



EPIDEMIOLOGIA DA OSTEOPOROSE,
MECANISMOS DE REMODELAÇÃO ÓSSEA
E FACTORES PROTECTORES DO OSSO

Helena Canhão,
João Eurico Fonseca,
Mário Viana de Queiroz

Serviço de Reumatologia do Hospital de Santa Maria
Faculdade de Medicina de Lisboa

RESUMO

Neste artigo, os autores analisam os dados epidemiológicos portugueses sobre osteoporose, revêm os conhecimentos actuais sobre a fisiologia da formação e da reabsorção ósseas, discutem alguns aspectos da fisiopatologia da osteoporose e a sua relação com factores de risco e factores protectores do osso. No final, apresentam algumas perspectivas sobre o futuro da investigação nesta área e discutem quais são alguns dos possíveis candidatos a factores de protecção óssea.

Palavras-Chave: Osteoporose; Portugal; Remodelação óssea; Factores protectores do osso.

ABSTRACT

The authors analyse some Portuguese epidemiological data on osteoporosis, review the physiology of bone formation and bone resorption and discuss aspects of osteoporosis pathogenesis, risk factors and bone protection factors. Finally they present some areas of future research and new candidates that may act as bone protection factors.

Keywords: Osteoporosis; Portugal; Bone turnover; Bone protection factors.

EPIDEMIOLOGIA DA OSTEOPOROSE, MECANISMOS DE REMODELAÇÃO ÓSSEA E FACTORES PROTECTORES DO OSSO

Helena Canhão*, João Eurico Fonseca**, Mário Viana de Queiroz***

Osteoporose: Dados Epidemiológicos Portugueses

A osteoporose (OP) é uma patologia óssea caracterizada por diminuição da resistência do osso, o que predispõe a um aumento do risco de fractura^{1,2}. A OP e as fracturas osteoporóticas são um grave problema de saúde pública, atingindo milhões de pessoas e constituindo uma importante causa de morbilidade e mortalidade, com custos associados muito elevados³. O aumento da esperança de vida tende a agravar este problema e a aumentar exponencialmente o número de indivíduos em risco de sofrer OP. Prevê-se que na União Europeia, a incidência anual de fracturas do colo do fémur sofra um aumento de 125.000 para 1 milhão, em 2020⁴.

Em Portugal estão disponíveis alguns dados sobre a prevalência da OP quer em artigos originais^{5,6,7,8} quer em artigos de revisão sobre o tema^{9,10,11}.

Um estudo de 1997⁵, efectuado em 5.959 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 corresponde a cerca de 180.000 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 trabalho⁶, efectuado em 1.105 portugueses de ambos os sexos, residentes no Centro do país, num concelho da região de Coimbra, com absorciometria de dupla energia radiológica (DEXA), destacou diferenças significativamente mais baixas de prevalência da osteoporose densitométrica, quando utilizados como referência os valores de densidade mineral óssea (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* 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 al⁷ 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 estudo⁸, 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

*Assistente Hospitalar de Reumatologia do Hospital de Santa Maria. Assistente de Reumatologia e de Bioquímica da Faculdade de Medicina de Lisboa.

**Assistente Hospitalar de Reumatologia do Hospital de Santa Maria. Professor Auxiliar de Reumatologia da Faculdade de Medicina de Lisboa.

***Chefe de Serviço e Director do Serviço de Reumatologia do Hospital de Santa Maria. Professor Associado de Reumatologia da Faculdade de Medicina de Lisboa.

e 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 diversos, as populações de referência apresentarem valores de DMO distintos, serem avaliadas diferentes regiões e utilizarem metodologias não sobreponíveis (Quadro 1). No entanto, em conjunto, fornecem-nos dados muito úteis que permitem dar-nos indicações sobre a prevalência da OP densitométrica no nosso país e compará-la com os valores obtidos noutros países. Uma análise do estudo EVOS¹², 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 estudo¹³ efectuado nos Estados Unidos, registou-se uma diminuição de 60% na prevalência da osteoporose em mulheres pós-menopáusicas 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 quando se apresentam dados de prevalência de OP conhecer quais os métodos e a população utilizada para a sua determinação.

Relativamente à prevalência das fracturas osteoporóticas, os dados portugueses sobre fracturas da coluna vertebral e do punho são escassos, mas dispomos de mais alguns dados sobre fracturas da anca, que frequentemente requerem internamento. Em três estudos diferentes^{14,15,16}, a incidência

anual de fracturas da anca, para as mulheres, variava entre 128 e 297/100.000 e, para os homens, entre 81 e 136/100.000. O crescimento anual estimado da incidência das fracturas da anca é de 4 a 5%¹⁴. No ano 2000 registaram-se cerca de 8.500 fracturas, com um custo superior a 50 milhões de euros¹⁷. A ocorrência de uma fractura da anca pode aumentar em 15 a 25% a mortalidade do indivíduo durante o primeiro ano após a fractura, tornando-se a maioria dos doentes dependente de terceiros e muitos, acamados¹⁸.

Relativamente às fracturas vertebrais apenas dispomos dos resultados da amostra populacional portuguesa do Porto que participou no estudo EVOS¹⁹ cuja prevalência de deformações radiológicas vertebrais foi de 13,5% no sexo feminino e de 16,6% no sexo masculino. Extrapolando os 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)²⁰, no contexto do estudo EVOS.

Estes trabalhos ainda que permitam compreender a magnitude do problema, apresentam algumas limitações. Os resultados obtidos nem sempre foram coincidentes, pois foram obtidos em estudos que utilizaram diferentes metodologias de selecção e de avaliação¹¹. O conhecimento da prevalência e da incidência das fracturas osteoporóticas é fundamental, pois elas são as complicações clínicas verdadeiramente significativas da osteoporose. As fracturas da anca são aparentemente mais frequentes nos países do Norte da Europa²¹, ainda que na Europa Meridional se observem variações de incidência que podem ser de 10 vezes, como salientado no estudo *Mediterranean Osteoporosis*

Quadro 1. Prevalência da Osteoporose em Portugal (expressa em %)

Autores	n	Local medição	Prevalência OP Punho	Prevalência OP Coluna Lombar	Prevalência OP Colo Fémur
D Araújo <i>et al</i> ⁵	5.959	punho	Mulheres: 16,7%		
Pereira Silva <i>et al</i> ⁶	1.105	coluna e colo fémur		Mulheres: 11,5% (20,6% ref ap) Homens: 2%	Mulheres: 1,4% (31,7% ref ap) Homens: 8%
J Branco <i>et al</i> ⁷	288	punho	Mulheres: 59%		
Aroso-Dias <i>et al</i> ⁸		coluna e colo fémur		Mulheres: 25%	Mulheres: 29%

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 al*⁸, a população de referência foi calculada a partir de uma população europeia do estudo EVOS.

