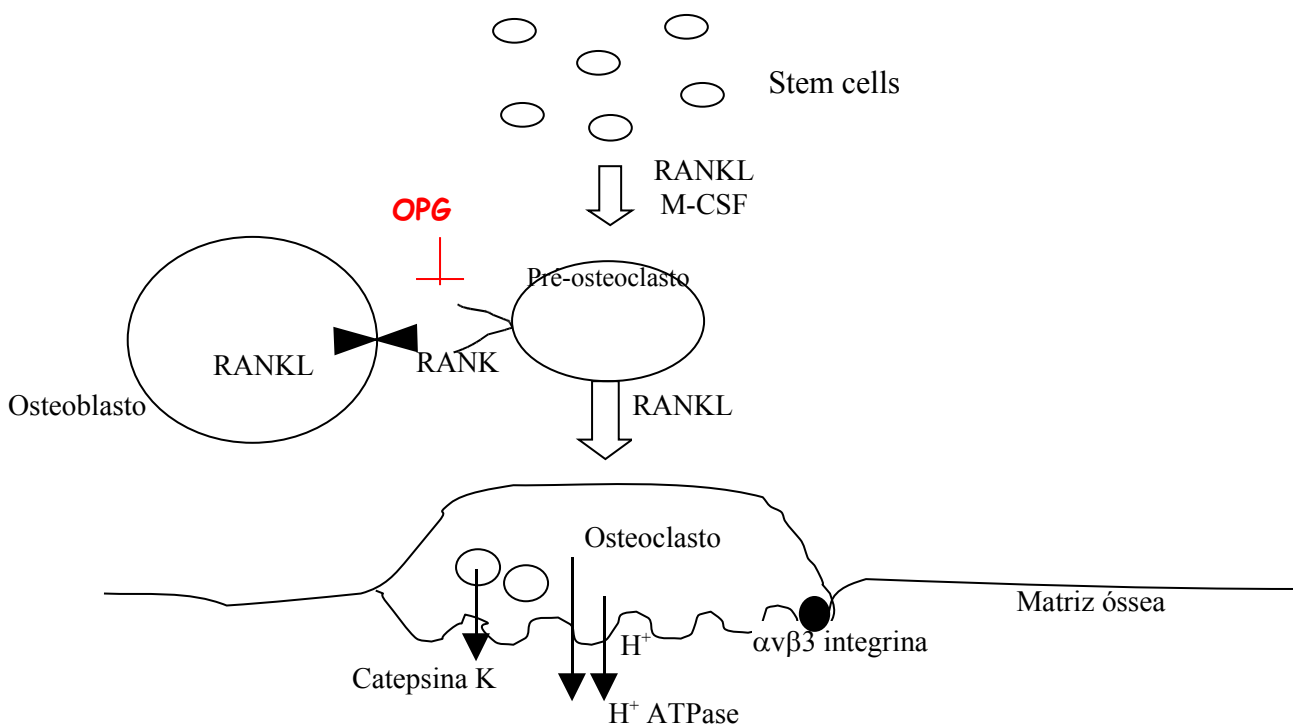


Figura 2 - Mecanismos reguladores da diferenciação e actividade dos osteoclastos. A OPG é um receptor solúvel que ao ligar-se ao receptor RANK do pré-osteoclasto, impede a ligação deste ao RANKL produzido pelo osteoblastos, inibindo assim a osteoclastogénese.

OPG- osteoprotegerina; RANK- receptor de activação do factor nuclear kB; RANKL-RANK ligando; MCSF- macrophage colony stimulating factor (adaptado de H Canhão et al5)

---

A administração de OPG suprime a osteoclastogénese no rato. É o balanço entre a expressão do estimulador da osteoclastogénese RANKL e do receptor solúvel inibidor OPG, que determina a quantidade de osso reabsorvido<sup>67</sup>. Pode-se induzir osteoclastogénese *in vitro* com macrófagos, M-CSF e RANKL<sup>69</sup>. O número de osteoclastos pode ser modulado variando a concentração destas moléculas. Os agentes que induzem a expressão de M-CSF causam proliferação dos precursores dos osteoclastos; o RANKL estimula o *pool* dos precursores expandidos pelo M-CSF a transformarem-se no fenótipo osteoclástico. A diferenciação dos osteoclastos é principalmente regulada pelo M-CSF, RANKL e OPG. Alterações neste sistema podem conduzir a desequilíbrios na remodelação do osso<sup>75</sup>.

As células do estroma e os osteoblastos são os alvos da maioria dos agentes osteoclastogénicos que exercem o seu efeito aumentando a expressão do RANKL<sup>76</sup>. A PTH, por exemplo, induz osteoclastogénese, sem que os osteoclastos possuam receptores de alta afinidade para esta hormona<sup>77</sup>. A PTH interage com receptores dos osteoblastos e de algumas células do estroma que produzem RANKL<sup>78</sup>. A 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamina D3 também induz a expressão do RANKL<sup>79</sup>. Citocinas como as interleucinas (IL) -1, IL-6 e TNF alfa aumentam a reabsorção óssea, modulando-a em parte através do sistema RANK-RANKL<sup>80,81,82</sup>. É ainda controverso se o TNF alfa na ausência de RANKL influencia directamente os macrófagos e induz a diferenciação para osteoclastos, mas provavelmente o TNF alfa só actua na presença de RANKL. A apoiar esta hipótese existem observações, na artrite experimental, em que mesmo na presença de grandes quantidades de TNF alfa, a administração sistémica de OPG bloqueia a osteoclastogénese<sup>83</sup>. A IL-1, da mesma forma que o TNF alfa, estimula a expressão de M-CSF pelas células do estroma da medula e este efeito é inibido pelos estrogénios<sup>81</sup>. O aumento dos osteoclastos na osteoporose pós menopáusia (OPPM) reflecte, pelo

menos em parte, a não inibição da IL-1 pelos estrogéneos, com consequente aumento do M-CSF<sup>84</sup> (Figura 3).

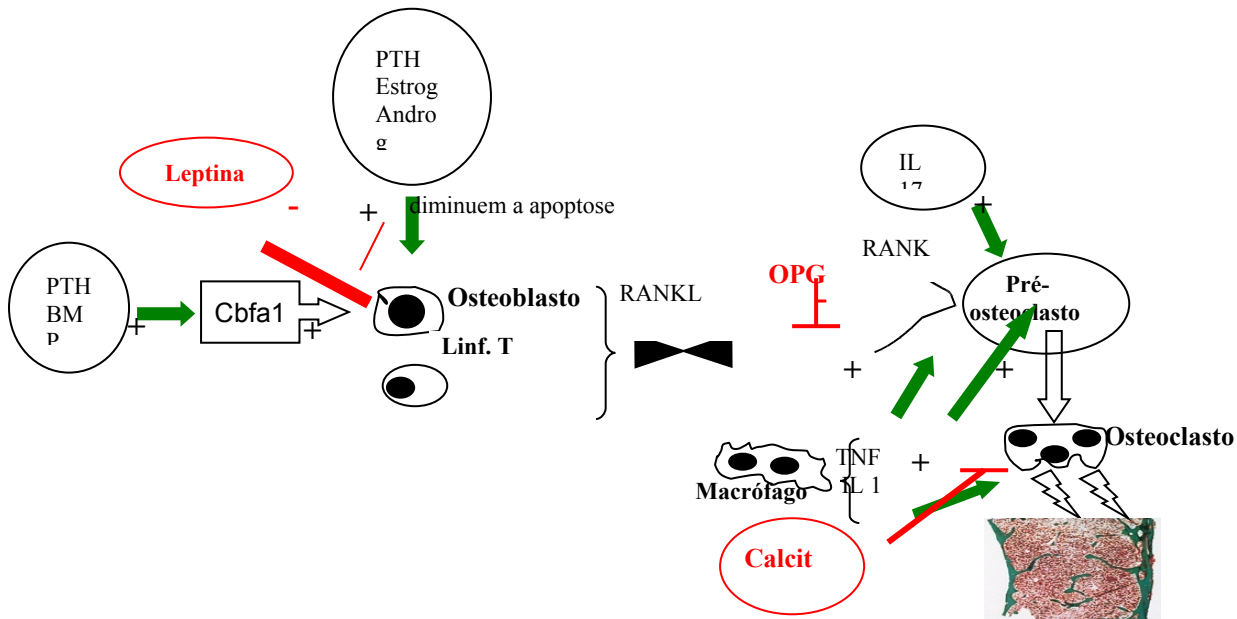


Figura 3 – Regulação da remodelação óssea - células e mediadores moleculares.

PTH- hormona paratiroideia; Estrog- estrogéneos; Androg- androgéneos; Bifosf- bifosfonatos; BMP- proteínas morfogénicas do osso; FGF- factor de crescimento dos fibroblastos; Cbfa1- factor de ligação do core  $\alpha 1$ ; Linf. T- linfócito T; OPG- osteoprotegerina; RANK- receptor de activação do factor nuclear  $\kappa B$ ; RANKL- RANK ligando; TNF- factor de necrose tumoral; Calcit- calcitonina. As setas verdes representam factores estimuladores (+) e os símbolos vermelhos, sinais inibitórios (-) (adaptado de H Canhão et al<sup>5</sup>)

A reabsorção óssea é um processo constituído por várias etapas. É iniciada pela proliferação de precursores osteoclásticos imaturos, seguida da sua transformação para fenótipo osteoclástico e finalmente da degradação do osso pelas células maduras. O osteoclasto maduro apresenta uma morfologia característica. É um macrófago multinucleado especializado que desenvolve um citoesqueleto preparado para estabelecer um microambiente entre a célula e o osso; a degradação da matriz ocorre através de um processo que envolve o transporte de protões<sup>85</sup>. O osteoclasto tem a capacidade de se polarizar no osso e formar uma membrana ondulada. O complexo da membrana plasmática pregueada justaposto à matriz é o organelo reabsortivo do

---

osteoclasto e só surge quando a célula está aderente ao osso. Depois de ligado ao osso, o osteoclasto gera um microambiente extracelular entre ele e a superfície óssea. Os podossomas formam-se quando o osteoclasto está imobilizado e aderente ao osso em degradação e desaparecem após descolamento e mobilização do osteoclasto. O osso, como vimos, é constituído por colagénio tipo I (constitui mais de 90% das proteínas da matriz), proteínas não colagénicas e minerais<sup>41</sup>. A dissolução da fase inorgânica do osso precede a degradação da matriz. A desmineralização do osso envolve a acidificação do microambiente extracelular isolado, um processo mediado por uma trifosfatase H<sup>+</sup>-adenosina (H<sup>+</sup>-ATPase) vacuolar da membrana ondulada da célula<sup>85</sup> (Figura 2). É provável que uma ou mais subunidades da H<sup>+</sup>-ATPase sejam específicas dos osteoclastos<sup>86</sup>. O meio ácido mobiliza o mineral ósseo, subsequentemente o componente orgânico desmineralizado é degradado por uma protease lisosómica, a catepsina K<sup>87</sup>. Os produtos de degradação óssea são endocitados pelo osteoclasto, transportados e libertados na superfície antireabsortiva celular<sup>88</sup>.

O ciclo funcional do osteoclasto consiste em episódios de adesão à matriz seguido de descolagem e movimento até novo local de degradação óssea<sup>67</sup>. O reconhecimento do osso pelos osteoclastos é controlado por integrinas<sup>89</sup>. A molécula major da ligação é a  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  integrina que parece também desempenhar um papel na organização do citoesqueleto e na formação dos podossomas<sup>89-90</sup>. Ainda são pouco conhecidos os sinais que suprimem a reabsorção óssea. Como já foi dito, os factores que coordenam o aparecimento sequencial de osteoclastos e osteoblastos nos locais de reabsorção óssea são um dos grandes enigmas da biologia do osso<sup>67</sup>. Após a degradação do osso, da qual resulta a formação de uma lacuna de reabsorção, os osteoclastos destacam-se e são substituídos por osteoblastos, iniciando um novo ciclo.

---

---

## 2. OSTEOPOROSE

### 2.1 - DEFINIÇÃO

O conceito de osteoporose (OP) tem evoluído ao longo do tempo. No início do séc. XIX, OP significava “ossos fracos” ou “menos osso”<sup>91</sup>. O conceito de OP pós-menopáusia (OPPM) foi introduzido por Fuller Albright, que associou a doença óssea à diminuição dos estrogénios na perimenopausa. Outro conceito introduzido posteriormente foi o de OP senil, que passou a denominar-se OP tipo II (por oposição à OP pós-menopáusia ou do tipo I) e que relacionava a perda óssea com o envelhecimento.

No início da década de 90, a partir de uma reunião de consenso promovida pela Organização Mundial de Saúde (OMS), foi introduzido um novo conceito de OP<sup>92</sup>. A osteoporose foi definida como uma doença óssea sistémica, caracterizada por diminuição da massa óssea, maior fragilidade óssea e maior susceptibilidade a fracturas. Esta definição salientava a importância de dois factores, a massa óssea e as fracturas e ficou conhecida como a definição operacional de OP da OMS. Este conceito foi impulsionado pelo desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico que conseguiam quantificar a massa óssea e por evidências epidemiológicas que demonstravam a importância das fracturas associadas à OP. Teve o mérito de permitir um enorme avanço no reconhecimento da osteoporose e na investigação de fármacos que comprovadamente reduziam o risco de fracturas<sup>91</sup>. O diagnóstico de OP baseava-se essencialmente na medição da massa óssea por absorciometria de dupla energia radiológica (DEXA) e classificava os indivíduos em 4 classes principais, de acordo com o valor da comparação da sua densidade mineral óssea (DMO) com a de um grupo de indivíduos jovens do mesmo sexo. De acordo com essas classes, o indivíduo podia ser classificado como normal, osteopénico, osteoporótico ou, no caso de ter sofrido pelo

---

menos uma fractura osteoporótica, osteoporótico grave. A desvantagem desta definição foi ter conferido uma importância excessiva e quase exclusiva à diminuição da massa óssea como factor de risco para fracturas, o que conduziu a um aumento marcado da requisição de DEXAs e ao conceito, errado, de que a indicação para início e monitorização da terapêutica da OP dependia exclusivamente do resultado da DEXA91.

Na segunda metade da década de 90, surgiram novas evidências que demonstraram que a diminuição do risco de fractura obtido com terapêuticas anti-osteoporóticas, era superior ao esperado para o aumento da massa óssea verificado e que o aumento de massa óssea induzido por algumas terapêuticas, como por exemplo o flúor, não se reflectia em diminuição do risco de fracturas<sup>93</sup>. Progressivamente foi sendo aceite que para a decisão de tratar ou não um indivíduo, o importante seria valorizar a resistência do osso e esta dependia, não apenas da massa óssea ou da “quantidade de osso”, mas também da sua “qualidade”. A definição actual de OP destaca a importância das alterações da microestrutura óssea, do aumento da fragilidade e diminuição da resistência do osso, no aumento do risco de fractura<sup>94</sup>. No entanto, ainda não é possível na prática clínica diária, efectuar uma avaliação objectiva da qualidade do osso numa fase precoce (antes da ocorrência da fractura) e com meios não invasivos (a histomorfometria implica biópsia óssea) e o diagnóstico e a classificação de OP continuam a basear-se na DEXA e na definição operacional da OMS.

Actualmente, é aceite de forma consensual que a OP e a ocorrência de fracturas osteoporóticas dependem de inúmeros factores para além da massa óssea - nomeadamente idade e sexo do indivíduo, existência de fracturas prévias, história familiar de fracturas, corticoterapia, entre outros – e a definição de OP está a ser revista pela OMS, de forma a integrar outros factores para além dos densitométricos<sup>95</sup>.

---

## **2.2 – EPIDEMIOLOGIA, FACTORES DE RISCO DE OSTEOPOROSE E FACTORES DE PROTECÇÃO DO OSSO**

### **2.2.1 - Epidemiologia da Osteoporose**

O aumento da esperança de vida e o conseqüente envelhecimento da população têm causado um aumento da prevalência da OP e das fracturas osteoporóticas. Segundo estimativas da *International Osteoporosis Foundation* (IOF) publicadas em 2005, uma em cada três mulheres e um em cada cinco homens com idade superior a 50 anos sofria de OP<sup>96</sup>. Globalmente, cerca de 150 milhões de indivíduos sofre de OP<sup>97</sup>. Na Europa, a prevalência é de cerca de 75 milhões de indivíduos<sup>98</sup>. Nos Estados Unidos da América (EUA), a prevalência estimada para indivíduos com idade igual ou superior a 50 anos, é de 44 milhões de indivíduos com OP ou osteopenia<sup>99</sup>. Destes, 10 milhões têm OP, sendo aproximadamente 80% mulheres. Estima-se um aumento deste número para 12 milhões de indivíduos em 2010 e para 14 milhões em 2020.

A prevalência da OP aumenta com a idade, afectando um terço das mulheres no grupo etário dos 60 aos 70 anos e quase dois terços das mulheres com idade igual ou superior a 80 anos<sup>100</sup>. A OP afecta indivíduos de todas as raças e etnias. As mulheres caucásicas são aparentemente um dos grupos mais afectados. Os resultados do inquérito *Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III) realizado nos EUA, revelaram que 20% das mulheres caucásicas pós-menopáusicas tinham OP, enquanto nas mulheres hispânicas esse achado era de 12% e, nas negras, de 8%<sup>101</sup>. Neste estudo não foi determinada a prevalência da OP em mulheres com ascendência asiática.

### **2.2.2 - Epidemiologia da Osteoporose em Portugal**

A prevalência da OP em Portugal não está estabelecida. No entanto estão disponíveis alguns dados de estudos originais publicados<sup>102,103,104,105</sup> e trabalhos de revisão sobre o

Um estudo de 1997<sup>102</sup>, efectuado em 5959 mulheres portuguesas entre os 20 e os 89 anos, vivendo numa região agrícola do Norte do País (concelho de Ponte de Lima, distrito de Viana do Castelo) com absorciometria do antebraço distal, concluiu que a prevalência da OP aumentava com a idade e exponencialmente depois dos 60 anos. Os valores obtidos foram de 5,5% para a década de 50, 24,3% para a década de 60, 48,5% para a década de 70 e 69% para a década de 80. A prevalência total nas mulheres acima dos 50 anos foi de 16,7%, o que corresponderia na população portuguesa, a cerca de 180000 mulheres com mais de 50 anos com OP medida a nível do antebraço distal (a população de referência do estudo, foi constituída a partir do próprio grupo, pelas mulheres com idades compreendidas entre os 20 e os 40 anos).

Outro trabalho<sup>103</sup>, efectuado em 1105 portugueses de ambos os sexos, residentes no Centro do país, num concelho da região de Coimbra, com DEXA, destacou diferenças significativamente mais baixas de prevalência da OP densitométrica, quando utilizados como referência os valores de DMO de portugueses jovens de uma amostra populacional de Coimbra, em oposição ao encontrado quando eram considerados como valores normais os da DMO das populações-padrão do *software* dos aparelhos comercializados. Neste estudo, tendo como população de referência para o *T-score* ou índice T a amostra de Coimbra, determinaram-se valores a nível da coluna lombar, classificáveis como osteopenia, em 50,9% das mulheres e em 28% dos homens e valores compatíveis com osteoporose em 11,5% das mulheres e em 2% dos homens. Ao nível do colo do fémur, a osteopenia foi detectada em 51,8% das mulheres e 54,7% dos homens e a osteoporose em 1,4% das mulheres e 8% dos homens. Estes valores contrastam com os obtidos quando é utilizada a população de referência do

densitómetro que são, para as mulheres, osteoporose em 20,6% e 31,7%, respectivamente para a coluna lombar e fémur proximal.

Por outro lado J. Branco et al104 verificaram, numa amostra de 288 mulheres pós-menopausicas originárias de diferentes regiões do País (Amarante no Norte, Santarém e Portalegre no Centro/Sul e Évora no Sul Interior), por DEXA do punho, uma prevalência de OP de 59%, tendo como referência a população do *software* do aparelho.

Outro estudo<sup>105</sup>, numa população do Porto que participou no *European Vertebral Osteoporosis Study* (EVOS), determinou uma prevalência de OP por DEXA em mulheres pós-menopausicas (idade média de 64,3 anos) de 25% a nível da coluna lombar e de 29% a nível do colo do fémur.

Os dados apresentados de prevalência de OP densitométrica, apresentam algumas discrepâncias que reflectem o facto de os aparelhos utilizados serem de marcas e modelos diferentes, as populações de referência apresentarem valores de DMO distintos, serem avaliadas diferentes regiões e utilizarem metodologias não sobreponíveis (Tabela I).

Autores	n	Local medição	Prevalência OP Punho	Prevalência OP Coluna Lombar	Prevalência OP Colo Fémur
D Araújo et al102	5959	Punho	Mulheres: 16,7%		
Pereira Silva et al103	1105	coluna e colo fémur		Mulheres: 11,5% (20,6% ref ap) Homens: 2%	Mulheres: 1,4% (31,7% ref ap) Homens: 8%
J Branco et al104	288	Punho	Mulheres: 59%		
Aroso-Dias et al105	297	coluna e colo fémur		Mulheres: 25%	Mulheres: 29%

Tabela I – Prevalência da Osteoporose em Portugal (expressa em %).

As populações de referência foram calculadas a partir da amostra do estudo, excepto quando assinalado ref ap (população de referência do aparelho). No trabalho de Aroso-Dias et al105, a população de referência foi calculada a partir de uma população europeia do estudo EVOS (adaptado de H Canhão et al5)

No entanto, em conjunto, fornecem dados muito úteis que nos dão indicações sobre a prevalência da OP densitométrica no nosso país e permitem compará-la com os valores

---

obtidos noutros países. Uma análise do estudo EVOS<sup>109</sup>, realizada em 13 dos centros europeus participantes, registou diferenças evidentes na DMO das diferentes populações caucásicas, apesar de ter sido efectuada uma calibração cruzada dos densitómetros e a DMO ter sido ajustada para a idade e para o índice de massa corporal. Num estudo<sup>110</sup> efectuado nos EUA, registou-se uma diminuição de 60% na prevalência da OP em mulheres pós-menopausicas a nível do colo total, quando a população de referência do aparelho Hologic 2000 (TK) foi substituída pela população NHANES III como padrão de normalidade, sendo a prevalência inicial de OP de 49,2% e, com a nova população, de 19,5%. Estes resultados demonstram a necessidade de ser fornecida informação sobre os métodos e a população padrão utilizada, quando se apresentam dados de prevalência de OP.

### 2.2.3 - Factores de risco

Nas **mulheres** está bem estabelecida a associação entre diversos factores de risco e a OP<sup>23,111,112,113,114</sup>.

São considerados **factores de risco major** os seguintes: idade superior a 65 anos, fractura osteoporótica prévia, antecedentes familiares de fractura osteoporótica da anca, corticoterapia com mais de 3 meses de duração, menopausa precoce, hipogonadismo, hiperparatiroidismo e propensão para quedas.

