

Wrodzona łamliwość kości jako interdyscyplinarny problem medyczny

Janusz Popko¹, Anna Galicka², Sławomir Wołczyński³,
Wojciech Zalewski¹, Jerzy Konstantynowicz⁴

¹ *Klinika Ortopedii i Traumatologii Dziecięcej, Akademia Medyczna w Białymstoku*

² *Zakład Chemii Medycznej, Akademia Medyczna w Białymstoku*

³ *Zakład Endokrynologii Ginekologicznej, Akademia Medyczna w Białymstoku*

⁴ *Zakład Propedeutyki Pediatrii, Akademia Medyczna w Białymstoku*

Streszczenie

W latach 2001-2003 leczono 6 chorych (3 chłopców i 3 dziewczynki) z wrodzoną łamliwością kości (*osteogenesis imperfecta* - OI) w wieku 2,1-18,7 lat. Poza badaniem klinicznym, radiologicznym i densytometrycznym przeprowadzono badania biochemiczne kolagenu. Z bioptatów skóry dzieci chorych zakładano hodowle fibroblastów, z których izolowano kolagen. W oparciu o badanie kliniczne i radiologiczne oraz o badanie biochemiczne kolagenu rozpoznano u 1 dziecka typ I, u 4 typ III i u 1 dziecka typ IV choroby. Poznanie defektu kolagenu ułatwia postawienie rozpoznania i podjęcie decyzji co do leczenia farmakologicznego. U 1 dziecka z ciężkim typem III choroby rozpoczęto dożylnie podawanie pamidronianu z korzystnym efektem. Zastosowane leczenie operacyjne z wykorzystaniem stabilizacji śródszpikowej prętem Rusha jest korzystnym działaniem paliatywnym korygującym zaburzenia osi kończyn dolnych i zabezpieczającym przed kolejnym złamaniem. Postępowanie diagnostyczno-terapeutyczne w przypadku OI powinno być indywidualizowane i oparte na ścisłej współpracy zespołu leczącego.

Słowa kluczowe: wrodzona łamliwość kości, elektroforeza kolagenu, farmakoterapia, stabilizacja śródszpikowa,

Osteogenesis imperfecta as an interdisciplinary medical problem

Summary

In years 2001-2003 six children (3 boys and 3 girls) from 2.1 to 18.7 years old with osteogenesis imperfecta (OI) were treated in our clinic. Besides clinical and radiological evaluation, densitometry and biochemical analysis of collagen were performed. Biochemical analysis was performed on cultured in vitro fibroblasts from the skin biopsies. Based on this findings 1 child was graded as type I of OI, 4 children as type III and 1 as type IV. Recognition of collagen defect helps with diagnosis and makes the decision for pharmacological treatment easier. In 1 child with the dramatic type III OI therapy with pamidronian was implemented with good result. Performed surgical treatment, intramedullary stabilisation with Rush rod, proved to be useful choice in correcting axial deformations of the lower extremities and preventing from the future fractures.

Key words: osteogenesis imperfecta, collagen electroforesis, pharmacological therapy, intramedullary nailing.

Wprowadzenie

Wrodzona łamliwość kości (*osteogenesis imperfecta* -OI) obejmuje grupę schorzeń genetycznych tkanki łącznej spowodowanych defektem wytwarzania kolagenu [1-4]. Defekt prowadzi do zmniejszenia produkcji kolagenu i(lub) syntezy kolagenu nieprawidłowego. Nieprawidłowa budowa fibryli kolagenu szczególnie dramatycznie zaburza strukturę kostną. Wielodyscyplinarny zespół jest konieczny do przeprowadzenia diagnozy, współpracy z rodzicami i do podjęcia odpowiedniego leczenia.

W pracy przedstawiamy własne obserwacje i doświadczenia w rozpoznaniu OI, wyniki badań biochemicznych wyjaśniających przyczynę wystąpienia choroby, oraz możliwości jej leczenia.

Material i metody

W latach 2001-2003 w Klinice Ortopedii i Traumatologii Dziecięcej AM w Białymstoku leczylśmy 6 chorych z OI (3 chłopców i 3 dziewczynki). Dzieci te były wielokrotnie hospitalizowane z powodu złamań lub w celu dokonania operacyjnej korekcji długiej osi kończyn dolnych. Poza kompleksowym badaniem klinicznym, radiologicznym i densytometrycznym techniką DXA (Pracownia Densytometrii III Kliniki Chorób Dzieci AMB - Kierownik: prof. dr hab.

