

RESUMO

A diminuição da densidade mineral óssea (DMO) com a idade é um fenômeno universal, atingindo todas as raças e culturas, não patológico em si, mas que se constitui um substrato para o desenvolvimento da osteoporose (OP). Em 1941, Albright descreveu pela primeira vez a OP, e chamou atenção para deficiência de estrógeno (E2) como causa principal desta patologia. Isso foi confirmado em trabalhos posteriores, onde a reposição hormonal preveniu a perda óssea. Posteriormente, Riggs e Melton classificaram a OP involutiva em tipo I e tipo II. A OP tipo I, ou pós-menopáusicas, ocorre nos 10 anos que se seguem à menopausa, sendo uma consequência da deficiência de E2. Porém, o mecanismo de ação do E2 no osso ainda é desconhecido. Vários trabalhos não evidenciaram receptores de E2 em osteoclastos, sugerindo que o efeito do E2 se faz de forma indireta via osteoblastos ou pelas células do estroma da medula óssea, através da liberação de mediadores. Dados recentes são controversos sobre o papel da interleucina 6 como mediadora do efeito estrogênico. A OP tipo II, ou senil, ocorreria após 65 anos. À partir dessa idade, outros fatores também seriam determinantes da OP, dentre eles o hiperparatireoidismo secundário. Recentemente, Riggs e Melton retornaram a teoria unitária do modelo de OP involutiva, colocando o E2 como fator etiológico central para ambas as fases de perda óssea. As discussões sobre as classificações da OP têm objetivos didáticos, mas demonstram também o caráter heterogêneo e multifatorial da doença. (*Arq Bras Endocrinol Metab* 1999; 43/6: 409-414)

Unitermos: Osteoporose; Estrogênio; Citoquinas; Fisiopatologia

ABSTRACT

The decrease in bone mineral density (BMD) with age is a universal phenomenon that affects all races and cultures; non-pathological by itself but it is the background to development of osteoporosis (OP). In 1941, Albright described the postmenopausal OP, and discussed the special role of the estrogen (E2) lack. Others that prevented the OP with hormonal therapy confirmed this hypothesis. Later, Riggs and Melton proposed a classification of involutinal OP on type I and type II. The type I OP appears in the first 10 years after menopause and is secondary to the deficit of E2. However, it is not clear the mechanisms of action of E2 on bone tissue: which are the mediators and also the target cells. There is no E2 receptors identified on osteoclast. Probably, the E2 effects are indirectly through osteoblast or by bone marrow stromal cells. The cytokines, specially the interleucine 6 are candidate to be the mediators of E2 actions, but the data are still controversy in the literature. Type II or senile OP is defined to occur after 65 years old. In this age, others factors further than E2 deficiency determine the OP, and the secondary hyperparathyroidism play a special role. Recently, Riggs and Melton proposed a return to Albright's idea suggesting a unitary model of the involutinal OP and placing the E2 as the central ethiological factor of bone loss. This distinction in OP type I or type II is theoretical, but shows the heterogeneous and multifactorial aspects of this disease. (*Arq Bras Endocrinol Metab* 1999; 43/6: 409-414)

Keywords: Osteoporosis; Estrogen; Cytokine; Physiopathology

*Ana Claudia Ramalho
Marise Lazaretti-Castro*

*Disciplina de Endocrinologia da
UNIFESP/EPM, SP*

O ENVELHECIMENTO DO TECIDO ÓSSEO leva a uma perda óssea considerável de matriz extracelular e admite-se que entre 20 e 80 anos uma mulher perde de 30 a 50% de sua massa óssea. Nós falaremos aqui sobre os diferentes fatores endócrinos, parácrinos e autócrinos responsáveis pela perda óssea do envelhecimento que agem nas diferentes fases após a menopausa.