São considerados **factores de risco minor**: artropatias inflamatórias, história de hipertiroidismo clínico, índice de massa corporal (IMC) inferior a 19 kg/m<sup>2</sup>, raça branca ou asiática, dieta hiperproteica, baixo aporte de cálcio, ingestão excessiva de álcool e de cafeína, tabagismo, imobilização prolongada e terapêutica crónica com anticoagulantes e anticonvulsivantes.

---

Nos homens dispomos de menos dados sobre factores de risco<sup>115,116,117</sup> ainda que alguns sejam comuns aos encontrados nas mulheres. Consideram-se **factores de risco para OP masculina**<sup>118</sup>: idade superior a 70 anos, alcoolismo, má nutrição, corticoterapia, história de fractura não traumática, hipogonadismo, perda de altura e cifose acentuada.

Nas **crianças**<sup>119,120</sup>, as causas secundárias são responsáveis pela maioria dos casos de OP.

#### **2.2.4 – Factores de protecção**

A documentação sobre factores que se associam a aumento da massa óssea é escassa. A maioria dos trabalhos de investigação nesta área médica, avalia factores de risco de OP e considera a ausência desses factores ou a presença de características opostas a estes, factores de protecção do osso. São raros os estudos de indivíduos saudáveis para detecção, nessa população, de factores que se associam a massa óssea mais elevada e/ou a melhor qualidade do osso. Revemos de seguida alguns dos principais estudos que tiveram como objectivo avaliar factores de protecção óssea.

Em primeiro lugar, destacamos a associação entre obesidade e menor perda de massa óssea<sup>121,122</sup>. Inicialmente estes resultados foram interpretados como efeito da produção periférica de estrogénios nos adipócitos<sup>123</sup>. Mais recentemente, a identificação de hormonas como a leptina<sup>124</sup> e a amilina<sup>124</sup> estabeleceram ligações entre o controlo da massa corporal e o da massa óssea. A leptina é uma hormona peptídica secretada pelos adipócitos<sup>125</sup>. Controla o peso corporal induzindo inibição do apetite<sup>126</sup>; este efeito é exercido através da ligação da leptina a receptores do hipotálamo. A leptina pode causar dois efeitos opostos no metabolismo ósseo: a) ao actuar localmente, promove a osteoblastogénese e estimula a função do osteoblasto; b) quando actua por via neuronal, através da ligação a receptores do hipotálamo, diminui a actividade e a função do

---

osteoblasto<sup>125</sup>. Modelos animais deficientes em leptina ou nos seus receptores, apresentam um fenotipo obeso e aumento da massa óssea<sup>53</sup>. Níveis séricos elevados de leptina diminuem a massa óssea, o que indica que a leptina controla a massa óssea através da via neuronal<sup>127</sup>. A amilina, ao contrário da leptina, parece aumentar a massa óssea<sup>128</sup> ao inibir a reabsorção óssea, ao mesmo tempo que regula a absorção de hidratos de carbono, a utilização da glicose e a síntese lipídica<sup>129</sup>. Em Janeiro de 2007, foi publicado o primeiro estudo que estabeleceu uma associação entre o aumento dos níveis séricos de adiponectina e baixa massa óssea<sup>130</sup>; todos os outros estudos publicados até então não estabeleciam qualquer relação entre esta hormona, que está implicada no controlo do peso corporal, e o osso<sup>131</sup>. Finalmente, a estimulação dos PPAR  $\gamma$  induz a diferenciação dos adipocitos na medula óssea e a inibição da osteoblastogénese. Clinicamente observa-se diminuição da massa óssea em doentes tratados com fármacos antidiabéticos que actuam através da ligação a estes receptores<sup>132</sup>.

Outros dados, mais controversos, estabeleceram uma associação entre osteoartrose e menor incidência de OP<sup>133</sup> ainda que, para alguns autores<sup>134</sup>, este facto se devesse apenas a erros na leitura da DEXA, sobretudo a nível da coluna lombar, em que a osteofitose exuberante poderia ser incorrectamente interpretada como aumento de massa óssea.

O excesso de cafeína e de etanol são factores de risco reconhecidos<sup>135</sup>, mas alguns dados sugerem que o consumo regular de chá<sup>136</sup> e o consumo moderado de álcool<sup>137</sup>, podem ser benéficos para o osso.

Como foi referido previamente, o património genético é um determinante fundamental da massa óssea do indivíduo e, nos últimos anos, tem-se registado um aumento na investigação dos aspectos genéticos não só da OP, como também da determinação de uma boa massa óssea. A OP parece ser uma doença poligénica, em que vários genes poderão estar envolvidos e cuja influência dependerá da sua interacção com factores

---

ambientais, como por exemplo o cálcio da dieta e o *status* hormonal<sup>138,139,140</sup>. Mas, em 2002, foram publicados dados interessantes, a partir de estudos efectuados numa família com massa óssea elevada, que revelaram uma mutação na região q12-13 do cromossoma 11<sup>141</sup>. Esta região foi mais tarde identificada, como gene da proteína 5 relacionada com o receptor da lipoproteína de baixa densidade (LRP5)<sup>141,142</sup>. Por oposição, estudos em indivíduos com a síndrome pseudoglioma e OP mostraram também mutações nessa região do cromossoma 11<sup>143,144</sup>.

Relativamente à OP, têm sido publicados estudos contraditórios sobre a importância de polimorfismos de alguns genes, como por exemplo do receptor da vitamina D, estrogénios, receptor sensível ao cálcio (*calcium sensing receptor*), PTH, colagéneo I A1, IL-1 e IL-6<sup>145,146</sup>.

Mais recentemente e reconhecendo a importância na fisiopatologia da OP dos mecanismos de controlo da diferenciação do osteoclasto, tem aumentado o interesse no estudo dos polimorfismos do gene do TNF alfa<sup>147</sup>. A base para esta investigação tem sido reforçada pelo reconhecimento do papel central do TNF alfa na fisiopatologia das erosões da artrite reumatóide e a melhoria do equilíbrio reabsorção/formação óssea nos doentes com artrite reumatóide sob terapêutica com antagonistas do TNF alfa<sup>148</sup>. Na OP há um pequeno número de estudos publicados<sup>149,150,151,152,153</sup> em que foram avaliadas relações com alguns polimorfismos do TNF alfa. Ota et al<sup>150</sup> demonstraram uma associação entre OP e variações em alelos do locus do gene do TNF alfa, utilizando um polimorfismo dinucleótido repetitivo. Noutro estudo<sup>149</sup>, observaram associação entre o genotipo -1031T do gene do TNF alfa e diminuição da DMO. Furuta et al<sup>152</sup> reportaram uma frequência significativamente mais elevada de alelos -863A e -1031C do gene do TNF alfa, no grupo com menor DMO. Em estudos prévios<sup>154</sup>, registámos uma correlação entre os genotipos GA/AA da posição -308 da região do promotor do

---

gene do TNF alfa e maior grau de destruição articular na AR, efeito possivelmente mediado por um aumento da activação osteoclástica<sup>155</sup>. No entanto, Chen et al<sup>151</sup> não encontraram associações entre genótipos na posição -308 e DMO. Moffett et al<sup>153</sup>, registaram diminuição do risco de fractura da anca em mulheres idosas portadoras do alelo A, apesar de não terem observado diferenças nos valores de DMO a nível do colo femoral entre os grupos com diferentes alelos. Na população portuguesa não dispomos de estudos que avaliem a relação entre polimorfismos genéticos do TNF alfa e a massa óssea.

## **2.3 – EPIDEMIOLOGIA, FACTORES DE RISCO E IMPACTO ECONÓMICO DAS FRACTURAS OSTEOPORÓTICAS**

### **2.3.1 – Epidemiologia das fracturas osteoporóticas**

As fracturas constituem a complicação clinicamente mais grave da OP. As localizações mais frequentes são coluna vertebral, punho e anca. O risco combinado de ocorrência, ao longo da vida, de fracturas da anca, coluna ou punho que necessitam de cuidados médicos, é de aproximadamente 40 %, o que é equivalente ao risco de doença cardiovascular<sup>156</sup>. Na União Europeia estima-se que em cada 30 segundos, um indivíduo sofra uma fractura osteoporótica<sup>157</sup>. A prevalência das fracturas osteoporóticas aumenta exponencialmente com a idade (Figura 4) e difere entre os sexos<sup>158</sup>. Oito em cada 20 (40%) das mulheres na idade média da vida e 3 em cada 20 (15%) dos homens irão sofrer uma ou mais fracturas osteoporóticas ao longo da sua vida<sup>159</sup>. Após os 60 anos de idade, as fracturas ocorrem com duas a três vezes maior frequência em mulheres quando comparadas com os homens.

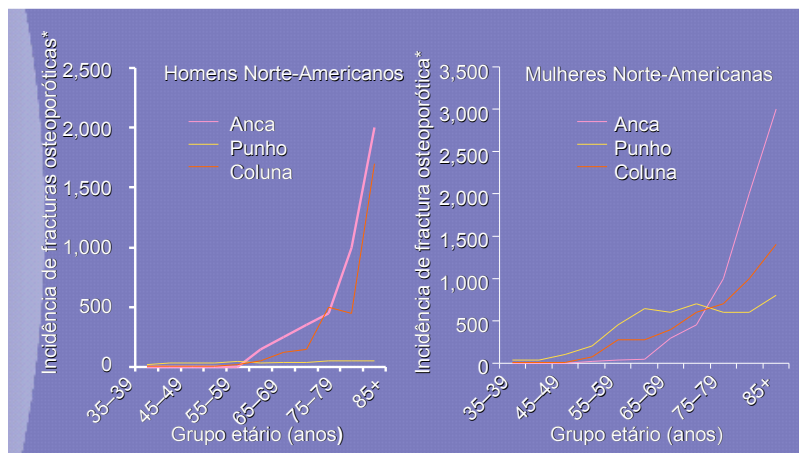


Figura 4 – Incidência anual de fracturas osteoporóticas por 100 000 indivíduos (adaptado de Cooper et al 1992158)

As fracturas vertebrais são o tipo de fractura osteoporótica mais frequente. No entanto, é difícil determinar com precisão as suas incidência e prevalência, pois são assintomáticas em dois terços dos casos e ocorrem frequentemente sem traumatismo prévio evidente<sup>160</sup>. A *American Association of Clinical Endocrinologists* estimou uma prevalência para as fracturas vertebrais em mulheres pós-menopáusicas, superior a 20%<sup>161</sup>. Melton et al sugeriram que nas mulheres, aos 50 anos de idade, o risco de fractura vertebral para o resto da vida é de 16%, enquanto que nos homens com a mesma idade, esse risco é de 5%<sup>162</sup>. Sessenta e cinco anos é a idade mais frequente para a ocorrência da primeira fractura vertebral<sup>163</sup> e a ocorrência de uma fractura vertebral aumenta 2 a 5 vezes o risco de ocorrência de outra fractura no ano seguinte<sup>164,165</sup>. A perda de cerca de 10% da massa óssea vertebral pode duplicar o risco de fracturas vertebrais<sup>166</sup>.

Ao contrário do que acontece com as fracturas vertebrais, as fracturas da anca, são habitualmente sintomáticas<sup>160-167</sup>, exigem cuidados médicos, nomeadamente cirúrgicos e de reabilitação e causam um impacto importante na qualidade de vida dos doentes. A

---

sua prevalência é inferior à das fracturas vertebrais e do punho. O risco previsível para a ocorrência de fractura da anca ao longo da vida, em mulheres aos 50 anos de idade, é de 17,5% (uma em cada seis)<sup>160</sup>. Nos homens de 50 anos de idade, o risco de fractura da anca para o resto da vida é de 6% (um em cada 17)<sup>162</sup>. No entanto, esta proporção varia com a idade do indivíduo. Na União Europeia, estima-se que uma em cada três mulheres e um em cada nove homens com idade superior a 80 anos irá sofrer uma fractura da anca durante a sua vida<sup>159</sup>. A perda de cerca de 10% de massa óssea a nível da anca pode resultar num risco 2,5 vezes superior de fractura<sup>166</sup>.

Como já referido anteriormente, com o envelhecimento da população é esperado que a prevalência da OP e das fracturas osteoporóticas continue a aumentar<sup>160-168</sup>. Entre 1990 e 2050 é previsível que o número global de fracturas osteoporóticas da anca triplique (de 1,7 milhões em 1990 para 6,3 milhões em 2050)<sup>158</sup>. Na União Europeia, é previsível que a incidência anual de fracturas do colo do fémur aumente de 125 000 para 1 milhão em 2020<sup>96</sup> e que, nos próximos 50 anos, aumente cerca de 135%<sup>169</sup>. As fracturas da anca são aparentemente mais frequentes nos países do Norte da Europa<sup>170</sup>, ainda que na Europa Meridional se observem variações de incidência que podem ser de 10 vezes, como salientado no *Mediterranean Osteoporosis Study* (MEDOS)<sup>171</sup>.

No Médio Oriente, estima-se para os próximos 20 anos, um aumento de 3 vezes do número de fracturas da anca<sup>172</sup>. A Ásia e a América Latina são as zonas geográficas onde é previsível a maior progressão no número de fracturas, essencialmente devido ao aumento da esperança de vida da população e a mudanças de estilos de vida<sup>172,173</sup>.

### **2.3.2 – Epidemiologia das fracturas osteoporóticas em Portugal**

Os dados portugueses sobre fracturas da coluna vertebral e do punho são escassos. Relativamente às fracturas vertebrais apenas dispomos dos resultados da amostra

---

populacional portuguesa do Porto que participou no estudo EVOS<sup>174</sup> cuja prevalência de deformações radiológicas vertebrais foi de 13,5% no sexo feminino e de 16,6% no sexo masculino. Se fosse metodologicamente correcto extrapolar os referidos valores para a população portuguesa, significaria que mais de 350 000 indivíduos apresentariam deformações vertebrais. A incidência de novas deformações vertebrais foi calculada em 2,4% em 3 anos, a partir do subgrupo seguido de forma prospectiva (EPOS)<sup>175</sup>, no contexto do estudo EVOS.

Dispomos de mais alguns dados sobre fracturas da anca, porque geralmente requerem internamento. Em três estudos diferentes<sup>176,177,178</sup>, a incidência anual de fracturas da anca, para as mulheres, variou entre 128 e 297 por 100 000 e, para os homens, entre 81 e 136 por 100 000. O crescimento estimado da incidência das fracturas da anca em Portugal, é de 4 a 5% por ano<sup>176</sup>.

### **2.3.3 – Factores de risco e identificação de indivíduos com elevado risco para fracturas osteoporóticas**

O objectivo da avaliação clínica na OP inclui, não somente a determinação de baixa massa óssea, mas também a identificação dos indivíduos com elevado risco de fractura<sup>118</sup>. A determinação do risco absoluto num horizonte temporal definido, seria preferível à do risco relativo. A OMS está actualmente a elaborar algoritmos para determinação do risco absoluto. Estes têm como base a ponderação de vários factores que se consideram ser determinantes para a avaliação do risco de fractura de um indivíduo e incluem a idade, sexo, DMO a nível do colo femoral, fractura prévia, índice de massa corporal (IMC), corticoterapia, existência de causa para OP secundária, história familiar de fracturas, consumo de álcool e tabagismo.

---

### **2.3.4 – Impacto económico das fracturas osteoporóticas**

O impacto económico, resultante dos custos directos e indirectos das fracturas osteoporóticas, é muito elevado em todos os países ocidentais<sup>179</sup> e continua a crescer<sup>180</sup>. No ano 2000 registaram-se, em Portugal, cerca de 8500 fracturas do fémur proximal, com um custo superior a 50 milhões de euros<sup>181</sup>. A comparação do custo médio do internamento das fracturas da anca com os da doença pulmonar crónica obstrutiva, enfarto agudo do miocárdio e doença hepática crónica durante 4 anos (1989-92), num hospital de Lisboa, revelou que as fracturas do fémur proximal foram responsáveis por 41% do gasto global com as 4 situações<sup>179-182</sup>.

## **2.4 – FISIOPATOLOGIA**

### **2.4.1 – Fisiopatologia da Osteoporose**

Como já referido, na última década registaram-se avanços importantes na investigação e conhecimento da biologia celular e molecular das células e dos factores implicados na remodelação do osso<sup>66</sup>. Com base nestes dados foram clarificadas etapas importantes da fisiopatologia da OP. No entanto, muitas dúvidas estão ainda por esclarecer, nomeadamente intervenientes celulares, bioquímicos e genéticos, mecanismos de acção e interrelações entre eles.

A OP pode surgir por um defeito na formação óssea, como o que ocorre na osteogénese imperfeita, ou por um desequilíbrio entre a formação e a reabsorção com predomínio da segunda, que é o mecanismo subjacente à OPPM e à OP secundária à corticoterapia. Apesar de no fim da adolescência ocorrer paragem do crescimento linear, o osso dos adultos continua a ser remodelado e com o envelhecimento, a formação óssea tende a não compensar a reabsorção. A massa óssea dos adultos em qualquer altura da vida é o resultado do balanço entre o pico de massa óssea obtido e o grau de

---

perda óssea ocorrido<sup>183</sup>. O pico de massa óssea é atingido entre os 20 e os 30 anos<sup>184</sup> e o seu valor depende maioritariamente de factores genéticos (60 a 80%) mas é influenciado pelas hormonas sexuais e por factores ambientais como sejam o aporte de cálcio e a actividade física. Após os 40 anos, os factores hormonais e ambientais são os determinantes mais importantes da perda óssea<sup>66</sup>. Este facto está bem demonstrado pela rápida perda de massa óssea, sobretudo ao nível do osso trabecular, que ocorre nos primeiros anos após a menopausa<sup>185</sup>. A carência de estrogéneos, é responsável pelo aumento da produção de IL-6 no microambiente ósseo, o que activa a osteoclastogénese e, por uma activação de monócitos e macrófagos, que produzem outras citocinas como a IL-1 e o TNF alfa<sup>186</sup>. Na osteoporose senil, o mecanismo é um pouco diferente, com a deficiência de cálcio e sobretudo de vitamina D, a assumirem um papel mais determinante. Esta deficiência conduz a um aumento de PTH, com aumento consequente da reabsorção óssea<sup>187,188</sup>. Por outro lado, nos idosos, a diminuição da produção de factores de crescimento locais, como por exemplo o IGF-1 e o TGFβ, compromete a actividade osteoblástica, com diminuição da formação óssea, o que se reflecte em osteopénia a nível do osso cortical<sup>189</sup>. Em doenças inflamatórias crónicas, como a artrite reumatóide, alterações do balanço OPG/RANKL parecem ser determinantes para o aumento da osteoclastogénese, com consequente aumento da reabsorção óssea e OP<sup>190</sup>.

Aparentemente a perda óssea começa a ocorrer entre os 18 e os 30 anos. Inicialmente este processo é lento porque a taxa de remodelação óssea é baixa<sup>191</sup>. O balanço ósseo negativo que se gera progressivamente com o envelhecimento e com a menopausa induz perda de massa óssea, redução da espessura da cortical e diminuição da espessura e da conectividade das trabéculas ósseas do osso esponjoso<sup>9</sup>. Por outro lado, o osso mais antigo, mais distante das superfícies de remodelação e mais mineralizado, acumula

---

progressivamente microdanos, que não são reparados, enquanto o osso mais superficial é substituído por um osso jovem, pouco mineralizado<sup>9</sup>. O resultado de todas estas alterações é a redução da resistência, a incapacidade de absorver energia com impactos mínimos e a fractura<sup>192</sup>. Este efeito é parcialmente compensado através da aposição de osso no perióstio, que é mais significativa no homem do que na mulher<sup>193</sup>, ainda que essas diferenças sejam variáveis com a raça. Além disso, no homem, o facto do esqueleto ser globalmente maior, permite tolerar uma carga superior, adiando o risco fracturário<sup>194</sup>. Nas mulheres, a perda de massa óssea acentua-se nos 3 a 6 anos após a menopausa. Esta perda é mais marcada a nível do osso trabecular, envolvendo sobretudo vértebras e antebraço distal, locais onde ocorrem mais frequentemente as primeiras fracturas osteoporóticas<sup>94</sup>. A relevância dos estrogénios no controle da remodelação óssea estende-se também ao homem. A redução da massa óssea no homem está essencialmente associada aos níveis de estrogénios e não aos de testosterona<sup>195</sup>. Embora, isoladamente, a testosterona exerça um efeito anabólico sobre o osso, o efeito combinado dos estrogénios sobre a reabsorção e a formação do osso é mais determinante. Devido a este efeito modesto da testosterona, a perda de osso trabecular, com a idade, no homem, progride de uma forma linear, com o aparecimento de trabéculas mais delgadas<sup>192</sup>. No entanto, a conectividade fica mais preservada do que na mulher, onde a perda de osso é mais determinada pela remoção de osso em cada unidade de remodelação<sup>193</sup>. A deficiência de estrogénios que ocorre após a menopausa, aumenta a taxa de remodelação óssea e a sobrevivência dos osteoclastos, o que amplia o volume ósseo reabsorvido. Por outro lado, diminui a sobrevivência dos osteoblastos, o que reduz o osso formado e desequilibra o balanço entre a formação e a reabsorção<sup>58</sup>. A fragilidade óssea é mais lenta e menos frequente no homem do que na mulher, em parte porque as hormonas sexuais não diminuem rapidamente e não há um aumento na taxa

---

de remodelação óssea, na idade média da vida. Embora a rotura e perda de conectividade entre as trabéculas ocorra no homem, a perda óssea no homem deve-se predominantemente à diminuição da espessura das trabéculas (por diminuição da formação em cada unidade multicelular) e não à rotura trabecular (devida ao aumento da reabsorção óssea em cada unidade multicelular)<sup>196</sup>.

A remodelação ocorre na superfície óssea. O osso trabecular tem uma maior área de superfície do que o osso cortical. Como no osso trabecular há mais locais de remodelação por unidade de volume, este é mais afectado<sup>197</sup>. A alta taxa de remodelação e as cavidades profundas que resultam da reabsorção causam perda da conectividade e de trabéculas; este facto produz maior diminuição da resistência óssea do que o que ocorre quando as trabéculas ficam apenas mais finas<sup>198</sup>. A alta taxa de remodelação mantém-se com o envelhecimento, devido ao hipogonadismo persistente na mulher, o hipogonadismo que se vai instalando nalguns homens e o hiperparatiroidismo secundário a deficiência de cálcio e vitamina D que se verifica em ambos os sexos. Desta forma, as trabéculas sofrem rotura e algumas desaparecem totalmente e a remodelação torna-se nesta fase mais activa na superfície endocortical, do que nas superfícies trabeculares que restam. A remodelação activa endocortical e intracortical "trabeculariza" o osso cortical (ou seja aumenta a área de superfície do osso cortical) e nesta fase mais tardia a perda óssea é sobretudo cortical<sup>199</sup>.

