

AÇÃO DA LASERTERAPIA SOBRE O PROCESSO DE REPARO ÓSSEO ASSOCIADO A ENXERTO ÓSSEO AUTÓGENO PARTICULADO EM RATAS OVARIETOMIZADAS

Silva, M.C.M.¹; Pereira, D.F.A.²; Rangel, R.N.³; Arisawa, E.A.L.⁴

^{1,3,4} Universidade do Vale do Paraíba, Faculdade de Ciências da Saúde, Curso Biomedicina, Av. Shishima Hifumi, 2911, Urbanova, São José dos Campos- SP

² UNESP, Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Av. Francisco José Longo, 777, São Dimas, São José dos Campos-SP

e-mails: maiara_2504@hotmail.com, danielfreitas@apcd.org.br, rodolfonangel@hotmail.com, mirela@univap.br

Resumo- A busca por novos protocolos de tratamento em pacientes com relevantes perdas ósseas visa acelerar o processo de reparo tecidual, sem prejuízo do tecido neoformado. Este estudo objetivou avaliar histologicamente a ação da terapia a laser de baixa intensidade (LTBI) sobre o reparo tecidual em defeitos ósseos cirúrgicos preenchidos com enxertos ósseos autógenos particulados em ratas ovariectomizadas. Foram utilizadas 54 ratas que após, ovariectomia e lesão óssea mandibular, foram divididas em: Grupo Controle (G1); Grupo Enxerto (G2); Grupo LTBI (G3) e Grupo Enxerto+ LTBI (G4). Após os tempos experimentais de 7, 14 e 28 dias, todos os animais foram eutanasiados, as mandíbulas removidas, hemiseccionadas na região central do enxerto ósseo e encaminhadas para o preparo histológico de rotina. Foram obtidos cortes seriados de 5µm, corados com Hematoxilina e Eosina (H&E) para análise histológica. Os resultados do presente estudo permitiram concluir que a associação do enxerto particulado à laserterapia permitiu redução temporal no processo de reparo tecidual e neoformação de tecido ósseo com aspecto semelhante ao tecido ósseo normal.

Palavras-chave: regeneração óssea, enxerto ósseo, LTBI

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde

Introdução

Na menopausa, como consequência da queda brusca na concentração dos hormônios sexuais circulantes, estrógeno e progesterona, observa-se perda expressiva no conteúdo mineral, principalmente no tecido ósseo trabecular (BANDEIRA et al., 2000). Uma das consequências mais comuns desta perda hormonal é justamente a osteoporose, doença osteometabólica comum em ambos os sexos que possui um grande impacto na qualidade de vida. Pode acometer a população em qualquer período da vida, porém, idosos constituem o grupo mais suscetível a essa doença. Em vista disso, profissionais de saúde que acompanham pacientes senis devem lembrar da importância dos fatores de risco para perdas ósseas e para quedas (YAZBEK, 2008). A ocorrência de fraturas osteoporóticas aumenta sensivelmente a morbimortalidade e a perda funcional do indivíduo, gerando custos sociais e econômicos (ARISAWA et al., 2008).

São recomendados enxertos de tecido ósseo, quando há necessidade de restabelecer uma estrutura óssea, seja em altura ou espessura tecidual. Segundo Cypher e Grossman, 1996, o enxerto ósseo é o transplante de osso vivo de um sítio para outro. O termo transplante significa a

transferência de células vivas, enquanto implante refere-se a transferência de tecido não vital ou de material aloplástico. Um enxerto pode ser autógeno ou isógeno quando a transferência ocorre no mesmo indivíduo ou entre gêmeos homozigotos. Por sua vez o enxerto ósseo alógeno é a transferência de tecido entre indivíduos da mesma espécie, enquanto o xenógeno é o que ocorre entre indivíduos de espécies diferentes. A reparação inicial do enxerto particulado compreende rápida reabsorção dessas partículas que são envolvidas por tecido conjuntivo reparacional, exibindo áreas de neoformação óssea (PALECKIS, 2004).