OSTEOPENIA FISIOLÓGICA

A diminuição da densidade mineral óssea (DMO) com a idade é um fenômeno fisiológico universal, atingindo todas as raças e culturas, não patológico na maioria dos indivíduos, mas que se constitui no substrato para o desenvolvimento da osteoporose (OP) e, como consequência, um maior risco de fraturas. De fato, a redução da DMO deve ser considerada como um fator independente para o risco de fraturas, além de idade, sexo, raça, entre outros.

O término da aquisição do capital ósseo ocorre por volta da 3ª década (1) e é denominado pico de massa óssea. Sofre grande influência da carga genética, que explica 60-80% do pico de massa óssea obtida por um indivíduo. Isto foi observado em estudos de gêmeos mono e dizigóticos (1,2). A interferência genética também pode ser observada em estudos de predominância de determinados genótipos na população com reduzida massa óssea, como foi evidenciado em diversos estudos controversos que avaliaram o polimorfismo do receptor de vitamina D e sua correlação com DMO (3).

Obviamente, aqueles que não atingem um adequado pico de massa óssea apresentarão, ao longo da vida, um risco mais elevado de desenvolver OP.

A partir da 4ª década inicia-se lentamente uma perda óssea, com um predomínio da reabsorção óssea sobre a formação (4). A perda óssea com a idade é diferente para o osso trabecular ou cortical, podendo também variar entre um osso de apoio como fêmur ou não, como o rádio. Outros fatores como sexo e pico de massa óssea também determinam a perda óssea (5).

Nos 10 anos que se seguem à menopausa, a perda óssea é, em média, de 0,3-2% ao ano, o que resulta em uma redução de 20-30% do osso trabecular e 5-10% do osso cortical (5). A partir dos 60 anos há uma desaceleração da perda trabecular e observa-se uma velocidade de perda semelhante de osso trabecular e cortical (4). A perda do osso trabecular em uma mulher dos 30 aos 90 anos é de aproximadamente 45%. No fêmur, a DMO diminui de forma linear e representa na mulher de 80 anos 55% do valor inicial.

No homem, a perda óssea ligada a idade é linear e atinge 15-20% do capital ósseo inicial (5).

O metabolismo ósseo ou remodelagem é caracterizado no adulto por atividade de reabsorção e formação óssea estritamente acoplados no tempo e espaço e caracterizam histologicamente uma unidade de remodelação óssea. Esta atividade é determinada por uma fase de reabsorção da antiga matriz óssea pelos osteoclastos, seguido de uma fase de formação da matriz orgânica pelos osteoblastos. Com a idade, ocorre um desacoplamento destes processos, e a reabsorção passa a superar a formação óssea. Isso pode estar ligado a uma deficiente formação ou a uma atividade aumentada dos osteoclastos. Os mecanismos implicados são diferentes em função do sexo, idade e estado hormonal (6).

Menieur e col. (7) demonstraram que a quantidade de osso formada pelos osteoblastos diminui progressivamente com o avançar da idade. Relataram ainda que a profundidade das lacunas de reabsorção também diminui com a idade, porém menos que a formação, resultando num balanço final negativo (7). O adelgaçamento das trabéculas, que evoluem para perfuração e perda de conectividade seriam produtos finais deste desbalanço, com aumento da fragilidade óssea e do risco de fraturas (8).

CLASSIFICAÇÃO DA OSTEOPOROSE

Em 1941, Albright chamou atenção para deficiência de estrógeno (E2) como causa da OP pós-menopausa (9). Esta hipótese foi reforçada pela observação de que a reposição hormonal com E2 prevenia a perda óssea em mulheres ooforectomizadas na perimenopausa (10).

Posteriormente, outros fatores etiológicos foram adicionados às causas da OP involutiva tais como a deficiência de vitamina D, o hiperparatireoidismo secundário e a redução da função osteoblástica.

Em 1983, Riggs e Melton propuseram um refinamento deste conceito, sugerindo a classificação de OP involucional em pós-menopáusicas ou tipo I e senil ou tipo II (11).