#### **2.4.2 – Fisiopatologia das fracturas osteoporóticas**

Nem todas as fracturas apresentam a mesma patogénese ou anomalias estruturais. A fractura pode surgir em indivíduos com baixa massa óssea ou com massa óssea normal. A heterogeneidade dos mecanismos sugere que os doentes com fracturas de fragilidade não podem ser todos tratados da mesma forma. Desde os anos 80, têm sido publicados

trabalhos que destacam a importância da microarquitetura do osso na ocorrência de fracturas<sup>200</sup>. Foi no entanto, nos últimos anos, com a análise dos resultados de ensaios aleatorizados e controlados com placebo, efectuados com terapêuticas anti-osteoporóticas, que se acentuou o debate sobre a importância da microarquitetura do osso no risco de fracturas<sup>201</sup>. Era previamente reconhecido que o aumento da massa óssea se correlacionava com a diminuição do risco de fracturas<sup>202</sup>. Mas estudos posteriores demonstraram que essa relação não era directa. A resistência óssea reflecte a integração de dois componentes principais: a densidade óssea e a qualidade óssea (Tabela II)<sup>203</sup>. A qualidade óssea relaciona-se com a microarquitetura (conectividade), macrogeometria, remodelação, acumulação de danos e microfracturas, mineralização e ligações cruzadas do colagéneo<sup>203</sup>.

<b>QUANTIDADE DE OSSO</b>	<b>QUALIDADE DO OSSO</b>
MASSA	MACROARQUITECTURA
DENSIDADE MINERAL ÓSSEA	- Geometria óssea
DIMENSÃO	MICROARQUITECTURA
	- Conectividade
	REMODELAÇÃO ÓSSEA
	- Reabsorção
	- Formação
	PROPRIEDADES MATERIAIS
	- Mineralização
	- Microlesões/microrupturas
	- Ligações cruzadas do colagéneo

Tabela II – Factores que influenciam a resistência óssea (adaptado de Chesnut et al<sup>203</sup>)

A fractura osteoporótica é uma falência do osso osteoporótico e surge como consequência de um traumatismo. A presença de OP é um factor de risco significativo para fractura; no entanto, devem ser distinguidos os factores de risco que afectam o metabolismo ósseo e os factores de risco para fractura, como as quedas e as fracturas osteoporóticas prévias<sup>204</sup>. Há muito que está bem estabelecido que a idade se associa a diminuição da massa óssea e isso deve-se em parte à diminuição da formação óssea<sup>205</sup>.

Mas os idosos também fracturam mais porque sofrem mais traumatismos - têm maior propensão para quedas e defendem-se menos quando caem.

Do ponto de vista mecânico as fracturas osteoporóticas representam uma falência estrutural do esqueleto, quando a força aplicada no osso excede a sua capacidade de suportar a carga<sup>204</sup> (Figura 5). A capacidade de suportar a carga depende das propriedades físicas do osso que compreendem a estrutura (tamanho, forma e massa) e as condições específicas da carga.

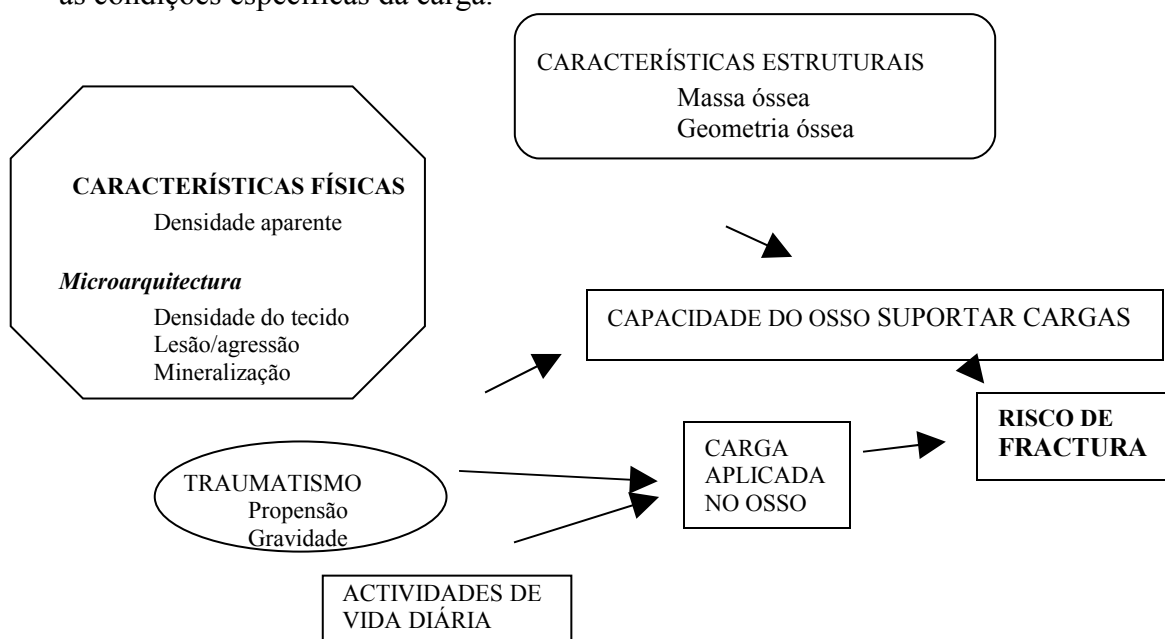


Figura 5 - Determinantes do risco de fractura (adaptado de Boussein ML204).

Uma história prévia de fractura osteoporótica, aumenta o risco da ocorrência de nova fractura, independentemente do valor de DMO<sup>206,207</sup>. Esta observação pode dever-se ao facto da ocorrência de uma fractura poder actuar como um marcador de um defeito qualitativo na microarquitetura, que aumenta o risco de nova fractura. No entanto, o risco de nova fractura pode dever-se à primeira fractura e não a uma condição pré-existente. Uma vértebra deformada altera a distribuição das cargas e por isso sobrecarrega as outras vértebras.

---

Outro dos parâmetros que influencia a resistência é a taxa de remodelação óssea. Provavelmente, a rápida perda do osso trabecular está dependente da reabsorção osteoclástica que condiciona maior profundidade das cavidades de reabsorção, perfuração e remoção completa dos elementos estruturais, enquanto a perda lenta do osso trabecular é osteoblasto-dependente o que condiciona diminuição da espessura da parede e gradual adelgaçamento das trabéculas que restam. A rápida perda de osso trabecular após a menopausa, ocorre por um mecanismo que remove alguns elementos estruturais, deixando os remanescentes mais separados e menos bem conectados<sup>208</sup>. A perda lenta de osso trabecular prossegue por intermédio de um mecanismo que reduz a espessura dos elementos estruturais que sobrevivem à fase inicial de perda rápida<sup>208</sup>. Estes processos ocorrem de forma mais intensa em doentes com fracturas osteoporóticas do que em indivíduos saudáveis da mesma idade. A velocidade de condução dos ultrasons diminuída em indivíduos com fracturas provavelmente traduz a perda de conectividade<sup>209</sup>, que também contribui *in vivo* para a resistência óssea. Quanto mais finas forem as trabéculas maior a probabilidade de fracturarem, mas estas podem fracturar mesmo sendo espessas<sup>197</sup>. O espessamento ou aumento das trabéculas existentes tem pouca influência na conectividade. As trabéculas destruídas dificilmente podem ser substituídas e por isso os fármacos não têm grande acção na melhoria da resistência do osso que resta. Daí a importância de investir na prevenção.

## **2.5 – CLÍNICA DA OSTEOPOROSE PRIMÁRIA E DAS FRACTURAS OSTEOPORÓTICAS**

A OP primária não fracturária é habitualmente assintomática. A clínica surge quando ocorre fractura. As fracturas osteoporóticas causam aumento da morbidade, diminuição da qualidade de vida (QoL), aumento da mortalidade e custos<sup>179</sup>. As

---

fracturas do punho apresentam consequências sobretudo a curto prazo, como sejam a dor e a incapacidade funcional ainda que, por vezes, possam acarretar deformação permanente. As fracturas vertebrais são as fracturas OP mais frequentes. No entanto, cerca de dois terços dos casos não são diagnosticados precocemente, pois os sintomas álgicos associados são pouco sensíveis e específicos para fractura. Mas a primeira fractura vertebral aumenta o risco de ocorrência de novas fracturas, o que se associa a aumento da morbilidade e da mortalidade. A deformação vertebral com cifose e perda de altura, é uma das consequências mais frequentes das fracturas vertebrais. Outros problemas são a dor e a incapacidade funcional crónicas, alterações digestivas e infecções respiratórias por alterações da conformação da caixa torácica e compressão abdominal. As fracturas da anca, são as que mais frequentemente se associam a maior morbilidade porque habitualmente implicam internamento e tratamento cirúrgico. Muitos doentes ficam dependentes e outros acamados<sup>210</sup>. Dados portugueses indicam que apenas 15% dos doentes recuperam a capacidade funcional que tinham antes da fractura<sup>211</sup>.

As fracturas vertebrais reduzem a esperança de vida; este efeito mantém-se para além do primeiro ano após a fractura e, em alguns estudos, ao fim do quinto ano apresentam índices de mortalidade superiores aos da fractura da anca<sup>212,213</sup>. A ocorrência de uma fractura da anca pode aumentar em 15 a 25% a mortalidade do indivíduo, sobretudo durante o primeiro ano após a fractura<sup>210</sup>. O risco é superior em idosos do sexo masculino, não caucásicos e com patologia crónica concomitante<sup>212,213</sup>. Em Portugal, a mortalidade intra-hospitalar varia entre os 2,7 e os 12,4%, e pode atingir os 16,7%, três meses após a data da fractura<sup>182,214</sup>.

## **2.6 – CAUSAS DE OSTEOPOROSE SECUNDÁRIA**

---

A OP pode ocorrer associada a outra doença ou ser iatrogénica. As causas mais frequentes de OP secundária são doenças da tiroideia, hiperparatiroidismo, doenças mielo e linfoproliferativas, metástases ósseas líticas, síndromes de malabsorção intestinal, doenças reumáticas crónicas, hipogonadismo, deficiências nutricionais e alcoolismo. Os fármacos que mais frequentemente são causa de OP incluem os corticosteróides, anticoagulantes, anticonvulsivantes e antiandrogénios utilizados na terapêutica do adenocarcinoma da próstata.

## **2.7 – AVALIAÇÃO E DIAGNÓSTICO**

### **2.7.1 – História clínica e Exame objectivo**

A avaliação deverá ser iniciada, como habitualmente, com a história clínica e todos os indivíduos com idade superior a 50 anos deverão ser interrogados quanto à presença de factores de risco de OP.

Na observação clínica deverão igualmente ser pesquisados sintomas e sinais que façam suspeitar da existência de causas de OP secundária e de fracturas vertebrais<sup>118</sup>.

A existência de cifose e/ou perda de altura, ou um episódio de dorsalgia ou lombalgia aguda e hiperálgica podem significar a ocorrência de fractura vertebral.

### **2.7.2 – Avaliação laboratorial**

Após confirmação do diagnóstico de OP, a abordagem do doente deve incluir uma avaliação laboratorial, para identificar as causas mais frequentes de OP secundária. Recomenda-se a realização de hemograma, velocidade de sedimentação, cálcio e fósforo séricos, calciúria e fosfatúria de 24 horas, fosfatase alcalina, creatinina sérica, electroforese das proteínas, hormona tireotrófica, PTH (em casos seleccionados) e um

---

radiograma da coluna dorsal e lombar de perfil para verificar a existência de deformação vertebral<sup>118</sup>.

### **2.7.3 – Marcadores de remodelação óssea**

Actualmente, não dispomos de evidência científica suficiente que justifique a utilização de biomarcadores do metabolismo ósseo na abordagem diagnóstica da OP118. A sua utilização é recomendada em casos seleccionados, para monitorização da terapêutica, promover a adesão à terapêutica e para avaliação da resposta a fármacos em estudos de investigação<sup>215,216</sup>. Os marcadores bioquímicos de remodelação óssea disponíveis para utilização na prática clínica são: a) marcadores de formação óssea - fosfatase alcalina, e mais especificamente a sua isoenzima óssea, osteocalcina sérica e propéptido do colagénio tipo I (P1NP); b) marcadores de reabsorção óssea - piridolinas urinárias como a desoxipiridolina, N-telopéptidos urinários (NTX) e C-telopéptidos urinários e séricos (CTX). Há alguns anos a hidroxiprolinúria era frequentemente utilizada, sobretudo na monitorização da doença óssea de Paget, mas a validade dos resultados dependia muito da técnica de doseamento e os outros marcadores descritos provaram ser mais fiáveis e específicos, pelo que a utilização da hidroxiprolinúria tem vindo a ser substituída, nomeadamente pela do NTX. Os marcadores de remodelação óssea, em estudos para avaliação de fármacos anti-osteoporóticos, apresentam a vantagem relativamente à DEXA, de poderem detectar resposta em três meses (e por vezes ainda mais precocemente), enquanto que com a DEXA essa detecção só é possível em seis meses ou, mais frequentemente, um ou dois anos. Mas na prática clínica com doentes individuais, a utilidade dos marcadores é limitada; a variabilidade entre indivíduos é muito marcada e existe grande sobreposição entre indivíduos normais e osteoporóticos<sup>215</sup>.

---

#### **2.7.4 - Avaliação radiológica**

As radiografias simples convencionais são um método pouco sensível para detecção de perda de massa óssea. Habitualmente, a perda óssea só é evidente numa fase tardia, quando o indivíduo já sofreu uma diminuição de cerca de 30% da sua massa óssea. Por este motivo a radiografia convencional não é um método para diagnóstico de OP. A sua utilidade revela-se no diagnóstico de fracturas osteoporóticas.

Os radiogramas da coluna vertebral devem ser efectuados quando ocorre cifose, perda de altura ou dor óssea. Podem, nestes casos, evidenciar alterações da altura ou da forma das vértebras como achatamentos vertebrais, vértebras em forma de cunha, bicôncavas ou em forma de bolacha. Há métodos morfométricos para quantificação da altura vertebral e avaliação seriada de fracturas, utilizando radiografias de perfil da coluna com monitorização da diminuição da altura dos corpos vertebrais ao longo do tempo<sup>217</sup>.

As radiografias são também fundamentais no diagnóstico de fracturas ósseas noutras localizações e na detecção de causas secundárias de osteoporose, como por exemplo, metástases.

#### **2.7.5 – Absorciometria radiológica de dupla energia (DEXA)**

No final da década de 80, a DEXA tornou-se o método de escolha para quantificar a massa óssea. Estudos demonstraram a existência de uma correlação entre baixa massa óssea a nível da coluna lombar e do colo do fémur e o risco aumentado de fracturas<sup>218</sup> ainda que, a acuidade para determinar o risco de fractura num local variasse e dependesse da zona avaliada pela DEXA<sup>219</sup>. A boa reprodutibilidade, precisão,

---

exactidão, segurança e facilidade de execução deste método e a sua ampla disponibilidade, tornaram-no o meio mais utilizado para avaliação da massa óssea ou “quantidade de osso”. Actualmente, a DEXA continua a ter um papel determinante no diagnóstico de osteoporose, na avaliação do risco de fractura e na monitorização do efeito da terapêutica antiosteoporótica<sup>220,221,222</sup>.

O diagnóstico de OP nas mulheres pós-menopáusicas, de acordo com a definição operacional da OMS, é efectuado através de DEXA<sup>92,223</sup>. Este método, permite avaliar o esqueleto central e o periférico, o osso trabecular e o cortical. A avaliação entre o terço médio e distal do rádio apresenta 95% de osso cortical e 5% trabecular, a coluna lombar entre L1 e L4 apresenta 95% de osso trabecular e 5% de osso cortical, o colo do fémur 75% cortical e 25% trabecular. O valor da DMO é habitualmente determinado a nível da coluna lombar (representativa do osso trabecular) e a nível do colo do fémur (representativa do osso cortical). A DMO representa a quantidade de mineral por área de osso e é expressa em g/cm<sup>2</sup>. O valor da DMO do indivíduo é comparado com o valor médio da DMO de um conjunto de indivíduos jovens do mesmo sexo, com valores no pico de massa óssea. Desta relação obtém-se o *T score* ou índice T, ou seja, o número de desvios-padrão abaixo dos valores do grupo controlo jovem. Considera-se que a mulher sofre de osteopenia se o seu *T score* está compreendido entre -1 e -2,5, de OP se é inferior a -2,5 e a massa óssea é normal para valores de *T score* superiores a -1 (Tabela III)<sup>223</sup>. A OP é classificada como grave, quando a valores densitométricos de OP, se associa uma fractura de fragilidade. A diminuição da massa óssea medida desta forma, correlaciona-se directamente com o risco de fractura, sendo que para cada diminuição da DMO em um desvio-padrão, duplica o risco de fractura<sup>224,225</sup>. A relação entre resistência óssea e DMO é exponencial ou curvilínea e não linear, por isso o risco de fractura aumenta exponencialmente com a diminuição linear da DMO<sup>226,227</sup>. Apesar dos

índices estarem validados apenas para mulheres caucásicas pós-menopáusicas, para outras idades, sexo e raça, adoptam-se também estes critérios. Nas crianças, a definição operacional de OP não é aplicável<sup>119</sup> uma vez que, devido à idade, não atingiram ainda o pico de massa óssea ou o valor máximo da DMO<sup>184</sup>. Nas crianças que sofrem de OP os valores máximos de DMO considerados normais para o seu sexo, podem nunca ser atingidos. Para avaliar a DMO e diagnosticar OP nas crianças e nos adolescentes, nas mulheres jovens e nos homens com idade inferior a 50 anos tem interesse a utilização de outro parâmetro, o *Z score* ou índice Z. Este é o número de desvios padrão resultante da comparação entre o valor da DMO do indivíduo a avaliar, com os valores médios da DMO de uma população padrão com o mesmo sexo e idade. Os valores são considerados anormais quando o *Z score* é inferior a -1. Nestes casos não há limiares tão bem definidos e validados para osteopenia e OP, mas considera-se que o indivíduo sofre de OP quando o *Z score* é inferior a -2. O risco de fractura duplica para cada diminuição de um desvio-padrão na DMO<sup>92</sup>. O índice Z é também muito útil porque pode fazer suspeitar de OP secundária – um indivíduo que apresenta uma DMO muito baixa, quando comparada com a dos indivíduos da sua idade, sugere a presença de uma causa secundária de OP.

Critérios de diagnóstico da OMS	Classificação
$T \geq -1$	Normal
$-2,5 < T < -1$	Osteopenia (baixa massa óssea)
$T \leq -2,5$	Osteoporose
$T \leq -2,5$ + fractura de fragilidade	Osteoporose grave

Tabela III: Classificação OP da OMS<sup>223</sup>

\* Classificação da OMS baseada no "*T-score*". T-score indica o número de desvios padrão acima ou abaixo da média da densidade mineral óssea do adulto jovem

A DEXA tem limitações. Avalia apenas a quantidade de osso, não dá informações sobre a sua qualidade ou estrutura e é incapaz de traduzir os mecanismos físicos,

---

celulares e moleculares que determinam a resposta à terapêutica<sup>228</sup>. Frequentemente esta técnica não é utilizada de forma adequada e os seus resultados não são interpretados clinicamente da forma mais correcta. Os resultados obtidos podem ser optimizados se o equipamento for utilizado correctamente. Deve ser efectuado controlo de qualidade diário, posicionamento correcto do doente, uniformização dos procedimentos da análise, conhecer o coeficiente de variação *in vivo* do equipamento e calcular a diferença mínima clinicamente significativa para avaliações seriadas.

### 2.7.6 – Métodos de avaliação da qualidade óssea

Actualmente, é aceite de forma consensual a necessidade de dispormos de técnicas não invasivas e pelo menos tão seguras, reprodutíveis e precisas como a DEXA para avaliar a microarquitectura e a conectividade do osso, a resistência e a mineralização.

Um dos métodos disponíveis que avalia aspectos da qualidade óssea é a análise dos fragmentos de biópsia óssea da crista ilíaca por **histomorfometria**. A análise computadorizada dos fragmentos consegue quantificar parâmetros em lacunas de reabsorção óssea como a profundidade da reabsorção e a área<sup>229</sup>. O grau de mineralização por unidade de volume de tecido ósseo, que anteriormente era avaliado através da absorção selectiva de raios X nos fragmentos de biópsia, pode actualmente ser determinado de uma forma mais rigorosa utilizando o *scanning* por microscopia electrónica<sup>230</sup>. No entanto, a histomorfometria apresenta várias desvantagens: é um método bidimensional e indirecto de avaliação da estrutura trabecular, é efectuado no ilíaco e não na coluna vertebral, e apresenta a grande desvantagem de ser invasivo.

A **tomografia quantitativa microcomputorizada** avalia a três dimensões fragmentos de osso trabecular que permitem detectar o volume trabecular, o número e a espessura das trabéculas e a conectividade<sup>231</sup>. Com esta técnica é possível quantificar o volume

---

ósseo, a espessura das trabéculas, o número de trabéculas e a sua separação e a densidade da conectividade; estes parâmetros da microarquitetura correlacionam-se directamente com a resistência óssea.

A **ressonância magnética de alta resolução** pode ser utilizada *in vitro* e *in vivo*. Permite determinar o volume trabecular e, no osso trabecular do rádio distal, quantificar alterações dos elementos horizontais, estrutura e resistência e avaliar a estrutura trabecular a nível do calcâneo<sup>232</sup>.

Mas apesar destes dois métodos serem promissores para avaliação da qualidade óssea *in vitro* e *in vivo*, têm sido efectuados em fragmentos de biópsias ou em ossos com localização periférica<sup>233</sup> e são utilizados apenas em centros de investigação. A sua capacidade para avaliar o efeito das terapêuticas anti-osteoporóticas na qualidade do osso ainda não está demonstrada.

Outro método utilizado no estudo do osso é a **avaliação quantitativa por ultrasons**<sup>234</sup>. A quantificação por ultrasonometria do calcâneo (QUS) permite obter informações indirectas sobre a qualidade do osso e o risco de fractura, podendo fornecer informações adicionais às obtidas através da DEXA. É um método que tem tido uma utilização crescente, sobretudo em locais onde a DEXA não é facilmente acessível. Os parâmetros correlacionam-se com o risco de fractura ainda que não esteja validado para o diagnóstico individual de OP. A sua principal aplicação é o rastreio de grupos e de populações.

## **2.8 – TERAPÊUTICA**

O objectivo da terapêutica da OP é evitar a ocorrência de fracturas. Os níveis de intervenção incluem aumento da formação óssea, diminuição da reabsorção óssea e prevenção de quedas.

---

Nos últimos anos, surgiram novas terapêuticas com eficácia demonstrada, sobretudo no tratamento da OPPM. A Sociedade Portuguesa de Reumatologia e a Sociedade Portuguesa de Doenças Ósseas Metabólicas publicaram, em 2007, recomendações para o diagnóstico e tratamento da OP118; nas linhas seguintes sintetizamos as principais.

### **2.8.1 – Medidas gerais**

A abordagem da OP deve incluir medidas não farmacológicas e medidas farmacológicas. A prevenção da OP visa obter um bom pico de massa óssea. Deve ser efectuada através da identificação e correcção precoce dos factores de risco modificáveis, principalmente dos que se relacionam com os estilos de vida (hábitos alimentares e actividade física) e deve iniciar-se muito cedo na vida.