Quadro 2. Incidência por 100.000 das fracturas osteoporóticas do fémur proximal em diferentes regiões (população com idade ≥ 50 anos). Adaptado de Aroso-Dias¹¹

País/Região	Mulheres (F)	Homens (M)	F/M
Noruega (Oslo)	715	298,6	2,39
Dinamarca (Funen)	595,1	211,4	2,81
Inglaterra (Oxford)	495,4	160,6	3,08
Estados Unidos (Rochester)	487,4	175,5	2,78
Espanha (Barcelona)	289,3	137,8	2,1
Portugal (Porto)	297	136	2,18
China (Beijing)	87	97	0,9
Turquia (Istambul)	34	26	1,28

Study (MEDOS)²² (Quadro 2). De notar ainda que a sua incidência tem vindo a aumentar, nomeadamente em países em vias de desenvolvimento, no Continente Asiático e na América Latina²³.

Provavelmente em breve disporemos de mais dados epidemiológicos sobre a realidade portuguesa, uma vez que a Sociedade Portuguesa de Reumatologia, o Serviço de Epidemiologia da Faculdade de Medicina do Porto e a Direcção Geral de Saúde estão a desenvolver em parceria, um estudo que pretende determinar a prevalência da OP e a incidência das fracturas osteoporóticas em Portugal.

As fracturas osteoporóticas são a manifestação clínica aparente de uma doença silenciosa que cursa com alterações da microarquitetura óssea. Para se compreender melhor este fenómeno é necessário conhecer os mecanismos de formação e reabsorção ósseas e as alterações celulares e moleculares que conduzem à OP. A investigação e o conhecimento mais profundo sobre factores protectores do osso pode ser fundamental para melhorar o equilíbrio da remodelação óssea e desenvolver, no futuro, novas terapêuticas anti-OP.

Mecanismos de Formação e Reabsorção Ósseas

A remodelação óssea é um processo dinâmico, que resulta das actividades acopladas de reabsorção óssea pelos osteoclastos e de formação óssea pelos osteoblastos. O processo de formação óssea ou osteogénese decorre em 3 etapas²⁴: a produção de matriz orgânica extracelular ou osteóide, a minera-

lização da matriz com formação de osso e a remodelação óssea com reabsorção seguida da formação de novo osso (Fig. 1). A actividade celular dos osteoblastos, osteócitos e osteoclastos é fundamental neste processo. Os osteoblastos sintetizam os precursores moleculares da matriz óssea e regulam a sua mineralização. À medida que progride o processo de formação óssea, os osteoblastos preenchem as lacunas de reabsorção produzidas pelos osteoclastos, produzem osteóide e passam a denominar-se osteócitos²⁵.

O constituinte mineral mais importante do osso é a hidroxiapatite, um composto formado por cálcio e fosfato, que constitui cerca de um quarto do volume e mais de metade da massa do osso adulto normal²⁶. A vitamina D e a paratormona (PTH) são importantes mediadores da regulação do cálcio e a deficiência da primeira ou excesso da segunda podem conduzir a depleção mineral^{27,28}. A matriz extracelular é mineralizada logo após a sua deposição, mas há uma camada fina, não mineralizada, que se mantém na superfície do osso. Nalgumas situações patológicas, a espessura e a extensão dessa camada podem aumentar ou diminuir como por exemplo na osteomalácia, raquitismo, calo fracturário ou doença óssea de Paget²⁹.

Idealmente o tecido ósseo deve possuir a rigidez necessária para suportar a carga do organismo, a flexibilidade suficiente para absorver impactos sem fracturar e a leveza adequada para permitir movimentos rápidos. Em grande parte, estas características são moduladas pela quantidade de cristais de hidroxiapatite que são depositados na tripla hélice de colagénio tipo I. Se o osso sofre uma desmineralização, como nalgumas situações em que ocorre aumento da reabsorção óssea, torna-se demasiado flexível, flecte demasiado durante a carga e fractura; se fica excessivamente mineralizado flecte pouco durante a carga e fractura³⁰.

Os osteoblastos, células-chave da formação óssea, têm origem em células progenitoras mesenquimatosas do estroma da medula óssea, que também originam condroblastos, fibroblastos, adipócitos e miócitos³¹. Os precursores osteoblásticos mesenquimatosos diferenciam-se em células pré-osteoblásticas não funcionantes e posteriormente em osteoblastos maduros, capazes de formar osso³¹. A diferenciação acompanha-se da expres-

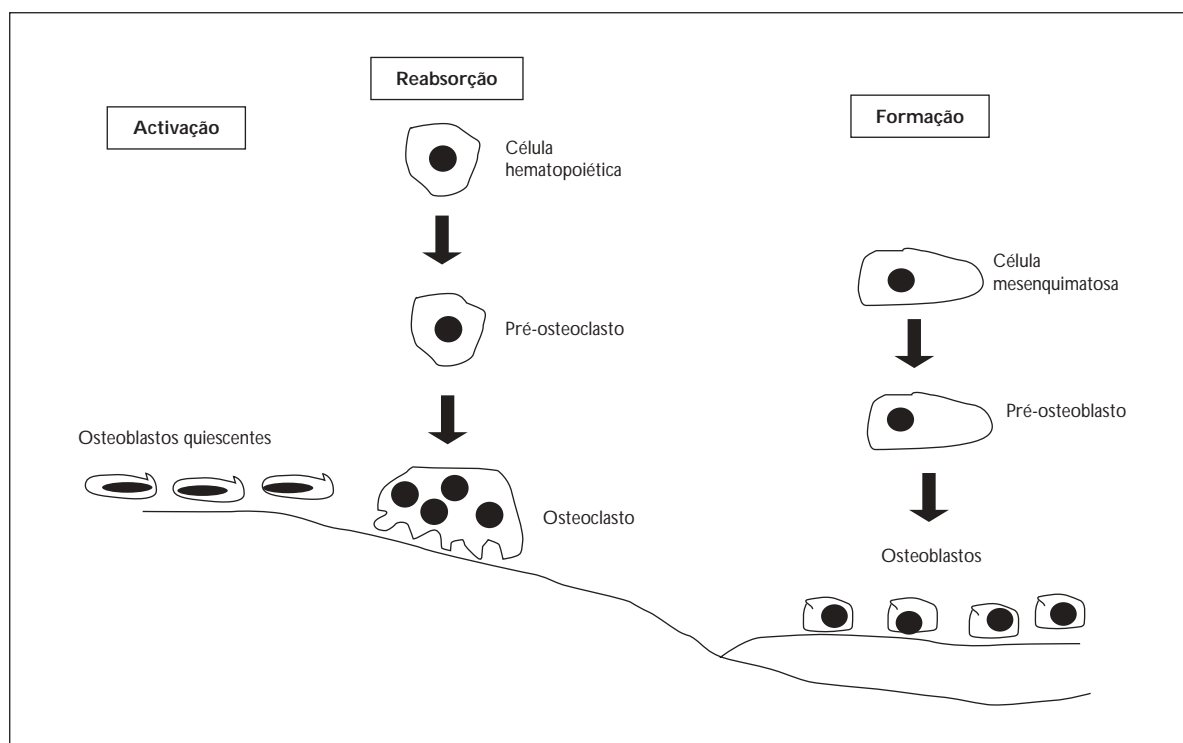


Figura 1. Remodelação óssea.