A terapia com laser de baixa intensidade (LTBI) tem sido utilizada como forma de tratamento em diversas condições patológicas, com relatos de efeitos clínicos, incluindo a cicatrização de tecidos moles e duros, como o osso (LUGER et al., 1998; NICOLAU, 2001; SILVA et al., 2007; NASCIMENTO et al., 2010). Porém, existem controvérsias em relação ao melhor mecanismo de ação e aos melhores parâmetros de LTBI a serem utilizados em diferentes tipos de tecidos (COOMBE, 2001).

Considerando o exposto, este estudo teve por objetivo avaliar histologicamente a ação da laserterapia de baixa intensidade (LTBI) sobre o

reparo tecidual em defeitos ósseos cirúrgicos preenchidos com enxertos ósseos autógenos particulados em ratas ovariectomizadas.

Metodologia

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (Univap) e aprovado sob protocolo nº A004/2006. Foram utilizadas 54 ratas fêmeas adultas (*Rattus norvegicus*, *albinus*, *Wistar*), peso aproximado de 250g e sessenta dias de idade, idade esta que corresponde a maturidade sexual destes animais (GRIFFITH; FARRIS, 1942). Os animais foram alojados no Biotério de Passagem do Instituto de Pesquisa & Desenvolvimento (IP&D) da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), mantidos em gaiolas com água e ração *ad libitum* e divididos aleatoriamente em 4 grupos, sendo dois grupos com 9 e os outros dois com quinze animais cada, assim distribuídos:

a) Grupo Controle (G1): Os animais deste grupo foram submetidos a ovariectomia e, decorridos 60 dias da cirurgia, realizou-se lesão óssea no ramo da mandíbula direita, sendo então submetidos à simulação de radiação por laserterapia na loja cirúrgica. Após este passo a loja cirúrgica foi recoberta por uma membrana biodegradável, com a finalidade de impedir a invasão de tecido conjuntivo no local.

b) Grupo Enxerto (G2): Neste grupo, os animais foram submetidos aos mesmos procedimentos cirúrgicos do grupo anterior, acrescentando-se a colocação do enxerto autógeno particulado na loja cirúrgica.

c) Grupo LTBI (G3): Os animais deste grupo foram submetidos à ovariectomia e, decorridos 60 dias da cirurgia, realizou-se lesão óssea no ramo da mandíbula direita. Em sequência, os animais foram submetidos à LTBI utilizando InGaAl sob o protocolo: 680nm, dose de 20Jcm², 6s de duração, forma pontual.

d) Grupo Enxerto + LTBI (G4): Os animais deste grupo foram submetidos aos mesmos procedimentos cirúrgico descritos para o grupo G2 associados à LTBI sobre a loja cirúrgica, sob protocolo descrito acima.

Os grupos experimentais G2, G3 e G4, foram divididos, após os procedimentos cirúrgicos acima descritos, em três subgrupos experimentais com cinco animais cada sendo os períodos de eutanásia aos 7, 14, 28 dias. O grupo G1 por sua vez, era composto por 3 animais em cada tempo experimental estudado.

- **Materiais cirúrgicos**

Para os procedimentos cirúrgicos foram utilizados os seguintes materiais: cabo de bisturi, lâmina nº 15s, afastadores cirúrgicos, pano de campo, seringas descartáveis de 10mL, espátula

7, agulha, pinças homeostáticas tipo mosquito curva e reta, gaze estéril, fio de sutura absorvível com agulha Catgut nº 4, fio de sutura de seda nº 4.0 com agulha, tesoura, trefina de 3,8mm, raspador e coletor para osso, broca Zeckya em alta rotação, osteótomo, pinça Backaus, brocas para perfuração do enxerto em bloco.