Na prevenção de fracturas osteoporóticas, é fundamental a avaliação e a correcção de factores de risco para quedas e outros traumatismos mínimos<sup>235</sup>.

As medidas não farmacológicas que visam a manutenção da massa óssea devem ser mantidas ao longo da vida e incluem, para toda a população, uma alimentação equilibrada, assegurando o aporte alimentar adequado de cálcio<sup>236</sup> e de vitamina D<sup>237</sup> e o consumo proteico adequado às necessidades; evicção do consumo excessivo de sódio, cafeína, álcool e tabaco; relativamente à actividade física, deve ser fomentada a sua prática com exercício/desportos com impacto em crianças, adolescentes e adultos ao longo da vida. Nas mulheres pós-menopausicas e idosos deve ser assegurado o aporte alimentar adequado de cálcio e de vitamina D e incentivados os exercícios com carga/impacto. Para os idosos com risco de queda, a prevenção de fracturas deve incluir a prevenção de quedas, através de programas de exercício adaptados individualmente (marcha,

---

fortalecimento muscular, treino de postura e equilíbrio) e se possível a utilização de protectores das ancas<sup>238</sup>.

### **2.8.2 – Critérios para tratamento**

É fundamental identificar os indivíduos que apresentam um elevado risco de fractura e tratá-los adequadamente. Têm indicação para tratamento farmacológico os indivíduos que apresentem critérios densitométricos de OP (índice T < -2,5). Da mesma forma, uma história de fractura de fragilidade é critério para terapêutica, independentemente do resultado da DEXA. A osteopenia sem fractura, mas que curse com factores de risco importantes, pode justificar uma actuação farmacológica idêntica à do tratamento. A osteopenia isolada, em indivíduos sem factores de risco para OP, não justifica terapêutica farmacológica.

Os fármacos eficazes na prevenção de fracturas OP e por isso aprovados para terapêutica, de acordo com o seu modo de acção, dividem-se em: a) antireabsortivos: bifosfonatos (alendronato, risedronato e ibandronato), raloxifeno e calcitonina; b) formadores: teriparatida; c) com efeito formador e antireabsortivo: ranelato de estrôncio. Os estudos aleatorizados e controlados que demonstraram eficácia dos fármacos anti-osteoporóticos foram realizados adicionando suplementos diários de 500 a 1000 mg de cálcio e/ou 400 a 800 UI de vitamina D. Em idosos, especialmente institucionalizados, com mau estado de saúde, a utilização de suplementos de cálcio e de vitamina D e de medidas de prevenção de quedas e de fracturas (protectores das ancas) podem ser as únicas justificáveis.

### **2.8.3 – Fármacos anti-reabsortivos**

---

Actualmente a terapêutica hormonal de substituição (THS) não é considerada terapêutica de primeira linha no tratamento da OPPM, mas pode ser benéfica na menopausa precoce antes dos 40 anos e quando ocorrem sintomas vasomotores acentuados<sup>239</sup>.

A calcitonina demonstrou efeito anti-fracturário a nível do osso trabecular<sup>240</sup>. No entanto, por ser um fármaco menos eficaz, a sua utilização está limitada a casos em que ocorra toxicidade, intolerância ou contra-indicação a outros fármacos mais eficazes. A calcitonina pode ser útil em períodos agudos pós-fractura, que cursam com dor óssea, pois foi demonstrado o seu efeito anti-álgico<sup>241</sup>.

O raloxifeno é o único modulador selectivo dos receptores de estrogénio (SERM) actualmente aprovado para a terapêutica da OPPM. Demonstrou eficácia na prevenção de fracturas vertebrais mas não em localizações não-vertebrais<sup>242</sup>. Apresenta efeitos extra-ósseos que, individualmente, podem ser considerados na escolha da terapêutica.

Os bifosfonatos orais (alendronato, risedronato e ibandronato) em regime diário, semanal (alendronato e risedronato) ou mensal (ibandronato) demonstraram eficácia na redução de fracturas vertebrais<sup>243,244,245,246,247,248,249,250</sup> e, em grupos de risco, em fracturas não-vertebrais, incluindo a anca<sup>251,252,253</sup>. São por isso considerados terapêutica de primeira linha da OP. A sua baixa absorção e potencial agressão da mucosa esofágica implicam a toma em jejum e a manutenção da posição ortostática após a administração.

#### **2.8.4 – Fármacos formadores**

O ranelato de estrôncio inclui-se habitualmente neste grupo, mas exerce uma acção dupla no osso, formadora e anti-reabsortiva. Reduz as fracturas vertebrais e, nos idosos com DMO diminuída a nível do fémur, reduz as fracturas não vertebrais, incluindo as da anca<sup>254,255</sup>.

---

A teriparatida está indicada nos casos de OP fracturária grave ou quando existe intolerância/falência dos outros fármacos, não devendo ser utilizada por um período superior a 18 meses<sup>256</sup>.

#### **2.8.5 – Associação de fármacos**

A eficácia e a segurança da associação de fármacos antireabsortivos na terapêutica da OP não está demonstrada. Também não dispomos de evidências que favoreçam a associação entre fármacos formadores e antireabsortivos.

### **2.9 – PERSPECTIVAS FUTURAS**

O desenvolvimento de novas técnicas não invasivas pode esclarecer a heterogeneidade existente entre os indivíduos com fragilidade óssea e aumentar o conhecimento relativamente à forma como os fármacos actuam na estrutura do osso<sup>257</sup>. Aumentar a capacidade de prever o risco de fracturas e identificar os indivíduos com elevado risco absoluto é essencial, uma vez que são estes indivíduos os que mais beneficiam da terapêutica<sup>258</sup>.

Actualmente, não é ainda possível enumerar de forma simples uma lista de factores protectores do osso, à semelhança do que é efectuado para os factores de risco de OP. A identificação de variáveis que se associam a melhor qualidade óssea é fundamental, porque estes conhecimentos poderão ajudar-nos a obter e manter um osso de melhor qualidade, com uma massa óssea que permaneça acima do limiar fracturário. Por outro lado, a compreensão dos factores que determinam uma maior massa óssea e uma melhor qualidade do osso, poderá contribuir para o desenvolvimento de terapêuticas capazes de restabelecer o equilíbrio da remodelação óssea.

---

## **PARTE II: TRABALHO DE INVESTIGAÇÃO**

---

---

## **PARTE II: TRABALHO DE INVESTIGAÇÃO**

### **1 – OBJECTIVOS E PLANO DE TRABALHO**

#### **1.1 – Objectivos**

O objectivo principal da investigação apresentada nesta dissertação de Doutoramento foi identificar variáveis associadas a maior massa e qualidade ósseas, classificáveis como “factores protectores do osso”, avaliando também factores de risco, sobretudo os modificáveis, de forma a contribuir para a prevenção da OP. Assim, os objectivos deste estudo foram:

- 1- Identificar e avaliar a importância relativa dos factores de risco de OP e protectores do osso em ambos os sexos.
- 2- Determinar a relação entre massa óssea e algumas variáveis laboratoriais como o balanço fosfo-cálcico, marcadores de remodelação óssea, hormonas, leptina, osteoprotegerina, RANKL, IL-1, IL-6 e TNF alfa.
- 3- Estudar a relação entre polimorfismos do promotor do gene do TNF alfa e massa óssea.

#### **1.2 – Plano de trabalho**

O trabalho foi iniciado com a elaboração de um questionário para identificar factores de risco de OP e factores de protecção do osso. Esse questionário foi utilizado no estudo seguinte em que avaliámos, em portugueses saudáveis de ambos os sexos, hábitos alimentares, estilos de vida e conhecimentos sobre OP. Estes trabalhos foram desenvolvidos no Serviço de Reumatologia do Hospital de Santa Maria (HSM), sob a orientação do Prof. Doutor Mário Viana Queiroz, e a colaboração do Prof. Doutor João Eurico Fonseca.

---

Os dois trabalhos seguintes foram desenvolvidos em colaboração com a equipa do Serviço de Higiene e Epidemiologia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, nomeadamente a Dra. Raquel Lucas, liderados pelo Prof. Doutor Henrique de Barros. Os indivíduos foram seleccionados como parte do estudo EpiPorto e integravam uma coorte, que é avaliada de forma periódica neste Serviço, para estudo de vários factores que permitem estudar diversas variáveis fisiológicas e patológicas. Neste contexto, os indivíduos realizaram o estudo quantitativo por ultra-sons do calcâneo (QUS) e foi possível, por um lado, determinar os valores de referência do QUS para a população portuguesa e, por outro, avaliar o efeito nos parâmetros do QUS de factores como os hábitos alimentares e estilos de vida.

Finalmente, o último trabalho apresentado, foi desenvolvido no Serviço de Reumatologia do HSM (Director: Prof. Doutor Mário Viana Queiroz) e na Unidade de Investigação em Reumatologia do Instituto de Medicina Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, coordenada pelo Prof. Doutor João Eurico Fonseca, com a colaboração da Dra. Joana Caetano-Lopes e da Prof<sup>a</sup>. Doutora Carlota Saldanha. Neste estudo avaliaram-se marcadores laboratoriais (séricos e urinários) e genéticos como potenciais factores de risco de OP ou protectores do osso e determinaram-se associações com os valores de massa óssea quantificados por DEXA.

## **2- RESULTADOS**

Os resultados são apresentados sob a forma de 5 artigos:

### **2.1- Questionário para identificação de factores de risco de osteoporose**

Helena Canhão, João Eurico Fonseca, Mário Viana Queiroz

Acta Reuma Port 2004; 29: 63-69

---

**2.2- Avaliação de hábitos alimentares e estilos de vida numa população portuguesa  
– factores de risco e de protecção para a osteoporose**

Helena Canhão, João Eurico Fonseca, Mário Viana de Queiroz

Acta Reuma Port 2006; 31: 331-339

**2.3- Valores de referência para uma população urbana portuguesa da avaliação  
quantitativa por ultrasons do calcâneo**

Helena Canhão, Raquel Ferreira, Lúcia Costa, José Carlos Romeu, João Eurico  
Fonseca, Jaime Branco, Henrique Barros

Acta Reuma Port 2006; 31: 65-73

**2.4- Factors influencing calcaneus quantitative ultrasound measurements in an  
urban population**

Helena Canhão, Raquel Lucas, João Eurico Fonseca, Lúcia Costa, José Carlos Romeu,  
Jaime Branco, Henrique Barros

Clinical and Experimental Rheumatology; aceite para publicação no dia 4 de Julho de  
2007

**2.5- Assessment of laboratory measurements and -308 TNF  $\alpha$  gene promoter  
polymorphisms in normal bone mineral density**

Helena Canhão, João Eurico Fonseca, Joana Caetano-Lopes, Carlota Saldanha, Mário  
Viana Queiroz

Clinical Rheumatology 2007 Aug 8; [Epub ahead of print]

---

---

## 2.1 - QUESTIONÁRIO PARA IDENTIFICAÇÃO DE FACTORES DE RISCO DE OSTEOPOROSE

Helena Canhão, João Eurico Fonseca, Mário Viana Queiroz

Acta Reuma Port 2004; 29: 63-69

### RESUMO

**Introdução:** Neste artigo os autores apresentam um questionário de auto-preenchimento para identificação e quantificação dos factores de risco de osteoporose. Esta avaliação além de ter interesse clínico no caso do doente individual, também pode ser aplicada em larga escala e servir para caracterizar hábitos de grupos populacionais.

**Objectivos:** Identificar, caracterizar e quantificar factores de risco de osteoporose.

**Questionário:** O questionário foi elaborado pelos autores, no Serviço de Reumatologia do Hospital de Santa Maria, e tem sido utilizado em consultas de Reumatologia e em protocolos de investigação clínica. Permite recolher informação sobre hábitos e comportamentos que constituem factores de risco potencialmente modificáveis, como a actividade física, ingestão de produtos lácteos, hábitos tabágicos e alcoólicos, e ainda, história prévia e familiar de fracturas, história ginecológica e obstétrica, registo de patologias co-mórbidas e a utilização de fármacos que aumentam o risco de osteoporose.

**Conclusão:** O inquérito foi desenvolvido em linguagem simples e directa de modo a poder ser auto-preenchido e validado posteriormente pelo médico. A utilização de questionários de factores de risco de osteoporose pode ser útil, não só ao médico que obtém mais informação, como ao doente, porque permite a auto-avaliação dos seus hábitos, alguns deles potencialmente modificáveis. Estes aspectos são fundamentais para alterar o curso da doença e otimizar o seu tratamento.

---

**PALAVRAS-CHAVE**

Osteoporose; Factores de risco; Questionário

---

---



---



---



---

---

## 2.2 - AVALIAÇÃO DE HÁBITOS ALIMENTARES E ESTILOS DE VIDA NUMA POPULAÇÃO PORTUGUESA – FACTORES DE RISCO E DE PROTECÇÃO PARA A OSTEOPOROSE

Helena Canhão, João Eurico Fonseca, Mário Viana Queiroz

Acta Reuma Port 2006; 31: 331-339

### RESUMO

**Introdução:** São conhecidos vários factores que influenciam o risco de osteoporose (OP). Alguns, como a ingestão láctea, o consumo de café, de álcool e de tabaco e a actividade física são modificáveis e, o seu controlo, pode nalguns casos, contribuir para a prevenção da OP.

**Objectivos:** Identificar e caracterizar potenciais factores modificáveis de risco ou protectores de osteoporose, em indivíduos portugueses saudáveis e avaliar associações com a idade e o sexo dos indivíduos. Avaliar os conhecimentos sobre osteoporose na população estudada e verificar se estes variavam com a idade e o sexo.

**Métodos:** Estudo transversal com aplicação de um questionário a uma população aleatória de indivíduos saudáveis de ambos os sexos com idades compreendidas entre os 18 e os 29 anos ou com idade igual ou superior a 50 anos. Foram quantificados os hábitos tabágicos e alcoólicos, a ingestão diária de cálcio, a actividade física e dados de conhecimentos sobre osteoporose.

**Resultados:** Foram avaliados 301 indivíduos, 199 do sexo feminino e 102 do sexo masculino, que foram divididos em quatro grupos de acordo com o sexo e a idade.

Todos os indivíduos apresentavam consumo de cálcio abaixo dos níveis recomendados e, excepto para o grupo de indivíduos jovens do sexo masculino, prática de actividade física muito reduzida. Os hábitos tabágicos eram superiores nas jovens do sexo

---

feminino e foram iniciados em idade precoce. Os hábitos alcoólicos foram superiores nos indivíduos do sexo masculino com mais de 49 anos, sendo a bebida predominante o vinho, enquanto os jovens preferiam a cerveja. As mulheres com idade superior a 49 anos, apresentavam ingestão de cálcio e prática de actividade física muito insuficientes, apesar de ser o grupo que referia “maior preocupação por poder vir a sofrer de OP”.

**Discussão:** Foram identificados factores de risco para OP em grupos populacionais susceptíveis de desenvolver OP. As diferenças encontradas nos parâmetros avaliados, entre os sexos e os grupos etários, devem ser consideradas em campanhas de prevenção da doença, promovendo o aporte de cálcio, a prática de exercício e o combate ao consumo de tabaco.

#### **PALAVRAS-CHAVE**

Osteoporose; Factores de risco; Factores protectores; Inquérito epidemiológico



---



---

---

---

---

---

---

---

---

## 2.3 - VALORES DE REFERÊNCIA PARA UMA POPULAÇÃO URBANA PORTUGUESA DA AVALIAÇÃO QUANTITATIVA POR ULTRASONOS DO CALCÂNEO

Helena Canhão, Raquel Ferreira, Lúcia Costa, José Carlos Romeu, João Eurico Fonseca, Jaime Branco, Henrique Barros

Acta Reuma Port 2006; 31: 65-73

### RESUMO

**Introdução:** A avaliação quantitativa por ultrasons (QUS) do calcâneo é um método reprodutível e seguro para avaliação do osso. A absorciometria radiológica de dupla energia (DEXA) com avaliação da coluna lombar e do colo do fémur é o método padrão para classificação da massa óssea (normal, osteopénica, osteoporótica). No entanto, a QUS pode fornecer informações adicionais e independentes da DEXA e a sua utilização é cada vez mais generalizada. Até ao momento não foram publicados, valores de referência para a QUS na população portuguesa.

**Objectivos:** Determinar os valores padrão na população portuguesa da QUS avaliada pelo ecógrafo Sahara da Hologic (Sahara Clinical Sonometer).

**Métodos:** Estudo transversal de indivíduos seleccionados como parte do estudo EpiPorto. Obtiveram-se os parâmetros de QUS pelo Sahara Clinical Sonometer da Hologic, para homens e mulheres, estratificados por grupos de idade: atenuação dos ultrasons (*broadband ultrasound attenuation*, BUA), velocidade do som (*speed of sound*, SOS), índice quantitativo do US (*quantitative ultrasound index*, QUI) e densidade mineral óssea estimada (*estimated bone mineral density*, EBMD).

**Resultados:** Avaliação consecutiva de 1482 indivíduos (1010 mulheres e 472 homens) com idades compreendidas entre os 18 e os 92 anos. Os valores mais elevados em todos

---

os parâmetros, para ambos os sexos, registaram-se no grupo com idade inferior. Os homens apresentaram valores mais elevados do que as mulheres em todos os parâmetros, acentuando-se as diferenças com o aumento da idade. As diferenças entre os sexos atingiram valor significativo a partir dos 39 anos para a BUA e depois dos 59 anos para a SOS. A precisão *in vivo* foi de 5,5% para a BUA e de 0,4% para a SOS e a precisão *in vitro* foi de 3,23% para a BUA e de 0,15% para a SOS.

**Discussão:** Os nossos dados são comparáveis com outros obtidos em países do Sul da Europa e representam os primeiros dados de referência para a QUS na população portuguesa.

#### **PALAVRAS-CHAVE**

Ultrasons quantitativos; Calcâneo; Valores de referência; Ecógrafo Sahara; Osteoporose; Portugal

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## 2.4 – FACTORS INFLUENCING CALCANEUS QUANTITATIVE ULTRASOUND MEASUREMENTS IN AN URBAN POPULATION

Helena Canhão, Raquel Lucas, João Eurico Fonseca, Lúcia Costa, José Carlos Romeu, Jaime Branco, Henrique Barros

Clinical and Experimental Rheumatology (aceite para publicação no dia 4 de Julho de 2007)

### FACTORES QUE INFLUENCIAM A AVALIAÇÃO QUANTITATIVA POR ULTRASONOS NUMA POPULAÇÃO URBANA

#### RESUMO

**Introdução:** A avaliação quantitativa por ultrasons (QUS) do calcâneo é um método não invasivo para avaliação do osso e é frequentemente utilizado em rastreios populacionais. Correlaciona-se de forma independente da absorciometria de dupla energia radiológica (DEXA) com o risco de fractura e os factores de risco clássicos de OP podem, ou não, influenciar os parâmetros do QUS de forma semelhante à que influenciam os resultados de DEXA.

**Objectivos:** Avaliar, numa população portuguesa, o efeito de factores antropométricos, demográficos, comportamentais e sociais nos parâmetros do QUS do calcâneo.

**Métodos:** Estudo transversal com inclusão consecutiva de indivíduos, seleccionados a partir do estudo EPIPorto, Portugal. A informação foi recolhida através da aplicação de um questionário que abordava características demográficas, sociais, clínicas e comportamentais. Os parâmetros do QUS do calcâneo (atenuação de ultrasons – BUA e velocidade do som - SOS) foram determinados para homens e mulheres e estratificados por grupos etários. As comparações, de acordo com os resultados obtidos, foram efectuadas utilizando o teste de Kruskal-Wallis e o efeito multivariado sobre os parâmetros do QUS estimado por regressão linear.

---

**Resultados:** Avaliação consecutiva de 1482 indivíduos (1010 do sexo feminino e 472 do sexo masculino) com idades compreendidas entre os 18 e os 92 anos. Os valores mais elevados para os parâmetros do QUS registaram-se nos grupos mais jovens e observou-se uma diminuição progressiva com o aumento da idade. Os homens apresentavam valores mais altos, em todos os parâmetros, quando comparados com as mulheres. As diferenças entre os sexos aumentaram com a idade. Para o BUA, as diferenças foram significativas depois dos 39 anos e para o SOS, após os 59.

Nas mulheres, o modelo multivariado mostrou que a idade, o índice de massa corporal (IMC) e os hábitos tabágicos, eram preditores independentes da BUA e da SOS. A duração do período reprodutivo influenciou significativamente o SOS. O nível de escolaridade, a actividade física, o aporte calórico, de cálcio, vitamina D e álcool, a pontuação no inventário de depressão de Beck, o SF-36, a idade da menarca e o número de gravidezes não mostraram qualquer efeito significativo nos parâmetros do QUS.

No homem, o modelo multivariado revelou que a idade, o IMC e o aporte de cálcio estavam associados de forma significativa ao BUA e SOS. O SOS isolado mostrou associação significativa ao aporte calórico. A actividade física, o aporte de vitamina D e álcool, a pontuação no inventário de depressão de Beck e o SF-36 não influenciaram os parâmetros do QUS no homem.

**Conclusão:** A idade, o sexo e o IMC foram os principais determinantes dos parâmetros do QUS. Para além disso, a BUA e a SOS podem traduzir características ósseas que são influenciadas por um conjunto de determinantes independentes.

## **PALAVRAS-CHAVE**

Ultrasons quantitativos do calcâneo; Valores de referência; Osteoporose; Portugal; Factores de risco

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## **2.5- ASSESSMENT OF LABORATORY MEASUREMENTS AND -308 TNF $\alpha$ GENE PROMOTER POLYMORPHISMS IN NORMAL BONE MINERAL DENSITY**

Helena Canhão, João Eurico Fonseca, Joana Caetano-Lopes, Carlota Saldanha, Mário Viana Queiroz

Clinical Rheumatology 2007 Aug 8; [Epub ahead of print]

## **AVALIAÇÃO DE MARCADORES LABORATORIAIS E DE POLIMORFISMOS NA POSIÇÃO -308 DO PROMOTOR DO GENE DO TNF $\alpha$ EM INDIVÍDUOS COM DENSIDADE MINERAL ÓSSEA NORMAL**

### **RESUMO**

**Introdução:** Na literatura, há poucos dados disponíveis provenientes de estudos em indivíduos saudáveis com massa óssea normal, efectuados com o objectivo de identificar e avaliar factores protectores do osso e preventivos de osteoporose (OP). Se nos reportarmos a dados da população portuguesa, estes são praticamente inexistentes. No entanto, estudos em indivíduos com massa óssea elevada e em idosos com massa óssea normal, podem fornecer informação específica e adicional sobre factores capazes de prevenir a perda óssea. A identificação de variáveis que se associam a melhor qualidade óssea é fundamental porque estes conhecimentos poderão ajudar-nos a obter e manter um osso de melhor qualidade, com uma massa óssea que permaneça acima do limiar fracturário. Por outro lado, a compreensão dos factores que determinam uma maior massa óssea e uma melhor qualidade do osso, poderá contribuir para o desenvolvimento de terapêuticas capazes de restabelecer o equilíbrio da remodelação óssea.