são de marcadores fenotípicos característicos do osteoblasto, como sejam a expressão do gene do colagénio tipo I, da fosfatase alcalina, da sialoproteína óssea e da osteocalcina³². Para que um precursor mesenquimatoso se diferencie na linhagem osteoblástica é necessária a presença de um factor de transcrição específico dos osteoblastos, o factor Cbfa1 (*core binding factor a1*)³³. Os osteoblastos codificam 2 genes específicos: o factor de transcrição Cbfa1 e a osteocalcina³⁴. O factor de transcrição Cbfa 1 é o mais precoce e específico marcador da osteogénese³³. 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 diferenciam³⁵. 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 *trans-*

forming growth factor β (TGF β) controla a diferenciação dos osteoblastos e modula a expressão do Cbfa 1 e que outros factores como o *fibroblast growth factor* (FGF) também são importantes na diferenciação dos osteoblastos³⁴. O gene da osteocalcina é expresso apenas nos osteoblastos diferenciados terminais³⁶.

Para além dos factores que interferem na diferenciação osteoblástica, têm sido estudados factores que podem potencialmente interferir com a sua função³⁷. 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 I, que constituem 90 a 95% da matriz orgânica do osso³⁸. Os osteoblastos também produzem osteocalcina, que é a proteína não colagénica mais abundante na matriz óssea, proteoglicanos e são ricos em fosfatase alcalina, uma enzima que cliva compostos fosfatos orgânicos^{38,39}. Outra característica importante dos osteoblastos é possuírem receptores para a PTH e provavelmente também para os estrogénios⁴⁰. Algumas substâncias como hormonas e factores de crescimento e

outros estímulos como a actividade física, exercem efeitos no osso, actuando através dos osteoblastos^{41,42}.

A formação óssea é regulada por factores hormonais sistémicos e por factores locais³¹. A PTH, que é uma hormona que exerce predominantemente efeitos reabsortivos, quando administrada por via sub-cutânea intermitente tem a capacidade de estimular a formação óssea⁴³. 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 matriciais⁴⁴. Os corticosteroides exercem efeitos variados e complexos na formação óssea. São bem conhecidos os efeitos deletérios no osso, da corticoterapia a longo prazo, provavelmente por exercerem uma inibição da proliferação e da diferenciação dos precursores osteoblásticos e por um efeito pro-apoptótico nos osteoblastos maduros⁴⁵. Mas *in vitro*, o tratamento de culturas celulares de osteoblastos com glicocorticoides, estimula a actividade osteoblástica, com aumento da síntese de colagéneo tipo I^{46,47}.

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 um receptor no hipotálamo^{48,49}. Vários trabalhos têm demonstrado que além de controlar a massa gorda, também regula a formação óssea, inibindo-a. Este efeito parece ser exercido de forma indirecta via receptores no hipotálamo e permite-lhe modular a função dos osteoblastos, não interferindo no número total ou na diferenciação destes, nem na função osteoclástica⁴⁹. Os modelos animais não produtores de leptina têm uma obesidade mórbida e apresentam uma massa óssea superior ao normal⁵⁰.

Os estrogéneos estimulam a formação óssea por um mecanismo indirecto através da produção osteoblástica de factores de crescimento como o TGF- β e o IGF-1⁵¹. A insulina e a hormona de crescimento, também através do IGF-1, exercem um efeito anabolisante ósseo⁵².

Para além destes factores sistémicos, a presença de factores de crescimento locais, produzidos pelos próprios osteoblastos, podem estimular a formação óssea. A família dos TGF- β é representada no tecido ósseo pelo TGF- β_1 , TGF- β_2 , TGF- β_3 ³¹. Estes são sintetizados pelo osteoblasto, sob a forma de precursores inactivos³¹. A concentração lo-

cal de TGF- β 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 inactiva⁵³. Os TGF- β estimulam a proliferação e a diferenciação dos precursores dos osteoblastos e estimulam a síntese de proteínas da matriz pelo osteoblasto maduro⁵³. Deste modo, os TGF- β estimulam a formação óssea e intervêm também no processo de interacção entre a formação e a reabsorção óssea. O TGF- β 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 formação⁵⁴. Outros membros da família do TGF- β , muito importantes como indutores da formação óssea, são as proteínas morfogénicas ósseas, sobretudo as BMP numeradas de 2 a 8, que estruturalmente são muito semelhantes aos TGF- β_1 e TGF- β_2 ⁵⁵. As BMP actuam em receptores diferentes mas com acções muito semelhantes ao TGF- β , sendo potentes indutores da diferenciação osteoblástica⁵⁶. Actuam aumentando a expressão do factor de transcrição Cbfa1 específico do osteoblasto, que, como vimos, controla a expressão de diversos genes que codificam as proteínas da matriz. Outros factores importantes na regulação óssea são o IGF-1 e IGF-2, o *platelet derived growth factor* (PDGF), o *fibroblast growth factor* (FGF)-1 e o FGF-2^{57,58,59}. 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.

Mas a remodelação óssea depende da acção integrada e acoplada dos osteoblastos que formam osso e dos osteoclastos que o reabsorvem⁶⁰. Os osteoblastos além de sintetizarem e efectuarem a deposição de proteínas da matriz extra-celular óssea, são responsáveis pela síntese e secreção de moléculas que iniciam e controlam a diferenciação dos osteoclastos⁶¹.

A remodelação óssea, que resulta do balanço entre a formação e a reabsorção ósseas, decorre 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.

Os osteoclastos, células fundamentais no processo de reabsorção óssea, são derivados de células hematopoiéticas da linhagem monócito-ma-

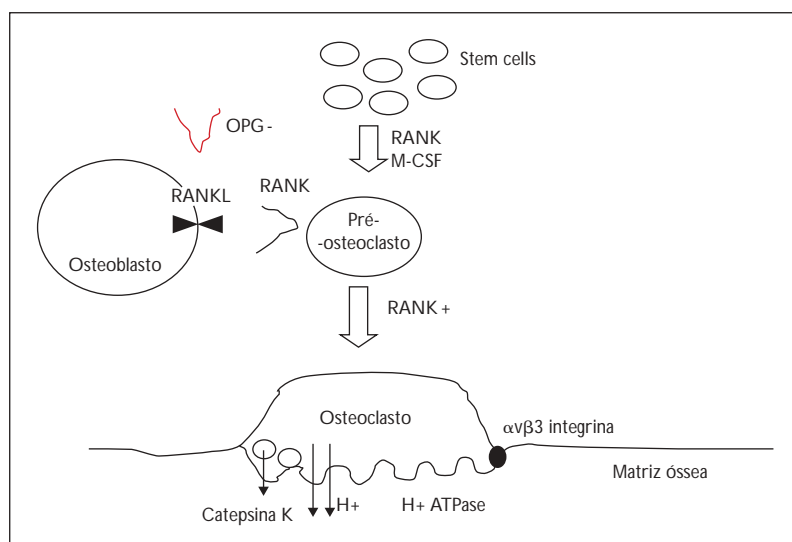


Figura 2. Mecanismos reguladores da diferenciação e actividade dos osteoclastos. OPG – osteoprotegerina; RANK – receptor de activação do factor nuclear kB; RANKL – RANK ligando; MCSF – *macrophage colony stimulating factor*.