- **Barreira de colágeno (Proline®)**

Neste estudo foi utilizada uma barreira absorvível, confeccionada em colágeno, medindo 70x5mm, com espessura de 0,1mm e com configuração apropriada para o enxerto ósseo realizado. As películas de colágeno já recortadas foram previamente colocadas em embalagens adequadas, devidamente seladas e esterilizadas em autoclave por 30 minutos a 121 °C.

- **Métodos**

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no IP&D da UNIVAP, em laboratório cuidadosamente limpo, utilizando-se álcool 70% e preparado para os procedimentos cirúrgicos.

A paramentação do cirurgião e auxiliares, como aventais e luvas, bem como todos os materiais cirúrgicos foram esterilizados em autoclave "Baumer 100 Nurse" em pressão a vapor de 15Lb/pol2 a 121oC por 30 minutos.

Os animais dos grupos G1, G2, G3 e G4 foram submetidos a duas sessões cirúrgicas. A primeira para excisão dos ovários e a segunda para realização do enxerto ósseo na mandíbula direita, recobertos com barreiras, concomitante à a cirurgia no osso parietal, área doadora para o enxerto particulado.

As ratas foram pesadas imediatamente antes do procedimento cirúrgico, para quantificação correta da dosagem de anestésico. Em todos os procedimentos cirúrgicos foram utilizadas medicações pré-anestésicas, através de injeção intramuscular de Acepromazina (Aceprom 2,0% Univest S.A.) na dose de 0,02ml associada a Butorfanol na dose de 0,01ml. Após 20 minutos foi aplicado o anestésico Zoletil 50 (Virbac) na dose de 0,1ml através de injeção intramuscular com seringa de insulina descartável.

- **Ovariectomia**

Todos os animais que compunham os diferentes grupos experimentais foram anestesiados e, após tricotomia da região abdominal lateral, a pele e musculatura foram incisadas longitudinalmente, abaixo da costela na linha média, próximo ao nível dos rins.

A pele foi retraída lateralmente permitindo a identificação e exposição do ovário através da fina parede de músculos, abaixo da massa muscular dorsal. A incisão de 1 cm permitiu a extrusão do ovário, sendo então realizada a hemostasia,

através da ligação da parte superior da trompa com fio de sutura.

O ovário juntamente com a gordura circundante, o oviduto e uma pequena porção do útero foram excisados, sendo este procedimento realizado bilateralmente (Figura 1). Em seqüência, foram suturadas as camadas musculares e a pele com fio de seda n° 4 sendo finalmente realizada a assepsia do corte com álcool iodado.



Figura 1: Excisão do ovário

- **Cirurgia de Enxerto Ósseo**

Sessenta dias após a ovariectomia, as ratas foram novamente anestesiadas e submetidas a procedimento cirúrgico de enxerto ósseo na região mandibular direita. Uma vez anestesiado, o animal foi submetido à tricotomia das regiões submentoniana e submandibular para, em seguida, proceder-se à anti-sepsia com gaze embebida em álcool iodado. Optou-se pela abordagem cirúrgica intrabucal. Desta forma, a incisão a retalho foi realizada sobre a região de gengiva inserida e ramo da mandíbula direita com abertura aproximada de 1cm de comprimento. Após incisão, o periósteo foi afastado para, em seguida, ser amplamente divulsionado. Durante toda a manipulação óssea e no decorrer do ato cirúrgico, o local foi irrigado constante e abundantemente com cloreto de sódio estéril.

- **Obtenção do Enxerto Ósseo em Partículas**

As partículas ósseas foram obtidas do osso parietal, área doadora, utilizando-se um raspador ósseo descartável (Neodent®), por meio de movimentos manuais de raspagem no sentido pósterio-anterior (Figura 2). O osso foi mantido úmido em solução fisiológica estéril, em cubeta de vidro tampado, até o momento de sua utilização.



