

TELMA PALOMO DE OLIVEIRA

**CONSIDERAÇÕES SOBRE O USO DOS BISFOSFONATOS INTRAVENOSOS
NO TRATAMENTO DA OSTEOGÊNESE IMPERFEITA**

Orientadora: Prof. Dra. Marise Lazaretti-Castro
Co-orientadora: Prof. Dra. Maria Cristina Andrade

Tese apresentada à Universidade
Federal de São Paulo – Escola Paulista
de Medicina, para obtenção do Título de
Doutora em Ciências pelo programa de
pós-graduação em Ciências da Saúde
Aplicadas à Endocrinologia.

**SÃO PAULO
2016**

Palomo, Telma

CONSIDERAÇÕES SOBRE O USO DOS BISFOSFONATOS INTRAVENOSOS NO TRATAMENTO DA OSTEOGÊNESE IMPERFEITA /Telma Palomo de Oliveira - São Paulo, 2016.

Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Endocrinologia. Disciplina de Endocrinologia, Departamento de Medicina, Escola Paulista de Medicina - Universidade Federal de São Paulo

Orientadora: Prof. Dra. Marise Lazaretti-Castro
Co-orientadora: Prof. Dra. Maria Cristina Andrade

Título em inglês: REMARKS ON THE USE OF INTRAVENOUS BISPHOSPHONATES FOR THE TREATMENT OF OSTEogenesis IMPERFECTA.

Descritores: 1. Osteogênese Imperfeita 2. Terapêutica 3. Bisfosfonatos 4. Função Renal 5. Fraturas 6. Densidade Óssea 7. Seguimento no longo prazo



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENDOCRINOLOGIA

TESE DE DOUTORADO

TELMA PALOMO DE OLIVEIRA

**CONSIDERAÇÕES SOBRE O USO DOS BISFOSFONATOS INTRAVENOSOS NO
TRATAMENTO DA OSTEOGÊNESE IMPERFEITA**

Presidente da banca: Prof. Dra Marise Lazaretti-Castro

BANCA EXAMINADORA

MEMBROS TITULARES:

Prof. Dr. Bruno Ferraz de Souza
Prof. Dr. Claudio Arnaldo Len
Prof. Dr. Cláudio Santili
Prof. Dr. Sergio Setsuo Maeda

MEMBROS SUPLENTE:

Prof. Dra. Débora Romeo Bertola
Prof. Dra. Elizabete Ribeiro Barros

*“Sonhe com o que você quiser.
Vá para onde você queira ir.
Seja o que você quer ser.
Tenha felicidade bastante para fazer a vida doce,
Dificuldades para fazê-la forte,
Tristeza para fazê-la humana
e esperança suficiente para fazê-la feliz.”*

(Clarice Lispector)

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Telmo e Irene, pelo amor incondicional
Pelo apoio constante e por serem exemplos de luta, amor
e esforço para tornarem seres melhores!*

*Aos queridos, Tia Maria e Tio Ney, pela confiança plena,
Pelo apoio em todos os momentos e pelo amor e carinho de sempre.*

*Ao meu amor, Guillermo,
Por dar sentido aos meus sonhos,
Por caminhar ao meu lado e me apoiar em tudo que me faz crescer
E, principalmente, por me fazer feliz!*

*Aos meus irmãos, cunhadas e sobrinhos, Rodrigo, Jivago,
Angélica, Kerannez, Livia e Miguel pelo amor, suporte e admiração.*

*E aos meus familiares e amigos que sempre acreditaram em mim
e admiraram meus objetivos e determinação.*

AGRADECIMENTOS

" Gratidão é a memória do coração "

Agradeço a Deus, pelo dom da vida, pela coragem de lutar, pelos amigos fiéis e pelos caminhos que se abriram nesta minha trajetória.

À minha orientadora, Prof. Dr^a. Marise Lazaretti-Castro, pelo exemplo de competência, pelas valiosas sugestões para o aprimoramento deste estudo e pelo constante estímulo aos novos desafios. Sou grata por sua contribuição para o meu crescimento pessoal, intelectual, profissional e pela sua generosidade e amizade.

Agradeço à minha co-orientadora, Prof. Dr^a. Maria Cristina Andrade, pelo apoio no desenvolvimento e execução desse estudo, pelos ensinamentos e amizade e por tornar viável a realização deste estudo no setor da Nefropediatria.

Ao Prof. Dr. Frank Rauch, *Director of Clinical Laboratories, Shriners Hospitals for Children/Canada and Associate Professor of Pediatrics of McGill University*, por me receber no Shriners Hospital, por compartilhar os seus conhecimentos, pela sua excelência em pesquisa e por me guiar no aprimoramento deste trabalho. Agradeço também por lapidar em mim o espírito de pesquisadora durante estes 2 anos de trabalho que estivemos juntos.

Ao Prof. Dr. Francis Glorieux, *Emeritus Director of Research Shriners Hospital for Children/Canadá*, pela receptividade e carinho durante os meus 2 anos no Canadá, por compartilhar comigo os seus valiosos conhecimentos e por me ensinar a importância do bom relacionamento médico-paciente. Sua paixão pela Osteogênese Imperfeita aumentou ainda mais o meu fascínio pelo conhecimento desta patologia.

Agradeço ao Prof. Dr. João Thomás Carvalhaes e ao grupo de médicos, enfermeiros e funcionários da Nefropediatria pela disponibilidade e auxílio na execução deste trabalho e pelo fornecimento do espaço físico para a realização das infusões do pamidronato.

Muito obrigada à Dra. Cynthia Brandão, com quem tive o privilégio de conviver nestes anos. Sua sensatez e doçura na transmissão do conhecimento tornou os nossos dias de ambulatório mais suaves.

Ao Dr. José Gilberto H. Vieira, pelas valiosas discussões estimulando sempre um raciocínio lógico e crítico.

Aos Professores Doutores Bruno Ferraz, Sergio Maeda, Claudio Len, Cláudio Santili, Elizabete Barros e Débora Bertola que aceitaram compor a banca examinadora da defesa, meu muito obrigada.

Agradeço aos amigos Bárbara Peters, Elizabete Barros, Sergio Maeda, Fernanda Weiler, Tatiane Vilaça, Patrícia Muszkat e Monique Ohe pela incansável e essencial contribuição pelo correto direcionamento desse estudo. Sua amizade, seus conselhos e afetuosa convivência foram imprescindíveis no enfrentamento das dificuldades desse trabalho. À minha amiga Josi, pelas orientações, boas energias e carinho prestado no final desta caminhada.

Aos amigos do grupo do Ambulatório de Doenças Osteometabólicas, Teresa, Patrícia Dreyer, Mariana Foroni, Mariana Adas, Henrique, Patrícia Baines, Letícia, Raquel, Naomi, Carol, Vanessa e Lívia pela amizade, apoio e ótima convivência.

Ao pesquisadores do *Shriners Hospital for Children*: Hadil, Michaela, Ana Cristina e Juliana. Conviver com vocês foi um imenso prazer!

Aos colegas e amigos do Setor de Radiologia, pela realização e análise dos exames radiológicos. Agradecimento especial à Fernanda Reis e ao Prof. Dr. Artur da Rocha Correia Fernandes pela disponibilidade e gentileza durante a realização do projeto.

Às funcionárias da endocrinologia, Wanda, Kátia, Ivonete, Tamires, Sérgio, Pedro, Ederson e especialmente à Geni, pela competência e proatividade na realização dos exames de imagem deste projeto.

À secretária Yeda Queiroga, pelas orientações e auxílio burocrático na Instituição.

Agradeço ao laboratório de análises clínicas do Hospital São Paulo. Agradecimento especial à minha querida amiga Rosani. Obrigada pelo profissionalismo, entusiasmo e amizade.

Agradeço ao laboratório de Endocrinologia pela realização dos marcadores do metabolismo ósseo. Agradecimento especial ao Giba que sempre me recebeu com carinho e profissionalismo.

Agradeço à Prof. Dra. Regina Moisés, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação, pelo apoio.

Sou grata à todos os docentes e secretárias da Disciplina Endocrinologia que de alguma forma contribuíram para essa conquista.

De maneira especial, gostaria de agradecer aos meus queridos pacientes e familiares que se dispuseram e acreditaram no novo protocolo de tratamento, submetendo-se à um acompanhamento médico minucioso. Além do bom relacionamento médico-paciente, um grande sentimento de amizade, carinho e boas recordações ficarão na memória.