crofágica⁶¹. A regulação da osteoclastogénese (diferenciação do macrófago em osteoclasto) depende da presença de osteoblastos⁶² 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), RANKL⁶³. Este liga-se ao receptor RANK da família do factor de necrose tumoral α (*tumour necrosis factor* – TNF), localizado na membrana do osteoclasto⁶¹. A osteoprotegerina (OPG) é uma proteína solúvel que impede a ligação do RANKL ao RANK, inibindo assim a osteoclastogénese^{64,65}. O RANKL é um factor diferenciador dos osteoclastos, secretado pelas células do estroma e pelos osteoblastos, com localização transmembranar⁶⁶. Também é expresso em abundância nos linfócitos T activados⁶⁷. Estes podem despoletar a osteoclastogénese e provavelmente assumem um papel importante na destruição articular da artrite reumatóide⁶⁸. 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 RANKL⁶⁴ (Fig. 2). 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 reabsorvido⁶¹. Pode-se induzir osteoclastogénese *in vitro* com macrófagos, M-CSF e RANKL⁶³. O número de os-

teoclastos 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 fenotipo osteoclástico. A diferenciação dos osteoclastos é principalmente regulada pelo M-CSF, RANKL e OPG. Alterações neste sistema podem conduzir a desequilíbrios na remodelação do osso⁶⁹.

As células do estroma e os osteoblastos são os alvos da maioria dos agentes osteoclastogénicos que exercem o seu efeito aumentando a expressão do RANKL⁷⁰. A PTH, por

exemplo, induz osteoclastogénese, sem que os osteoclastos possuam receptores de alta afinidade para esta hormona⁷¹. A PTH interage com receptores dos osteoblastos e de algumas células estromais que produzem RANKL⁷². A 1,25OH₂ vitamina D3 também induz a expressão do RANKL⁷³. Citocinas como as interleucinas (IL) -1, IL-6 e TNF α aumentam a reabsorção óssea, modulando-a em parte através do sistema RANK-RANKL^{74,75,76}. É ainda controverso se o TNF α na ausência de RANKL influencia directamente os macrófagos e induz a diferenciação para osteoclastos, mas provavelmente o TNF α 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 α , a administração sistémica de OPG bloqueia a osteoclastogénese⁷⁷. A IL-1, da mesma forma que o TNF α , estimula a expressão de M-CSF pelas células do estroma da medula e este efeito é inibido pelos estrogéneos⁷⁵. O aumento dos osteoclastos na OP pós-menopáusia reflecte pelo menos em parte a não inibição da IL-1 pelos estrogéneos, com consequente aumento do M-CSF⁷⁸ (Fig. 3).

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

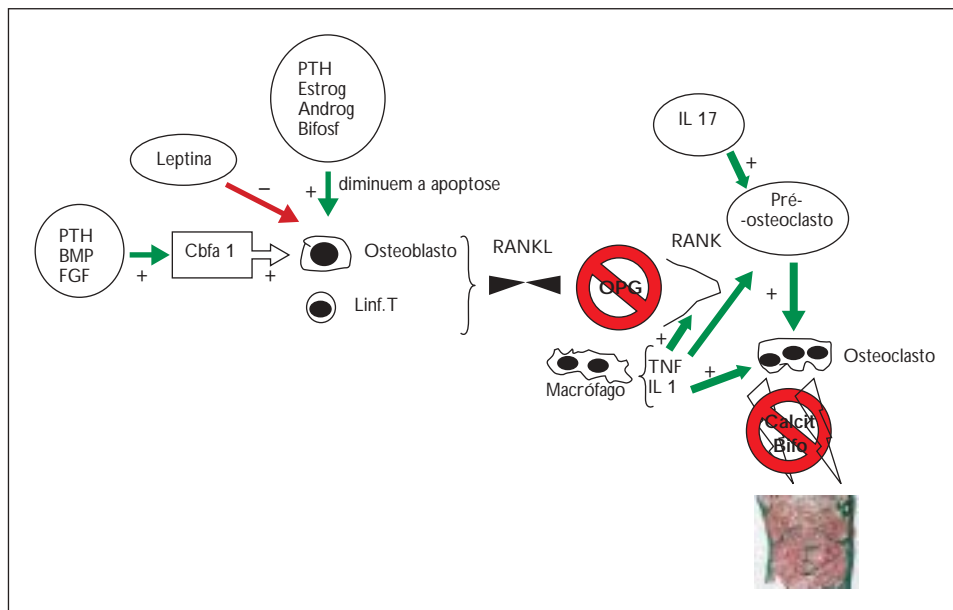


Figura 3. Regulação da remodelação óssea - células e mediadores moleculares.

PTH – hormona paratiroideia; Estrog – estrogéneos; Androg – androgéneos; Bifosf – bifosfonatos; BMP – proteínas morfogénicas do osso; FGF – fibroblast growth factor; Cbfa1 – core binding factor $\alpha 1$; Linf. T – linfócito T; OPG – osteoprotegerina; RANK – receptor de activação do factor nuclear κB ; RANKL – RANK ligando; TNF – factor de necrose tumoral; Calcit – calcitonina.

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 prótons⁷⁹. 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 reabsorptivo 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 preso no osso em degradação e desaparecem após descolamento e mobilização do osteoclasto. O osso, como vimos, é constituído por colagénio tipo I (>90%), proteínas não colagénicas e minerais³⁸. 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^+ -adenosina (H^+ -ATPase) vacuolar da membrana ondulada da célula⁷⁹. É provável que uma ou mais subunidades da H^+ -ATPase seja específica do osteoclasto⁸⁰. O

meio ácido mobiliza o mineral ósseo, subsequentemente o componente orgânico desmineralizado é degradado por uma protease lisosómica, a catepsina K⁸¹. Os produtos de degradação óssea são endocitados pelo osteoclasto, transportados e libertados na superfície antireabsorptiva celular⁸².

O ciclo funcional do osteoclasto consiste em episódios de aderência à matriz seguido de descolagem e movimento até novo local de degradação óssea⁸¹. Ainda são pouco conhecidos os sinais que suprimem a reabsorção óssea. O reconhecimento do osso pelos osteoclastos é controlado por integrinas⁸³. A molécula major da ligação é a $\alpha v \beta 3$ integrina que parece também desempenhar um papel na organização do citoesqueleto e na formação dos podossomas^{83,84}. No futuro, as integrinas podem ser um alvo atraente como terapêutica anti-OP⁸⁵.

Após a degradação do osso da qual resulta a formação de uma lacuna de reabsorção, os osteoclastos destacam-se e são substituídos por osteoblastos, que nos jovens restauram completamente o osso que foi previamente reabsorvido⁸⁶. Nos idosos a quantidade de osso depositada pelos osteoblastos nas lacunas de reabsorção é menor do que a removida pelos osteoclastos⁸⁶.