---

**Objetivos:** Estabelecer associações entre parâmetros laboratoriais como o balanço fosfo-cálcico, marcadores de remodelação óssea, hormonas sexuais, hormonas relacionadas com o crescimento e a massa corporal, citocinas envolvidas na inflamação e na remodelação óssea e massa óssea normal;

Estudar a associação de polimorfismos na posição – 308 do promotor do gene do TNF alfa e a massa óssea.

**Métodos:** Estudo transversal de uma população portuguesa caucásica que incluiu: um grupo de indivíduos saudáveis com idade igual ou superior a 50 anos e com massa óssea normal, avaliada por absorciometria radiológica de dupla energia (DEXA); um grupo de indivíduos osteoporóticos emparelhado ao anterior em idade e sexo; um grupo de mulheres com idade igual ou superior a 50 anos com osteoporose secundária a artrite reumatóide (AR); e um grupo de jovens saudáveis (idade entre os 20 e os 30 anos, correspondente ao pico de massa óssea). Todas as mulheres com idade igual ou superior a 50 anos eram pós-menopausadas.

Foram excluídos doentes que apresentavam patologias associadas que pudessem condicionar OP secundária (excepto para o grupo com AR), indivíduos submetidos a terapêuticas que são causa iatrogénica de OP, doentes submetidos a terapêuticas anti-OP e ainda indivíduos com osteopenia.

As variáveis avaliadas incluíram características antropométricas, dieta, estilos de vida e parâmetros laboratoriais como hemograma, ureia, creatinina, creatinúria 24horas, transaminases, fosfatase alcalina,  $\gamma$ -glutamil transpeptidase, amilase, lipase, colesterol, triglicéridos, apolipoproteína E, ácido úrico, homocisteína, magnésio, zinco, ionograma, balanço fosfo-cálcico sérico e urinário, marcadores de remodelação óssea (osteocalcina, fosfatase alcalina óssea, pro-peptidos do procolagénio I (P1NP), desoxipiridolinas, N-telopeptidos do colagénio tipo I urinários (NTX), C-telopeptidos do colagénio tipo I

---

séricos (CTX  $\beta$ -crosslaps), hormonas tiroideias, hormona tireotrófica, paratormona, hormonas sexuais (foliculo-estimulante, luteinizante, progesterona, estradiol, D4-androsteniona, dihidroepiandrosterona, testosterona), hormonas relacionadas com o crescimento e a massa corporal (hormona de crescimento, factor de crescimento insulina-like, leptina), citocinas envolvidas na inflamação e na remodelação óssea (interleucina (IL)-1, IL-6, TNF alfa, RANKL, osteoprotegerina) e caracterização genotípica dos polimorfismos na posição – 308 do promotor do gene do TNF alfa.

**Resultados:** Foram avaliados 159 indivíduos, que se distribuíram de acordo com o sexo (feminino e masculino), o grupo etário (20-30 anos e igual ou superior a 50 anos), a densidade mineral óssea (normal e osteoporose) e patologia associada (AR).

Detectaram-se níveis de zinco sérico mais elevados nos homens quando comparados com as mulheres ( $p=0,019$ ). Os indivíduos com massa óssea normal apresentaram valores superiores aos indivíduos com OP, mas sem diferenças estatisticamente significativas. Os homens e as mulheres osteoporóticos apresentaram valores semelhantes.

A calcémia apresentou em todos os grupos valores dentro da normalidade, mas com os grupos osteoporóticos com mais de 50 anos, a revelarem valores significativamente inferiores ( $p=0,015$  para as mulheres e  $p = 0,018$  para os homens).

A hormona foliculo estimulante (FSH) e a hormona luteinizante (LH) foram significativamente mais elevadas ( $p<0,05$ ) em mulheres pós-menopausicas com massa óssea normal (de forma independente ao número de anos após a menopausa) e nos homens com massa óssea normal, quando comparados com os grupos osteoporóticos emparelhados para o sexo e idade.

Os níveis séricos de leptina foram significativamente mais baixos no sexo masculino por comparação ao feminino ( $p<0,001$ ), após correcção para o índice de massa corporal.

---

Não se observaram diferenças significativas entre os grupos com massa óssea normal, OP primária e OP secundária a AR.

Os marcadores de remodelação óssea, CTX e osteocalcina, apresentaram valores inferiores nos indivíduos com massa óssea normal quando comparados com osteoporóticos, mas sem diferenças significativas. Da mesma forma não foram observadas diferenças significativas nos níveis séricos de osteoprotegerina entre os vários grupos. Os genótipos GG e GA/AA na posição -308 do promotor do gene do TNF alfa apresentaram a mesma distribuição de frequências entre os grupos estudados.

**Conclusão:** Os nossos resultados destacam a importância de corrigir níveis séricos baixos de cálcio e de zinco, sobretudo em doentes idosos osteoporóticos. As diferenças que encontramos entre os sexos, nomeadamente nos níveis séricos de zinco mais elevados e de leptina mais baixos, poderão contribuir para a melhor qualidade óssea no sexo masculino, quando comparada com a do sexo feminino. Níveis mais elevados de FSH e de LH na pós-menopausa, associaram-se a massa óssea mais elevada. Os polimorfismos na posição -308 do promotor do gene do TNF alfa não contribuíram, na nossa população, para susceptibilidade a OP ou para aumento da massa óssea.

#### **PALAVRAS-CHAVE**

Polimorfismos -308 do gene do TNF  $\alpha$ ; Marcadores laboratoriais; Massa óssea normal; Osteoporose; Factores de risco

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**PARTE III: DISCUSSÃO, CONCLUSÕES E  
CONSIDERAÇÕES FINAIS**

---

---

## **PARTE III: DISCUSSÃO, CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES**

### **FINAIS**

#### **1- DISCUSSÃO**

A investigação científica na área médica em geral e, de uma forma particular, a investigação no campo da OP têm sido muito proficuas nos últimos anos, com esclarecimento de várias etapas importantes na compreensão da fisiopatologia da doença, contribuindo para o desenvolvimento de novos fármacos eficazes. No entanto, o ideal é intervir precocemente promovendo a melhoria da qualidade óssea e a prevenção da doença. As informações fornecidas por indivíduos com massa óssea elevada e, em idosos com massa óssea normal, podem clarificar aspectos essenciais que não se obtêm através do estudo de doentes osteoporóticos. Um exemplo prático deste facto, foi a identificação do gene LRP5 numa família com massa óssea elevada e sem história de fracturas<sup>141</sup>. O estudo genético foi desencadeado quando um elemento dessa família efectuou uma radiografia convencional que revelou uma densidade óssea muito superior ao normal.

No entanto, os dados da literatura sobre factores protectores do osso são raros. Sabemos que o osso e a ocorrência de OP são influenciados por múltiplos factores ambientais e genéticos, que diferem, por isso, de população para população. Se atendermos ao caso particular da população portuguesa, a investigação nesta área é uma necessidade, devido à escassez de informação que dispomos, não só sobre factores protectores, mas também sobre factores de risco em diferentes grupos etários e em ambos os sexos. Motivados por este facto desenvolvemos, numa primeira fase, um questionário elaborado numa linguagem simples e directa de modo a poder ser auto-preenchido. O objectivo foi dispomos de um instrumento que nos permitisse de forma

---

protocolada, identificar, caracterizar e quantificar factores de risco de OP e assim poder ser utilizado em trabalhos de investigação futuros.

O trabalho seguinte teve, como objectivo, identificar e caracterizar potenciais factores modificáveis de risco ou protectores de OP em indivíduos portugueses saudáveis e avaliar associações com a idade e o sexo dos indivíduos. Outro objectivo foi avaliar os conhecimentos sobre OP na população estudada e verificar se estes variavam com a idade e o sexo. O interesse de dispormos deste tipo de informação na população portuguesa, relaciona-se com o facto de que alguns factores de risco (como a ingestão láctea, o consumo de café, de álcool e de tabaco e a actividade física) são modificáveis e, o seu controlo poder nalguns casos, contribuir para a prevenção da OP. Aplicámos o questionário a 301 indivíduos portugueses, caucásicos e de ambos os sexos (199 mulheres e 102 homens), que pertenciam a grupos etários correspondentes ao pico de massa óssea (18-29 anos) e a grupos etários tradicionalmente em maior risco de sofrer OP (idade superior a 50 anos; mulheres pós-menopausa). Os resultados revelaram que o grupo com a maior frequência de fumadores activos foi o das jovens do sexo feminino, as quais iniciaram os hábitos tabágicos numa idade muito precoce. Os hábitos alcoólicos foram superiores nos indivíduos do sexo masculino com mais de 49 anos; mas a preferência pelo tipo de bebida alcoólica dependia do grupo etário, sendo nos mais velhos a bebida predominante o vinho, enquanto os jovens preferiam a cerveja. Um dos aspectos que considerámos relevante foi o facto de, na nossa população, a frequência da ingestão de produtos lácteos ter sido elevada (superior a 90%), ao contrário do que foi relatado noutras populações<sup>259</sup> em que a ingestão de leite, por exemplo ao pequeno-almoço e ao lanche, era substituída por café. Apesar da frequência de consumo de leite ser elevada, os indivíduos apresentavam consumo de cálcio abaixo dos níveis recomendados (cerca de 40% a 50% da dose diária recomendada), em todos os grupos

---

por nós avaliados. Este facto tem implicação para a prática médica: não devemos perguntar apenas se “bebe leite ou não”, porque teremos uma resposta positiva na grande maioria dos casos, mas quantificar o aporte, porque na maioria dos casos este será insuficiente. Outro aspecto importante foi a reduzida prática de exercício físico que foi registada em todos os grupos com excepção do grupo jovem do sexo masculino. Por outro lado, apurámos que a quase totalidade dos portugueses entrevistados já tinha ouvido falar de OP e que era o grupo de mulheres com mais de 50 anos, o que maior preocupação revelava relativamente ao facto de poder vir a sofrer da doença. Só que, paradoxalmente, essa preocupação não induzia uma modificação nos hábitos e comportamentos passíveis de prevenir OP, uma vez que este grupo apresentou a prática de actividade física mais reduzida e um aporte de cálcio insuficiente. Este estudo confirmou ainda que a DEXA é um método de diagnóstico requisitado com frequência nas mulheres após a menopausa; no nosso grupo de mulheres saudáveis com mais de 50 anos, 55% já tinha efectuado pelo menos uma DEXA. Consideramos que o conhecimento de hábitos e comportamentos por sexo e por grupo etário é fundamental, sobretudo quando falamos de hábitos e comportamentos que são potencialmente modificáveis e sensíveis a campanhas de informação. Para que as campanhas de prevenção da OP sejam eficazes devem ser dirigidas e adequadas às necessidades e aos problemas dos indivíduos-alvo. Concluimos que na população portuguesa de uma forma geral é necessário promover o aporte de cálcio, a prática de exercício e o combate ao consumo de tabaco.

O trabalho seguinte foi desenvolvido a partir de uma população da cidade do Porto e com os meios técnicos e humanos do Serviço de Higiene e Epidemiologia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (Director: Prof. Doutor Henrique de Barros). O objectivo foi caracterizar a influência dos factores de risco clássicos de OP, e que

---

sabemos influenciar os valores de massa óssea quantificados por DEXA, numa técnica não invasiva e distinta da DEXA de avaliação e estudo do osso, a avaliação quantitativa por ultrasons (QUS) do calcâneo. Esta técnica, apesar de não ser a mais utilizada para o diagnóstico de OP no doente individual, é útil no rastreio de grupos populacionais, relaciona-se de forma independente da DEXA com o risco de fractura e pode potencialmente fornecer informações sobre a qualidade do osso, o que a torna um instrumento adicional e complementar à DEXA na avaliação do osso. No entanto, e apesar de estarem disponíveis valores de referência de QUS para populações de diversos países, não dispúnhamos de valores de referência para a população portuguesa. Assim e porque os valores de referência são fundamentais na interpretação dos resultados em qualquer técnica, começámos por determinar esses valores para a nossa população. Utilizámos para isso uma coorte de doentes que integra o estudo EpiPorto e que constitui uma amostra representativa da população urbana do Porto. Os indivíduos são seguidos de forma prospectiva e contínua e as avaliações são efectuadas de forma periódica. Os participantes foram seleccionados através da aleatorização de números de telefone e contactados por esta via; a avaliação foi efectuada no Serviço e incluiu preenchimento de questionários, observação e realização de exames clínicos, nomeadamente a ultrasonografia do calcâneo. A avaliação consecutiva de 1482 indivíduos (1010 mulheres e 472 homens) com idades compreendidas entre os 18 e os 92 anos, permitiu determinar os valores normais para a população portuguesa dos parâmetros de QUS do calcâneo pelo Sahara Clinical Sonometer da Hologic, para homens e mulheres, estratificados por grupos etários: atenuação dos ultrasons (*broadband ultrasound attenuation*, BUA), velocidade do som (*speed of sound*, SOS), índice quantitativo do US (*quantitative ultrasound index*, QUI) e densidade mineral óssea estimada (*estimated bone mineral density*, EBMD). Este trabalho permitiu-nos

---

concluir que os nossos resultados eram comparáveis a outros obtidos em países do Sul da Europa<sup>260,261</sup> e determinámos pela primeira vez dados de referência para o QUS na população portuguesa.

Posteriormente analisámos os dados desses indivíduos recolhidos no questionário do projecto EpiPorto e que incluíam informações sobre características demográficas e sociais, antecedentes pessoais e familiares, medicação crónica, utilização de cuidados de saúde, história ginecológica e obstétrica e características comportamentais: actividade física, hábitos tabágicos, consumo de bebidas alcoólicas e hábitos alimentares. Além deste questionário principal foram também aplicados um questionário semi-quantitativo de frequência alimentar, o questionário SF-36, o inventário de depressão de Beck e o teste de capacidade cognitiva, *Mini Mental State Examination*. O objectivo deste trabalho foi determinar, na população portuguesa, a influência de potenciais factores de risco de OP nos parâmetros do QUS. Concluimos que todos os parâmetros do QUS eram dependentes do sexo (mais elevados nos homens), da idade (mais elevados nos jovens) e do índice de massa corporal (IMC). As diferenças entre os sexos foram mais marcadas com o envelhecimento. Nas mulheres, a idade, o IMC e os hábitos tabágicos foram preditores independentes de todos os parâmetros do QUS, enquanto no homem, o IMC e o aporte de cálcio estavam associados de forma significativa aos resultados do QUS. Quando analisados de forma isolada, os parâmetros do QUS (BUA e SOS), foram influenciados de forma independente por outros factores, também com uma expressão diferente nos dois sexos. Na mulher, a duração do período reprodutivo influenciou significativamente o SOS. No homem, o SOS isolado mostrou associação significativa ao aporte calórico. Alguns factores como a actividade física, o aporte de vitamina D e de álcool, o nível de escolaridade, a pontuação no inventário de depressão de Beck, o SF-36, a idade da menarca e o número de gravidezes não mostraram qualquer efeito

---

significativo nos parâmetros de QUS. Estes resultados destacam a importância de factores que influenciam os parâmetros do QUS e, indirectamente, a qualidade do osso. Mais uma vez, o conhecimento destes factores é essencial para a implementação de medidas de prevenção da OP e melhoria da qualidade óssea. Como exemplo e cruzando a informação obtida nos dois trabalhos referidos anteriormente, verificámos que as mulheres jovens foram o grupo com mais fumadores activos e que, nas mulheres, os hábitos tabágicos condicionaram uma repercussão significativa na quantidade e qualidade do osso avaliada por QUS. Assim, do ponto de vista da protecção do osso, é fundamental a prevenção do tabagismo nas mulheres jovens.

No último trabalho, efectuado no Serviço de Reumatologia do HSM e na Unidade de Investigação em Reumatologia do IMM, pretendemos identificar e avaliar factores protectores do osso numa população saudável; estabelecer associações entre alguns parâmetros laboratoriais e massa óssea normal; estudar polimorfismos do promotor do gene do TNF alfa e correlacionar os resultados obtidos com as medições da massa óssea. Incluímos indivíduos saudáveis, de ambos os sexos, com idade correspondente ao pico de massa óssea (20-30 anos) e de grupos etários em maior risco de desenvolver OP (idade igual ou superior a 50 anos). Para dispormos também de resultados de um grupo com OP secundária, incluímos mulheres com AR activa e OP. Os critérios de inclusão do estudo obrigaram a que todos os indivíduos dispusessem de uma DEXA, efectuada nos últimos 6 meses, que confirmasse a existência de massa óssea normal ou OP. Isso implicou a observação, avaliação e requisição de DEXA a um número muito elevado de indivíduos que não foram referidos na publicação correspondente, por terem sido excluídos do estudo por apresentarem osteopenia ou sintomas, sinais, alterações laboratoriais ou radiológicas, sugestivas ou confirmadas de OP secundária a outras patologias ou fármacos. O estudo completo foi efectuado em 159 indivíduos

---

portugueses, caucásicos de ambos os sexos. Foi-lhes aplicado o questionário que descrevemos no início deste texto e avaliados parâmetros laboratoriais como o balanço fosfo-cálcico, marcadores de remodelação óssea, hormonas sexuais, hormonas relacionadas com o crescimento e massa corporal, citocinas envolvidas na inflamação e na remodelação óssea e caracterização genotípica dos polimorfismos na posição – 308 do promotor do gene do TNF alfa. Determinámos os valores séricos de citocinas que sabemos, em situações patológicas, estarem associadas a aumento da reabsorção óssea<sup>80-81,82</sup>. De acordo com esses dados foi possível obter doseamentos séricos de IL-1, IL-6 e TNF alfa, nos doentes com AR. No entanto, nos doentes com OP primária e nos indivíduos saudáveis, os valores séricos foram inferiores ao limite de sensibilidade da técnica. A OPG que desempenha um papel fundamental na fisiopatologia da OP<sup>69</sup>, não mostrou diferenças significativas entre os grupos estudados, o que significa provavelmente que o seu efeito é local e que não está dependente, nem se expressa por variações nos níveis séricos. Os marcadores de remodelação óssea apresentaram uma grande variabilidade intra e inter grupo, de acordo com o que é descrito na literatura<sup>215</sup>. Os mais discriminativos entre grupos de indivíduos com massa óssea normal e indivíduos osteoporóticos foram a osteocalcina e o CTX sérico. No entanto, não foi possível estabelecer um valor de *cut-off* para estes doseamentos que permitisse classificar os indivíduos. Estes resultados estão de acordo com a prática actual - os marcadores de remodelação não são utilizados como critério de diagnóstico de OP no doente individual; actualmente utilizam-se sobretudo para a monitorização precoce do efeito de fármacos anti-OP (por comparação ao valor de base antes de iniciar terapêutica) e poderão ser úteis, nalguns casos, para aumentar a adesão do doente à terapêutica. Os resultados mais relevantes deste estudo incluíram níveis de zinco sérico mais elevados nos homens do que nas mulheres e nos indivíduos com massa óssea

---

normal quando comparados com osteoporóticos. Na literatura estes dados são controversos<sup>262,263</sup>, ainda que muitos autores defendam a associação entre baixos níveis de zinco sérico e a ocorrência de OP. A calcémia, ainda que com valores dentro da normalidade, apresentou valores significativamente inferiores nos doentes osteoporóticos. O aumento de PTH, que frequentemente se associa a níveis mais baixos de cálcio, apresentou uma tendência para valores mais elevados nos grupos com OP primária, mas sem significado estatístico. Os níveis séricos de leptina foram significativamente mais elevados no sexo feminino, independentemente do IMC e dos valores de massa óssea. Este facto está de acordo com os resultados obtidos em estudos anteriores<sup>264</sup> em que se obtiveram valores cerca de 40% superiores na leptina sérica no sexo feminino quando comparada com o sexo masculino, independentemente do IMC e da idade. Os resultados deste estudo, nomeadamente os níveis séricos de zinco e leptina são relevantes porque podem ajudar-nos a explicar parcialmente algumas diferenças observadas na resistência óssea no homem e na mulher. Por outro lado podem ter uma implicação clínica prática ao destacarem a importância de vigiar e corrigir níveis baixos de cálcio e de zinco séricos, sobretudo em doentes idosos osteoporóticos. A determinação da massa óssea apresenta um forte componente genético e apesar dos polimorfismos GA/AA na posição -308 do promotor do gene do TNF alfa provavelmente se associarem a maior activação osteoclástica, traduzida na população portuguesa com associação a maior gravidade na AR154 e na artrite idiopática juvenil (ainda que não influenciem a susceptibilidade a estas doenças), não apresentaram diferenças de distribuição entre indivíduos com maior e com menor massa óssea.

---

## 2- CONCLUSÕES

No conjunto dos estudos apresentados avaliámos variáveis genéticas, antropométricas, ambientais, laboratoriais e de dados densitométricos e de ultrasons em indivíduos portugueses de ambos os sexos, com o objectivo principal de obter resultados que pudessem contribuir para a prevenção da OP, nomeadamente através da identificação de factores protectores do osso. Utilizando a avaliação quantitativa por ultrasons (QUS) verificámos que a quantidade e a qualidade do osso dependiam essencialmente do sexo, da idade e do IMC do indivíduo, mas que outros factores, alguns dos quais modificáveis como o aporte calórico, o aporte de cálcio e os hábitos tabágicos, influenciavam de forma independente um ou mais parâmetros do QUS. Confirmámos que, na nossa população, esses mesmos hábitos e estilos de vida que constituem potenciais factores de risco modificáveis de OP, variavam com o sexo e o grupo etário do indivíduo, mas que, de uma forma geral, é necessário promover o exercício físico, o aumento do aporte de cálcio e diminuir o consumo de tabaco, porque não apresentaram na população portuguesa avaliada, os índices mais adequados. Outro dos nossos objectivos foi o de obter marcadores laboratoriais que aplicados a um sujeito específico, pudessem ser preditores de risco ou protecção óssea. Quantificámos concentrações de hormonas, marcadores de remodelação óssea e alguns mediadores directamente envolvidos na fisiopatologia da OP e verificámos que os seus níveis séricos não eram, na maioria dos casos, úteis para distinguir entre grupos de indivíduos com massa normal e osteoporóticos. Do ponto de vista prático os resultados mais interessantes foram detectados nos níveis séricos de zinco e cálcio, cuja suplementação poderá ser útil em indivíduos idosos osteoporóticos. Os níveis mais elevados de leptina no sexo feminino por comparação ao masculino, podem ser uma das explicações para a menor resistência

---

óssea nas mulheres, uma vez que a leptina sérica, através da ligação a receptores do hipotálamo, pode inibir a função osteoblástica.

Apesar de ainda não ser possível estabelecer uma lista de factores protectores do osso, da mesma forma de que já dispomos para os factores de risco de OP, podemos afirmar que na população portuguesa, a idade jovem, o sexo masculino, IMC mais elevado, a prática de actividade física, um bom aporte de cálcio, a evicção do tabaco, níveis séricos optimizados de cálcio e de zinco e níveis séricos mais baixos de leptina, se associam a melhores resultados nos parâmetros ósseos avaliados por QUS e/ou DEXA.