À Mantecorp-Farmasa, em especial ao Matsumoto, pela gentileza de fornecer gratuitamente a vitamina D do nosso projeto.

Agradecimento Institucional

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro concedido.

À Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, por me acolher e permitir a realização deste projeto.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	v
AGRADECIMENTOS	vi
SUMÁRIO	ix
ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xii
LISTA DE FIGURAS	xiv
LISTA DE TABELAS	xiv
RESUMO	xv
ABSTRACT	xviii
1. INTRODUÇÃO	01
1.1. Definição e Cronologia da Osteogênese Imperfeita	02
1.2. Classificação da Osteogênese Imperfeita	02
1.3. Diagnóstico da Osteogênese Imperfeita	07
1.4. Fisiopatologia da Osteogênese Imperfeita	07
1.5. Tratamento da Osteogênese Imperfeita	10
1.6. Bisfosfonatos X Segurança Renal	17
1.7. Avaliação do Tratamento da OI no longo prazo	20
1.8. Justificativas	21
2. OBJETIVOS	24
2.1. Objetivo Geral 1	25
2.2. Obejetivo Específico 1	25
2.3. Objetivo Geral 2	25
2.4. Objetivos Específicos 2	25

3. RESULTADOS	26
3.1. Artigo 1	28
3.2. Artigo 2	35
4. DISCUSSÃO	43
5. CONCLUSÕES	54
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
7. ANEXOS	67
7.1. Anexo 1 Termo de Consentimento e Assentimento	68
7.2. Anexo 2 Aprovação do Comitê de Ética	76
7.3. Anexo 3 Tabelas com Banco de Dados	78
7.3.1.1. TABELA 1	79
7.3.1.2. TABELA 2	80
7.3.1.3. TABELA 3	81
7.3.1.4. TABELA 4	82
7.3.1.5. TABELA 5	83
7.3.1.6. TABELA 6	84
7.3.1.7. TABELA 7	85
7.3.1.8. TABELA 8	86
7.3.1.9. TABELA 9	87
7.3.1.10. TABELA 10	88
7.3.1.11. TABELA 11	89
7.3.1.12. TABELA 12	90
7.3.1.13. TABELA 13	91
7.3.1.14. TABELA 14	92
7.3.1.15. TABELA 15	93

7.3.1.16. TABELA 16	94
7.3.1.17. TABELA 17	95
7.3.1.18. TABELA 18	96
7.3.1.19. TABELA 19	98
7.3.1.20. TABELA 20	100
7.3.1.21. TABELA 21	102
7.3.1.22. TABELA 22	104
7.3.1.23. TABELA 23.....	106
7.3.1.24. TABELA 24.....	108
8. APÊNDICES – OUTRAS PUBLICAÇÕES	110
8.1. APÊNDICE I	111
8.2. APÊNDICE II.....	112
8.3. APÊNDICE III	113
8.4. APÊNDICE IV	114
8.5. APÊNDICE V	115
8.6. APÊNDICE VI	116
8.7. APÊNDICE VII	117
8.8. APÊNDICE VIII.....	118
8.9. APÊNDICE IX	119
8.10. APÊNDICE X	120
8.11. APÊNDICE XI	121

ABREVIATURAS E SIGLAS

ASCO *American Society of Clinical Oncology*

BMP1 *Bone Morphogenetic Protein 1*

BRIL *Bone restricted ifitm-like protein*

CL Coluna lombar

cm² centímetro quadrado

cm³ centímetro cúbico

CRTAP *Cartilage associated protein*

CTX Fragmento sérico carboxi-terminal do colágeno 1

CyPB *Cyclophilin B*

dL decilitro

DMO Densidade mineral óssea

DP Desvio-Padrão

DXA Densitometria óssea

FDA *Food and Drug Administration*

FKBP10 *FK506-binding protein 10*

FKBP65 *65 kDa FK506-binding protein*

g grama

h hora

HSP47 *Heat shock protein 47*

IMC Índice de massa corpórea

IFTM5 *Interferon-induced transmembrane protein 5*

kg quilograma

l litro

LEPRE1 *Leucine proline-enriched proteoglycan (Leprecan)*

LRP5 *Low density lipoprotein receptor related protein 5*

m² metro quadrado

mg miligrama

mL mililitro

mmHg milímetro de mercúrio

mmol milimol

ng nanograma

PM Protocolo modificado

PP Protocolo padrão

OI Osteogênese imperfeita

P1NP Propeptídeo N-terminal do pro-colágeno tipo 1

P3H1 *Prolyl 3-hydroxylase 1*

PEDF *Pigment epithelium derived factor*

PTH Paratormônio

pQCT *High-resolution peripheral quantitative computed tomography*

RX Radiografia convencional

SERPINF1 *serpin F1 (serpin family of peptidase inhibitors)*

SUS Sistema Único de Saúde

TFG Taxa de Filtração Glomerular

TGF- β *Transforming growth factor beta*

UNIFESP Universidade Federal de São Paulo

USG Ultrassonografia

WNT1 *Wingless-type MMTV integration Site Family, Member 1*

Z-score o quanto uma medida se afasta da média em termos de Desvios Padrão

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Biossíntese e proteínas envolvidas no mecanismo pós-translacional do pró-colágeno tipo I no retículo endoplasmático do osteoblasto

Figura 2. Estrutura química e mecanismo de ação dos Bisfosfonatos

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação da Osteogênese Imperfeita (OI)

Tabela 2. Descrição dos vários trabalhos encontrados na literatura, que avaliaram diferentes bisfosfonatos no tratamento de crianças com OI

Introdução: A Osteogênese Imperfeita é uma doença hereditária do tecido conjuntivo, caracterizada por baixa massa óssea, fragilidade óssea e deformidades esqueléticas. A terapia com bisfosfonatos intravenosos, especialmente o Pamidronato, tem sido amplamente utilizada para o tratamento de crianças e adolescentes com formas moderadas a graves da doença. O protocolo padrão de tratamento recomenda que as infusões do pamidronato intravenoso devam ser realizadas em infusões diárias de 4 horas, durante 3 dias, com intervalos que variam de 2 a 4 meses, de acordo com a faixa etária. Além disso, ainda existem muitas lacunas relacionadas à segurança e eficácia da droga no longo prazo. **Objetivos:** Analisar os seguintes aspectos específicos do tratamento da OI com bisfosfonatos intravenosos: **1-** Avaliar segurança e eficácia de um protocolo simplificado com pamidronato. **2-** Descrever os efeitos do tratamento com bisfosfonatos intravenosos no longo prazo. **Sujeitos e Métodos:** **1-** Estudo prospectivo em 18 pacientes com diagnóstico clínico de OI tipo I, III e IV (OI tipo I, n=9; OI tipo III, n=4; OI tipo IV, n=5), atendidos no Ambulatório de Fragilidades Ósseas do Hospital São Paulo, UNIFESP, tratados com pamidronato intravenoso em dose única de 2 mg/Kg de peso corporal, administrada ao longo de 2 horas, a cada 4 meses, durante 1 ano. Dosagens de creatinina, sódio, potássio, cálcio e fósforo séricos, microalbuminúria e volume urinário, além da taxa de filtração glomerular (TFG), foram realizadas ao longo de uma semana após cada infusão. Ultrassonografia (USG) renal, densitometria óssea (DXA) e radiografias (RX) foram realizadas durante o estudo. Os dados de segurança renal e eficácia deste grupo foram comparados com controles históricos do protocolo padrão que utilizavam o pamidronato intravenoso, na dose de 1mg/Kg/dia ao longo de 4 horas, durante 3 dias consecutivos, a cada 4 meses. **2-** Estudo retrospectivo, que incluiu 37 crianças com diagnóstico de OI tipos I, III e IV (OI tipo I, n=1; OI tipo III, n=14; OI tipo IV, n=22), que foram atendidas no *Shriners Hospital for Children* em Montreal, no Canadá, e que iniciaram o tratamento com bisfosfonatos intravenosos antes dos 5 anos de idade, que tiveram um seguimento clínico de pelo menos 10 anos (mediana de 14,8 anos) e que receberam tratamento com pamidronato ou ácido zoledrônico intravenoso por pelo menos 6 anos, durante o período de crescimento. Parâmetros antropométricos, densitométricos, clínico-