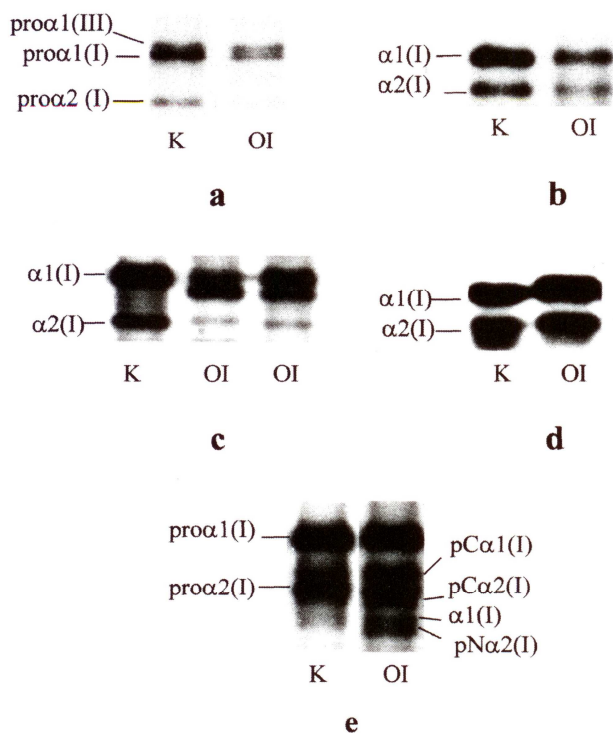
M. Kaczmarski), przeprowadzono badanie biochemiczne kolagenu. Pobierano bioptaty skóry dzieci chorych (zgoda Komisji ds. Badań na Ludziach AMB), z której zakładano hodowle komórkowe fibroblastów. Poza jednym przypadkiem bioptaty skóry pobierano przy okazji leczenia operacyjnego tych dzieci.

Przeprowadzono analizę elektroforetyczną prokolagenu syntetyzowanego przez fibroblasty uzyskane z bioptatów skóry dzieci chorych. Grupę kontrolną stanowiły fibroblasty skórne uzyskane od osób zdrowych. Fibroblasty obu grup inkubowano w warunkach standardowych w obecności kwasu askorbinowego (50 ug/ml), oraz L-[5-³H] prolina (50 uCi/ml) przez 18 godzin. Prokolagen izolowano z komórek i podłoża i rozdzielano w 5% żelu poliakrylamidowym z 0,1% SDS i 2 M mocznikiem [1, 5]. Kolagen uzyskiwano przez trawienie prokolagenu przy udziale pepsyny (50 u g/ml) przez 4 h w temp. 4°C. W pracy przedstawiono obrazy elektroforetyczne prokolagenu lub kolagenu w zależności od tego gdzie wyraźniej uwidoczniły się różnice w porównaniu z preparatami kontrolnymi.

Wyniki

Obraz elektroforetyczny znakowanego [³H] prolina prokolagenu i kolagenu syntetyzowanego przez fibroblasty skóry

badanych dzieci przedstawia rycina 1. Charakterystyka elektroforetyczna została przedstawiona łącznie z opisem klinicznym badanych dzieci.



Ryc. 1. Obraz elektroforetyczny prokolagenu i kolagenu syntetyzowanego przez fibroblasty skóry badanych dzieci: a) dziecko W. K. z I typem, b) dziecko Dz. A. z IV typem, c) rodzeństwo Ł. M i Ł. P. z III typem, d) dziecko K. D. z III typem, e) dziecko Ch. B. z IV typem choroby.

Fig. 1. Results of electrophoresis of procollagen and collagen synthesized by fibroblasts of the skin of the analyzed group: a) patient W. K. with OI type I, b) patient Dz. A. with OI type IV, c) siblings L. M. and L. P. with OI type III, d) patient K. D. with OI type III, e) patient Ch. B. with OI type I.