A OP tipo I ocorre nos primeiros 10 anos após a menopausa e é consequente à deficiência de E2. A perda óssea é mais acelerada e predomina sobre o osso trabecular. As fraturas mais comuns nesta fase são de rádio distal (Cooles) e vertebrais, sendo que estas últimas ocorrem em 5-10% em mulheres na pós-menopausa (4).

A OP tipo II ocorre após 65 anos de idade, afetando a população idosa de homens e mulheres na proporção de 1:3, e se traduz por uma perda mais lenta de

osso trabecular e cortical e por fraturas de fêmur proximal, úmero e vértebras (4). As fraturas de fêmur proximal são as que trazem maior morbidade e mortalidade, e em 95% dos casos sofrem correções cirúrgicas. Em um trabalho realizado por nós, observamos que praticamente metade destas fraturas acometem indivíduos com 80 anos ou mais (Figura 1), na proporção de 3,3 mulheres para 1 homem. Em 89% dos indivíduos estudados, as fraturas foram decorrentes de queda, que ocorreu, em sua grande maioria, no próprio domicílio (12).

OSTEOPOROSE PÓS-MENOPAUSA (TIPO I)

Na mulher, 50% da perda óssea relacionada à idade ocorre nos 8-10 anos seguintes à instalação da menopausa (4). Esta perda está ligada à carência de E2, mas ainda não está definido porque apenas uma parcela das mulheres na pós-menopausa desenvolve osteoporose. Algumas mulheres perdem massa óssea a uma velocidade maior e por tempo mais prolongado em comparação com outras da mesma idade. Fatores genéticos, raciais, nutricionais e pico de massa óssea são importantes na determinação da variabilidade da perda óssea neste período (4).

Embora seja bem conhecida a ação anti-reabsortiva do E2, seu mecanismo de ação ainda não foi esclarecido. Vários trabalhos não evidenciam a presença de receptores de E2 nos osteoclastos (13), mas sim nos osteoblastos (14) e em células do estroma da medula óssea (15). Assim, o aumento da reabsorção óssea conseqüente à carência estrogênica pode ser secundário a um aumento da secreção pelos osteoblastos ou pelas células do estroma da medula óssea de fatores capazes de estimular osteoclastos e/ou seus precursores, resultando em aumento da reabsorção óssea. Duas questões permanecem sem resposta: Quais seriam os mediadores do

efeito anti-reabsortivo ósseo do E2? E quais seriam as células-alvo deste esteróide? As diversas tentativas para responder a estas questões nos coloca frente a trabalhos com resultados controversos na literatura.

Tem sido atribuído a diferentes citocinas, como a interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral (TNF), o papel de mediadores do efeito do E2 no osso (Figura 2). O efeito do E2 sobre os osteoclastos e/ou seus precursores, mediado por IL-6, tem sido objeto de estudo de vários grupos de pesquisadores. Jilka e col. (16) observaram que a ooforectomia em camundongos normais aumenta o recrutamento de osteoclastos e esse efeito é reversível após a ação do E2 via IL-6. Concordante com estes resultados, Girassole e col. (17) encontraram uma diminuição na produção de IL-6 nas células do estroma de medula óssea em camundongos após o tratamento dessas culturas com E2. Corroborando esses resultados, Poli e col. (18) observaram que a inativação do gene de IL-6 em ratos transgênicos impede a redução do volume ósseo, observada após ooforectomia desses ratos.

Contraopondo-se a esses resultados, Riggs e col. (19) demonstraram que E2 não altera produção de IL-6 basal ou após estimulação com IL-1 ou TNF em células *osteoblasto-like*. Lorenzo e col. (20) não observaram alteração da expressão de IL-6 em calvária, tibia e medula óssea de camundongos após ooforectomia e posterior tratamento com E2 *in vitro* e *in vivo*. Riggs e col. (21) não encontraram diferença nos níveis de