cirúrgicos, além dos marcadores do remodelamento ósseo, foram avaliados ao longo do seguimento. **Resultados:** **1-** Os participantes do protocolo modificado (PM) tiveram um discreto aumento transitório da creatinina sérica entre 8 e 24 horas após a administração do pamidronato, que retornaram aos valores basais 7 dias após a infusão. Ao final do estudo, entretanto, a média da creatinina sérica foi semelhante à inicial (Inicial: $0,40 \pm 0,13$ mg/dl Final: $0,41 \pm 0,11$ mg/dl; $p=0,79$). Não houve diferença entre as variações de creatinina sérica observadas no PM quando comparadas às observadas no protocolo padrão (PP) (PM: $+2\% \pm 21\%$; PP: $-3\% \pm 8\%$; $p=0,32$). As concentrações de cálcio e fósforo séricos diminuíram igualmente em ambos os protocolos durante a primeira infusão do pamidronato. O Z-score da densidade mineral óssea (DMO) da coluna lombar (CL) melhorou de maneira semelhante nos 2 protocolos (PM: de $-2,7 \pm 1,5$ para $-1,8 \pm 1,4$ e PP: de $-4,1 \pm 1,4$ para $-3,1 \pm 1,1$; $p=0,68$). **2-** Durante o período de estudo observado, a média do Z-score da DMO da coluna lombar aumentou de $-6,6 \pm 3,1$ para $-3,0 \pm 1,8$ ($p < 0,001$) e o Z-score do peso aumentou de $-2,3 \pm 1,5$ para $-1,7 \pm 1,7$ ($p=0,008$). Na última visita, os pacientes com OI tipo IV tiveram um aumento significativo do Z-score da altura quando comparados com o grupo controle de pacientes com OI que nunca foram tratados com bisfosfonatos, pareados por idade, sexo e tipo de OI. Os pacientes mantiveram uma mediana de 6 fraturas de fêmur e 5 fraturas de tíbia durante o período de seguimento. No basal, 35% das vértebras tinham fraturas por compressão vertebral, enquanto que somente 6% das vértebras apresentaram fraturas na última avaliação ($p<0,001$), indicando uma recuperação das alturas vertebrais com o tratamento. Apesar disto, 43% dos pacientes necessitaram de cirurgia corretiva para escoliose. **Conclusões:** **1-** O protocolo modificado com pamidronato intravenoso em infusões mais rápidas (em 1 único dia e ao longo de 2 horas) para o tratamento de crianças e adolescentes com OI não provocou deterioração da função renal e mostrou um ganho na DMO de coluna lombar no período avaliado, com resultados semelhantes ao protocolo padrão. **2-** O tratamento com bisfosfonatos intravenosos no longo prazo foi associado a um aumento no Z-score da DMO da coluna lombar, a uma melhora significativa das fraturas vertebrais e do Z-score do peso. Nos pacientes com OI tipo IV, um benefício adicional pôde ser visto sobre o Z-score da altura. Entretanto, as taxas de fraturas de ossos longos permaneceram elevadas e, em alguns pacientes, houve progressão da escoliose.

ABSTRACT

Introduction: Osteogenesis imperfecta (OI) is a heritable connective tissue disorder that is mainly characterized by bone fragility, low bone mass and bone deformities. The intravenous bisphosphonate therapy, particularly the pamidronate, has been used widely for the treatment of children with moderate to severe OI. In the standard protocol, pamidronate is given over 4 h on 3 successive days. These infusion cycles are repeated every 2 to 4 months (according to the age group). In addition, many knowledge gaps remain in particular regarding long-term safety and efficacy of bisphosphonate treatment. **Objectives:** Evaluate the following specific aspects of intravenous bisphosphonate therapy in OI patients: **1-** evaluated safety and efficacy of a simpler protocol with pamidronate. **2-** Describe the long-term treatment outcomes with intravenous bisphosphonate. **Patients and Methods:** **1-** This was a prospective study and comprised 18 patients with a clinical diagnosis of OI type I (n=9), III (n=4) and IV (n=5), who were seen in the Bone Fragility Clinic from the São Paulo Hospital, UNIFESP; patients received intravenous pamidronate infusion in a single dose of 2 mg per kg body weight over a 2-h period, every 4 months during 1 year. Biochemical profile, including serum levels of creatinine, sodium, potassium, calcium, phosphorus, microalbuminuria, urine volume and glomerular filtration rate (GFR) were performed during 1 week every each infusion. Kidney ultrasound, bone densitometry and X-ray films were performed during the study. The safety and efficacy data from this group were compared to historic controls, treated with standard protocol that received pamidronate treatment intravenously over 4 h at a dose of 1 mg per kg body weight on 3 consecutive days. Cycles were repeated every 4 months. **2-** Restrospective chart review study reviewed 37 children with OI (OI type I, n=1; OI type III, n=14; and OI type IV, n=22) who were followed at the Shriners Hospital for Children–Canada, in Montreal and who started intravenous bisphosphonate therapy before 5 years of age and who had a subsequent follow-up period of at least 10 years (median 14.8 years), during which they had received intravenous pamidronate or zoledronic acid treatment for at least 6 years during growth. Anthropometry, lumbar spine densitometry, clinical-surgical parameters and markers of bone metabolism were performed during the follow-up period.

Results: 1- The participants of the modified protocol had a mild transient post-infusion increases in serum creatinine between 8 and 24 hours after intravenous pamidronate infusion but it was recovered to baseline value 7 days after each infusion. At the end of the study, mean serum creatinine levels remained similar from baseline (baseline: 0.40 ± 0.13 mg/dl end of study: 0.41 ± 0.11 mg/dl; $p=0.79$). The two protocols led to similar changes in serum creatinine during the first pamidronate infusion (modified protocol: $+2 \% \pm 21 \%$; standard protocol: $-3 \% \pm 8 \%$; $p= 0.32$). Serum calcium and phosphorus decreased similarly in both protocols during the first 24 h of the first pamidronate infusion. Areal lumbar spine bone mineral density Z-scores increased similarly in both protocols (from -2.7 ± 1.5 to -1.8 ± 1.4 with the modified protocol, and from -4.1 ± 1.4 to -3.1 ± 1.1 with standard protocol, $p= 0.68$) **2-** During the observation period, the mean lumbar spine areal bone mineral density Z-score (LS-aBMD) increased from -6.6 ± 3.1 to -3.0 ± 1.8 ($p<0,001$), and weight Z-score increased from -2.3 ± 1.5 to -1.7 ± 1.7 ($p=0.008$). At the time of the last assessment, patients with OI type IV had significantly higher height Z-scores than a control group of patients matched for age, gender, and OI type. Patients had a median of six femur fractures and five tibia fractures during the follow-up period. At baseline, 35% of vertebra were affected by compression fractures, whereas only 6% of vertebra appeared compressed at the last evaluation ($p< 0.001$), indicating vertebral reshaping during the treatment. Nevertheless, 43% of the patients needed spinal fusion surgery for scoliosis treatment. **Conclusions: 1-** The modified pamidronate protocol with a shorter infusion (single dose, over 2-h period) for the treatment of children and adolescents with OI did not led to impairment in the renal function and showed an increase in LS-aBMD during the follow-up period, with similar effects on bone density as the standard pamidronate protocol. **2-** The long-term intravenous bisphosphonate therapy was associated with higher Z-scores for lumbar spine areal bone mineral density, an improvement in vertebral reshaping and in the weight Z-score. In the patients with OI type IV, an additional benefit could be seen on height Z-score. However, long-bone fracture rates were still high and some patients developed scoliosis progression.

1. INTRODUÇÃO

1.1 - Definição e Cronologia da Osteogênese Imperfeita

A Osteogênese Imperfeita (OI) é uma doença hereditária do tecido conjuntivo que é caracterizada por baixa massa óssea, fragilidade óssea e deformidades esqueléticas. Baixa estatura, esclera azulada, hiperextensibilidade de pele e ligamentos, e presença de dentinogênese imperfeita são alterações típicas. A incidência e prevalência da OI varia entre os estudos, porém a incidência de 1 para 10 mil nascidos vivos é a que mais tem sido descrita. A prevalência é um pouco menor se levarmos em consideração as mortes perinatais das formas mais graves da doença (1).

A OI foi descrita pela primeira vez em 1788 após a publicação da tese de Olaus Eckman descrevendo casos de fragilidade óssea familiar. Em 1983, o livro *The Brittle Bone Syndrome – Osteogenesis Imperfecta*, foi publicado por Roger Smith, Martin Francis e Gregory Houghton num centro ortopédico de Oxford na Inglaterra (1). Neste momento a classificação da doença era somente baseada nas características esqueléticas e na idade de início das fraturas (2), sendo subdividida em OI congênita e OI tarda. A OI congênita incluía indivíduos que nasciam com fraturas e a OI tarda incluía aqueles que tinham fraturas após o nascimento. A OI tarda foi subdividida em 2 tipos: *gravis*, se as fraturas ocorressem no primeiro ano de vida e *levis* se ocorressem após o primeiro ano de vida (3).