Figura 2: Obtenção do Enxerto Particulado

- **Preparo do Leito Receptor**

O leito receptor foi preparado no ramo da mandíbula pouco acima da base. A delimitação das margens dos leitos foi executada com trefina de 3,8 mm de diâmetro, marcando apenas o componente cortical. Em seguida, removeu-se grande parte da cortical óssea delimitada utilizando-se trefina. O leito foi regularizado com fresa tronco-cônica, e pequenas perfurações realizadas para facilitar a penetração de vasos sanguíneos.

- **Adaptação do Enxerto Ósseo em Partículas**

Sobre o leito receptor da mandíbula, o enxerto particulado foi colocado com o auxílio de curetas, sendo compactado com o instrumento junto ao leito receptor (Figura 3).



Figura 3: Defeito ósseo cirúrgico preenchido com osso particulado autógeno.

- **Recobrimento dos Enxertos Ósseos**

A loja cirúrgica foi recoberta com membrana de colágeno (Proline®), medindo 20x5mm, com espessura de 0,1mm e configuração apropriada para o enxerto ósseo realizado, recobrendo de vestibular para lingual da mandíbula (Figura 4).



Figura 4: Defeito ósseo cirúrgico revestido por membrana na superfície vestibular.

- **Síntese dos Tecidos Moles**

Após limpeza da área, procedeu-se à sutura com fio de seda 4.0. Todo procedimento cirúrgico foi conduzido dentro de técnica estritamente asséptica. Para se evitar variações na técnica, o mesmo cirurgião realizou todas as operações com protocolo idêntico. As áreas operadas foram

limpas com álcool iodado, sendo os animais mantidos em gaiolas, em local apropriado.

- Aplicação da LTBI

Nos espécimes que compunham os grupos G3 e G4, foi realizada a aplicação do laser InGaAl 680nm, nos parâmetros: dose de 20Jcm², 6s de duração, forma pontual e aplicação única, após a finalização dos respectivos protocolos experimentais, anteriormente descritos. Os componentes de G1 foram submetidos à simulação da aplicação de LTBI.

- Tempos experimentais

Transcorrido o período pós-operatório de 7, 14 e 28 dias, 5 animais dos grupos G2, G3 e G4 e 3 animais do grupo G1, foram eutanasiados injetando-se dose letal de anestésico, sendo esta o dobro da dose recomendada para anestesia. Para remoção da porção óssea foram realizados a incisão e o descolamento dos tecidos moles, um bloco ósseo contendo a área experimental foi delimitado por serra e separado da mandíbula. Imediatamente após a sua retirada, a peça foi fixada em formol a 10% por 24 horas e encaminhada para os procedimentos laboratoriais de rotina.

- Análise histológica

As peças foram descalcificadas em solução aquosa de ácido fórmico a 20%. Após a análise macroscópica da lesão, os espécimes foram hemiseccionados na região central do enxerto ósseo. As metades foram incluídas em parafina no sentido perpendicular ao corte, sendo que de todas as amostras foram obtidos cortes seriados, com aproximadamente 5µm de espessura, corados com hematoxilina e eosina (H&E), para análise histológica em microscopia de luz.

Resultados

a) Grupo Controle (G1)

Na análise histológica das mandíbulas dos animais deste grupo, no período de sete dias, observaram-se trabéculas ósseas imaturas oriundas das margens da loja cirúrgica e espaços medulares (Figura 5). No tempo experimental de 14 dias, foram observados resultados semelhantes ao anteriores, porém com aumento na extensão do trabeculado ósseo para a região central do defeito (Figura 6). Por sua vez, no período de 28 dias, observaram-se trabéculas ósseas largas e mais maduras, com osteoblastos e osteócitos.

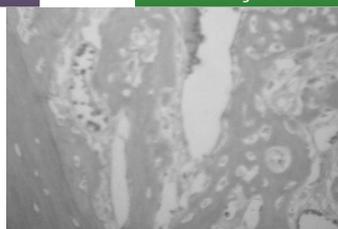


Figura 5: Grupo Controle 7 dias: trabéculas ósseas imaturas originadas das margens da loja cirúrgica (H&E, 40X).