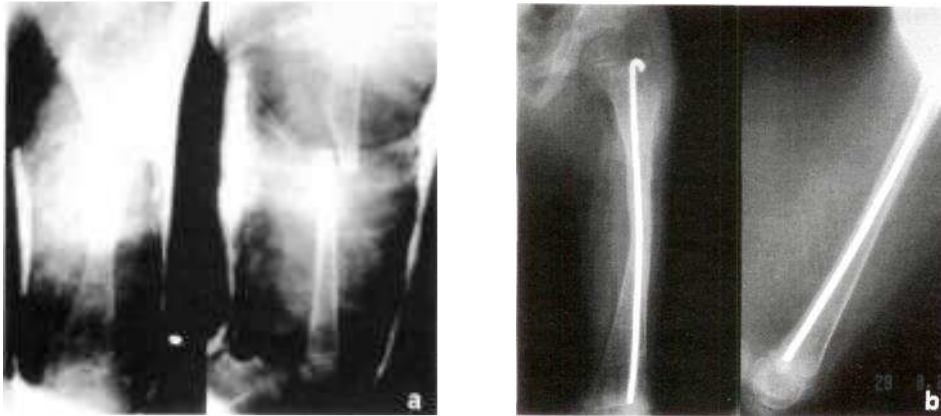
Fibroblasty uzyskane od dziewczynki W. K. ur. 24. 03. 1998 roku syntetyzowały i wydzielały do podłoża prokolagen typu I i typu III, stanowiące główne rodzaje kolagenów występujących w skórze (ryc. 1a). U osoby zdrowej prokolagen III stanowi około 10% całkowitej zawartości kolagenu, natomiast głównym białkiem strukturalnym jest prokolagen I. Poziom prokolagenu typu I u tej dziewczynki był wyraźnie niższy. Biosynteza kolagenu typu I była zredukowana o połowę, co jest zazwyczaj spowodowane brakiem ekspresji zmutowanego allelu genu COL 1A1 kodującego łańcuch $\alpha 1$ na skutek mutacji wprowadzającej przedwczesną terminację łańcucha [6]. Jest to jednak kolagen o prawidłowej strukturze. Biosynteza kolagenu prawidłowego w znacznie zredukowanej ilości i brak kolagenu zmutowanego jest najkorzystniejszym skojarzeniem w tym schorzeniu (typ I) i wskazuje na możliwość zastosowania leków stymulujących syntezę kolagenu. Dziewczynka ta porusza się samodzielnie i jest bardzo aktywna ruchowo. Złamania prawej i lewej kości udowej były nastawiane i zespalane prętami Rusha (ryc. 2a i b). Po dwóch latach wraz ze wzrostem dziecka zaszła konieczność wymiany prętów w obu kościach udowych.

U dziewczynki Dz. A., ur. 22. 06. 1988 roku łańcuchy kolagenowe migrowały nieznacznie wolniej (ryc. 1b), co wskazuje na obecność zmutowanego kolagenu. Również biosynteza kolagenu była obniżona o ok. 40%. Obraz kliniczny i elektroforetyczny wskazuje na lżejszy przebieg choroby typu IV. Dziecko jest sprawne fizycznie, przeżyło 2 złamania w obrębie przedramienia i 1 złamanie lewej kości udowej leczone operacyjnie. Leczenie rehabilitacyjne i farmakologiczne (alendronian sodu przez 19 miesięcy) przynosi pozytywne efekty. W ocenie densytometrycznej metodą DXA gęstość kości kręgosłupa w odcinku L2-L4 w relacji do normy wiekowej, uwzględniającej zmiany masy ciała i wzrostu, poprawiła się z $Z_{score} = -4,97$ (20. 08. 2001) na $Z_{score} = -3,78$ (27.06.2003).