1.2 - Classificação da Osteogênese Imperfeita

Em 1979, Sillence, Rimoin and Danks utilizaram o critério clínico, radiológico e genético para diferenciar os 4 grupos de pacientes com OI, criando a classificação mundialmente conhecida de OI tipos I a IV (4). Posteriormente esta classificação foi expandida e atualmente mais de 15 tipos de OI têm sido descritos (Tabela 1) (1).

A OI tipo I inclui pacientes com doença leve e ausência de deformidades ósseas maiores. Entretanto, fraturas vertebrais são típicas e podem levar à escoliose. A OI tipo II é letal no período perinatal devido às múltiplas fraturas de costelas que podem levar à falência respiratória. A OI tipo III é a forma mais grave em crianças que sobrevivem ao período neonatal. Baixa estatura, deformidades da

coluna e deformidades de membros superiores e inferiores secundárias às múltiplas fraturas são manifestações clínicas comuns da doença. A OI tipo IV inclui pacientes com baixa estatura de grau variável e deformidades leves a moderadas (5). A OI tipo V é caracterizada por fragilidade óssea moderada a grave. Tem um padrão de herança autossômica dominante, com mutação na *IFTM5* (*interferon-induced transmembrane protein 5*). A presença de membrana interóssea calcificada e uma biópsia óssea com padrão “*mesh-like*” são características da doença, além da predisposição ao calo hiperplásico após fraturas ou cirurgias (6).

A OI tipo VI também é caracterizada por fragilidades moderadas a graves. Baseado nos achados histológicos apresenta um padrão “*fish-scale*” (perda da disposição normal das lamelas visto sob a luz polarizada) com maior quantidade de tecido osteóide do que a biópsia óssea de um indivíduo normal. O modo de herança autossômico recessivo, com perda de função na *SERPINF1* (*serpin family of peptidase inhibitors*) foi recentemente descrito (7). A *SERPINF1* codifica o PEDF (*Pigment epithelium derived factor*) que é uma proteína com função anti-angiogênica que inibe o crescimento de tumores e metástases e que se liga ao colágeno tipo I. Os níveis séricos de PEDF estão ausentes em pacientes com OI tipo VI. Já nos pacientes com OI tipo V e naqueles com mutações no gene do colágeno (*COL1A1* e *COL1A2*) os níveis séricos de PEDF são normais. A OI tipo VII tem um padrão de herança autossômico recessivo e foi descrita em indivíduos do norte da província de Quebec no Canadá. Rizomielia e coxa vara podem estar presentes desde a infância e nestes casos a mutação afeta a proteína *CRTAP* (*cartilage associated protein*), que possui um papel importante no mecanismo pós-translacional do colágeno tipo I (8). A OI tipo VIII foi descrita em sul-africanos, com displasia óssea grave à letal e a mutação encontrada é no gene *Lepre 1*, regulador da expressão da proteína prolil-3-hidroxilase I (*P3H1*), que atua juntamente com o *CRTAP* no mecanismo pós-translacional do colágeno (9).

Recentemente foram descritas novas causas de OI autossômicas recessivas, tais como, disfunções ou ausência nos chaperones *HSP47* (*heat shock protein 47*) e *FKBP65* (*65 kDa FK506-binding protein*), codificado pelo gene *FKBP10* (*FK506-binding protein 10*), causando formas graves de OI. A *HSP47* é uma proteína da família das proteínas *heat shock* que exercem a função de chaperones moleculares, isto é, fazem o transporte de moléculas do retículo endoplasmático para o complexo

de Golgi. A mutação nessas proteínas altera este transporte causando o “*stress*” do retículo endoplasmático. Nas mutações descritas em humanos a quantidade da proteína HSP47 está reduzida nas células e a estabilidade da mesma está alterada. Estudos em vivo mostraram um atraso na secreção do colágeno tipo I nestes pacientes quando comparado com o controle. A FKBP65 pertence à família da imunofilinas e está situada no retículo endoplasmático. A atividade enzimática da FKBP65 tem efeitos marginais no entrelaçamento da tripla hélice do colágeno tipo I. Em 2010 os primeiros casos de OI com mutação na FKBP65 foram descritos, com fenótipos moderados a graves e herança autossômica recessiva. Recentemente, foi descrita uma outra forma recessiva de OI, a mutação no gene da BMP1. A BMP1 é uma protease que faz a clivagem da região carboxi-terminal do pró-colágeno tipo I. Mutações no BMP1 alteram a clivagem do C-propeptídeo do pró-colágeno tipo I e causam OI com alta massa óssea e acometimento leve da doença. Três relatos recentes descreveram mutação inativadora no gene do WNT1 (*wingless-type MMTV integration Site Family, Member 1*) em associação com herança autossômica recessiva e com expressão fenotípica de OI variável (1). Vale ressaltar que, mutações heterozigóticas na WNT1 causam osteoporose enquanto mutações homozigóticas causam OI.

Portanto, podemos dizer que nos últimos anos houve um grande avanço na descoberta de novos genes envolvidos na fisiopatologia da OI, sendo os defeitos autossômicos dominantes da estrutura ou síntese do colágeno tipo I os responsáveis pela maioria dos casos; já as formas mais raras (maioria recessiva) causadas por defeitos nos genes dos quais os produtos proteicos interagem com o mecanismo pós-translacional do colágeno ficam reservadas para uma minoria de pacientes. Vale ressaltar que, atualmente, a identificação das mutações é essencial para um aconselhamento genético adequado (10).

Tabela 1. Classificação da Osteogênese Imperfeita (OI)

Herança	Tipos de OI	Gene	Proteína	Mecanismo (defeito)
Autossômica dominante 85 – 90% casos de OI	OI I	COL1A1	Cadeia $\alpha 1$ do colágeno	Quantidade de colágeno diminuída
	OI II	COL1A1 ou COL1A2	Cadeia $\alpha 1/\alpha 2$ do colágeno	Alteração na estrutura do colágeno
	OI III	COL1A1 ou COL1A2	Cadeia $\alpha 1/\alpha 2$ do colágeno	
	OI IV	COL1A1 ou COL1A2	Cadeia $\alpha 1/\alpha 2$ do colágeno	
	OI V	IFTM5	BRIL	Matriz de Mineralização
Autossômica Recessiva 10 – 15% casos de OI	OI VI	SERPINF1	PEDF	
	OI VII	CRTAP	CRTAP	3-hidroxilação do colágeno
	OI VIII	LEPRE 1	P3H1	
	OI IX	PPIB	CyPB	
	OI X	SERPINH1	HSP47	Colágeno chaperone
	OI XI	FKBP10	FKBP65	Hidroxilação do telopeptídeo
	OI XII	BMP1	BMP1 / mTLD	Formação do colágeno
	Não Classificada	SP7/OSX	SP7 / OSTERIX	Desenvolvimento do osteoblasto
		WNT1	WNT1	
		TMEM38B	TRIC-B	
		CREB3L1		

Abreviaturas: OI, Osteogênese Imperfeita; COL1A1, cadeia $\alpha 1$ do colágeno tipo I; COL1A2, cadeia $\alpha 2$ do colágeno tipo I, BRIL (*Bone restricted ifitm-like protein*); PEDF (*Pigment epithelium derived factor*); CRTAP (*Cartilage associated protein*); P3H1 (*Prolyl 3-hydroxylase 1*); CyPB (*Cyclophilin B*); HSP47 (*Heat shock protein 47*); FKBP65 (*65 kDa FK506-binding protein*);

Continuação Tabela 1

BMP1 (*Bone morphogenetic protein 1*); mTLD (*Mammalian tolloid protein*); SP7/OSTERIX (*Sp7 transcription factor*); WNT1 (*wingless-type MMTV integration Site Family, Member 1*); TMEM38B (*Transmembrane Protein 38B*); TRICB (*Trimeric Intracellular Cation Channel Type B*); CREB3L1 (*CAMP Responsive Element Binding Protein 3-Like 1*) (10).