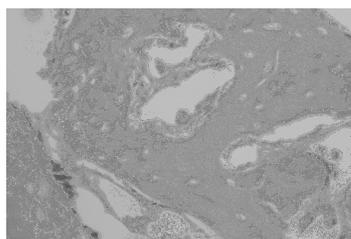


Figura 6: Grupo Controle 14 dias: aumento na extensão do trabeculado ósseo para a região central do defeito (H&E, 40X).

b) Grupo Enxerto (G2)

No período de 7 dias, evidenciava-se a presença de trabéculas ósseas imaturas nas margens da lesão (Figura 7). Aos 14 dias, observaram-se trabéculas ósseas com grandes espaços medulares (Figura 8). No tempo experimental de 28 dias, o tecido ósseo das margens mostrou-se mais maduro, porém não houve preenchimento total do defeito cirúrgico.

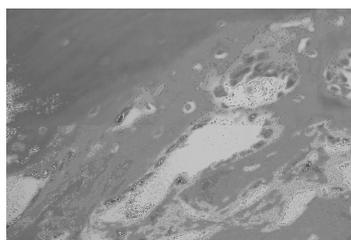


Figura 7: Grupo Enxerto 7 dias: presença de trabéculas ósseas imaturas (H&E, 40X).

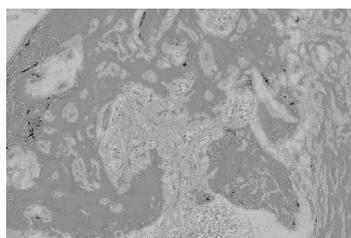


Figura 8: Grupo Enxerto 14 dias: trabéculas ósseas com grandes espaços medulares (H&E, 40X).

c) Grupo LTBI (G3)

Nos espécimes deste grupo, no tempo experimental de 7 dias, foram observadas delgadas trabéculas ósseas nas margens do defeito, com amplos espaços medulares e células osteoprogenitoras (Figura 9). Aos 14 dias, observaram-se volumosas trabéculas ósseas, elevada quantidade de osteócitos e aspecto de maturidade desse tecido, porém sem preencher totalmente a loja cirúrgica (Figura 10).

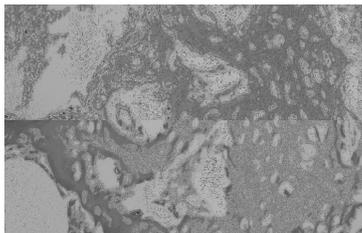


Figura 9: Grupo LTBI 7 dias: trabéculas ósseas nas margens do defeito (H&E, 40X).

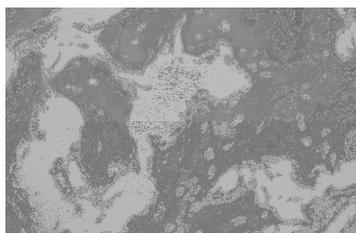


Figura 10: Grupo LTBI 14 dias: trabéculas ósseas com elevada quantidade de osteócitos (H&E, 40X).

d) Grupo Enxerto + LTBI (G4)

Na análise histológica dos espécimes desse grupo, aos 7 dias, observaram-se delgadas trabéculas ósseas neoformadas, com amplos espaços medulares e próximas às margens do defeito ósseo. Por sua vez, a análise dos espécimes pertencentes ao período de 14 dias, apresentou aumento na neoformação óssea na área central e aspecto de maturidade (Figura 11). No período de 28 dias, observou-se tecido ósseo neoformado, unindo as margens da lesão e também a presença de osteoblastos volumosos, além de muitos osteócitos (Figura 12).