### **3- CONSIDERAÇÕES FINAIS**

É nossa intenção prosseguir a investigação na área dos factores de protecção e na avaliação da qualidade do osso.

Um dos problemas principais neste campo é a limitada disponibilidade de técnicas que permitam determinar efectivamente a qualidade do osso e os factores que a influenciam. Na Unidade de Investigação em Reumatologia do IMM/FML e em colaboração com o Instituto Gulbenkian de Ciência, iniciámos recentemente um projecto que utiliza a microscopia multifotão para avaliação da matriz colagénica do osso. Esta técnica permite visualizar a orientação das fibras do colagénio e quantificar o colagénio organizado e o colagénio fibrillar, fornecendo informações sobre a actividade de síntese a nível da matriz proteica. Este estudo será complementado com testes mecânicos de flexão e de compressão, efectuados no Instituto Superior Técnico, para avaliação de propriedades mecânicas do osso e ainda por estudos da composição mineral do osso. A avaliação será efectuada num modelo animal de OP com ratinhos ooforectomizados e, também, em material humano utilizando as cabeças de fémur de doentes com fracturas

---

osteoporóticas da anca que são submetidos a artroplastia no Serviço de Ortopedia do HSM, com remoção da cabeça femoral e colocação de prótese. Com este projecto pretendemos desenvolver um novo método para avaliação da qualidade do osso. Outras aplicações possíveis são a avaliação do efeito de fármacos na matriz óssea e a aplicação do método a outras doenças ósseas metabólicas. O projecto foi financiado por uma bolsa do HSM/Sanofi-Aventis e está na fase inicial de colheita de amostras e realização das primeiras avaliações.

Alargámos entretanto o âmbito do trabalho e tentamos, através das mesmas técnicas, estudar a repercussão da inflamação no osso e na cartilagem em modelo animal de artrite e OP, o ratinho SKG, e em doentes reumatóides, com a colaboração dos Serviços de Ortopedia e Cirurgia Plástica do HSM. O financiamento provém da Bolsa SPR/Schering-Plough de 2006 e da FCT.

Ainda no contexto de projectos na área do osso, e em colaboração com a SPR, pretendemos prosseguir os trabalhos de investigação clínica que já permitiram a publicação de recomendações nacionais para o diagnóstico e terapêutica da OP e que actualmente visam a elaboração de um projecto nacional para estudos de prevalência e incidência da OP e das fracturas de fragilidade.

Se com os trabalhos efectuados e reunidos nesta dissertação foi nosso objectivo obter dados na população portuguesa que nos permitissem aumentar os conhecimentos sobre a saúde do osso e os factores que a modulam, sabemos também que muito há ainda a fazer e aprender. Oxalá consigamos reunir e encontrar as condições para continuarmos todos a trabalhar e aumentar o conhecimento nesta e noutras áreas médicas.

---

---

## **PARTE IV: BIBLIOGRAFIA**

---

---

## **PARTE IV: BIBLIOGRAFIA**

- <sup>1</sup> Seeman E. Pathogenesis of bone fragility in women and men. *Lancet* 2002; 359: 1841-50
- <sup>2</sup> Seeman E, Delmas PD. Bone quality - the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med* 2006; 354: 2250-61
- <sup>3</sup> Kanis JA. Pathogenesis of osteoporosis and fracture. In *Osteoporosis*. Ed John A Kanis. Blackwell Science. Oxford 1994: 22-55
- <sup>4</sup> Parfitt AM. The physiological and clinical significance of bone histomorphometric data. In *Bone Histomorphometry, techniques and interpretation*. Ed R Recker. CRC Press 1983. Boca Raton: 143-223
- <sup>5</sup> Canhão H, Fonseca JE, Queiroz MV. Epidemiologia da osteoporose, mecanismos de remodelação óssea e factores protectores do osso. *Acta Reuma Port* 2005; 30: 225-40
- <sup>6</sup> Vignat-Carrin S, Garnero P, Delmas PD. The role of collagen in bone strength. *Osteoporos Int* 2006; 17: 319-36
- <sup>7</sup> Garnero P, Cloos P, Sornay-Rendu E, Qvist P, Delmas PD. Type I collagen racemization and isomerization and the risk of fracture in postmenopausal women: the OFELY prospective study. *J Bone Miner Res* 2002; 17: 826-33
- <sup>8</sup> Banse X, Sims TJ, Bailey AJ. Mechanical properties of adult vertebral cancellous bone: correlation with collagen intermolecular cross-links. *J Bone Miner Res* 2002; 17: 1621-8
- <sup>9</sup> Seeman E. Invited Review: Pathogenesis of osteoporosis. *J Appl Physiol* 2003; 95: 2142-51
- <sup>10</sup> Currey JD. *Bones: structure and mechanics*. Princeton, N.J.: Princeton University Press, 2002:1-380
- <sup>11</sup> Currey JD. The mechanical consequences of variation in the mineral content of bone. *J Biomech* 1969; 2: 1-11
- <sup>12</sup> Ruff CB, Hayes WC. Sex differences in age-related remodeling of the femur and tibia. *J Orthop Res* 1988; 6: 886-96
- <sup>13</sup> Duan Y, Wang XF, Evans A, Seeman E. Structural and biomechanical basis of racial and sex differences in vertebral fragility in Chinese and Caucasians. *Bone* 2005; 36: 987-98
- <sup>14</sup> Gilsanz V, Roe TF, Mora S, Costin G, Goodman WG. Changes in vertebral bone density in black girls and white girls during childhood and puberty. *N Engl J Med* 1991; 325: 1597-600
- <sup>15</sup> Theobald TM, Cauley JA, Gluer CC, Bunker CH, Ukoli FAM, Genant HK. Black-white differences in hip geometry. *Osteoporos Int* 1998; 8: 61-7
- <sup>16</sup> [Nieves JW](#), [Formica C](#), [Ruffing J](#), [Zion M](#), [Garrett P](#), [Lindsay R](#), [Cosman F](#). Males have a larger skeletal size and bone mass than females, despite comparable body size. *J Bone Miner Res* 2005; 20: 529-35
- <sup>17</sup> Bonadio J, Jepsen KJ, Mansoura MK, Jaenisch R, Kuhn JL, Goldstein SA. A murine skeletal adaptation that significantly increases cortical bone mechanical properties: implications for human skeletal fragility. *J Clin Invest* 1993; 92: 1697-705
- <sup>18</sup> Mora S, Gilsanz V. Establishment of peak bone mass. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003; 32: 39-63
- <sup>19</sup> Seeman E. Reduced bone density in women with fractures: contribution of low peak bone density and rapid bone loss. *Osteoporos Int* 1994; 4 (Suppl 1): S15-S25
- <sup>20</sup> Parfitt AM. Skeletal heterogeneity and the purposes of bone remodelling: implications for the understanding of osteoporosis. In: Marcus R, Feldman D, Kelsey J, eds. *Osteoporosis*. San Diego, Calif.:

Academic Press, 1996: 315-39

- <sup>21</sup> Parfitt AM. Bone and plasma calcium homeostasis. *Bone* 1987; 8 (Suppl 1): S1-S8
- <sup>22</sup> Rao DS, Parfitt AM, Kleerekoper M, Pumo BS, Frame B. Dissociation between the effects of endogenous parathyroid hormone on adenosine 3',5'-monophosphate generation and phosphate reabsorption in hypocalcemia due to vitamin D depletion: an acquired disorder resembling pseudohypoparathyroidism type II. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 61: 285-90
- <sup>23</sup> Compston JE, Rosen CJ. Pathophysiology. In *Osteoporosis*. Edited by Compston JE, Rosen CJ. Oxford. Health Press. 2nd Ed. 1999: 10-8
- <sup>24</sup> Han Y, Cowin SC, Schaffler MB, Weinbaum S. Mechanotransduction and strain amplification in osteocyte cell processes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 16689-94
- <sup>25</sup> Hazenberg JG, Taylor D, Lee TC. Crack opening and shear displacements cause damage to cell processes: is this the cellular transducer? In: *Proceedings book of the 14th Conference of the European Society of Biomechanics*. Hertogenbosch, the Netherlands, July 4–7, 2004
- <sup>26</sup> Parfitt AM. The contribution of bone histology to understanding the pathogenesis and improving the management of osteoporosis. *Clin Invest Med* 1982; 5: 163-7
- <sup>27</sup> Verborgt O, Gibson GJ, Schaffler MB. Loss of osteocyte integrity in association with microdamage and bone remodeling after fatigue damage in vivo. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 60-7
- <sup>28</sup> Schaffler MB, Majeska RJ. Role of the osteocyte in mechanotransduction and skeletal fragility. In: *Proceedings of the NIAMS–ASBMR scientific meeting, Bone quality: what is it and can we measure it?* Bethesda, Md., May 2–3, 2005
- <sup>29</sup> [O'Brien CA](#), [Jia D](#), [Plotkin LI](#), [Bellido T](#), [Powers CC](#), [Stewart SA](#), [Manolagas SC](#), [Weinstein RS](#). Glucocorticoids act directly on osteoblasts and osteocytes to induce their apoptosis and reduce bone formation and strength. *Endocrinology* 2004; 145: 1835-41
- <sup>30</sup> Parfitt AM. Targeted and non-targeted bone remodeling: relationship to basic multicellular unit origination and progression. *Bone* 2002; 30: 5-7
- <sup>31</sup> Hauge EM, Qvesel D, Eriksen EF, Mosekilde L, Melsen F. Cancellous bone remodeling occurs in specialized compartments lined by cells expressing osteoblastic markers. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1575-82
- <sup>32</sup> Martin TJ, Sims NA. Osteoclast-derived activity in the coupling of bone formation to resorption. *Trends Mol Med* 2005; 11: 76-81
- <sup>33</sup> Kamel S, Durand G. Bases cellulaires et moléculaires du remodelage osseux physiologique et de ses principaux déséquilibres pathologiques. In *Biochimie pathologique – aspects moléculaires et cellulaires*. Edited by Delattre, Durand and Jardillier. Paris. Flammarion 2003: 221-38
- <sup>34</sup> Ducy P, Desbois C, Boyce B, Pinero G, Story B, Dunstan C, Smith E, Bonadio J, Goldstein S, Gundberg C, Bradley A, Karsenty G. Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature* 1996; 382: 448-52
- <sup>35</sup> Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. *Osf2/Cbfa1*: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 1997; 89: 747-54
- <sup>36</sup> Ducy P, Schinke T, Karsenty. The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science* 2000; 289: 1501-4

- <sup>37</sup> Thomas T, Lafage-Proust MH. Contribution of genetically modified mouse models to the elucidation of bone physiology. *Rev Rhum Engl Ed* 1999; 66: 728-35
- <sup>38</sup> Goldberg D, Polly P, Eisman JA, Morrison NA. Identification of an osteocalcin gene promoter sequence that binds AP1. *J Cell Biochem* 1996; 60: 447-57
- <sup>39</sup> Marie PJ, Kaabeche K. PPAR Gamma Activity and Control of Bone Mass in Skeletal Unloading. *PPAR Research* 2006; ID64807: 1-6
- <sup>40</sup> [Zhang K](#), [Chen J](#), [Wang M](#), [Wang C](#), [Li G](#), [Zheng Z](#), [Zhao R](#). The expression of insulin-like growth factor-I mRNA and polypeptide in rat osteoblasts with exposure to parathyroid hormone. *Chin Med J (Engl)* 2003; 116: 1916-22
- <sup>41</sup> Herring GM. A comparison of bone matrix and tendon with particular reference to glycoprotein content. *Biochem J* 1976;159: 749-55
- <sup>42</sup> Farley JR, Baylink DJ. Skeletal alkaline phosphatase activity as a bone formation index in vitro. *Metabolism* 1986; 35: 563-71
- <sup>43</sup> Tozum TF, Oppenlander ME, Koh-Paige AJ, Robins DM, McCauley LK. Effects of sex steroid receptor specificity in the regulation of skeletal metabolism. *Calcif Tissue Int* 2004; 75: 60-70
- <sup>44</sup> Neidlinger-Wilke C, Stalla I, Claes L, Brand R, Hoellen I, Rubenacker S, Arand M, Kinzl L. Human osteoblasts from younger normal and osteoporotic donors show differences in proliferation and TGF beta-release in response to cyclic strain. *J Biomech* 1995; 28: 1411-8
- <sup>45</sup> Lehtonen-Veromaa M, Mottonen T, Irjala K, Nuotio I, Leino A, Viikari J. A 1-year prospective study on the relationship between physical activity, markers of bone metabolism, and bone acquisition in peripubertal girls. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3726-32
- <sup>46</sup> Caetano-Lopes J, Canhão H, Fonseca JE. Osteoblasts and bone formation. *Acta Reuma Port* 2007; 32: 103-10
- <sup>47</sup> [Neer RM](#), [Arnaud CD](#), [Zanchetta JR](#), [Prince R](#), [Gaich GA](#), [Reginster JY](#), [Hodsman AB](#), [Eriksen EE](#), [Ish-Shalom S](#), [Genant HK](#), [Wang O](#), [Mittlak BH](#). Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2001; 344: 1434-41
- <sup>48</sup> Miyakoshi N, Kasukawa Y, Linkhart TA, Baylink DJ, Mohan S. Evidence that anabolic effects of PTH on bone require IGF-I in growing mice. *Endocrinology* 2001; 142: 4349-56
- <sup>49</sup> Roux C, Orcel P. Steroid induced osteoporosis: prevention and treatment. *Rev Med Interne* 2003; 24: 384-8
- <sup>50</sup> Sher LB, Woitge HW, Adams DJ, Gronowicz GA, Krozowski Z, Harrison JR, Kream BE. Transgenic expression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in osteoblasts reveals an anabolic role for endogenous glucocorticoids in bone. *Endocrinology* 2004; 145: 922-9
- <sup>51</sup> van Beek JP, Guan H, Julan L, Yang K. Glucocorticoids stimulate the expression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in cultured human placental trophoblast cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 5614-21
- <sup>52</sup> Zhang Y, Proença R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425-32
- <sup>53</sup> [Ducy P](#), [Amling M](#), [Takeda S](#), [Priemel M](#), [Schilling AF](#), [Beil FT](#), [Shen J](#), [Vinson C](#), [Rueger JM](#), [Karsenty G](#). Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell* 2000;

100: 197-207

- <sup>54</sup> Tritos N, Mantzoros CS. Leptin: its role in obesity and beyond. *Diabetologia* 1997; 40: 1371-9
- <sup>55</sup> Marie P. Growth factors and bone formation in osteoporosis: roles for IGF-I and TGF-beta. *Rev Rhum Engl Ed* 1997; 64: 44-53
- <sup>56</sup> Geusens PP, Boonen S. Osteoporosis and the growth hormone-insulin-like growth factor axis. *Horm Res* 2002; 58 (Suppl 3): S49-S55
- <sup>57</sup> Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines and bone remodelling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med* 1995; 332: 305-11
- <sup>58</sup> Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* 2000; 21: 115-37
- <sup>59</sup> [Cheng H](#), [Jiang W](#), [Phillips FM](#), [Haydon RC](#), [Peng Y](#), [Zhou L](#), [Luu HH](#), [An N](#), [Breyer B](#), [Vanichakarn P](#), [Szatkowski JP](#), [Park JY](#), [He TC](#). Osteogenic activity of the fourteen types of human bone morphogenetic proteins (BMPs). *J Bone Joint Surg Am* 2003; 85-A: 1544-52
- <sup>60</sup> Wan M, Cao X. BMP signaling in skeletal development. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 328: 651-7
- <sup>61</sup> Vladimirov BS, Dimitrov SA. Growth factors - importance and possibilities for enhancement of the healing process in bone fractures. *Folia Med (Plovdiv)* 2004; 46: 11-7
- <sup>62</sup> Chaudhary LR, Hofmeister AM, Hruska KA. Differential growth factor control of bone formation through osteoprogenitor differentiation. *Bone* 2004; 34: 402-11
- <sup>63</sup> Mott DA, Mailhot J, Cuenin MF, Sharawy M, Borke J. Enhancement of osteoblast proliferation in vitro by selective enrichment of demineralized freeze-dried bone allograft with specific growth factors. *J Oral Implantol* 2002; 28: 57-66
- <sup>64</sup> [Li X](#), [Zhang Y](#), [Kang H](#), [Liu W](#), [Liu P](#), [Zhang J](#), [Harris SE](#), [Wu D](#). Sclerostin binds to LRP5/6 and antagonizes canonical Wnt signaling. *J Biol Chem* 2005; 280: 19883-7
- <sup>65</sup> van Bezooijen RL, Svensson JP, Eefting D, Visser A, van der Horst G, Karperien M, Quax PH, Vrieling H, Papapoulos SE, ten Dijke P, Lowik CW. Wnt but Not BMP Signaling Is Involved in the Inhibitory Action of Sclerostin on BMP-Stimulated Bone Formation. *J Bone Miner Res*, 2007; 22: 19-28
- <sup>66</sup> Canhão H. Osteoporose – Fisiopatologia. In *Reumatologia*, vol 3. Ed Viana Queiroz M. Lidel Lda, Lisboa 2002: 126-9
- <sup>67</sup> Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 2000; 289: 1504-8
- <sup>68</sup> Udagawa N, Takahashi N, Akatsu T, Tanaka H, Sasaki T, Nishihara T, Koga T, Martin TJ, Suda T. Origin of osteoclasts: mature monocytes and macrophages are capable of differentiating into osteoclasts under a suitable microenvironment prepared by bone marrow-derived stromal cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7260-4
- <sup>69</sup> Karst M, Gorny G, Galvin RJ, Oursler MJ. Roles of stromal cell RANKL, OPG, and M-CSF expression in biphasic TGF-beta regulation of osteoclast differentiation. *J Cell Physiol* 2004; 200: 99-106
- <sup>70</sup> [Lacey DL](#), [Timms E](#), [Tan HL](#), [Kelley MJ](#), [Dunstan CR](#), [Burgess T](#), [Elliott R](#), [Colombero A](#), [Elliott G](#), [Scully S](#), [Hsu H](#), [Sullivan J](#), [Hawkins N](#), [Davy E](#), [Capparelli C](#), [Eli A](#), [Qian YX](#), [Kaufman S](#), [Sarosi I](#), [Shalhoub V](#), [Senaldi G](#), [Guo J](#), [Delaney J](#), [Boyle WJ](#). Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998; 93: 165-76

- <sup>71</sup> [Hofbauer LC](#), [Gori F](#), [Riggs BL](#), [Lacey DL](#), [Dunstan CR](#), [Spelsberg TC](#), [Khosla S](#). Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of osteoprotegerin production by glucocorticoids in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocrinology* 1999; 140: 4382-9
- <sup>72</sup> Udagawa N, Takahashi N, Jimi E, Matsuzaki K, Tsurukai T, Itoh K, Nakagawa N, Yasuda H, Goto M, Tsuda E, Higashio K, Gillespie MT, Martin TJ, Suda T. Osteoblasts/stromal cells stimulate osteoclast activation through expression of osteoclast differentiation factor/RANKL but not macrophage colony-stimulating factor: receptor activator of NF-kappa B ligand. *Bone* 1999; 25: 517-23
- <sup>73</sup> Vanderborcht A, Linsen L, Thewissen M, Geusens P, Raus J, Stinissen P. Osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand mRNA expression in patients with rheumatoid arthritis and healthy controls. *J Rheumatol* 2004; 31: 1483-90
- <sup>74</sup> Gravallesse EM, Goldring SR. Cellular mechanisms and the role of cytokines in bone erosions in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 2143-51
- <sup>75</sup> Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Spelsberg TC, Riggs BL. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells. *Endocrinology* 1999; 140: 4367-70
- <sup>76</sup> Hofbauer LC, Kuhne CA, Viereck V. The OPG/RANKL/RANK system in metabolic bone diseases. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2004; 4: 268-75
- <sup>77</sup> Kudo O, Sabokbar A, Pocock A, Itonaga I, Athanasou NA. Isolation of human osteoclasts formed in vitro: hormonal effects on the bone-resorbing activity of human osteoclasts. *Calcif Tissue Int* 2002; 71: 539-46
- <sup>78</sup> Lee SK, Lorenzo JA. Parathyroid hormone stimulates TRANCE and inhibits osteoprotegerin messenger ribonucleic acid expression in murine bone marrow cultures: correlation with osteoclast-like cell formation. *Endocrinology* 1999; 140: 3552-61
- <sup>79</sup> Thomas GP, Baker SU, Eisman JA, Gardiner EM. Changing RANKL/OPG mRNA expression in differentiating murine primary osteoblasts. *J Endocrinol* 2001; 170: 451-60
- <sup>80</sup> Hofbauer LC, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells. *Bone* 1999; 25: 255-9
- <sup>81</sup> Kimble RB, Srivastava S, Ross FP, Matayoshi A, Pacifici R. Estrogen deficiency increases the ability of stromal cells to support murine osteoclastogenesis via an interleukin-1 and tumor necrosis factor-mediated stimulation of macrophage colony-stimulating factor production. *J Biol Chem* 1996; 271: 28890-7
- <sup>82</sup> Scheidt-Nave C, Bismar H, Leidig-Bruckner G, Woitge H, Seibel MJ, Ziegler R, Pfeilschifter J. Serum interleukin 6 is a major predictor of bone loss in women specific to the first decade past menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 2032-42
- <sup>83</sup> Saldenbergh-Kermanach N, Corrado A, Lemeiter D, deVernejoul MC, Boissier MC, Cohen-Solal ME. TNF-alpha antibodies and osteoprotegerin decrease systemic bone loss associated with inflammation through distinct mechanisms in collagen-induced arthritis. *Bone* 2004; 35: 1200-7
- <sup>84</sup> Kimble RB, Kitazawa R, Vannice JL, Pacifici R. Persistent bone-sparing effect of interleukin-1 receptor antagonist: a hypothesis on the role of IL-1 in ovariectomy-induced bone loss. *Calcif Tissue Int* 1994; 55: 260-5
- <sup>85</sup> [Smith AN](#), [Jouret F](#), [Bord S](#), [Borthwick KJ](#), [Al-Lamki RS](#), [Wagner CA](#), [Ireland DC](#), [Cormier-Daire V](#), [Frattini A](#), [Villa A](#), [Kornak U](#), [Devuyst O](#), [Karet FE](#). Vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase d2 subunit: molecular characterization, developmental regulation, and localization to specialized proton pumps in kidney and bone.