1.3 - Diagnóstico da Osteogênese Imperfeita

O diagnóstico de OI é baseado principalmente nos sinais e sintomas descritos acima. Ele é fácil em indivíduos com fenótipo clássico e história familiar positiva ou naqueles em que várias fraturas típicas estão presentes; mas pode ser difícil na ausência de história familiar e quando a fragilidade óssea não está associada com alterações extraesqueléticas óbvias. Nestes casos a análise genética do DNA está indicada, sendo mais sensível do que a biópsia de pele com cultura de fibroblastos (95% e 90% de sensibilidade respectivamente). Resultados positivos confirmam o diagnóstico, mas resultados negativos não o afastam (11). O estudo genético em um caso índice deve iniciar com o sequenciamento dos genes COL1A1 e COL1A2 visando a identificar substituições, deleções, inserções ou duplicações no gene do colágeno. Se a análise do colágeno for normal, deve-se sequenciar os outros genes relacionados com as formas recessivas da doença. Com esta abordagem, aproximadamente 98% dos pacientes terão um diagnóstico genético (12).

Os diagnósticos diferenciais de OI incluem: Síndrome de Bruck, Síndrome da Osteoporose-pseudoglioma, Displasia Fibrosa Polioestótica, Hiperfosfatase idiopática, Hipofosfatase, Síndrome de Cole-Carpenter, Osteoporose Juvenil Idiopática, Síndrome de Munchausen e Síndrome da criança espancada ou maltratada (Síndrome de Caffey) (5).

1.4 - Fisiopatologia da Osteogênese Imperfeita

Dentre os quase 20 tipos de colágeno, o colágeno tipo I é a principal proteína estrutural dos ossos, ligamentos e tendões. Consiste em 3 cadeias polipeptídicas, sendo duas cadeias alfa 1 (COL1A1) e uma cadeia alfa 2 (COL1A2), que se entrelaçam sobre si mesmas formando uma estrutura de tripla-hélice. Para que as 3 cadeias se entrelacem corretamente, elas devem ter um resíduo de glicina na terceira posição. Cada cadeia tem uma sequência primária que é composta de 338 repetições ininterruptas de tripeptídeos Gly-Xaa-Yaa, na qual Gly é glicina, Xaa e Yaa são frequentemente prolina e hidroxiprolina (5). O que mantém as três cadeias unidas são as pontes de hidrogênio formadas a partir da hidroxiprolina. O

entrelaçamento se dá pela formação de pontes dissulfeto a partir de resíduos de cisteínas muito presentes nas extremidades amino e carboxiterminais do pró-peptídeo e as ligações cruzadas são formadas para manter o polímero de colágeno unido a partir dos radicais glicosilados. O colágeno tipo I sofre, ainda, modificações pós-translacionais no retículo endoplasmático durante a síntese das cadeias e formação da tripla-hélice.

A maioria dos indivíduos com OI tem um defeito na estrutura ou no mecanismo de síntese do colágeno tipo I. Mutações no colágeno tipo I estão associadas com OI tipo I-IV, que são transmitidas por padrão de herança autossômica dominante. Estas mutações são resultados de várias substituições de pontos, deleções e inserções nos genes do COL1A1 e COL1A2. O defeito estrutural mais comum do colágeno é a substituição de um dos resíduos de glicina por um outro aminoácido maior, induzindo uma falha no entrelaçamento da tripla-hélice, tornando-a mais frágil e mais suscetível às modificações enzimáticas pós-translacionais.

Também têm sido descritas como causas de OI alterações no sistema de modificação pós-translacional do colágeno (Figura 1), como, por exemplo, a 3-hidroxilação dos resíduos de prolina na sequência Pro-4Hyp-Gly. A prolyl-3-hidroxilase I (P3H1) forma um complexo ternário com a proteína associada à cartilagem (CRTAP) e com a ciclofilina B (CyPB). A P3H1 é o componente cataliticamente ativo, enquanto a CRTAP é uma proteína auxiliadora neste complexo. A CyPB é uma peptidil-prolil isomerase que é fator limitante para o entrelaçamento do colágeno. Mutações no CRTAP causam OI tipo VII enquanto mutações no gene LEPRE1 (codificador da P3H1) resultam em OI tipo VIII; ambas com acometimento grave a letal (13).

1.5 - Tratamento da Osteogênese Imperfeita

O acompanhamento multidisciplinar dos pacientes com OI é de fundamental importância para diminuir o risco de fraturas, corrigir deformidades, melhorar a mobilidade, diminuir a dor, melhorar a qualidade de vida dos pacientes e orientar o paciente e seus familiares quanto ao manejo da doença. Esta abordagem multidisciplinar engloba desde cuidados ortopédicos a tratamento medicamentoso, fisioterapia e reabilitação (15).

Vale ressaltar que, além das manifestações esqueléticas, outros órgãos podem estar envolvidos, tais como, coração, vasos sanguíneos, ouvido, pulmão, olhos, pele, tendões e ligamentos, sendo recomendado uma avaliação inicial da função cardíaca através de um ecocardiograma e uma audiometria a partir da segunda década de vida (1). Suporte psicossocial e educacional pode ser necessário nos casos mais graves da doença na tentativa de auxiliar os pacientes e seus familiares a superar os desafios apresentados ao longo da vida (16).

No tratamento da fratura é importante reduzir imobilizações prolongadas, visando a minimizar a osteopenia do desuso e a fraqueza muscular. A fixação com placas e parafusos deve ser evitada devido ao risco aumentado de fraturas secundárias. Pacientes com deformidades progressivas dos ossos longos e escoliose grave devem ser avaliados por cirurgiões experientes em OI. A osteotomia com colocação de haste intramedular deve ser sempre considerada na tentativa de alinhar e corrigir as deformidades de ossos longos. Vale lembrar que, as hastes telescópicas requerem menores índices de reoperações e seguimento. A cirurgia corretiva de escoliose, ou seja, tração seguida de estabilização da coluna, tem se provado útil para estabilizar e até reduzir a curva escoliótica; consequentemente reduzir a dor e melhorar a função respiratória do paciente. O uso de colete ortopédico para corrigir a escoliose tem resultados controversos, podendo afetar negativamente a função respiratória do paciente, sem prevenir a progressão da escoliose. Nos pacientes que apresentam invaginação basilar, a cirurgia descompressiva occipitocervical pode ser necessária (17).

Os programas de reabilitação consistem em avaliações regulares do desenvolvimento motor, mobilidade e auto-cuidado, além de medidas de força dos membros superiores e inferiores. Em bebês as intervenções consistem em

exercícios de posicionamento, controle da cabeça e do tronco e treinamento para permanecer na posição sentada sem auxílio. A educação e orientação dos pais e familiares é muito importante para minimizar a superproteção e facilitar a realização dos exercícios a nível domiciliar. Uma vez que o controle da cabeça e tronco foi alcançado, o foco da reabilitação é a mobilidade no chão, como exercícios para rolar, rastejar e sentar. Hidroterapia e colocação de peso gradual nos membros inferiores também fazem parte do processo de reabilitação. Estimular a ambulação, geralmente 5 dias após a retirada do gesso; fortalecimento dos músculos de extremidades superiores e inferiores e alongamento das contraturas são práticas realizadas por fisioterapeutas. Nas crianças mais velhas as orientações baseiam-se na prática de autocuidado e na habilidade de transferência para várias superfícies (18).

Montpetit e cols (18) mostrou recentemente que pacientes com OI tipo IV geralmente alcançam independência em autocuidado, além de ter mobilidade geral preservada e deambular na comunidade. Já os indivíduos com OI tipo III apresentaram menores escores em autocuidado e mobilidade. Os autores observaram que as deformidades e fraturas de membros superiores foram o fatores limitantes para alcançar independência em higiene pessoal, transferências mais complexas e independência na vida cotidiana.

Desde a descoberta do uso sistemático de pamidronato de sódio com infusões intermitentes houve diminuição do número de fraturas, redução das deformidades, melhora da mobilidade, diminuição da dor e melhora da qualidade de vida dos pacientes com OI (5). Muitos estudos de diferentes grupos do mundo têm relatado sua experiência com bisfosfonatos e têm mostrado um aumento significativo na DMO areal da coluna lombar medida pela densitometria óssea após o início do tratamento com bisfosfonato intravenoso (Tabela 2) (19-30)

O tratamento com bisfosfonatos em OI altera a estrutura dos ossos por aumentar a largura do mesmo, diminuir a porosidade cortical, reduzir a reabsorção óssea endosteal, aumentar a espessura da cortical e reduzir a reabsorção do material trabecular na metáfise. Além disso, melhora a morfologia da vértebra. O balanço reabsorção e formação óssea é alterado em favor da formação, resultando em uma massa óssea aumentada com melhora da arquitetura (1). Adicionalmente ocorre uma redução na dor óssea, que permite um aumento na estimulação

mecânica do osso, favorecendo o anabolismo. O típico aumento de 3 à 5 % na DMO da coluna vertebral é desproporcionalmente pequeno quando comparado com a redução no risco de fraturas, de aproximadamente 50% (1).