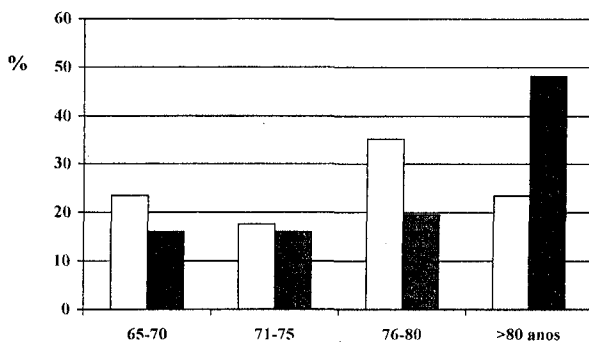


Figura 1. Distribuição percentual das fraturas de fêmur proximal por faixa etária em homens (coluna aberta) e mulheres (coluna hachuriada), na cidade de São Paulo (12).

Deficiência de E2 (pós-menopausa)

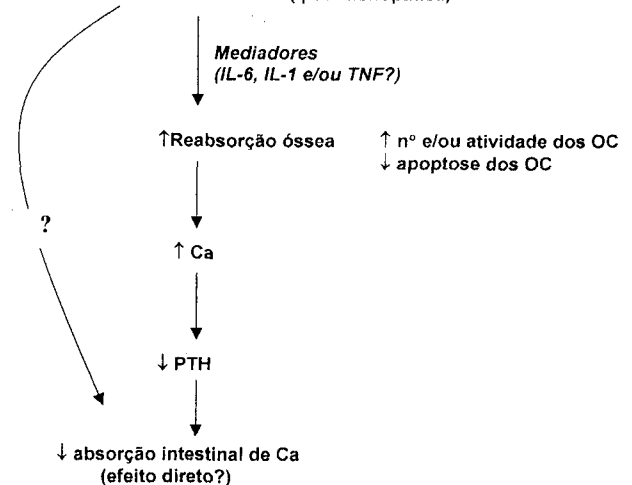


Figura 2. Esquema ilustrativo dos prováveis mecanismos de ação do estrógeno: na pós-menopausa, a deficiência de E2 se associa a um aumento na reabsorção óssea, secundário a um aumento no nº e/ou atividade dos osteoclastos, com discreto aumento na calcemia, supressão do PTH e redução da absorção intestinal de cálcio. E2 = estrógeno, Ca = cálcio, PTH = paratormônio.

diversas citoquinas em células de medula óssea de mulheres tratadas ou não com E2. Cohen-Solal e col. (22) não encontraram diferenças no perfil de citoquinas em sangue periférico em mulheres tratadas ou não com E2. Portanto, embora alguns resultados o tenham sugerido fortemente, ainda não se pode afirmar que as citoquinas sejam os mediadores dos efeitos estrogênicos sobre o tecido ósseo.

A maioria dos trabalhos da literatura não tem evidenciado presença de receptores de estrógeno em osteoclastos (13). Por outro lado, como já citado, sua presença tem sido evidenciada em osteoblastos (14) e em células do estroma da medula óssea humana (15). As células do estroma de medula óssea humana são células pluripotentes e podem dar origem a diversas linhagens de células: fibroblasto, adipócito, condrócito ou osteoblasto. Vários grupos vêm estudando o provável efeito dessas células como mediadoras do efeito do estrógeno na formação e/ou atividade osteoclástica e, portanto, na reabsorção óssea. Assim, o estrogênio agiria através de seus receptores, diretamente sobre as células do estroma de medula óssea e/ou osteoblasto liberando fatores que agiriam controlando formação e/ou atividade osteoclástica e/ou de diferenciação de seus precursores.

Ainda para explicar o efeito anti-reabsortivo ósseo do E2 e seu mecanismo de ação, alguns estudos têm sugerido a apoptose dos osteoclastos e/ou precursores. Hughes e col. (23) encontraram um aumento da apoptose em três vezes em osteoclastos de camundongos *in vitro* e *in vivo*, após tratamento com 17- β -estradiol, e este efeito parece ser mediado por TGF- β .