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 posterior⁸⁷. O pico de massa óssea é atingido entre os 20 e os 30 anos e é dependente em cerca de 70 a 80% de factores genéticos⁸⁸. A perda óssea ao longo da vida depende não só de factores genéticos mas também de factores hormonais e ambientais, como está bem demonstrado pela rápida perda de massa óssea, sobretudo ao nível do osso trabecular, que ocorre nos primeiros anos após a menopausa⁸⁹. A carência de estrogénios, é responsável pelo aumento da produção no microambiente ósseo de IL-6, o que activa a osteoclastogénese e, por uma activação de monócitos e macrófagos, que produzem outras citocinas como a IL-1 e o TNF α ⁹⁰. 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^{91,92}. Por outro lado, nos idosos, a diminuição da produção de factores de crescimento locais, como por exemplo o IGF-1 e o TGF β compromete a actividade osteoblástica, com diminuição da formação óssea, o que se reflecte em osteopénia a nível do osso cortical⁹³. As características do tecido ósseo e as suas propriedades mecânicas alteram-se com a idade porque os mecanismos de construção (síntese de matriz óssea e mineralização subsequente) e de remodelação (o balanço entre a reabsorção óssea e a formação óssea) sofrem uma progressiva degradação. A remodelação é uma função normal do osso e assegura o equilíbrio do metabolismo do cálcio e do fósforo e também a reparação de microdanos do osso. Durante o envelhecimento é depositado menos osso do que aquele que é removido por cada unidade de remodelação (ou unidade básica multicelular, formada pelos osteoclastos, osteoblastos e osteócitos), sofrendo este processo uma marcada aceleração após a menopausa, em que ainda mais osso é removido, a maior velocidade, de um tecido ósseo que já está a perder a sua arquitectura normal⁹⁴.

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 conectividade das trabéculas ósseas do osso esponjoso⁹⁵. Por outro lado, o osso mais antigo, mais distante das superfícies de remodelação e mais mineralizado, acumula progressivamente micro-

danos, que não são reparados, enquanto o osso mais superficial, é substituído por um osso jovem, pouco mineralizado⁹⁵. O resultado de todas estas alterações é a redução da rigidez⁹⁶. Este efeito é parcialmente compensado através da aposição de osso no periósteo, que é mais significativo no homem do que na mulher⁹⁷. Além disso, no homem, o facto do esqueleto ser globalmente maior, permite tolerar uma carga superior, adiando o risco fracturário⁹⁸.

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 testosterona⁹⁹. Embora, isoladamente, a testosterona tenha 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 delgadas⁹⁴. 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 remodelação⁹⁴.

Factores de Risco e Factores de Protecção do Osso

Nas mulheres está bem estabelecida a associação entre diversos factores de risco e a OP^{100,101,102,103}: idade avançada, fractura OP prévia, baixo índice de massa corporal (IMC), raça branca ou asiática, antecedentes familiares de fracturas OP, corticoterapia, dieta hiperproteica, ingestão excessiva de álcool e de cafeína, tabagismo, sedentarismo, menopausa precoce, doenças da tiróide, artropatias inflamatórias e terapêutica crónica com anti-convulsivantes e anticoagulantes. Estes factores são de tal forma importantes, que são pesquisados de forma sistemática através de questionários, nos estudos relacionados com OP^{104,105,106}.

Nos homens dispomos de menos dados sobre factores de risco^{107,108,109,110,111} ainda que, muitos, sejam comuns aos encontrados nas mulheres. Nas crianças^{112,113}, as causas secundárias são responsáveis pela maioria dos casos de OP.

A investigação relacionada com o osso tem sido direccionada sobretudo para a osteoporose, evidenciando factores de risco associados, esclare-

cendo a sua fisiopatologia e demonstrando a eficácia de novas terapêuticas. Por este motivo, quando falamos em «protecção óssea», há aspectos que são habitualmente destacados. Um deles baseia-se nos requisitos necessários para se obter um bom pico de massa óssea e esse objectivo passa por um aporte adequado de cálcio durante a infância e adolescência e pela manutenção de exercício físico regular¹¹⁴. Nos idosos, em que a massa óssea e a qualidade do osso estão diminuídas, a prevenção de quedas, torna-se um factor essencial de protecção óssea¹¹⁵. Da mesma forma, intervir nos factores de risco modificáveis¹¹⁶, tratar causas de osteoporose secundária e introduzir medidas farmacológicas adequadas são também medidas apontadas como fundamentais para melhorar a saúde do osso.

Mas as evidências sobre factores que se associam a «massa óssea normal ou elevada», funcionando como verdadeiros factores de protecção por oposição aos factores de risco, são mais escassas. Tem sido descrita uma associação entre obesidade e menor perda de massa óssea^{117,118}. Estes dados, ainda que não sejam verificados em todos os estudos, têm sido em parte justificados pela produção periférica de estrogéneos nos adipócitos¹¹⁹. Mais recentemente, a identificação de hormonas como a leptina⁴⁸ já referida e a amilina¹²⁰ estabeleceram ligações entre controlo da massa corporal e da massa óssea. A amilina, ao contrário da leptina, parece aumentar a massa óssea¹²¹ ao inibir a reabsorção óssea ao mesmo tempo que regula a absorção de hidratos de carbono, utilização da glicose e síntese lipídica¹²². Relativamente a outras hormonas como a adiponectina¹²³, que também tem sido implicada no controlo do peso corporal, não têm sido descritas associações com a regulação da massa óssea.

Outros dados, mais controversos, estabeleceram uma associação positiva entre osteoartrite e menor incidência de OP¹²⁴, ainda que para alguns autores¹²⁵, este facto se deva apenas a erros na leitura da densitometria óssea, sobretudo a nível da coluna lombar, em que a osteofitose exuberante pode ser erroneamente interpretada como aumento de massa óssea.

O excesso de cafeína e de etanol são factores de risco reconhecidos¹²⁶, mas alguns dados sugerem que o consumo regular de chá¹²⁷ e o consumo ligeiro de álcool¹²⁸, podem ser benéficos para o osso.

Como foi referido atrás, o património genético é determinante da massa óssea do indivíduo e, nos

últimos anos, tem-se registado um aumento na investigação dos aspectos genéticos não só da osteoporose, como da determinação de uma boa massa óssea. A OP parece ser uma doença poligénica, em que vários genes parecem estar envolvidos e cuja influência depende da interacção entre eles e factores ambientais, como por exemplo o cálcio da dieta e o *status* hormonal^{129,130,131}. Mas em 2002, foram publicados dados interessantes, a partir de estudos efectuados numa família com massa óssea elevada, que revelaram uma mutação numa região do cromossoma 11 q12-13¹³². Esta região foi mais tarde identificada, como gene da proteína 5 relacionada com o receptor da lipoproteína de baixa densidade (*low density lipoprotein* (LDL) *receptor related protein* 5 (LRP5))^{132,133}. Por oposição, estudos em indivíduos com o síndrome pseudoglioma e osteoporose mostraram também mutações nessa região do cromossoma 11^{134,135}. Ainda não está definido se nessa localização se encontram diversos genes com importância na determinação da massa óssea ou se são alelos diferentes do mesmo gene que apresentam expressões fenotípicas distintas.