Os bisfosfonatos compõem um dos mais bem estudados grupos de medicamentos. O seu perfil de segurança é muito bom, por sua alta afinidade pelo tecido ósseo; e recentemente várias revisões que discutem aspectos de segurança têm sido publicadas (31-33).

A terapia com bisfosfonatos intravenosos tem sido amplamente utilizada por mais de 15 anos em crianças com OI moderada a grave e atualmente já é considerada uma terapia padrão (34,35). Os bisfosfonatos são potentes agentes antirreabsortivos, que inibem a função dos osteoclastos. Sua estrutura química se assemelha ao pirofosfato, o que explica a sua elevada afinidade por superfícies ósseas mineralizadas. Mais de 12 tipos de bisfosfonatos já foram testados em humanos e, do ponto de vista clínico, podem ser divididos de acordo com sua via de administração em orais e intravenosos (36).

O uso destas drogas em OI e outras doenças pediátricas se tornou amplamente difundida após a publicação, em 1998, de uma série de crianças e adolescentes com OI, que foram tratados com pamidronato intravenoso cíclico (19). Apesar da qualidade do novo osso ser a mesma, o benefício está em induzir uma maior resistência mecânica, devido ao aumento da massa óssea. O racional inicial para se utilizar uma medicação antireabsortiva (anti-osteoclástica) em uma doença osteoblástica, como a OI, foi de diminuir a atividade de reabsorção óssea e compensar a fraqueza das células formadoras de osso.

Dentre os bisfosfonatos, o pamidronato de sódio é o bisfosfonato mais utilizado na população pediátrica. Atualmente, outros estudos têm descrito o uso de outros bisfosfonatos nesta população, porém, com menos dados de eficácia e segurança do que o pamidronato intravenoso (1).

A administração intravenosa cíclica de pamidronato é a terapia mais utilizada para tratar crianças com OI nas formas moderadas e graves. O pamidronato é administrado periodicamente, em intervalos que variam de 2 a 4 meses, a depender da idade da criança. Em cada ciclo, o pamidronato é, frequentemente, administrado ao longo de 4 horas por 3 dias consecutivos (5). No protocolo original mais utilizado, isto corresponde a uma dose anual de 9 mg por kilograma de peso (5). Outros

protocolos previamente descritos consistem em infusões mensais e doses ajustadas pela superfície corpórea (23,30,37). A reabsorção óssea diminui imediatamente após a primeira infusão e os marcadores de formação também diminuem (20,38). Relatos de casos descrevem um bem estar e diminuição da dor crônica após 1 a 2 semanas do início do tratamento (22). A massa óssea e densidade mineral óssea aumentam rapidamente nos meses que se seguem ao início da terapia (23). A espessura da cortical medida pela biópsia óssea também aumenta (39). Radiograficamente, os ciclos de pamidronato formam uma banda esclerótica na metáfise dos ossos longos, que podem contribuir para aumentar a força dos ossos (40).

A taxa de fraturas em crianças tratadas com bisfosfonatos é difícil de ser avaliada, podendo ocorrer até um aumento transitório no número de fraturas, o que tem sido atribuído ao aumento na mobilidade do paciente consequente ao tratamento. Entretanto uma diminuição global na taxa de fraturas tem sido demonstrado após a terapia com bisfosfonatos, quando comparado com controles históricos (19). As compressões dos corpos vertebrais melhoraram quando o tratamento foi feito durante o período de crescimento (41). Os pacientes com OI tipo I, III e IV mostraram uma melhora significativa no Z-score de altura após os quatro anos da terapia com pamidronato (42). A força muscular medida pela força de preensão isométrica máxima no braço não dominante aumentou significativamente após o início da terapia com pamidronato (43). Quando o pamidronato é iniciado precocemente na infância, leva a uma melhora significativa da ambulação. Parece não existir correlação entre o tipo de mutação no colágeno tipo 1 e a resposta ao tratamento com bisfosfonatos (44) e a melhora mais evidente ocorreu nos primeiros 2 anos da terapia (45). Um estudo controlado em pacientes pré-púberes com OI que receberam neridronato intravenoso, um bisfosfonato semelhante ao pamidronato, mostrou resultados semelhantes ao pamidronato (46). Estudos observacionais têm mostrado resultados encorajadores com o uso de ibandronato intravenoso (47). O ácido zoledrônico é o mais novo bisfosfonato intravenoso que tem sido utilizado em alguns estudos (48,49).

Tabela 2. Descrição dos vários trabalhos encontrados na literatura, que avaliaram diferentes bisfosfonatos no tratamento de crianças com OI

Medicamento	Tipo de OI	n	Via de Administração	Seguimento (anos)	Efeitos	Incidência de Fraturas	Referência
Pamidronato	Não Relatado	1	VO	1	↑ DMO CL□□	2 em 1 ano	Devogelaer e cols (2009)
Pamidronato	Grave	3	IV	2 - 5	↑ DMO CL	Não Relatado	Astrom e cols (1998)
Pamidronato	Grave	30	IV	1,3 - 5	↑ DMO CL ↑ espessura cortical ossos longos ↑ tamanho vertebral	↓	Glorieux e cols (1998)
Pamidronato	Moderada a Grave	17	IV	1 - 2	↑ DMO CL□□ ↑ espessura cortical	↓	Alcausin e cols (2013)
Pamidronato	Grave	09	IV	1	↑ DMO CL□□	↓	Plotkin e cols (2000)
Pamidronato	I, III, IV	45	IV	2 - 4	↑ DMO CL□□ ↑ espessura cortical	Não Relatado	Rauch e cols (2002)
Pamidronato	Moderada a Grave	27	IV	6	↑ BMD	↓	Alharbi e cols (2009)
A. Zoledrônico Pamidronato	I, III, IV	23	IV	1	↑ DMO CL e quadril	↓	Barros e cols (2012)

Continuação Tabela 2

Medicamento	Tipo de OI	n	Via de Administração	Seguimento (anos)	Efeitos	Incidência de Fraturas	Referência
Olpadronato	I, III, IV	16	VO	2	↑ DMO CL	↓	Sackers e cols (2004)
Alendronato	Moderada a Grave	109	VO	2	↑ DMO CL	=	Ward e cols (2011)
Risedronato	I	13	VO	2	↑ DMO CL	=	Rauch e cols (2009)
Risedronato	Leve	97	VO	1	↑ DMO	↓	Bishop e cols (2013)
Pamidronato	I	08	IV	2,5	↑ DMO CL e quadril	↓	Shapiro e cols (2003)
Pamidronato Alendronato Risedronato	I, III, IV	90	IV, VO	161 meses	↑ DMO CL ↑ DMO no quadril*	↓**	Shapiro e cols (2010)
Neridronato	I, III, IV	46	IV	1 - 2	↑ DMO CL e quadril	↓	Adami e cols (2003)
A. Zoledrônico	Não Relatado	10	IV	3	↑ DMO CL e colo fêmur	Sem fraturas no período	Pavón e cols (2010)
Alendronato	I, III, IV	64	VO	3	↑ DMO CL e quadril	=	Chevrel e cols (2006)
Alendronato	I, III, IV	16	VO	> 9	↑ BMD	Não Relatado	O'Sullivan e cols (2013)
Risedronato	I	27	VO	2	↑ DMO CL	=	Bradbury e cols (2012)

Continuação Tabela 2

Abreviaturas: VO, via oral; IV, intravenoso; DMO CL, densidade mineral óssea da coluna lombar; ↑, aumento; ↓, redução; = , não alterou o número de fraturas; *, bisfosfonatos orais; ** pamidronato.

Besio R, Forlino A. Treatment Options for Osteogenesis Imperfecta. Expert opinion on orphan drugs. 2015;3 (2). (17)

1.6 - Bisfosfonatos X Segurança Renal

O núcleo básico de todos os bisfosfonatos é P–C–P, com 2 radicais ligados ao carbono. O tipo de radical determina as características específicas das diferentes moléculas de bisfosfonatos disponíveis. O grupo hidroxila (R1) aumenta a afinidade da droga com o tecido ósseo enquanto o R2 determina a potência antireabsortiva da mesma (Figura 2). O radical R2 pode ter uma cadeia com ou sem nitrogênio. As cadeias nitrogenadas heterocíclicas apresentam uma potência antireabsortiva maior. Estudos *in vitro* demonstraram que a potência antireabsortiva dos bisfosfonatos nitrogenados (pamidronato, ácido zoledrônico e ibandronato) é cerca de 10.000 vezes superior a dos bisfosfonatos não nitrogenados (etidronato e clodronato).