U rodzeństwa Ł. M., ur. 28. 11. 1983 roku i Ł. P., ur. 30. 06. 1987 roku demonstrującego średnio ciężkie objawy choroby, oprócz prawidłowo migrujących łańcuchów $\alpha 1(I)$ występują szybciej migrujące (ryc. 1c) będące dowodem obecności zmutowanego kolagenu w fibroblastach i wystąpienia delecji jako defektu strukturalnego. Ulega on sekrecji zewnątrzkomórkowej razem z kolagenem prawidłowym. Ponadto u dziewczyny (ścieżka 2) łańcuch kolagenowy $\alpha 2(I)$ wędruje wolniej, co wskazuje na jego zaburzoną modyfikację posttranslacyjną. Również zmianie uległ stosunek ilościowy $\alpha 1(I)$ do $\alpha 2(I)$, którego prawidłowa wartość wynosi 2:1. Zredukowana ilość łańcuchów kolagenowych $\alpha 2(I)$ u osób chorych może sugerować występowanie obok prawidłowych heterotrimerów $[(\alpha 1)_2\alpha 2]$ również homotrimerów $[(\alpha 1)_3]$. Obraz kliniczny i elektroforetyczny przemawia za typem III choroby. Dzieci te były wcześniej wielokrotnie operowane z powodu złamań. W naszej Klinice były wykonywane jedynie osteotomie korekcyjne w obrębie kości udowych i piszczelowych. U dziewczynki operowano kość piszczelową prawą, a u jej brata kość udową i piszczelową prawą oraz 2-krotnie kość piszczelową lewą. Rycina 3 przedstawia dwupoziomą osteotomię korekcyjną kości udowej u chłopca. Leczenie operacyjne uzupełniano farmakoterapią, podając doustnie alendronian sodu 10 mg/d przez 6 miesięcy. Opisani chorzy poruszają się aktualnie z pomocą kul łokciowych.

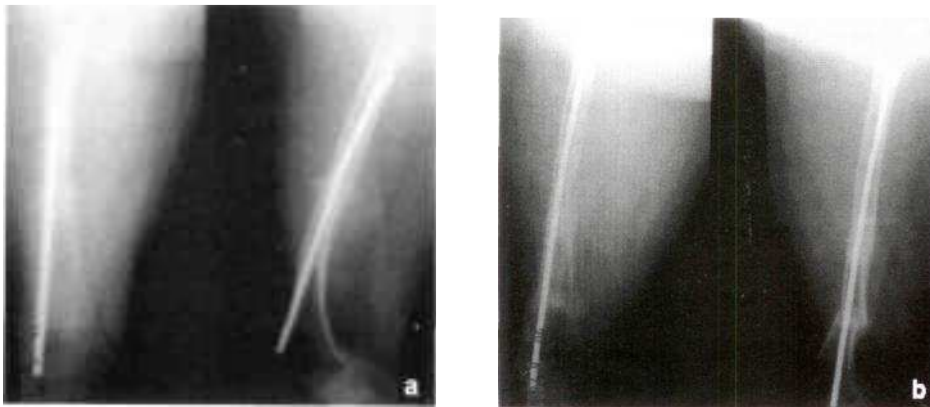
W przypadku dziecka K. D., ur. 18. 03. 1999 roku widoczna jest opóźniona migracja łańcuchów kolagenowych (ryc. 1d). Łańcuchy migrują w postaci szerszego prążka białkowego. Dzieje się tak najczęściej wskutek substytucji glicyny przez inny aminokwas, co prowadzi do zaburzonej modyfikacji łańcuchów kolagenowych. Podstawienie glicyny przez inny aminokwas skutkuje poważnymi zmianami strukturalnymi i funkcjonalnymi kolagenu [2, 3]. U tego 4-letniego dziecka doszło do 3-krotnego złamania zarówno prawej, jak i lewej kości udowej, jednakże rodzice nie wyrażają zgody na leczenie operacyjne. U pacjentki ustalono rozpoznanie typu III choroby, kwalifikując ją do leczenia cyklicznymi wlewami dożylnymi pamidronianu (preparat Aredia® iv).

W fibroblastach uzyskanych od dziecka Ch. B., ur. 28. 04. 1981 roku z najcięższymi objawami choroby spośród badanych, obraz prokolagenu nie różni się zasadniczo od kontrolnego (ryc. 1e). Widocznych jest więcej przejściowych



Ryc. 2. Obraz radiologiczny kości udowej lewej dziecka W. K. z I typem choroby: a) po złamaniu, b) po zespoleniu śródszpikowym prętem Rusha.

Fig. 2. X-ray of the left femur patient W. K. with OI type I: a) fracture, b) after stabilization with Rush rods.



Ryc. 3. Obraz radiologiczny prawej kości udowej dziecka L. P.: a) przed i b) po dwupoziomowej osteotomii korekcyjnej. Fig. 3. X-ray of the right femur of patient L. P.: a) before and b) after a two-level osteotomy.