Outro dos campos que tem sido alvo de investigação é a regulação genética dos osteoclastos. Estes estudos têm sido efectuados em ratos mutantes que sofrem de osteopetrose, que é um grupo de doenças caracterizado por aumento da massa óssea por disfunção osteoclástica, ao contrário da osteosclerose, que se caracteriza também por um aumento da massa óssea, mas neste caso, por aumento da actividade dos osteoblastos¹³⁶. Os genes mais importantes para a determinação, proliferação, sobrevivência e diferenciação dos osteoclastos são os genes PU.1, M-CSF, RANKL, c-fos e NFκB⁶¹. Após a diferenciação do osteoclasto e desempenhando um papel na capacidade deste se polarizar no osso, intervêm os genes da αvβ3 integrina, c-Src e dos factores associados do receptor TNF (TRAF6). Finalmente a capacidade de reabsorver osso é afectada pelos genes da catepsina K, anidrase carbónica II e H⁺-ATPase⁶¹. A ausência de qualquer um destes genes impede a proliferação, diferenciação ou função dos osteoclastos resultando em osteopetrose¹³⁷.

Relativamente à osteoporose, têm sido publicados estudos contraditórios sobre a importância de polimorfismos de alguns genes, como por exemplo do receptor da vitamina D, estrogéneos, receptor sensível ao cálcio (*calcium sensing receptor*), PTH, colagénio (COL) 1A1, IL-1 e IL-6^{138,139}.

Mais recentemente e reconhecendo a importância na fisiopatologia da osteoporose do sistema RANK-RANKL-OPG, tem aumentado o interesse no estudo dos polimorfismos do gene do $TNF\alpha$. A base para esta investigação tem sido reforçada pelo reconhecimento do papel central do $TNF\alpha$ 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 $TNF\alpha$ ¹⁴⁰. Na OP há um pequeno número de estudos publicados^{141,142,143,144,145} em que foram avaliadas relações com alguns polimorfismos do TNF , mas em nenhum foram avaliadas potenciais associações destes polimorfismos com massa óssea elevada.

Apesar de muitos aspectos se manterem obscuros, os novos conhecimentos nesta área têm permitido compreender melhor a biologia e função do osteoclasto e o papel dos osteoblastos na diferenciação dos osteoclastos. Actualmente ainda não é possível enumerar de forma simples uma lista de factores protectores do osso, à semelhança do que é efectuado para os factores de risco de osteoporose. Mas a investigação nesta área apresenta-se promissora e provavelmente será cada vez mais direccionada para o estudo da fisiologia do osteoblasto nomeadamente para o controlo do *Cbfa1*, dos factores que coordenam o aparecimento sequencial de osteoclastos e osteoblastos nos locais de reabsorção óssea como o $TGF\beta$, mediadores celulares no processo como citocinas (OPG) e factores de crescimento locais (BMP), hormonas (amilina, estrogénios e PTH) e maior conhecimento de aspectos genéticos, nomeadamente da região do cromossoma 11 q12-13 e do gene *LRP5*. Estes conhecimentos no futuro poderão ajudar-nos a obter e manter um osso de melhor qualidade, com uma massa óssea que permaneça acima do limiar fracturário e desenvolver terapêuticas capazes de restabelecer o equilíbrio da remodelação óssea.

Referências:

1. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. *JAMA* 2001; 285(6): 785-95
2. Consensus Development Conference. Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 1993; 94: 646-50
3. Branco JC. Dimensão e custos da Osteoporose: a realidade portuguesa e internacional. Lição de Agregação. FMUNL 2003
4. http://www.osteofound.org/press_centre
5. Araújo D, Pereira J, Barros H. Osteoporose em mulheres portuguesas. *Acta Reuma Port* 1997; 82: 7-13
6. Silva JAP, Carapito H, Reis P. Diagnóstico densitométrico de osteoporose: critérios de referência na população portuguesa. *Acta Reuma Port* 1999; 93: 9-18
7. Branco JC, Tavares V, Briosa A, Costa R, Feliciano R, Rola A. Prevalence of osteoporosis in Portugal. *Osteoporosis Int* 1998; 8 (suppl 3): 191
8. Aroso-Dias A. Epidemiologia da osteoporose. In Osteoporose. Ed Viana Queiroz M. Lidel Lda, Lisboa 1998: 25-39
9. Aroso-Dias A. Epidemiologia da Osteoporose em Portugal: análise comparativa com outros países. *Acta Reuma Port* 2000; 97: 21-31
10. Leitão R. Epidemiologia. In Guia prático sobre osteoporose vol 2. Ed Aventis. Pharmaceutical Communications Company. The Netherlands 2001: 3-28
11. Aroso-Dias A. Osteoporose – epidemiologia e factores de risco. In Reumatologia, vol 3. Ed Viana Queiroz M. Lidel Lda, Lisboa 2002: 115-25
12. Lunt M, Felsenberg D, Reeve J et al. 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(11): 1883-94
13. 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(5): 423-7
14. Matos ACA, Tavares V, Branco JC et al. Epidemiology of hip fractures in the Western region of Lisbon. In Osteoporosis Proceedings. Eds Christiansen C, Overgaard. Osteopress Aps, Copenhagen 1990: 168-70
15. 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
16. Rodrigues M, Branco JC, Menezes V et al. Hip fractures. Influence of calcium levels in drinkable water. In Osteoporosis Proceedings. Eds Christiansen C, Overgaard. Osteopress Aps, Copenhagen 1990: 175-6
17. Osteoporosis in the European Community: A call to action. An audit of policy developments since 1998. International Osteoporosis Foundation, Lyon, France, 2000: 28-29
18. 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
19. O'Neill TW, Felsenberg D, Varlow J et al. The prevalence of vertebral deformity in European men and women: The European vertebral osteoporosis study. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 1010-7
20. 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(1): 19-26
21. Falch JA, Ilebekk A, Slungaard U. Epidemiology of hip