Em adultos recomenda-se que uma avaliação da creatinina sérica preceda cada infusão de pamidronato ou ácido zoledrônico. A infusão deve ser suspensa se houver um aumento de 0,5 mg/dL nos pacientes com função renal normal prévia ou de 1 mg/dL nos pacientes com função renal já alterada no basal. A medida de proteinúria está indicado em intervalos de 3 a 6 meses (50).

Os bisfosfonatos intravenosos são distribuídos entre os ossos (50% é rapidamente incorporado no osso) e o fluido extracelular. Eles permanecem no esqueleto por um período prolongado de tempo, sendo recapturados pelo osso após a reabsorção óssea (50). Uma vez na corrente sanguínea, os bisfosfonatos têm afinidades diferentes por proteínas ligadoras; o ibandronato tem a maior capacidade de ligação (87%), ficando 56% para o ácido zoledrônico e 54% para o pamidronato. As diferentes afinidades de ligação com proteínas entre os diferentes bisfosfonatos determina a meia vida destes medicamentos (150-200 dias para o ácido zoledrônico, comparados com 24 dias para o ibandronato) (50).

Os bisfosfonatos intravenosos não são metabolizados, não interagem com a enzima P450 hepática e são excretados inalterados pelos rins, através da filtração glomerular. A função renal alterada diminui a excreção dos bisfosfonatos, o que pode resultar em níveis tóxicos no sangue e no osso (50). A nefrotoxicidade em ratos expostos a doses maiores do que 10 mg/kg de pamidronato foi evidenciada em achados histopatológicos, tais como necrose, aumento das vesículas celulares e perda da borda em escova da célula tubular (51). A nefrotoxicidade dos

bisfosfonatos foi descrita em alguns relatos de casos (52,53). O primeiro relato descreveu lesão renal aguda e síndrome nefrótica em 7 pacientes adultos após tratamento de longo prazo com pamidronato (52). Seis deles possuíam mieloma múltiplo e 1 câncer de mama. No momento da biópsia renal, a média da creatinina sérica era 3,6 mg/dL e a média da proteinúria em urina de 24 horas era 12,4 gramas por dia. Todos os pacientes tinham recebido pamidronato intravenoso mensal por 15 a 48 meses (50).

A lesão histopatológica mais frequente causada pelos bisfosfonatos é a glomeruloesclerose segmentar e focal colapsante, embora padrões menos agressivos de injúria dos podócitos também possam ser vistos. Em muitos casos a síndrome nefrótica associada com o pamidronato é parcialmente reversível quando a droga é descontinuada. As diretrizes de 2007 da Sociedade Americana de Oncologia Clínica (ASCO) recomenda que, em indivíduos com função renal normal, a infusão de 90 mg de pamidronato seja feita em um tempo mínimo de 2 horas e de 4 mg de ácido zoledrônico em um tempo de infusão superior a 15 minutos (54).

Baseado nos achados histopatológicos, a toxicidade do pamidronato ocorre nos podócitos e possivelmente no epitélio tubular. A necrose tubular aguda é a principal injúria nos pacientes tratados com ácido zoledrônico e é caracterizada por uma toxicidade direta ao epitélio tubular. A biópsia renal não foi realizada em nenhum dos grandes estudos (*'large trials'*) que documentaram insuficiência renal com o tratamento de pamidronato ou ácido zoledrônico (50). A nefrotoxicidade dos bisfosfonatos pode resultar em mecanismos semelhantes aos que estes agentes exercem nos osteoclastos. A inibição da via do mevalonato dentro dos osteoclastos levam a alterações nas sinalizações das integrinas, do transporte endossomal e da borda em escova, bem como a indução da apoptose. Acredita-se que os efeitos terapêuticos dos bisfosfonatos nos osteoclastos podem ter mecanismos idênticos com efeitos tóxicos nos rins (50).

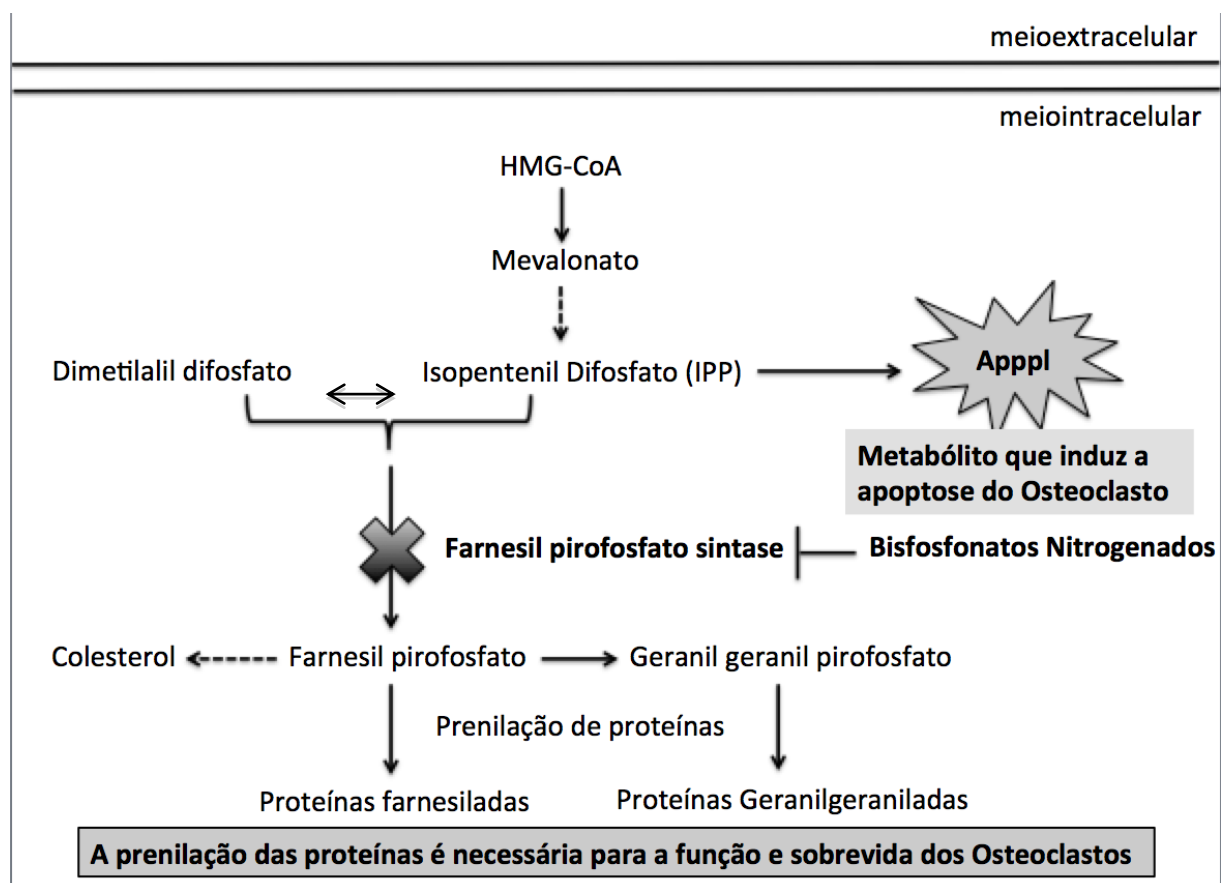
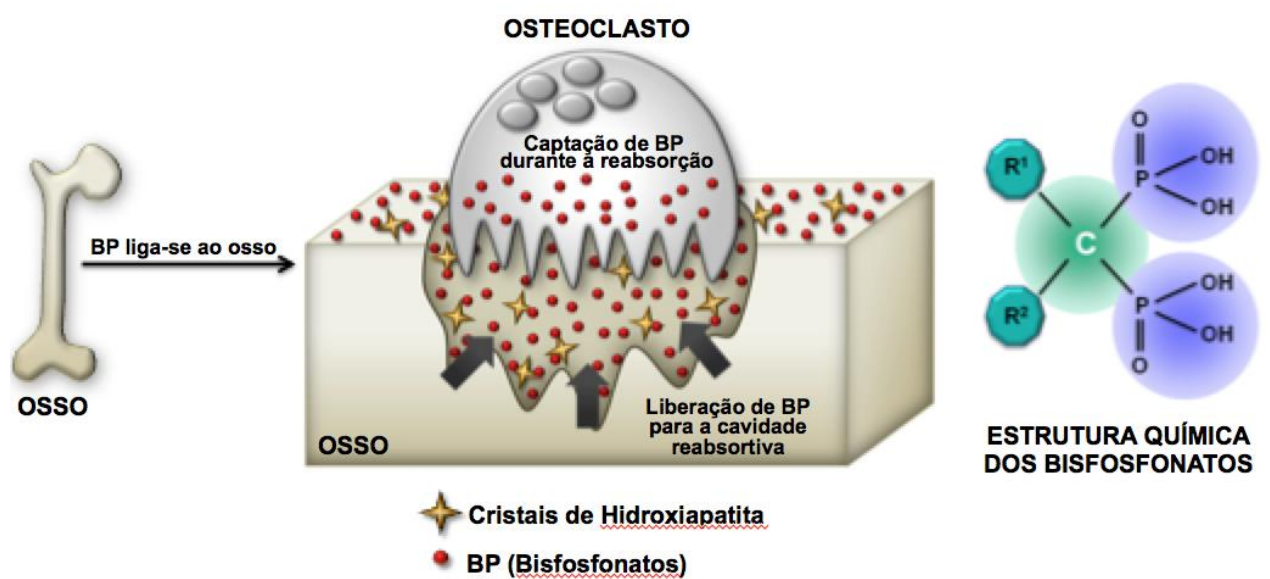