J Am Soc Nephrol 2005; 16: 1245-56

<sup>86</sup> Li YP, Chen W, Liang Y, Li E, Stashenko P. ATP6i-deficient mice exhibit severe osteopetrosis due to loss of osteoclast-mediated extracellular acidification. *Nat Genet* 1999; 23: 447-51

<sup>87</sup> Gowen M. Inhibition of cathepsin K - a novel approach to antiresorptive therapy. *Expert Opin Investig Drugs* 1997; 6: 1199-202

<sup>88</sup> Stenbeck G, Horton MA. Endocytic trafficking in actively resorbing osteoclasts. *J Cell Sci* 2004; 117: 827-36

<sup>89</sup> Faccio R, Grano M, Colucci S, Zallone AZ, Quaranta V, Pelletier AJ. Activation of  $\alpha v \beta 3$  integrin on human osteoclast-like cells stimulates adhesion and migration in response to osteopontin. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 249: 522-5

<sup>90</sup> [McHugh KP](#), [Hodivala-Dilke K](#), [Zheng MH](#), [Namba N](#), [Lam J](#), [Novack D](#), [Feng X](#), [Ross FP](#), [Hynes RO](#), [Teitelbaum SL](#). Mice lacking beta3 integrins are osteosclerotic because of dysfunctional osteoclasts. *J Clin Invest* 2000; 105: 433-40

<sup>91</sup> Tavares V. Conceito de Osteoporose. *Acta Reuma Port* 2006; 31 (suppl): S45-S46

<sup>92</sup> Consensus Development Conference. Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 1993; 94: 646-50

<sup>93</sup> [Riggs BL](#), [Hodgson SF](#), [O'Fallon WM](#), [Chao EY](#), [Wahner HW](#), [Muhs JM](#), [Cedel SL](#), [Melton LJ 3rd](#). Effect of fluoride treatment on the fracture rate in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 1990; 322: 802-9

<sup>94</sup> Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. *JAMA* 2001; 285: 785-95

<sup>95</sup> [Kanis JA](#), [Borgstrom F](#), [De Laet C](#), [Johansson H](#), [Johnell O](#), [Jonsson B](#), [Oden A](#), [Zethraeus N](#), [Pfleger B](#), [Khaltayev N](#). Assessment of fracture risk. *Osteoporos Int* 2005;16:581-9

<sup>96</sup> International Osteoporosis Foundation. Osteoporosis in Europe: indicators of progress and outcomes from the European Parliament Osteoporosis Interest Group and European Union Osteoporosis Consultation Panel Meeting, Wednesday, November 10, 2004. IOF-EC-Policy 6, Feb-2005

<sup>97</sup> The Burden of Brittle Bones - Costing Osteoporosis in Australia prepared by Access Economics, for Osteoporosis Australia. September 2001.

<sup>98</sup> Madhok R, Kerr H, Capell HA. Recent advances: rheumatology. *BMJ* 2000; 321: 882-5

<sup>99</sup> National Osteoporosis Foundation (NOF). Osteoporosis Fast Facts. Available at: [<http://www.nof.org/osteoporosis/stats.htm>]

<sup>100</sup> International Osteoporosis Foundation (IOF). World Osteoporosis Day Fact Sheet, 2000. [<http://www.osteofound.org>]

<sup>101</sup> [Looker AC](#), [Orwoll ES](#), [Johnston CC Jr](#), [Lindsay RL](#), [Wahner HW](#), [Dunn WL](#), [Calvo MS](#), [Harris TB](#), [Heyse SP](#). Prevalence of low femoral bone density in older US adults from NHANES III. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 1761-8

<sup>102</sup> Araújo D, Pereira J, Barros H. Osteoporose em mulheres portuguesas. *Acta Reuma Port* 1997; 82: 7-13

<sup>103</sup> Silva JAP, Carapito H, Reis P. Diagnóstico densitométrico de osteoporose: critérios de referência na população portuguesa. *Acta Reuma Port* 1999; 93: 9-18

<sup>104</sup> Branco JC, Tavares V, Briosa A, Costa R, Feliciano R, Rola A. Prevalence of osteoporosis in Portugal. *Osteoporosis Int* 1998; 8 (suppl 3): S191

<sup>105</sup> Aroso-Dias A. Epidemiologia da osteoporose. In *Osteoporose*. Ed Viana Queiroz M. Lidel Lda, Lisboa 1998: 25-39

<sup>106</sup> Aroso-Dias A. Epidemiologia da Osteoporose em Portugal: análise comparativa com outros países. *Acta Reuma Port* 2000; 97: 21-31

<sup>107</sup> Leitão R. Epidemiologia. In *Guia prático sobre osteoporose vol 2*. Ed Aventis. Pharmaceutical Communications Company. The Netherlands 2001: 3-28

<sup>108</sup> Aroso-Dias A. Osteoporose – epidemiologia e factores de risco. In *Reumatologia*, vol 3. Ed Viana Queiroz M. Lidel Lda, Lisboa 2002: 115-25

<sup>109</sup> [Lunt M](#), [Felsenberg D](#), [Reeve J](#), [Benevolenskaya L](#), [Cannata J](#), [Dequeker J](#), [Dodenhof C](#), [Falch JA](#), [Masaryk P](#), [Pols HA](#), [Poor G](#), [Reid DM](#), [Scheidt-Nave C](#), [Weber K](#), [Varlow J](#), [Kanis JA](#), [O'Neill TW](#), [Silman AJ](#). Bone density variation and its effects on risk of vertebral deformity in men and women studied in thirteen European centers: the EVOS Study. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 1883-94

<sup>110</sup> Chen Z, Maricic M, Lund P, Tesser J, Gluck O. How the new Hologic hip normal reference values affect the densitometric diagnosis of osteoporosis. *Osteoporosis Int* 1998; 8: 423-7

<sup>111</sup> [Seeman E](#), [Hopper JL](#), [Bach LA](#), [Cooper ME](#), [Parkinson E](#), [McKay J](#), [Jerums G](#). Reduced bone mass in daughters of women with osteoporosis. *N Engl J Med* 1989; 320: 554-8

<sup>112</sup> Liel Y, Edwards J, Shary J, Spicer KM, Gordon L, Bell NH. The effects of race and body habitus in bone mineral density of the radius, hip and spine, in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66: 1247-50

<sup>113</sup> Sambrook PN, Dequeker J, Rasp HH. Osteoporosis. In *Rheumatology*. Edited by Klippel JH and Dieppe PA. London. 2nd ed. 1998: 36.1-36.10

<sup>114</sup> Ferreira R, Canhão H, Costa L, Branco JC, Barros H. Determinants of bone quantitative ultrasound parameters in an adult Portuguese population. *Ann Rheum Dis* 2005; 64 (suppl III): 546-7

<sup>115</sup> Costa Dias F, Fonseca JE, Canhão H, Resende C, Pereira Silva JA, Queiroz MV. Effect of classical osteoporotic risk factors on bone mineral density in a young male population. *Osteopor Int* 2002; 13 (suppl 1): S88

<sup>116</sup> Yeh SS, Phanumas D, Hafner A, Schuster MW. Risk factors for osteoporosis in a subgroup of elderly men in a Veterans Administration nursing home. *J Investig Med* 2002; 50: 452-7

<sup>117</sup> Pereira Silva JA, Costa Dias F, Fonseca JE, Canhao H, Resende C, Viana Queiroz M. Low bone mineral density in professional scuba divers. *Clin Rheumatol* 2004; 2: 19-20

<sup>118</sup> Tavares V, Canhão H, Melo Gomes JA, Simões E, Romeu JC, Coelho P, Santos RA, Malcata A, Araújo D, Vaz C, Branco JC. Sociedade Portuguesa de Reumatologia e Sociedade Portuguesa de Doenças Ósseas Metabólicas. Recomendações para o diagnóstico e terapêutica da osteoporose. *Acta Reuma Port* 2007; 32: 49-59

<sup>119</sup> Canhão H, Fonseca JE, Queiroz MV. Diagnóstico e terapêutica da osteoporose na idade pediátrica. *Acta Med Port* 2004; 17: 385-90

<sup>120</sup>

Castelão W, Canhão H, Resende C, Fonseca JE, Costa JCT, Pereira Silva JA, Viana Queiroz M. Corticotherapy and bone mineral density in Portuguese children with juvenile systemic lupus erythematosus.

Osteopor Int 2002; 13 (suppl 1): S140

<sup>121</sup> Felson DT, Zhang Y, Hannan MT, Anderson JJ. Effects of weight and body mass index on bone mineral density in men and women: the Framingham study. *J Bone Miner Res* 1993; 8: 567-73

<sup>122</sup> Tremollieres FA, Pouilles JM, Ribot C. Vertebral postmenopausal bone loss is reduced in overweight women: a longitudinal study in 155 early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 683-6

<sup>123</sup> Albala C, Yanez M, Devoto E, Sostin C, Zeballos L, Santos JL. Obesity as a protective factor for postmenopausal osteoporosis. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996; 20: 1027-32

<sup>124</sup> Pittner RA, Albrandt K, Beaumont K, et al. Molecular physiology of amylin. *J Cell Biochem* 1994; 55 (Suppl): S19-S28

<sup>125</sup> Lamghari M, Tavares L, Camboa N, Barbosa MA. Leptin effect on RANKL and OPG expression in MC3T3-E1 osteoblasts. *J Cell Biochem* 2006; 98: 1123-9

<sup>126</sup> Harada S, Rodan GA. Control of osteoblast function and regulation of bone mass. *Nature* 2003; 423: 349-55

<sup>127</sup> [Elefteriou E](#), [Takeda S](#), [Ebihara K](#), [Magre J](#), [Patano N](#), [Kim CA](#), [Ogawa Y](#), [Liu X](#), [Ware SM](#), [Craig WJ](#), [Robert JJ](#), [Vinson C](#), [Nakao K](#), [Capeau J](#), [Karsenty G](#). Serum leptin level is a regulator of bone mass. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 3258-63

<sup>128</sup> [Dacquin R](#), [Davey RA](#), [Laplace C](#), [Levasseur R](#), [Morris HA](#), [Goldring SR](#), [Gebre-Medhin S](#), [Galson DL](#), [Zajac JD](#), [Karsenty G](#). Amylin inhibits bone resorption while the calcitonin receptor controls bone formation in vivo. *J Cell Biol* 2004; 164: 509-14

<sup>129</sup> Cornish J, Callon KE, King AR, Cooper GJ, Reid IR. Systemic administration of amylin increases bone mass, linear growth, and adiposity in adult male mice. *Am J Physiol* 1998; 275 (4 Pt 1): E694-9

<sup>130</sup> [Richards JB](#), [Valdes AM](#), [Burling K](#), [Perks UC](#), [Spector TD](#). Serum Adiponectin and Bone Mineral Density in Women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Jan 30; [Epub ahead of print]

<sup>131</sup> Staiger H, Haring HU. Adipocytokines: fat-derived humoral mediators of metabolic homeostasis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2005; 113: 67-79

<sup>132</sup> Lazarenko OP, Rzonca SO, Suva LJ, Lecka-Czernik B. Netoglitazone is a PPAR-gamma ligand with selective effects on bone and fat. *Bone* 2006; 38: 74-84

<sup>133</sup> Stewart A, Black AJ. Bone mineral density in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 464-7

<sup>134</sup> Sambrook P, Naganathan V. What is the relationship between osteoarthritis and osteoporosis? *Baillieres Clin Rheumatol* 1997; 11: 695-710

<sup>135</sup> Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS, Stone K, Fox KM, Ensrud KE, Cauley J, Black D, Vogt TM. 1. Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med* 1995; 332: 767-73

<sup>136</sup>

Hegarty VM, May HM, Khaw KT. Tea drinking and bone mineral density in older women. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1003-7

<sup>137</sup> Goldberg DM, Soleas GJ, Levesque M. Moderate alcohol consumption: the gentle face of Janus. *Clin Biochem* 1999; 32: 505-18

<sup>138</sup> Peacock M, Turner CH, Econs MJ, Foroud T. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev* 2002; 23: 303-26

<sup>139</sup> Recker RR, Deng HW. Role of genetics in osteoporosis. *Endocrine* 2002; 17: 55-66

- <sup>140</sup> Brown MA, Haughton MA, Grant SF, Gunnell AS, Henderson NK, Eisman JA. Genetic control of bone density and turnover: role of the collagen 1alpha1, estrogen receptor, and vitamin D receptor genes. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 758-64
- <sup>141</sup> [Boyden LM](#), [Mao J](#), [Belsky J](#), [Mitzner L](#), [Farhi A](#), [Mitnick MA](#), [Wu D](#), [Insogna K](#), [Lifton RP](#). High bone density due to a mutation in LDL-receptor-related protein 5. *N Engl J Med* 2002; 346: 1513-21
- <sup>142</sup> [Little RD](#), [Carulli JP](#), [Del Mastro RG](#), [Dupuis J](#), [Osborne M](#), [Folz C](#), [Manning SP](#), [Swain PM](#), [Zhao SC](#), [Eustace B](#), [Lappe MM](#), [Spitzer L](#), [Zweier S](#), [Braunschweiger K](#), [Benchekroun Y](#), [Hu X](#), [Adair R](#), [Chee L](#), [FitzGerald MG](#), [Tulig C](#), et al. A mutation in the LDL receptor-related protein 5 gene results in the autosomal dominant high-bone-mass trait. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 11-9
- <sup>143</sup> Gong Y, Slee RB, Fukai N, Rawadi G, Roman-Roman S, Reginato AM, Wang H, Cundy T, Glorieux FH, Lev D, Zacharin M, Oexle K, Marcelino J, Suwairi W, Heeger S, Sabatakos G, Apte S, Adkins WN, Allgrove J, Arslan-Kirchner M, et al. The Osteoporosis-Pseudoglioma Syndrome Collaborative Group. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell* 2001; 107: 513-23
- <sup>144</sup> [Gong Y](#), [Vikkula M](#), [Boon L](#), [Liu J](#), [Beighton P](#), [Ramesar R](#), [Peltonen L](#), [Somer H](#), [Hirose T](#), [Dallapiccola B](#), [De Paepe A](#), [Swoboda W](#), [Zabel B](#), [Superti-Furga A](#), [Steinmann B](#), [Brunner HG](#), [Jans A](#), [Boles RG](#), [Adkins W](#), [van den Boogaard MJ](#), et al. Osteoporosis- pseudoglioma syndrome, a disorder affecting skeletal strength and vision, is assigned to chromosome region 11q12-13. *Am J Hum Genet* 1996; 59: 146-51
- <sup>145</sup> Zajickova K, Zofkova I. Osteoporosis: genetic analysis of multifactorial disease. *Endocr Regul* 2003; 37: 31-44
- <sup>146</sup> Recker RR. Genetic research in osteoporosis: Where are we? Where should we go next? *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2004; 4: 86-90
- <sup>147</sup> [Fonseca JE](#), [Carvalho T](#), [Cruz M](#), [Nero P](#), [Sobral M](#), [Mourao AF](#), [Cavaleiro J](#), [Ligeiro D](#), [Abreu I](#), [Carmo-Fonseca M](#), [Branco JC](#). Polymorphism at position -308 of the tumour necrosis factor alpha gene and rheumatoid arthritis pharmacogenetics. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 793-4
- <sup>148</sup> Hermann J, Mueller T, Fahrleitner A, Dimai HP. Early onset and effective inhibition of bone resorption in patients with rheumatoid arthritis treated with the tumour necrosis factor alpha antibody infliximab. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21: 473-6
- <sup>149</sup> Ota N, Nakajima T, Ezura Y, Iwasaki H, Suzuki T, Hosoi T, Orimo H, Inoue S, Ito H, Emi M. Association of a single nucleotide variant in the human tumour necrosis factor alpha promoter region with decreased bone mineral density. *Ann Hum Biol* 2002; 29: 550-8
- <sup>150</sup> Ota N, Hunt SC, Nakajima T, Suzuki T, Hosoi T, Orimo H, Shirai Y, Emi M. Linkage of human tumor necrosis factor-alpha to human osteoporosis by sib pair analysis. *Genes Immun* 2000; 1: 260-4
- <sup>151</sup> Chen HY, Chen WC, Hsu CM, Tsai FJ, Tsai CH. Tumor necrosis factor alpha, CYP 17, urokinase, and interleukin 10 gene polymorphisms in postmenopausal women: correlation to bone mineral density and susceptibility to osteoporosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005;122:73-8
- <sup>152</sup> Furuta I, Kobayashi N, Fujino T, Kobamatsu Y, Shirogane T, Yaegashi M, Sakuragi N, Cho K, Yamada H, Okuyama K, Minakami H. Bone mineral density of the lumbar spine is associated with TNF gene polymorphisms in early postmenopausal Japanese women. *Calcif Tissue Int* 2004;74: 509-15
- <sup>153</sup> Moffett SP, Zmuda JM, Oakley JI, Beck TJ, Cauley JA, Stone KL, Lui LY, Ensrud KE, Hillier TA, Hochberg MC, Morin P, Peltz G, Greene D, Cummings SR. Tumor necrosis factor alpha polymorphism, bone strength phenotypes, and the risk of fracture in older women. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 3491-7

- <sup>154</sup> [Fonseca JE](#), [Cavaleiro J](#), [Teles J](#), [Sousa E](#), [Andreozzi VL](#), [Antunes M](#), [Amaral-Turkman MA](#), [Canhao H](#), [Mourao AF](#), [Lopes J](#), [Caetano-Lopes J](#), [Weinmann P](#), [Sobral M](#), [Nero P](#), [Saavedra MJ](#), [Malcata A](#), [Cruz M](#), [Melo R](#), [Brana A](#), [Miranda L](#), et al. Contribution for new genetic markers of rheumatoid arthritis activity and severity: sequencing of the tumour necrosis factor alpha gene promoter. *Arthritis Res Ther* 2007 Apr 4; 9(2): R37 [Epub ahead of print]
- <sup>155</sup> [Khanna D](#), [Wu H](#), [Park G](#), [Gersuk V](#), [Gold RH](#), [Nepom GT](#), [Wong WK](#), [Sharp JT](#), [Reed EF](#), [Paulus HE](#), [Tsao BP](#) et al; Western Consortium of Practicing Rheumatologists. Association of tumor necrosis factor alpha polymorphism, but not the shared epitope, with increased radiographic progression in a seropositive rheumatoid arthritis inception cohort. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 1105-16
- <sup>156</sup> Kanis JA. Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet* 2002; 359: 1929-36
- <sup>157</sup> Compston JE, Rosen CJ. Epidemiology. In *Osteoporosis*. Edited by Compston JE, Rosen CJ. Oxford. Health Press. 2nd Ed. 1999
- <sup>158</sup> Cooper C, Campion G, Melton LJ, 3rd. Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. *Osteoporos Int* 1992; 2: 285-9
- <sup>159</sup> Delmas PD, Fraser M. European Union challenges member states to fight the 'silent epidemic' of osteoporosis. *Eurohealth*, Vol. 4, No. 4, Autumn 1998. Available at: [[http://www.osteofound.org/press\\_centre/pdf/oste\\_in\\_europe.pdf](http://www.osteofound.org/press_centre/pdf/oste_in_europe.pdf).]
- <sup>160</sup> Cummings SR, Melton LJ. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet* 2002; 359: 1761-7
- <sup>161</sup> [Hodgson SF](#), [Watts NB](#), [Bilezikian JP](#), [Clarke BL](#), [Gray TK](#), [Harris DW](#), [Johnston CC Jr](#), [Kleerekoper M](#), [Lindsay R](#), [Luckey MM](#), [McClung MR](#), [Nankin HR](#), [Petak SM](#), [Recker RR](#), [Anderson RJ](#), [Bergman DA](#), [Bloomgarden ZT](#), [Dickey RA](#), [Palumbo PJ](#), [Peters AL](#), et al. American association of clinical endocrinologists. Medical guidelines for clinical practice for the prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis: 2001 edition, with selected updates for 2003. *Endocrine Practice* 2003; 9: 544-64
- <sup>162</sup> Melton LJ, 3rd, Chrischilles EA, Cooper C, Lane AW, Riggs BL. Perspective. How many women have osteoporosis? *J Bone Miner Res* 1992; 7: 1005-10
- <sup>163</sup> Lips P. Invest in your bones: Quality of Life. Why prevent the first fracture? International Osteoporosis Foundation, 2003. [<http://www.osteofound.org>]
- <sup>164</sup> Johnell O, Oden A, Caulin F, Kanis JA. Acute and long-term increase in fracture risk after hospitalization for vertebral fracture. *Osteoporos Int* 2001; 12: 207-14
- <sup>165</sup> [Lindsay R](#), [Silverman SL](#), [Cooper C](#), [Hanley DA](#), [Barton I](#), [Broy SB](#), [Licata A](#), [Benhamou L](#), [Geusens P](#), [Flowers K](#), [Stracke H](#), [Seeman E](#). Risk of new vertebral fracture in the year following a fracture. *JAMA* 2001; 285: 320-3
- <sup>166</sup> Klotzbuecher CM, Ross PD, Landsman PB, Abbott TA 3rd, Berger M. Patients with prior fractures have an increased risk of future fractures: a summary of the literature and statistical synthesis. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 721-39
- <sup>167</sup> Sambrook PN, Dequeker J, Rasp HH. Osteoporosis. In: Klippel JH, Dieppe PA, editors. *Rheumatology*. 2nd ed. London: Mosby; 1998: 8.36.01-8.36.10
- <sup>168</sup> Wehren LE. The epidemiology of osteoporosis and fractures in geriatric medicine. *Clin Geriatr Med* 2003; 19: 245-58

- <sup>169</sup> Johnell O, Gullberg B, Allander E, Kanis JA. The apparent incidence of hip fracture in Europe: a study of national register sources. MEDOS Study Group. *Osteoporosis Int* 1992; 2: 298–302
- <sup>170</sup> Falch JA, Ilebekk A, Slungaard U. Epidemiology of hip fractures in Norway. *Acta Orthop Scand* 1985; 56: 12-6
- <sup>171</sup> Elffors I, Allander E, Kanis JA, Gullberg B, Johnell O, Dequeker J, Dilsen G, Gennari C, Lopes Vaz AA, Lyritis G, et al. The variable incidence of hip fracture in southern Europe: the MEDOS Study. *Osteoporosis Int* 1994; 4: 253-63
- <sup>172</sup> Anderson M, Delmas PD. Osteoporosis, an underdiagnosed and undertreated public health issue. *Karger Gazette* 2002; 65: 3–5
- <sup>173</sup> Gullberg B, Johnell O, Kanis JA. World-wide projections for hip fracture. *Osteoporosis Int* 1997; 7: 407-13
- <sup>174</sup> [O'Neill TW](#), [Felsenberg D](#), [Varlow J](#), [Cooper C](#), [Kanis JA](#), [Silman AJ](#). The prevalence of vertebral deformity in European men and women: The European vertebral osteoporosis study. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 1010-7
- <sup>175</sup> Roy DK, O'Neill TW, Finn JD, Lunt M, Silman AJ, Felsenberg D. Determinants of incident vertebral fracture in men and women: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *Osteoporosis Int*. 2003; 14: 19-26
- <sup>176</sup> Matos ACA, Tavares V, Branco JC, Amaral JS, Queiroz MV. Epidemiology of hip fractures in the Western region of Lisbon. In *Osteoporosis Proceedings*. Eds Christiansen C, Overgaardt. Osteopress Aps, Copenhagen 1990: 168-70
- <sup>177</sup> Aroso-Dias A, Ferreira F, Quintal A, Afonso C, Vaz C, Lopes Vaz A. A epidemiologia e custos das fracturas osteoporóticas em Portugal. *Rev Port Reumatol* 1990; 1: 26-35
- <sup>178</sup> Rodrigues M, Branco JC, Menezes V et al. Hip fractures. Influence of calcium levels in drinkable water. In *Osteoporosis Proceedings*. Eds Christiansen C, Overgaardt. Osteopress Aps, Copenhagen 1990: 175-6
- <sup>179</sup> Branco JC. Dimensão e custos da Osteoporose: A realidade portuguesa e internacional. *Lição de Agregação* 2003; FCMUL
- <sup>180</sup> Ray NT, Chan JK, Thamer M, Melton LJIII. Medical expenditures for the treatment of osteoporotic fractures in the United States in 1995: report from the National Osteoporosis Foundation. *J Bone Miner Res* 1997; 12; 24-35
- <sup>181</sup> Osteoporosis in the European Community: A call to action. An audit of policy developments since 1998. International Osteoporosis Foundation, Lyon, France, 2000: 28-29
- <sup>182</sup> Branco JC, Matos ACA. Custos hospitalares das fracturas osteoporóticas do colo do fémur. Estudo comparativo com outras doenças não transmissíveis. *Acta Reuma Port* 1995; 72: 7-22
- <sup>183</sup> Hui SL, Slemenda CW, Johnston CC. The contribution of bone loss to post menopausal osteoporosis. *Osteoporosis Int* 1990; 1: 30-34
- <sup>184</sup> Bonjour JP. Bone mineral acquisition in adolescence. In *Osteoporosis*. Edited by Marcus R, Feldman D, Kelsey J. San Diego. Academic Press 1996: 465-76
- <sup>185</sup> Delmas PD. Treatment of postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 2002; 359: 2018-26
- <sup>186</sup> Pacifici R. Estrogen, cytokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 1043-51