OSTEOPOROSE SENIL (TIPO II)

Os níveis plasmáticos de paratormônio (PTH) aumentam mais de 50% entre os 20 e os 80 anos de idade (4). Esse hiperparatireoidismo secundário está associado ao aumento da reabsorção óssea que ocorre neste período da vida (4). Acredita-se que este aumento do PTH seria uma resposta a uma reduzida disponibilidade de cálcio, seja por uma ingestão deficiente, comum em idosos com intolerância à lactose, seja por uma reduzida absorção intestinal de cálcio. A absorção ativa de cálcio pela mucosa intestinal está diretamente relacionada à presença da 1,25-dihidroxivitamina D₃. Em indivíduos idosos, essa carência é observada com frequência. Uma produção diminuída de calcitriol na pele a partir de seus precursores na presença de raios ultravioleta ocorreria, especialmente, por uma baixa exposição solar. Além disto, uma diminuição na atividade 1 α hidroxilase renal também pode ser observada nos indivíduos idosos (4,5) (Figura 3).

Observou-se uma correlação negativa entre a DMO em colo do fêmur ou em coluna e os níveis circulantes de PTH (24). A suplementação de cálcio leva a uma redução nos níveis de PTH, que se acompanha de uma estabilização da DMO (25). Quando existe carência de vitamina D associada, a dupla correção de cálcio e vitamina D normalizou os níveis de PTH, e reduziu tanto a perda óssea quanto a ocorrência de fraturas (26).

O papel deletério do PTH sobre o tecido ósseo parece contraditório com os estudos experimentais em ratos, que mostram que este hormônio em pequenas doses e administrado de forma intermitente permite estimular a síntese de colágeno *in vitro* (27) e de prevenir a perda óssea *in vivo* (28). Estudos clínicos em humanos também têm mostrado que o PTH administrado de forma intermitente pode levar a um ganho ósseo substancial (29). Ao que parece, o aumento crônico de PTH de forma contínua não permite a manifestação do seu efeito anabolizante.

Na OP tipo II, o tecido ósseo apresenta uma diminuição da função osteoblástica, e a cavidade criada pela reabsorção osteoclástica não é preenchida. O diâmetro periosteal aumenta gradualmente, resultando

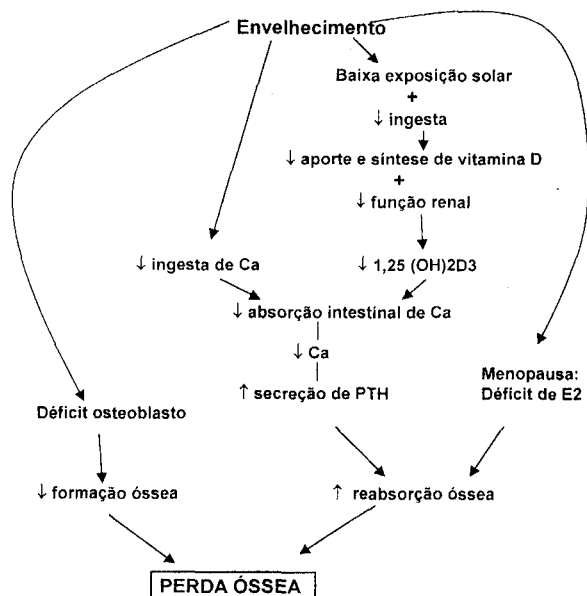


Figura 3. Modificações hormonais e perda óssea ligadas a idade: com o envelhecimento, ocorre uma redução nos níveis de vitamina D secundária à baixa exposição solar e a uma redução da função renal. Como consequência, observa-se uma redução da calcemia e com um hiperparatireoidismo secundário. A essas alterações adicionam-se ainda os efeitos do hipoestrogenismo e uma diminuição da função osteoblástica.

em uma trabecularização e afinamento da cortical, atribuído a uma diminuição do recrutamento osteoblástico (7). Há um aumento no número de unidades de remodelação que acabam sendo abortadas na fase de reversão sem serem preenchidas completamente. Trabalhos recentes mostram uma diminuição de IGF-I e TGF- β na matriz óssea em idosos, que poderia justificar a redução do número e/ou da atividade dos osteoblastos (30). Outros trabalhos mostram que os osteoblastos de idosos respondem menos eficientemente a diferentes fatores de crescimento em comparação aos osteoblastos de indivíduos jovens (31).