Ryc. 4. Obraz radiologiczny goleni lewej dziecka Ch. B.: a) przed i b) po osteotomii korekcyjnej. Fig. 4. X-ray of the left tibia of patient Ch. B.: a) before and b) after osteotomy.

form kolagenu (pC-, pN-) tworzących się podczas zmiany prokolagenu w tropokolagen. Widoczne różnice w przemianie prokolagenu w kolagen mogą mieć również znaczenie w ciężkości przebiegu choroby. W przypadku tego pacjenta (gdzie przemiana dokonuje się szybciej) istnieje większe prawdopodobieństwo, iż zmutowany kolagen ulegnie asocjacji z kolagenem prawidłowym tworząc defektywne fibryle. Obraz kliniczny i elektroforetyczny tego dziecka przemawia

za III typem choroby. Dziecko porusza się wyłącznie na wózku inwalidzkim, przeżyło 17 złamań w obrębie kości długich kończyn dolnych i 10 zabiegów operacyjnych, w tym 3 osteotomie korekcyjne (ryc. 4a i b). Stabilizację wykonywano prętem Rusha. W obrazie klinicznym zwraca uwagę duże skrzywienie boczne kręgosłupa z deformacją klatki piersiowej. Od lutego 2003 roku rozpoczęto leczenie parni -dronianem (Aredia®) w dawce 1,0 mg/kg dziennie przez trzy

kolejne dni co 4 miesiące. Po dwóch zrealizowanych cyklach wlewów dożylnych pamidronianu zaobserwowano w badaniu DXA przyrost gęstości kręgów L2-L4 (wyrażony poprawą wskaźnika Z_{score} -7,09 \rightarrow -5,45). Chory jest obecnie przygotowywany do leczenia operacyjnego skrzywienia bocznego kręgosłupa.

Omówienie

Na podstawie badań radiologicznych, genetycznych i biochemicznych Sillence i wsp. [7] wyodrębnili cztery typy choroby. Podczas gdy typ I choroby może być niemalże bezobjawowy lub z łagodnymi objawami, to typ II jest letalny w okresie okołoporodowym. Typ III charakteryzuje się progresją objawów, a typ IV choroby jest łagodniejszy i zbliżony do typu I.

Generalnie choroba jest dziedziczona jako cecha dominująca, aczkolwiek opisano kilka udokumentowanych przypadków choroby typu III dziedziczonej w sposób recesywny.

W ponad 90% przypadków u chorych stwierdzono defekty jakościowe i ilościowe kolagenu stanowiącego główne białko strukturalne kości, skóry i ścięgien. Badania biochemiczne kolagenu, obok badań klinicznych i radiologicznych, są niezwykle istotne w prawidłowym, wczesnym i pewnym rozpoznaniu choroby, konsultacji z rodzicami, ustaleniu rokowania i zastosowaniu odpowiedniego leczenia.

W omawianych wyżej przypadkach analiza biochemiczna kolagenu pozwoliła na odróżnienie najłagodniejszego typu I choroby u dziecka W. K. od cięższych przypadków typu III i IV, w których stwierdzono zmiany strukturalne kolagenu. Rokowanie u dziewczynki W. K. jest dosyć pomyślne, syntetyzowany kolagen posiada prawidłową strukturę, występuje natomiast w zredukowanej ilości, celowe więc jest zastosowanie leków pobudzających syntezę kolagenu. W leczeniu operacyjnym można było zastosować pręty teleskopowe, najprawdopodobniej nie byłoby potrzeby wymieniać prętów Rusha po 2 latach. Inni autorzy również sugerują zastosowanie prętów teleskopowych u dzieci młodszych, ze względu na rzadszą potrzebę ich wymiany [8-10].

Wolniejsza migracja łańcuchów kolagenowych spowodowana jest ich zaburzoną skutkiem mutacji modyfikacją i występuje częściej w łagodniejszym typie IV. U dziewczynki Dz. A. można rozpoznać typ IV choroby, przemawia za tym również obraz kliniczny. Po śródszpikowym zespoleniu złamania kości udowej lewej i unieruchomieniu gipsowym uzyskano zrost złamania w ciągu 8 tygodni. Dziecko funkcjonuje w społeczeństwie bez większych ograniczeń, poza zwolnieniem z niektórych ćwiczeń (skoki, przewroty) na zajęciach wychowania fizycznego. Zwraca uwagę również korzystne działanie leczenia rehabilitacyjnego i farmakologicznego.

Pozostałe przypadki (Ł. M., Ł. P., K. D. i Ch. B.) zostały zaliczone do III typu choroby.