- <sup>187</sup> Kenny AM, Prestwood KM. Osteoporosis. Pathogenesis, diagnosis, and treatment in older adults. *Rheum Dis Clin North Am* 2000; 26: 569-91
- <sup>188</sup> Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev* 2001; 22: 477-501
- <sup>189</sup> Riggs BL. Endocrine causes of age-related bone loss and osteoporosis. *Novartis Found Symp* 2002; 242: 247-59; discussion 260-4
- <sup>190</sup> [Fonseca JE](#), [Cortez-Dias N](#), [Francisco A](#), [Sobral M](#), [Canhao H](#), [Resende C](#), [Castelao W](#), [Macieira C](#), [Sequeira G](#), [Saraiva F](#), [da Silva JA](#), [Carmo-Fonseca M](#), [Viana Queiroz M](#). Inflammatory cell infiltrate and RANKL/OPG expression in rheumatoid synovium: comparison with other inflammatory arthropathies and correlation with outcome. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23: 185-92
- <sup>191</sup> Gilsanz V, Gibbens DT, Carlson M, Boechat I, Cann CE, Schulz EE. Peak trabecular bone density: a comparison of adolescent and adult females. *Calcif Tissue Int* 1988; 43: 260-2
- <sup>192</sup> Seeman E. The structural and biomechanical basis of the gain and loss of bone strength in women and men. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003; 32: 25-38
- <sup>193</sup> Seeman E. During aging, men lose less bone than women because they gain more periosteal bone, not because they resorb less endosteal bone. *Calcif Tissue Int* 2001; 69: 205-8
- <sup>194</sup> Duan Y, Turner CH, Kim BT, Seeman E. Sexual dimorphism in vertebral fragility is more the result of gender differences in age-related bone gain than bone loss. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 2267-75
- <sup>195</sup> Falahati-Nini A, Riggs BL, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Eastell R, Khosla S. Relative contributions of testosterone and estrogen in regulating bone resorption and formation in normal elderly men. *J Clin Invest* 2000; 106: 1553-60
- <sup>196</sup> Aaron JE, Shore PA, Shore RC, Beneton M, Kanis JA. Trabecular architecture in women and men of similar bone mass with and without vertebral fracture: II. Three-dimensional histology. *Bone* 2000; 27: 277-82
- <sup>197</sup> Parfitt AM, Mathews CHE, Villanueva AR, Kleerehoper M, Frame B, Rao DS. Relationship between surface, volume, and thickness of iliac trabecular bone in aging and in osteoporosis: implications for the microanatomic and cellular mechanism of bone loss. *J Clin Invest* 1983; 72: 1396-409
- <sup>198</sup> van der Linden JC, Homminga J, Verhaar JAN, Weinans H. Mechanical consequences of bone loss in cancellous bone. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 457-65
- <sup>199</sup> Melton LJIII, Cooper C. Magnitude and impact of osteoporosis and fractures. In, *Osteoporosis*. Eds. R Marcus, D Feldman, J Kelsey, 2nd edition (vol.1). Academic Press, San Diego, 2001:557-67
- <sup>200</sup> Parfitt AM. Trabecular bone architecture in the pathogenesis and prevention of fracture. *Am J Med* 1987; 82: 68-72
- <sup>201</sup> Canhão H. Microarquitectura do osso e Osteoporose. *Osteoporose* 2002; I(2): 5-12
- <sup>202</sup> Melton LJ III. Epidemiology of fractures. In *Osteoporosis: Etiology, Diagnosis, and Management*. 2nd Edition. Riggs BL and Melton LJ III (eds). Lippincott-Raven, Philadelphia, 1995. Pg 497
- <sup>203</sup> Chesnut CH, Rosen CJ for the Bone Quality Discussion Group. Perspective – Reconsidering the effects of antiresorptive therapies in reducing osteoporotic fracture. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 2163-72
- <sup>204</sup> Bouxsein ML. Determinants of skeletal fragility. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005; 19: 897-911

- <sup>205</sup> 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
- <sup>206</sup> Ross PD, Davis JW, Epstein RS, Wasnich RD. Preexisting fractures and bone mass predict vertebral fracture incidence in women. *Ann Intern Med* 1991; 114: 919-23
- <sup>207</sup> Lindsay R, Silverman SL, Cooper C Hanley DA, Barton I, Broy SB, Licata A, Benhamou L, Geusens P, Flowers K, Stracke H, Seeman E. Risk of new vertebral fracture in the year following a fracture. *JAMA* 2001; 285: 320-3
- <sup>208</sup> Parfitt AM. Implications of architecture for the pathogenesis and prevention of vertebral fracture. *Bone* 1992; 13(suppl 2): S41-S47
- <sup>209</sup> Kimmel DB, Heaney RP, Avioli LV, Chesnut CH, Recker RR, Lappe JM, Brandenburger GH. Patellar ultrasound velocity in osteoporotic and normal subjects of equal forearm or spinal bone density. *J Bone Min Res* 1991; 6(suppl 1): S175
- <sup>210</sup> Bonar SK, Tinetti ME, Speechley M, Cooney LM. Factors associated with short-versus long-term skilled nursing facility placement among community-living hip fracture patients. *J Am Geriatr Soc* 1990; 38: 1139-44
- <sup>211</sup> Direcção Geral de Saúde. Fracturas do colo do fémur. Boletim dos Serviços de Promoção e Garantia da Qualidade, 1997
- <sup>212</sup> Center JR, Nguyen TV, Schneider D, Sambrook PN, Eisman JA. Mortality after all major types of osteoporotic fracture in men and women: an observational study. *Lancet* 1999; 353: 878-82
- <sup>213</sup> [Cooper C](#), [Atkinson EJ](#), [Jacobsen SJ](#), [O'Fallon WM](#), [Melton LJ 3rd](#). Population-based study of survival after osteoporotic fractures. *Am J Epidemiol* 1993; 137: 1001-5
- <sup>214</sup> Tavares V, Matos ACA, Branco JC, Amaral JS, Queiroz MV. Mortalidade e custos hospitalares das fracturas da anca. *Acta Reuma Port* 1990; 15 (supl 1): 66
- <sup>215</sup> Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability. *Clin Biochem Rev* 2005; 26: 97-122
- <sup>216</sup> Garnero P, Hausherr E, Chapuy MC, Marcelli C, Grandjean H, Muller C, Cormier C, Breart G, Meunier PJ, Delmas PD. Markers of bone resorption predict hip fracture in elderly women : the EPIDOS prospective study. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 1531-8
- <sup>217</sup> [Rea JA](#), [Chen MB](#), [Li J](#), [Marsh E](#), [Fan B](#), [Blake GM](#), [Steiger P](#), [Smith IG](#), [Genant HK](#), [Fogelman I](#). Vertebral morphometry: a comparison of long-term precision of morphometric X-ray absorptiometry and morphometric radiography in normal and osteoporotic subjects. *Osteoporos Int* 2001;12:158-66
- <sup>218</sup> World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. WHO Technical Report. Series 843, Geneva: WHO 1994
- <sup>219</sup> Scott AM, Cormier C, Hans D, et al. How hip and whole-body mineral density predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS prospective study. *Osteoporos Int* 1998; 8: 247-54
- <sup>220</sup> Miller PD, Bonnicksen SL, Rosen CJ. Consensus of an international panel on the clinical utility of bone mass measurements in the detection of low bone mass in the adult population. *Calcif Tissue Int* 1996; 58: 207-14
- <sup>221</sup> Blake GM, Fogelman I. Technical principles of dual energy x-ray absorptiometry. *Semin Nucl Med* 1997; 27: 210-28

- <sup>222</sup> Kanis JA, Devogelaer JP, Gennari C. Practical guide for the use of bone mineral measurements in the assessment of treatment of osteoporosis: a position paper of the European foundation for osteoporosis and bone disease. The Scientific Advisory Board and the Board of National Societies. *Osteoporos Int* 1996; 6: 256-61
- <sup>223</sup> Kanis JA, Melton LJ 3rd, Christiansen C, Johnston CC, Khaltav N. The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 1137-41
- <sup>224</sup> Kanis JA. Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet* 2002; 359:1929-36
- <sup>225</sup> World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. WHO Technical report series 843. Geneva, WHO, 1994
- <sup>226</sup> Hui SL, Slemenda CW, Johnston CC. Baseline measurement of bone mass predicts fracture in white women. *Ann Intern Med* 1989; 111: 355-61
- <sup>227</sup> [Cummings SR](#), [Black DM](#), [Nevitt MC](#), [Browner WS](#), [Cauley JA](#), [Genant HK](#), [Mascioli SR](#), [Scott JC](#), [Seeley DG](#), [Steiger P](#), et al. Appendicular bone density and age predict hip fracture in women. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *JAMA* 1990; 263: 665-8
- <sup>228</sup> Delmas DP. How does antiresorptive therapy decrease the risk of fracture in women with osteoporosis? *Bone* 2000; 27: 1-3
- <sup>229</sup> Vedi S, Compston JE. The effects of long-term hormone replacement therapy on bone remodeling in postmenopausal women. *Bone* 1996; 19: 535-9
- <sup>230</sup> Kneissel M, Boyde A, Gasser JA. Bone tissue and its mineralization in aged-estrogen-depleted rats after long-term intermittent treatment with parathyroid hormone (PTH) analog SDZ PTS 893 or human PTH (1-34). *Bone* 2001; 28: 237-50
- <sup>231</sup> Feldkamp LA, Goldstein AS, Parfitt AM, Jesion G, Kleerekoper M. The direct examination of three dimensional bone architecture in vitro by computed tomography. *J Bone Min Res* 1989; 4: 3-11
- <sup>232</sup> Link TM, Majumdar S, Augat P, Lin JC, Newitt D, Lu Y, Lane NE, Genant HK. In vivo high resolution MRI of the calcaneus: differences in trabecular structure in osteoporosis patients. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 1175-82
- <sup>233</sup> MacDonald B, van Rietbergen B, Newitt D, et al. The effect of idoxifene on structural and mechanical properties of bone assessed by non invasive techniques in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2000; 15 (suppl 1): S198
- <sup>234</sup> [Schott AM](#), [Hans D](#), [Duboeuf F](#), [Dargent-Molina P](#), [Hajri T](#), [Breart G](#), [Meunier PJ](#); EPIDOS Study Group. Quantitative ultrasound parameters as well as bone mineral density are better predictors of trochanteric than cervical hip fractures in elderly women. Results from the EPIDOS study. *Bone* 2005; 37: 858-63
- <sup>235</sup> American Geriatric Society, British Geriatric Society and American Academy of Orthopaedic Surgeons Panel on Falls Prevention. Guideline for the prevention of falls in older persons. *JAGS* 2001; 49: 664-72
- <sup>236</sup> European Commission Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on the tolerable upper intake level of Calcium.  
[[http://www.ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out194\\_en.pdf](http://www.ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out194_en.pdf)]
- <sup>237</sup> European Commission Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on the tolerable upper intake level of vitamin D.  
[[http://www.ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out157\\_en.pdf](http://www.ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out157_en.pdf)]

- <sup>238</sup> [Singh S](#), [Sun H](#), [Anis AH](#). Cost-effectiveness of hip protectors in the prevention of osteoporosis related hip fractures in elderly nursing home residents. *J Rheumatol* 2004; 31: 1607-13
- <sup>239</sup> Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM, Ockene J; Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288: 321–33
- <sup>240</sup> [Chesnut CH 3rd](#), [Silverman S](#), [Andriano K](#), [Genant H](#), [Gimona A](#), [Harris S](#), [Kiel D](#), [LeBoff M](#), [Maricic M](#), [Miller P](#), [Moniz C](#), [Peacock M](#), [Richardson P](#), [Watts N](#), [Baylink D](#). A randomized trial of nasal spray salmon calcitonin in postmenopausal women with established osteoporosis: the prevent recurrence of osteoporotic fractures study. PROOF Study Group. *Am J Med* 2000; 109: 267-76
- <sup>241</sup> [Ofluoglu D](#), [Akyuz G](#), [Unay O](#), [Kayhan O](#). The effect of calcitonin on beta-endorphin levels in postmenopausal osteoporotic patients with back pain. *Clin Rheumatol* 2007; 26: 44-9
- <sup>242</sup> [Ettinger B](#), [Black DM](#), [Mitlak BH](#), [Knickerbocker RK](#), [Nickelsen T](#), [Genant HK](#), [Christiansen C](#), [Delmas PD](#), [Zanchetta JR](#), [Stakkestad J](#), [Gluer CC](#), [Krueger K](#), [Cohen FJ](#), [Eckert S](#), [Ensrud KE](#), [Avioli LV](#), [Lips P](#), [Cummings SR](#). Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene: results from a 3-year randomized clinical trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Investigators. *JAMA* 1999; 282: 637-45
- <sup>243</sup> [Black DM](#), [Cummings SR](#), [Karpf DB](#), [Cauley JA](#), [Thompson DE](#), [Nevitt MC](#), [Bauer DC](#), [Genant HK](#), [Haskell WL](#), [Marcus R](#), [Ott SM](#), [Torner JC](#), [Quandt SA](#), [Reiss TF](#), [Ensrud KE](#). Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group. *Lancet* 1996; 348: 1535-41
- <sup>244</sup> [Ensrud KE](#), [Black DM](#), [Palermo L](#), [Bauer DC](#), [Barrett-Connor E](#), [Quandt SA](#), [Thompson DE](#), [Karpf DB](#). Treatment with alendronate prevents fractures in women at highest risk: results from the Fracture Intervention Trial. *Arch Intern Med* 1997; 157: 2617-24
- <sup>245</sup> [Cummings SR](#), [Black DM](#), [Thompson DE](#), [Applegate WB](#), [Barrett-Connor E](#), [Musliner TA](#), [Palermo L](#), [Prineas R](#), [Rubin SM](#), [Scott JC](#), [Vogt T](#), [Wallace R](#), [Yates AJ](#), [LaCroix AZ](#). Effect of alendronate on risk of fracture in women with low bone density but without vertebral fractures: results from the Fracture Intervention Trial. *JAMA* 1998; 280: 2077-82
- <sup>246</sup> [Harris ST](#), [Watts NB](#), [Genant HK](#), [McKeever CD](#), [Hangartner T](#), [Keller M](#), [Chesnut CH 3rd](#), [Brown J](#), [Eriksen EF](#), [Hoseyni MS](#), [Axelrod DW](#), [Miller PD](#). Effects of risedronate treatment on vertebral and nonvertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial Vertebral Efficacy With Risedronate Therapy (VERT) Study Group. *JAMA* 1999; 282: 1344-52
- <sup>247</sup> [Reginster J](#), [Minne HW](#), [Sorensen OH](#), [Hooper M](#), [Roux C](#), [Brandi ML](#), [Lund B](#), [Ethgen D](#), [Pack S](#), [Roumagnac I](#), [Eastell R](#). Randomized trial of the effects of risedronate on vertebral fractures in women with established postmenopausal osteoporosis. Vertebral Efficacy with Risedronate Therapy (VERT) Study Group. *Osteoporos Int* 2000; 11: 83-91
- <sup>248</sup> [Delmas PD](#), [Recker RR](#), [Chesnut CH 3rd](#), [Skag A](#), [Stakkestad JA](#), [Emkey R](#), [Gilbride J](#), [Schimmer RC](#), [Christiansen C](#). Daily and intermittent oral ibandronate normalize bone turnover and provide significant reduction in vertebral fracture risk: results from the BONE study. *Osteoporos Int* 2004; 15: 792–8
- <sup>249</sup> [Miller PD](#), [McClung MR](#), [Macovei L](#), [Stakkestad JA](#), [Luckey M](#), [Bonvoisin B](#), [Reginster JY](#), [Recker RR](#), [Hughes C](#), [Lewiecki EM](#), [Felsenberg D](#), [Delmas PD](#), [Kendler DL](#), [Bolognese MA](#), [Mairon N](#), [Cooper C](#). Monthly oral ibandronate therapy in postmenopausal osteoporosis: one year results from the MOBILE study.

J Bone Miner Res 2005; 20: 1315–22

<sup>250</sup> [Chesnut III CH](#), [Skag A](#), [Christiansen C](#), [Recker R](#), [Stakkestad JA](#), [Hoiseith A](#), [Felsenberg D](#), [Huss H](#), [Gilbride J](#), [Schimmer RC](#), [Delmas PD](#); Oral Ibandronate Osteoporosis Vertebral Fracture Trial in North America and Europe (BONE). Effects of oral ibandronate administered daily or intermittently on fracture risk in postmenopausal osteoporosis. J Bone Miner Res 2004; 19: 1241-9

<sup>251</sup> [McClung MR](#), [Geusens P](#), [Miller PD](#), [Zippel H](#), [Bensen WG](#), [Roux C](#), [Adami S](#), [Fogelman I](#), [Diamond T](#), [Eastell R](#), [Meunier PJ](#), [Reginster JY](#); Hip Intervention Program Study Group. Effect of risedronate on the risk of hip fracture in elderly women. N Engl J Med 2001; 344: 333-40

<sup>252</sup> [Black DM](#), [Thompson DE](#), [Bauer DC](#), [Ensrud K](#), [Musliner T](#), [Hochberg MC](#), [Nevitt MC](#), [Suryawanshi S](#), [Cummings SR](#); Fracture risk reduction with alendronate in women with osteoporosis: the Fracture Intervention Trial. J Clin Endocrinol Metab 2000; 85: 4118–24

<sup>253</sup> Felsenberg D, Miller P, Armbrecht G, Wilson K, Schimmer RC, Papapoulos SE. Oral ibandronate significantly reduces the risk of vertebral fractures of greater severity after 1, 2, and 3 years in postmenopausal women with osteoporosis. Bone 2005; 37: 651-4

<sup>254</sup> [Meunier PJ](#), [Roux C](#), [Seeman E](#), [Ortolani S](#), [Badurski JE](#), [Spector TD](#), [Cannata J](#), [Balogh A](#), [Lemmel EM](#), [Pors-Nielsen S](#), [Rizzoli R](#), [Genant HK](#), [Reginster JY](#). The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. N Engl J Med 2004; 350: 459–68

<sup>255</sup> [Reginster JY](#), [Seeman E](#), [De Vernejoul MC](#), [Adami S](#), [Compston J](#), [Phenekos C](#), [Devogelaer JP](#), [Curiel MD](#), [Sawicki A](#), [Goemaere S](#), [Sorensen OH](#), [Felsenberg D](#), [Meunier PJ](#). Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study. J Clin Endocrinol Metab 2005; 90: 2816-22

<sup>256</sup> [Neer RM](#), [Arnaud CD](#), [Zanchetta JR](#), [Prince R](#), [Gaich GA](#), [Reginster JY](#), [Hodsman AB](#), [Eriksen EF](#), [Ish-Shalom S](#), [Genant HK](#), [Wang O](#), [Mitlak BH](#). Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. N Engl J Med 2001; 344: 1434–41

<sup>257</sup> Boutroy S, Bouxsein ML, Munoz F, Delmas PD. In vivo assessment of trabecular bone microarchitecture by high-resolution peripheral quantitative computed tomography. J Clin Endocrinol Metab 2005; 90: 6508-15

<sup>258</sup> Sornay-Rendu E, Munoz F, Garnero P, Duboeuf F, Delmas PD. Identification of osteopenic women at high risk of fracture: the OFELY study. J Bone Miner Res 2005; 20: 1813-9

<sup>259</sup> Hernandez-Rauda R, Martinez-Garcia S. Osteoporosis-related life habits and knowledge about osteoporosis among women in El Salvador: A cross-sectional study. BMC Musculoskeletal Disorders 2004; 5: 29-43

<sup>260</sup> [Sosa M](#), [Saavedra P](#), [Munoz-Torres M](#), [Alegre J](#), [Gomez C](#), [Gonzalez-Macias J](#), [Guanabens N](#), [Hawkins E](#), [Lozano C](#), [Martinez M](#), [Mosquera J](#), [Perez-Cano R](#), [Quesada M](#), [Salas E](#); [GIUMO Study Group](#). Quantitative ultrasound calcaneus measurements: normative data and precision in the spanish population. Osteoporos Int 2002; 13: 487-92

<sup>261</sup> [Magkos F](#), [Manios Y](#), [Babaroutsi E](#), [Sidossis LS](#). Quantitative ultrasound calcaneus measurements: normative data for the Greek population. Osteoporos Int 2005; 16: 280-8

<sup>262</sup> **Chen BH**, **Tsai JL**, **Tsai LY**, **Chao MC**. Comparison of serum copper, magnesium, zinc and calcium levels between G6PD deficient and normal Chinese adults. Kaohsiung J Med Sci 1999; 15: 646-50

<sup>263</sup> [Mataran Perez L](#), [Gonzalez Dominguez J](#), [Rodriguez Perez M](#), [Rodrigo D](#), [Abellan Perez M](#), [Salvatierra Rios D](#). Zinc and osteoporosis. An Med Interna 1992; 9: 331-3

<sup>264</sup> [Saad MF](#), [Damani S](#), [Gingerich RL](#), [Riad-Gabriel MG](#), [Khan A](#), [Boyadjian R](#), [Jinagouda SD](#), [el-Tawil K](#), [Rude RK](#), [Kamdar V](#). Sexual dimorphism in plasma leptin concentration. J Clin Endocrinol Metab 1997; 82: 579-84