Por outro lado, dados recentes têm mostrado um papel persistente da deficiência de E2 na gênese da OP, mesmo em idades mais avançadas: Riggs e col. evidenciaram que o tratamento com E2 em mulheres com mais de 65 anos pode frear a perda óssea (32); Prestwood e col. (33) demonstraram que o tratamento com estrogênios a curto prazo em mulheres com 80 anos diminuem marcadores de reabsorção óssea; Khosla e col. (34) encontraram PTH aumentado em mulheres não tratadas com E2, não sendo observado este aumento nas tratadas. Em trabalho recente, Cummings e col. (35) observaram em mulheres com idade >65 anos não submetidas a terapia de reposição, uma correlação positiva entre níveis circulantes de E2 e o risco relativo de fratura de fêmur proximal e de vértebras.

Baseados nos estudos recentes, Riggs e Melton retomaram a idéia inicial de Albright e propuseram um modelo unitário, no qual a deficiência estrogênica seria o fator fundamental para desenvolvimento da OP involutiva (11). Portanto, a distinção entre OP pós-menopáusicas e senil torna-se essencialmente didática, mas ela sublinha o caráter heterogêneo e multifatorial desta doença. Diante deste modelo unitário, persistem algumas questões:

1. O que determina a perda óssea acelerada nos primeiros 10 anos da pós-menopausa e uma desaceleração nos anos posteriores?

2. Se nas duas fases o E2 é o fator etiológico central, como explicar uma supressão do PTH após a menopausa e um hiperparatireoidismo secundário posteriormente? Os autores acreditam que, na pós-menopausa, predominariam os efeitos esqueléticos do E2 e que, posteriormente, prevaleceriam os efeitos extra-esqueléticos diretos do E2 sobre a reabsorção tubular renal e a absorção intestinal de cálcio, já foram evidenciados por outros autores (36).

Mesmo considerando-se a teoria unitária, é importante não esquecer que fatores independentes do E2 são importantes na patogênese da OP, e que nas idades avançadas, a diminuição da vitamina D, alteração da função renal e da absorção intestinal de cálcio já estão bem

demonstrados. O desenvolvimento de OP vai além dos fatores exclusivamente relacionados à deficiência de E2.

CONCLUSÃO

Várias incertezas persistem sobre a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos da OP nas diferentes fases da vida. O mecanismo de ação do estrogênio no osso continua a ser um campo amplo para estudo em busca de responder a questões básicas, mas seu comprovado efeito como anti-reabsortivo ósseo nos permite utilizar desta terapêutica com resultados positivos. O melhor entendimento do seu mecanismo de ação ampliará as possibilidades de tratamento da osteoporose, pois possibilitará a criação de outras drogas com efeito anti-reabsortivo ósseo e sem os efeitos indesejáveis do estrogênio no tratamento a longo prazo para algumas mulheres. A dificuldade do entendimento desses mecanismos fisiopatológicos se deve principalmente às dificuldades de reproduzir nos diferentes modelos de estudo em pesquisa, o meio ambiente ósseo adequado e que mais se aproxime do que ocorre *in vivo* no homem.