- fractures in Norway. *Acta Orthop Scand* 1985; 56(1): 12-6
22. Elffors I, Allander E, Kanis JA et al. The variable incidence of hip fracture in southern Europe: the MEDOS Study. *Osteoporos Int* 1994; 4(5): 253-63
 23. Gullberg B, Johnell O, Kanis JA. World-wide projections for hip fracture. *Osteoporos Int* 1997; 7(5): 407-13
 24. Mellors RC. Bone. http://edcenter.med.cornell.edu/CUMC_PathNotes/Skeletal/Bone_01.html
 25. Parfitt AM. The contribution of bone histology to understanding the pathogenesis and improving the management of osteoporosis. *Clin Invest Med* 1982; 5(2-3): 163-7
 26. Kanis JA. Pathogenesis of osteoporosis and fracture. In *Osteoporosis*. Ed John A Kanis. Blackwell Science. Oxford 1994: 22-55
 27. Parfitt AM. Bone and plasma calcium homeostasis. *Bone* 1987; 8 Suppl 1: S1-8
 28. 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(2): 285-90
 29. 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
 30. Seeman E. Invited Review: Pathogenesis of osteoporosis. *J Appl Physiol* 2003; 95: 2142-51
 31. 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
 32. Ducy P, Desbois C, Boyce B et al. Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature* 1996; 382(6590): 448-52
 33. Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. *Osf2/Cbfa1*: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 1997; 89 (5): 747-54
 34. Ducy P, Schinke T, Karsenty. The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science* 2000; 289: 1501-4
 35. Thomas T, Lafage-Proust MH. Contribution of genetically modified mouse models to the elucidation of bone physiology. *Rev Rhum Engl Ed* 1999; 66(12): 728-35
 36. Goldberg D, Polly P, Eisman JA, Morrison NA. Identification of an osteocalcin gene promoter sequence that binds AP1. *J Cell Biochem* 1996; 60(4): 447-57
 37. 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 (12): 1916-22
 38. Herring GM. A comparison of bone matrix and tendon with particular reference to glycoprotein content. *Biochem J* 1976; 159(3): 749-55
 39. Farley JR, Baylink DJ. Skeletal alkaline phosphatase activity as a bone formation index in vitro. *Metabolism* 1986; 35(6): 563-71
 40. Tozum TE, 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(1): 60-70
 41. Neidlinger-Wilke C, Stalla I, Claes L et al. 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(12): 1411-8
 42. 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(10): 3726-32
 43. Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2001; 344(19): 1434-41
 44. 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(10): 4349-56
 45. Roux C, Orcel P. Steroid induced osteoporosis: prevention and treatment. *Rev Med Interne* 2003; 24(6): 384-8
 46. 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(2): 922-9
 47. van Beek JP, Guan H, Julian 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(11): 5614-21
 48. 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
 49. Ducy P, Amling M, Takeda S et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell* 2000; 100: 197-207
 50. Tritos N, Mantzoros CS. Leptin: its role in obesity and beyond. *Diabetologia* 1997; 40: 1371-9
 51. Marie P. Growth factors and bone formation in osteoporosis: roles for IGF-I and TGF-beta. *Rev Rhum Engl Ed* 1997; 64(1): 44-53
 52. Geusens PP, Boonen S. Osteoporosis and the growth hormone-insulin-like growth factor axis. *Horm Res* 2002; 58 Suppl 3: 49-55
 53. Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med* 1995; 332: 305-11
 54. 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
55. Cheng H, Jiang W, Phillips FM et al. Osteogenic activity of the fourteen types of human bone morphogenetic proteins (BMPs). *J Bone Joint Surg Am* 2003; 85-A(8): 1544-52
56. Wan M, Cao X. BMP signaling in skeletal development. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 328(3): 651-7
57. Vladimirov BS, Dimitrov SA. Growth factors - importance and possibilities for enhancement of the healing process in bone fractures. *Folia Med (Plovdiv)* 2004; 46(2): 11-7
58. Chaudhary LR, Hofmeister AM, Hruska KA. Differential growth factor control of bone formation through osteoprogenitor differentiation. *Bone* 2004; 34(3): 402-11
59. 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(2): 57-66
60. Canhão H. Osteoporose - fisiopatologia. In *Reumatologia*, vol 3. Ed Viana Queiroz M. Lidel Lda, Lisboa 2002: 126-9
61. Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 2000; 289: 1504-8
62. Udagawa N, Takahashi N, Akatsu T, et al. 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
63. 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(1): 99-106
64. Lacey DL, Timms E, Tan HL et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998; 93 (2): 165-76
65. Hofbauer LC, Gori F, Riggs BL et al. 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 (10): 4382-9
66. Udagawa N, Takahashi N, Jimi E et al. 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(5): 517-23
67. Vanderborght 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(8): 1483-90
68. Gravallese EM, Goldring SR. Cellular mechanisms and the role of cytokines in bone erosions in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43 (10): 2143-51
69. 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 (9): 4367-70
70. Hofbauer LC, Kuhne CA, Viereck V. The OPG/RANKL/RANK system in metabolic bone diseases. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2004; 4(3): 268-75
71. 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(6): 539-46
72. Lee SK, Lorenzo JA. Parathyroid hormone stimulates TRANCE and inhibits osteoprotegerin messenger ribonuclear acid expression in murine bone marrow cultures: correlation with osteoclast-like cell formation. *Endocrinology* 1999; 140 (8): 3552-61
73. Thomas GP, Baker SU, Eisman JA, Gardiner EM. Changing RANKL/OPG mRNA expression in differentiating murine primary osteoblasts. *J Endocrinol* 2001; 170(2): 451-60
74. Hofbauer LC, Lacey DL, Dunstan CR et al. Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells. *Bone* 1999; 25 (3): 255-9
75. 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 (46): 28890-7
76. Scheidt-Nave C, Bismar H, Leidig-Bruckner G et al. 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(5): 2032-42
77. Saidenberg-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(5): 1200-7
78. 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(4): 260-5
79. Smith AN, Jouret F, Bord S et al. Vacuolar H+-ATPase d2 subunit: molecular characterization, developmental regulation, and localization to specialized proton pumps in kidney and bone. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16(5): 1245-56
80. 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(4): 447-51
81. Gowen M. Inhibition of cathepsin K: a novel approach to antiresorptive therapy. *Expert Opin Investig Drugs* 1997; 6(9): 1199-202
82. Stenbeck G, Horton MA. Endocytic trafficking in