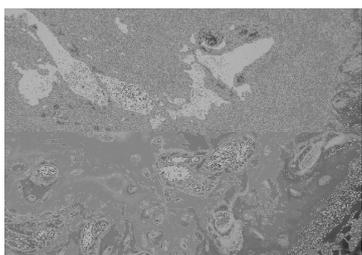


Figura 11: Grupo Enxerto + LTBI 14 dias: aumento

da neoformação óssea (H&E, 40X).

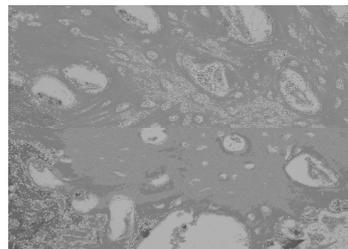


Figura 12: Grupo Enxerto + LTBI 28 dias: tecido ósseo neoformado e presença de muitos osteócitos (H&E, 40X).

Discussão

O reparo de defeitos ósseos constitui um dos maiores desafios para diversas áreas da saúde, levando muitos pesquisadores a trabalharem na busca de novas técnicas e dispositivos que auxiliem neste processo (HÄMMERLE et al., 1996; ALMEIDA et al, 2007; ARISAWA et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2010). No presente estudo, foram utilizadas ratas submetidas à ovariectomia, induzindo uma situação de osteopenia, que segundo Faloni et al., 2007, constitui um problema de saúde pública mundial, e se caracteriza pela perda da massa óssea e pelo comprometimento da microarquitetura do tecido ósseo, tendo como consequência um aumento de fraturas.

Estudo realizado por Almeida et al., 2007, demonstrou que a reparação dos defeitos ósseos, produzidos em mandíbulas de ratos, ocorre a partir do tecido ósseo das margens da lesão, principalmente nos tempos experimentais de 14 e 28 dias. O mesmo foi observado no presente estudo de reparo, no grupo controle, que apresentou as seguintes características: formação de tecido de granulação na fase inicial, formação de trabéculas ósseas delgadas e imaturas, a partir das margens da loja cirúrgica, que aumentavam em quantidade durante a evolução do processo dirigindo-se para a área central da lesão.

A introdução do enxerto autógeno particulado na loja cirúrgica (grupo G2), aparentemente, atuou como fator indutor para neoformação de tecido ósseo, reduzindo a fase inicial do processo. Esse resultado, observado no presente estudo, estão de acordo com os relatos por Pallesen et al., 2002 e Paleckis, 2004, demonstrando que partículas menores são rapidamente reabsorvidas e podem acelerar o processo de reparo.

A terapia a laser de baixa intensidade tem se apresentado como uma técnica eficaz no processo de reparo em diversos tipos de tecido. A avaliação histológica da resposta de tecidos, epitelial, conjuntivo e ósseo, submetidos a essa terapia, em modelo experimental de reprodução alveolar em

ratos, constatou aceleração da neoformação óssea (SILVA et al., 2007). Corroborando estudos realizados por Luger et al., 1998, Nicolau, 2001, Arisawa et al., 2008, Nascimento et al., 2010 que demonstraram que a laserterapia reduz o tempo de reparação em defeitos ósseos, no presente estudo observou-se que, aos 14 e 28 dias, a LTBI acelerou o processo de reparo ósseo, podendo ser observado um tecido ósseo mais maduro. Ainda, foi possível verificar que o emprego de enxerto ósseo autógeno particulado associado à LTBI determinou os melhores resultados observados no presente estudo, especialmente no período de 14 e 28 dias, apresentando ganho ósseo superior aos demais grupos experimentais. Estes resultados confirmam estudos que sugerem que não existe uma ação isolada do laser e sim uma ação conjunta de seus efeitos analgésico, anti-inflamatório, antiedematoso e bioestimulador (CONLAN et al., 1996; BRUGNERA JR et al., 1998; GENOVESE, 2000) que atua no processo de reparo acelerando-o.