REFERÊNCIAS

1. Kelly PJ, Hopper JL, Macaskill GT, Pocock NA, Sambrook PN, Eisman JA. Genetic factors in bone turnover. **J Clin Endocrinol Metab** 1991;72:808-13.
2. Bonjour JP, Theintz G, Law F, Slosman LD, Rizzoli R. Peak bone mass. **Osteoporosis Int** 1994;(Suppl 1): S7-13.
3. Cooper G, Umbach DM. Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? A Meta-Analysis. **J Bone Miner Res** 1996;11:1841-9.
4. Melton LJ, Riggs BL. Clinical Spectrum. Melton LJ, Riggs BL editors. Osteoporosis: Etiology, Diagnosis and Management. Raven Press, 1988:155-79.
5. Delmas PD. Bases physiopathologiques des osteoporoses. Lesourd B, Rapin CH, Sacher P. editors. Osteoporose: pour une prévention nutritionnelle du risque? **CERIN** 1992:5-12.
6. Eriksen EF, Hodgson SF, Eastell R, Cedel SL, O'fallon WM, Riggs BL. Cancellous bone remodeling in type I osteoporosis: quantitative assessment of rates formation, resorption and bone loss at tissue and cellular levels. **J Bone Min Res** 1990;5:311-9.
7. Darby AJ, Menieur PJ. Mean wall thickness and formation periods of trabecular bone packets in idiopathic osteoporosis. **Calcif Tissue Int** 1991;33:199-204.
8. Aaron JE, Makins NB, Sagreya K. The microanatomy of trabecular bone loss in normal aging men and women. **Clin Orthop** 1987;215:260-71.
9. Albright F, Smith PH, Richardson AM. Postmenopausal osteoporosis. **JAMA** 1941;116:2465-74.
10. Lindsay R, Aitkin JM, Anderson JB, Hart DM, MacDonald EB, Clarke AC. Long-term prevention of post-