- actively resorbing osteoclasts. *J Cell Sci* 2004; 117 (Pt 6): 827-36
83. Faccio R, Grano M, Colucci S, Zallone AZ, Quaranta V, Pelletier AJ. Activation of alpha_vbeta₃ integrin on human osteoclast-like cells stimulates adhesion and migration in response to osteopontin. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 249(2): 522-5
 84. McHugh KP, Hodivala-Dilke K, Zheng MH et al. Mice lacking beta₃integrins are osteosclerotic because of dysfunctional osteoclasts. *J Clin Invest* 2000; 105 (4):433-40
 85. Yamamoto M, Fisher JE, Gentile M et al. The integrin ligand echistatin prevents bone loss in ovariectomized mice and rats. *Endocrinology* 1998; 139(3): 1411-9
 86. Compston JE, Rosen CJ. Introduction. In *Osteoporosis*. 2nd Ed. Edited by Compston JE, Rosen CJ. Oxford. Health Press. 1999: 5-9
 87. 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: 15-25
 88. Mora S, Gilsanz V. Establishment of peak bone mass. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003; 32(1): 39-63
 89. Delmas PD. Treatment of postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 2002; 359(9322): 2018-26
 90. Pacifici R. Estrogen, cytokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1996; 11(8): 1043-51
 91. Kenny AM, Prestwood KM. Osteoporosis. Pathogenesis, diagnosis, and treatment in older adults. *Rheum Dis Clin North Am* 2000; 26(3): 569-91
 92. Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev* 2001; 22(4): 477-501
 93. Riggs BL. Endocrine causes of age-related bone loss and osteoporosis. *Novartis Found Symp.* 2002; 242: 247-59; discussion 260-4
 94. Seeman E. Pathogenesis of bone fragility in women and men. *Lancet* 2002; 359: 1841-50.
 95. Seeman E. Invited Review: Pathogenesis of osteoporosis. *J Appl Physiol* 2003; 95(5): 2142-51
 96. 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(1): 25-38
 97. 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(4): 205-8
 98. 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
 99. 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
 100. Seeman E, Hopper JL, Bach LA et al. Reduced bone mass in daughters of women with osteoporosis. *N Engl J Med* 1989; 320: 554-8
 101. 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
 102. Sambrook PN, Dequeker J, Rasp HH. Osteoporosis. In *Rheumatology*. Edited by Klippel JH and Dieppe PA. London. 2nd ed. 1998: 36.1-36.10
 103. Compston JE, Rosen CJ. Pathophysiology. In *Osteoporosis*. 2nd Ed. Edited by Compston JE, Rosen CJ. Oxford. Health Press. 1999: 10-8
 104. Canhão H, Fonseca JE, Queiroz MV. Questionário para identificação de factores de risco de osteoporose. *Acta Reuma Port* 2004; 29: 63-9
 105. Gouveia A, Corte-Real S, Jorge S, Gaspar T, Canhão H, Queiroz MV. Avaliação dos factores de risco de osteoporose em jovens e em indivíduos com idade igual ou superior a 50 anos. *Rev FML* 2004; 9(3): 169-73
 106. Canhão H, Fonseca JE, Resende C et al. Osteoporosis awareness among both gender Portuguese young adults and adults over 50 years. *Osteopor Int* 2002; 13 (suppl 1): S90
 107. 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
 108. 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(6): 452-7
 109. Ross RW, Small EJ. Osteoporosis in men treated with androgen deprivation therapy for prostate cancer. *J Urol* 2002; 167(5): 1952-6
 110. 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
 111. Pereira Silva JA, Costa Dias F, Fonseca JE, Canhão H, Resende C, Viana Queiroz M. Low bone mineral density in professional scuba divers. *Clin Rheumatol* 2004; 23(1): 19-20
 112. Canhão H, Fonseca JE, Queiroz MV. Diagnóstico e terapêutica da osteoporose na idade pediátrica. *Acta Med Port* 2004; 17: 385-90
 113. Castelão W, Canhão H, Resende C et al. Corticotherapy and bone mineral density in Portuguese children with juvenile systemic lupus erythematosus. *Osteopor Int* 2002; 13 (suppl 1): S140
 114. Zhu K, Du X, Greenfield H et al. Bone mass in Chinese premenarcheal girls: the roles of body composition, calcium intake and physical activity. *Br J Nutr* 2004; 92(6): 985-93
 115. McClung BL. Using osteoporosis management to reduce fractures in elderly women. *Nurse Pract* 1999; 24(3): 26-7
 116. Canhão H, Viana Queiroz M. Evaluation of modifiable osteoporosis risk factors in Portuguese healthy individuals. *Ann Rheum Dis* 2003; 63 (suppl 1):

- SP135
117. 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
 118. 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
 119. 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(11): 1027-32
 120. Pittner RA, Albrandt K, Beaumont K et al. Molecular physiology of amylin. *J Cell Biochem* 1994; 55 Suppl: 19-28
 121. Dacquin R, Davey RA, Laplace C et al. Amylin inhibits bone resorption while the calcitonin receptor controls bone formation in vivo. *J Cell Biol* 2004; 164(4): 509-14
 122. 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
 123. Staiger H, Haring HU. Adipocytokines: fat-derived humoral mediators of metabolic homeostasis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2005; 113(2): 67-79
 124. Stewart A, Black AJ. Bone mineral density in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12 (5):464-7
 125. Sambrook P, Naganathan V. What is the relationship between osteoarthritis and osteoporosis? *Baillieres Clin Rheumatol* 1997; 11(4): 695-710
 126. Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS et al. Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med* 1995; 332(12): 767-73
 127. Hegarty VM, May HM, Khaw KT. Tea drinking and bone mineral density in older women. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (4): 1003-7
 128. Goldberg DM, Soleas GJ, Levesque M. Moderate alcohol consumption: the gentle face of Janus. *Clin Biochem* 1999; 32 (7): 505-18
 129. Peacock M, Turner CH, Econs MJ, Foroud T. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev* 2002; 23(3): 303-26
 130. Recker RR, Deng HW. Role of genetics in osteoporosis. *Endocrine* 2002; 17(1): 55-66
 131. Brown MA, Houghton 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(4): 758-64
 132. Boyden LM, Mao J, Belsky J et al. High bone density due to a mutation in LDL-receptor-related protein 5. *N Engl J Med* 2002; 346(20): 1513-21
 133. Little RD, Carulli JP, Del Mastro RG 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(1): 11-9
 134. Gong Y, Slee RB, Fukai N, Rawadi G et al. The Osteoporosis-Pseudoglioma Syndrome Collaborative Group. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell* 2001; 107(4): 513-23
 135. Gong Y, Vikkula M, Boon L 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(1): 146-51
 136. Helfrich MH. Osteoclast diseases. *Microsc Res Tech* 2003; 61(6): 514-32
 137. Felix R, Hofstetter W, Cecchini MG. Recent developments in the understanding of the pathophysiology of osteopetrosis. *Eur J Endocrinol* 1996; 134(2): 143-56
 138. Zajickova K, Zofkova I. Osteoporosis: genetic analysis of multifactorial disease. *Endocr Regul* 2003; 37(1): 31-44
 139. Recker RR. Genetic research in osteoporosis: Where are we? Where should we go next? *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2004; 4(1): 86-90
 140. 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(4): 473-6
 141. Ota N, Nakajima T, Ezura Y et al. 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(5): 550-8
 142. Fontova R, Gutierrez C, Vendrell J et al. Bone mineral mass is associated with interleukin 1 receptor autoantigen and TNF-alpha gene polymorphisms in post-menopausal Mediterranean women. *J Endocrinol Invest* 2002; 25(8): 684-90
 143. Ota N, Hunt SC, Nakajima T et al. Linkage of human tumor necrosis factor-alpha to human osteoporosis by sib pair analysis. *Genes Immun* 2000; 1(4): 260-4
 144. 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 May 28; [Epub ahead of print]
 145. Furuta I, Kobayashi N, Fujino T et al. Bone mineral density of the lumbar spine is associated with TNF gene polymorphisms in early postmenopausal Japanese women. *Calcif Tissue Int* 2004; 74(6): 509-15
- Endereço para correspondência:
 Dra. Helena Canhão
 Serviço de Reumatologia, P7
 Hospital de Santa Maria
 Av Egas Moniz
 1600 Lisboa
 E-mail: helenacanhao@netcabo.pt