A osteoporose é uma patologia que pode ser prevenida, diagnosticada e controlada, através de intervenções simples, porém pesquisas neste campo precisam ser ampliadas, com novas técnicas e procedimentos (ARISAWA, 2008).

Conclusão

Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que a associação de enxerto ósseo autógeno particulado à LTBI determina redução temporal no processo de neoformação óssea e tecido ósseo com aspecto de tecido normal, apresentando-se como uma alternativa viável para emprego na clínica diária em pacientes com expressivas perdas de massa óssea.

Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa PIBIC.

Referências

- ALMEIDA, J. D. et al. Effect of calcitonin on bone regeneration in male rats: a histomorphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007 May;36(5):435-40.
- ARISAWA, E. A. L. et al. Calcitonin in bone-guided regeneration of mandibles in ovariectomized rats: densitometric, histologic and histomorphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Jan;37(1):47-53.
- BANDEIRA, F. et al. Osteoporose Rio de Janeiro: Médica e Científica, 2000. 390p.
- BRUGNERA JR, A, et al., *Lasers na odontologia moderna.* São Paulo: Pancasr, 1998, 356p.
- CONLAN, M. J. et al. Biostimulation of wound healing by low-energy laser irradiation: a review. *J. Clin. Periodontol.*, v. 23, n. 5, p. 492-6, 1996.
- COOMBE, A. R. et al. The effects of low level laser irradiation osteoblastic cells. *Clin. Orthod. Res.*, v.4, p 3-14, 2001.
- CYPHER, T.J.; GROSSMAN, J.P. Biological principles of bone graft healing. *J Foot Ankle Surg* v.35, n.5, p.413-417, 1996.
- FALONI, A.P.S. et al. Cellular and molecular mechanisms of the estrogen bone in the bone resorption. *Rev Odontol UNESP.* 2007; 36(2): 181-88.
- GENOVESE, W. J. *Laser de baixa intensidade. Aplicações terapêuticas em odontologia.* São Paulo: Lovise, 2000, 175p.
- GRIFFITH, J.Q.; FARRIS, E.J. The rat in laboratory investigation. Lippincott: J.B. Lippincott, 1942.488p.
- HÄMMERLE, C.H.F. et al. A novel model system for the study of experimental guided bone formation in humans. *Clin. Oral Implants Res.*, v. 7, n. 1, p. 38-47, 1996.
- LUGER, E.J. et al. Effect of low power laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. *Lasers Surg. Med.* v. 22, n.2, p. 97-102, 1998.
- NASCIMENTO, S.B. et al. Effect of low-level laser therapy and calcitonin on bone repair in castrated rats: a densitometric study. *Photomed Laser Surg.* 2010 Feb;28(1):45-9.
- NICOLAU, R.A. *Efeito do laser de baixa potência (As-Ga-Al) em tecido ósseo de rato submetido à lesão, analisado por histomorfometria óssea,* São José dos Campos, 2001. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica), Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale Do Paraíba – UNIVAP.
- PALECKIS, L.G.P. *Reparação inicial de enxertos ósseos autógenos em bloco ou em partículas. Estudo microscópico em cães.* Araçatuba,2004. 121p. Tese (Doutorado em Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- PALLESEN, L.; SCHOU, S.; AABOE, M.; HJORTING- HANSEN, E.; NATTESTAD, A.; MELSEN, F. Influence of particle size of autogenous bone grafts on the early stages of bone regeneration: a histologic and stereologic study in rabbit. *Int J Oral Maxillofac Surg* v.17, n.4, p.498-506, 2002.
- SILVA, E.M et al. Avaliação histológica da laserterapia de baixa intensidade na cicatrização de tecidos epitelial, conjuntivo e ósseo: estudo experimental em ratos. *RSBO. Revista Sul-Brasileira de Odontologia.* 2007.
- YAZBEK, M. A; NETO, J.F.M. *Osteoporose e outras doenças osteometabólicas no idoso.* Einstein. 2008; 6 (Supl 1):S74-S8.