- menopausal osteoporosis by estrogen. **Lancet** 1976;i:1038-40.
11. Riggs BL, Khosla S, Melton LJ III. An unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men. **J Bone Miner Res** 1998;13:763-73.
 12. Ramalho AC, Castro-Lazaretti M, Hauache O, et al. Fractures of the proximal femur: correlation with vitamin D receptor gene polymorphism. **Braz J Med Biol Res** 1998;31:921-7.
 13. Collier FM, Huang WH, Holloway WR, Hodge JM, Gillespie MT, Daniels LL, et al. Osteoclast from human giant cell tumors of bone lack estrogen receptors. **Endocrinology** 1996;139:1258-66.
 14. Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ, Graham ML, Mann KG, Spelsberg TC, et al. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. **Science** 1988;41:84-6.
 15. Zhang RW, Supowit SC, Xu X, Li H, Christensen MD, Lozano R, et al. Expression of selected osteogenic markers in the fibroblast-like cells of rat marrow stroma. **Calcif Tissue Int** 1995;56:283-91.
 16. Jilka RL, Hangoc G, Girasole G, Passeri G, Williams DC, Abrans JS, et al. Increased osteoclast development after estrogen loss: Mediation by IL-6. **Science** 1992;257:88-91.
 17. Girasole G, Jilka RL, Passeri G, Bowswell S, Boder G, Williams DC, et al. 17-b Estradiol inhibits interleukin-6 production by bone marrow-derived stromal cells and osteoblasts *in vitro*: A potential mechanism for osteoprotective effect of estrogens. **J Clin Invest** 1992;89:883-91.
 18. Poli V, Balena R, Fattori E, Markatos A, Yamamoto M, Takana H, et al. Interleukin-6 deficient mice are protected from bone loss caused by estrogen depletion. **EMBO Journal** 1994;13:1189-96.
 19. Chaudhary LA, Spelsberg TC, Riggs BL. Production of various cytokines by normal human osteoblast-like cells in response to interleukin-1b and tumor necrosis factor- α : Lack of regulation by 17- β estradiol. **Endocrinology** 1992;130:2528-34.
 20. Vargas SJ, Naprta A, Lee SK, Kalinowski J, Kawaguchi H, Pilbeam CC, et al. Lack of evidence for an increase in interleukin-6 expression in adult murine bone marrow and marrow stromal cell cultures after ovariectomy. **J Bone Miner Res** 1996;11:1926-34.
 21. Kassem M, Khosla S, Spelsberg, Riggs L. Cytokine production in bone marrow microenvironment: Failure to demonstrate estrogen regulation in early postmenopausal women. **J Clin Endocrinol Metab** 1996;81:513-8.
 22. Choen-Solal ME, Graulet AM, Denne MA, Gueris J, Baylink, de Vernejoul MC. Peripheral monocyte culture supernatants of menopausal women can induce bone resorption: Involvement of cytokines. **J Clin Endocrinol Metab** 1993;77:1648-53.
 23. Hughes DE, Dai A, Tiffée JC, Hiu LH, Mundy G, Boyce BF. Estrogen promotes apoptosis of murine osteoclasts mediated by TGF- β . **Nature Med** 1996;2:1132-6.
 24. Insognata KL, Lewis AM, Lipinski BA, Bryant C, Baran DT. Effect of age on serum immunoreactive parathyroid hormone and its biological effects. **J Clin Endocrinol Metab** 1981;53:1072-5.
 25. Dawson-Hughes B, Dallal GE, Krall EA, Sadowski L, Sahyoun N, Tannenbaum S. A controlled trial of the effect of calcium supplementation on bone density in postmenopausal women. **N Engl J Med** 1990;323:878-83.
 26. Chapuy MC, Arlot ME, Duboeuf F, Brun J, Crouzer B, Arnaud S, et al. Vitamin D and calcium to prevent hip fractures in elderly women. **N Engl J Med** 1992;327:1637-42.
 27. Canalis E, Centrella M, Burch W, McCarthy TL. Insulin-like growth factor I mediates selective anabolic effects of parathyroid hormone in bone cultures. **J Clin Invest** 1989;83:60-5.
 28. Wronski J, Yen CF, Qi H, Dann LM. Parathyroid hormone is more effective than estrogen for biphosphonates for restoration of lost bone mass in ovariectomized rats. **Endocrinology** 1993;132:823-31.
 29. Finkelstein JS, Klibanski A, Schaefer EH, Hornstein MD, Schiff I, Neer RM. Parathyroid hormone for the prevention of bone loss induced by estrogen deficiency. **N Engl J Med** 1994;331:1618-23.
 30. Nicolas V, Prewett A, Bettica P, Mohan S, Finkelman RD, Baylink DJ, et al. Age related decrease in insulin-like growth factor-I and transforming growth factor in femoral cortical bone from men and women: implication for bone loss with age. **J Clin Endocrinol Metab** 1994;78:1011-6.
 31. Pfeilschifter J, Diel I, Piltz K, Brunotte K, Naumann A, Zielgler R. Mitogenic responsiveness of human bone cells *in vitro* to hormones and growth factors decrease with age. **J Bone Miner Res** 1993;8:707-17.
 32. Richelson LS, Wahner HW, Melton LJ III, Riggs BL. Relative contribution of aging and estrogen deficiency to postmenopausal bone loss. **N Engl J Med** 19XX;311:1273-5.
 33. Prestwood KM, Pilbeam CC, Burleson JA, Woodiel FN, Delmas PD, Deftos LJ, et al. The short-term effects of conjugated estrogen on bone turnover in older women. **J Clin Endocrinol Metab** 19XX;79:366-71.
 34. Khosla S, Atkinson EJ, Melton LJ III, Riggs BL. Effects of age and estrogen status on serum parathyroid hormone levels and biochemical markers on bone turnover in women: A population-based study. **J Bone Min Res** 1997;82:1522-7.
 35. Cummings SR, Warren S, Browner MD, et al. Endogenous hormones and the risk of hip and vertebral fractures among older women. **N Engl J Med** 1998;339:733-7.
 36. Gallagher JC, Riggs BL, Eisman J, Hamstra A, Arnaud SB, De Luca HF. Intestinal calcium absorption and serum vitamin D in normal subjects and osteoporotic patients: Effect of age and dietary calcium. **J Clin Invest** 1979;64:729-73.

Endereço para correspondência:

Ana Claudia Ramalho
IPEC - Instituto de Pesquisa em Endocrinologia e Cardiologia
Av. Reitor Miguel Calmon 1210, Conj. 401-404 - Salvador,
Bahia
Fax: (71)235-9660
E-mail: aramalho@caramail.com