U rodzeństwa Ł. M. i Ł. P., oprócz prawidłowo migrujących łańcuchów, występują szybciej migrujące wskazujące na obecność delecji jako defektu strukturalnego. Wcześniej złamania były leczone poza naszą kliniką zespoleniem śród-

szpikowym. Wykonane u nas osteotomie korekcyjne w obrębie kończyn dolnych pozwoliły na poruszanie się z pomocą kul łokciowych.

Nieco lepsze rokowanie ma dziecko K. D. z opóźnionym procesem przemiany prokolagenu w kolagen, co zmniejsza prawdopodobieństwo wbudowania zmutowanego kolagenu w fibryle i zwiększa możliwość jego degradacji. Dotychczasowe nasze leczenie polegało na zamkniętej repozycji złamań i unieruchomieniu gipsowym. Dziecko zostało zakwalifikowane do leczenia cyklicznymi wlewami i.v. pamidronianu.

Najcięższe objawy choroby dotyczyły dziecka Ch. B. z dużą liczbą złamań (17), skrzywieniem bocznym kręgosłupa i deformacją klatki piersiowej. W obrazie elektroforetycznym stwierdzono dużo form przejściowych z szybszą przemianą zmutowanego kolagenu. Badanie densytometryczne metodą DXA wykazało zaawansowaną osteoporozę (Z_{score} dla kręgów L2-L4 wynosił -7,09). Dotychczasowe leczenie doprowadzało do zrostu złamanych kości, ale nie pozwalało na pionizację i samodzielne chodzenie. Uważamy, że jest to nadal niemożliwe przy tak zaawansowanej osteoporozie. Po 2 cyklach wlewów dożylnych pamidronianu uzyskaliśmy jednak realny przyrost gęstości kości, leczenie jest zatem kontynuowane zgodnie z obowiązującymi wytycznymi [11]. Również Smith R. [12] potwierdza korzystny efekt bifosfonianów w leczeniu cięższych postaci OI u dzieci w różnym wieku. Giraud F. i Meunier P. J. [13] stwierdzili wysoką skuteczność kilkuletniej cyklicznej podaży pamidronianu jako leku objawowego w grupie 7 dzieci z OI (w przeważającej części typ III choroby). Efekt polegał zarówno na przyroście masy kostnej jak i na redukcji złamań, w porównaniu z okresem przed wprowadzeniem leczenia. Mimo iż nie do końca poznane są odległe skutki działania bifosfonianów, pamidronian w formie dożylnej jest lekiem coraz częściej używanym w terapii OI z towarzyszącą niską masą kostną i złamaniami. Na uwagę zasługuje poza tym fakt dobrej tolerancji preparatu, przy dużej jego skuteczności. Dodidou P. i wsp. [14], stosując pamidronian w 287 cyklach u osób dorosłych z zaawansowaną osteoporozą po przeszczepach, nie zaobserwowali poważnych działań niepożądanych. Autorzy odnotowali jedynie w 13% cykli podaży leku nieistotne efekty uboczne.

Osteogenesis imperfecta należy do chorób genetycznych nieuleczalnych o poważnym rokowaniu. Nie dysponujemy obecnie metodami leczniczymi o charakterze przyczynowym. Terapia komórkowa i genowa, testowana na myszach trans-genicznych wydaje się być obiecująca w kontekście przyszłego jej zastosowania u ludzi [15, 16]. Celem terapii jest wyeliminowanie lub zredukowanie ekspresji genu niesącego mutację i (lub) równoległe uzupełnienie genu prawidłowego. W przypadku najłagodniejszego typu I choroby, gdzie skutkiem mutacji jest nieaktywny allel, korzystne mogłoby być jego uzupełnienie, jak w przypadku chorób recesywnych. Taki kierunek działania mógłby być zastosowany również w ciężkich przypadkach choroby jako uzupełnienie terapii antysensowej, gdzie po wyeliminowaniu lub wyciszeniu genu

zmutowanego mógłby być wprowadzony gen kodujący prawidłową strukturę białka.

Na obecnym etapie wiedzy i możliwości diagnostyka OI powinna opierać się na nowoczesnych i skojarzonych metodach, wykorzystujących m. in. techniki molekularne oraz ilościowe densytometryczne monitorowanie przebiegu choroby z użyciem dostępnych i bezpiecznych pomiarów DXA. Wobec braku leczenia etiotropowego, w świetle obowiązujących ustaleń, jedynym praktycznym sposobem postępowania w OI pozostaje aktualnie opieka ortopedyczna, rehabilitacyjna i farmakoterapia bifosfonianami oraz - w zależności od potrzeb - profesjonalna pomoc psychologiczna. Istotą prawidłowego prowadzenia chorych z OI jest ścisła współpraca i uzupełnianie się zespołu leczącego.

Podsumowanie

1) Badania biochemiczne kolagenu obok badań klinicznych i radiologicznych są istotne w prawidłowym rozpoznaniu choroby, mają znaczenie prognostyczne i decydujący wpływ na wybór metody leczenia.

2) W cięższych postaciach typu III choroby należy zawsze rozważyć celowość podawania bifosfonianów w formie cyklicznych wlewów dożylnych, niezależnie od wieku chorego.

3) Leczenie operacyjne z wykorzystaniem stabilizacji śródszpikowej prętą Rusha jest wartościowym sposobem leczenia paliatywnego wrodzonej łamliwości kości.

Piśmiennictwo

- [1] Bonadio J., Holbrook K. A., Gelinis R. E., Jacob J., Byers P. H.: *Altered triple helical structure of type I procollagen in lethal perinatal osteogenesis imperfecta*. J. Biol. Chem., 1985; 260: 1734-1742.
- [2] Byers P. H.: *Brittle bones-fragile molecules: Disorders of collagen gene structure and expression*. Trends Genet., 1990; 6: 293-300.
- [3] Byers P. H.: *Osteogenesis imperfecta: perspectives and opportunities*. Curr. Opin. Pediatr., 2000; 12: 603-609.
- [4] Sułko J.: *Wrodzona łamliwość kości*. Chir. Narz. Ruchu Ortop. Pol., 2003; 68 (2): 129-132.
- [5] Laemmli U. K.: *Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4*. Nature, 1970; 227: 680-685.
- [6] Willing M. C., Deschenes S. P., Slayton R. L., Roberts E. I.: *Premature chain termination is a unifying mechanism for COL1A1 null alleles in osteogenesis imperfecta type I cell strains*. Am. J. Hum. Genet., 1996; 59: 799-809.
- [7] Silience D. O., Senn A., Danks D. M.: *Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta*. J. Med. Genet., 1979; 16: 101-116.
- [8] Karbowski A., Schwitalle M., Brenner R., Lehmann H., Pontz B., Worsdorfer O.: *Experience with Bailey-Dubow rodding in children with osteogenesis imperfecta*. Eur. J. Pediatr. Surg., 2000; 10: 119-124.
- [9] Marafioti R. L., Westin G. W.: *Elongation intramedullary rods in treatment of the osteogenesis imperfecta*. J. Bone Joint Surg., 1971; 59: 574-582.
- [10] Napiontek N., Shadi M., Czubak J.: *Wielopoziomowa osteotomia z zespoleniem prętą Rusha w leczeniu osteogenesis imperfecta*. Chir. Narz. Ruchu Ortop. Pol., 1994; 59 (5): 441-446.
- [11] Glorieux F. H., Bishop N. J., Plotkin H., Chabot G., Lanoue G., Travers R.: *Cyclic administration of pamidronate in children with severe osteogenesis imperfecta*. N. Engl. J. Med., 1998; 339: 947-952.
- [12] Smith R.: *Severe osteogenesis imperfecta: new therapeutic options?* BMJ, 2001; 322: 63-64.
- [13] Giraud F., Meunier P. J.: *Effect of cyclical intravenous pamidronate therapy in children with osteogenesis imperfecta. Open-label study in seven patients*. Joint Bone Spine, 2002; 69: 486-490.
- [14] Dodidou P., Bruckner T., Hosch S., Haass M., Klar E., Sauer P., Ziegler R., Leidig-Bruckner G.: *Better late than never? Experience with intravenous pamidronate treatment in patients with low bone mass or fractures following cardiac or liver transplantation*. Osteoporos. Int., 2003; 14: 82-89.
- [15] Bianco P., Gehron Robey P.: *Marrow stromal stem cells*. J. Clin. Invest., 2000; 105: 1663-1668.
- [16] Gajko-Galicka A.: *Próby zastosowania terapii genowej w dominującej chorobie tkanki łącznej-wrodzonej łamliwości kości*. Post. Bioch., 2003; 49: 18-25.