Figura 2. Estrutura química e mecanismo de ação dos Bisfosfonatos

Modificado (1)

1.7 - Avaliação do Tratamento da OI no Longo Prazo

Apesar de vários estudos terem sido publicados sobre o uso de bisfosfonatos em crianças e adultos com OI, ainda existem muitas lacunas relacionadas a segurança deste tratamento, especialmente nos resultados a longo prazo. *Marini e cols* (55), por exemplo, pedem cautela em relação ao uso prolongado de bisfosfonatos em crianças, devido à preocupação de um potencial declínio da qualidade óssea. Destacam, ainda nesta mesma publicação, a escassez de estudos placebo-controlado mostrando a diminuição das taxas de fraturas. Alguns estudos observacionais mostraram uma redução na taxa de fraturas com o uso de bisfosfonatos intravenosos em crianças com OI. Entretanto, questiona-se se os bisfosfonatos são uniformemente efetivos e por quanto tempo o tratamento deve ser utilizado (56).

Recentemente, duas revisões da Cochrane (57,58) e duas meta-análises de *Hald e cols* (59) e *Shi e cols* (60) descreveram os efeitos dos bisfosfonatos sobre a incidência de fraturas em crianças e adultos com OI. A revisão Cochrane de 2014 incluiu 14 estudos (819 pacientes) randomizados ou semi-randomizados que compararam o uso de bisfosfonatos com placebo (não tratamento), ou diferentes intervenções comparativas em todos os tipos de OI (58). Os autores concluíram que os dados não foram consistentes em mostrar se os bisfosfonatos orais ou intravenosos diminuíram as taxas de fraturas, embora muitos estudos tenham relatado a diminuição da taxa de fraturas quando analisados isoladamente. A meta-análise de *Hald e cols* se baseou em 6 estudos clínicos placebo-controlado. Suas conclusões, em concordância com as revisões Cochrane, foram de que o uso de bisfosfonatos em indivíduos com OI não reduziu a incidência de fraturas. A meta-análise de *Shi e cols* concluiu que o tratamento com bisfosfonatos reduziu as taxas de fraturas em crianças mas não em adultos portadores de OI. A revisão Cochrane não confirmou que o tratamento com bisfosfonatos diminuiu a dor musculoesquelética ou melhorou a mobilidade (56). Baseado na experiência desses autores, conclui-se que, embora muitos estudos relataram um aumento na DMO da coluna lombar com o uso de bisfosfonatos em pacientes com OI, este dado deve ser interpretado com cautela, já que a DMO da CL não é nem uma medida da força do osso e nem um preditor do risco de fratura. Também, reforçou o conceito de que a

qualidade óssea é uma variável não medida que poderia predizer risco de fraturas em pacientes com OI.

Uma segunda questão que traz muita discussão é o tempo de uso de bisfosfonatos para tratar pacientes com OI. O estudo de *Bachrach and Ward* (61) recomendou que o tratamento com bisfosfonatos em crianças com OI deve ser realizado na menor dose necessária, até o término do crescimento, na tentativa de evitar fraturas em áreas não protegidas pelos bisfosfonatos, tais como o fêmur distal. O estudo de *Rauch e cols* (45) observou em biopsias ósseas, que o maior ganho de osso cortical e trabecular ocorre nos primeiros 2 a 4 anos de tratamento. Questiona-se, portanto, se o tratamento contínuo no longo prazo realmente interfere no risco de fratura (56). A resposta ao tratamento com bisfosfonatos é frequentemente descrita entre 1 e 2 anos após o início da terapia. A diminuição das taxas de fraturas após vários anos de uso ainda não tinha sido descrita, ficando uma lacuna sobre a duração do tratamento (56).

Se consideramos que o esqueleto de adultos com OI será alvo de efeitos deletérios relacionados ao envelhecimento, traz uma grande preocupação de que a taxa de fraturas e deformidades poderá aumentar na pós-menopausa em mulheres e na senilidade nos homens. Além disso, ao contrário das crianças, que têm um turnover ósseo aumentado, adultos com OI têm uma diminuição da formação óssea devido à idade e aumento da reabsorção óssea, acentuando o início da perda óssea e aumentando o risco de fraturas (1). Portanto, entender os efeitos dos bisfosfonatos no longo prazo e seguir os pacientes com OI deste a infância até a idade adulta nos auxiliará no manejo da doença.

1.8 - Justificativas

No Brasil, o tratamento de algumas doenças genéticas vêm sendo assumido pelo Ministério da Saúde, regulamentado através de portarias especiais. O tratamento da OI é disponibilizado pelo SUS desde 2001, com a instituição da Portaria GM 2305/2001 (62). O estabelecimento desta portaria no país é reflexo da organização e participação da sociedade civil na discussão acerca das políticas públicas de saúde. Desde 2001, 14 centros de referência foram cadastrados e estão

em atividade. A maior parte deles se concentra nos estados das regiões sul e sudeste, o que dificulta o acesso ao tratamento de muitos pacientes (63).

Lima MAFD (64) em sua dissertação de mestrado no Brasil relatou que as publicações brasileiras sobre o tratamento da OI no país são escassas e que pouco mais de 10 estudos podem ser identificados, sendo que apenas três lidam com questões relacionadas ao tratamento. A portaria de 2010 (65) 714/2010 definiu os seguintes critérios para as Diretrizes Terapêuticas da OI: (1) diagnóstico de OI; (2) início do tratamento com o pamidronato e também com o alendronato dissódico; (3) interrupção do tratamento, além de parâmetros clínicos para avaliação da resposta terapêutica. *Lima e cols* (63) discute que a regulação de vagas para internação deve considerar a internação de mais de um paciente ao mesmo tempo, no mesmo local, objetivando o compartilhamento de doses de medicamento, diminuindo assim seu desperdício, e, por outro lado, considerando o melhor aproveitamento da equipe de saúde e não somente a disponibilidade de vagas.

A Portaria 1306 (66), publicada em novembro de 2013, é a última atualização das Diretrizes Terapêuticas da OI em vigência no Brasil. Ela recomenda que as infusões do pamidronato intravenoso para tratamento de OI devam ser realizadas em 3 ciclos de 3 dias com intervalos que variam 2 a 4 meses de acordo com a faixa etária.

No que se refere à morbidade e cronicidade das anomalias congênitas, incluindo número de internações e gravidade das intercorrências, *Horovitz e cols* (67) enfatiza a necessidade de discussões farmacoeconômicas devido à maior necessidade de tratamento contínuo nestes pacientes, implicando em altos custos. A mesma autora ainda relata que no Instituto Fernandes Figueira (IFF) no Rio de Janeiro, no período de 1999 à 2003, o diagnóstico de malformação congênita foi um dos três diagnósticos principais codificados nas internações hospitalares, correspondendo a 37% das admissões pediátricas (67).

Com relação às disponibilidades de leitos hospitalares no Brasil, *Bittar e cols* (68), tomando-se como base a rede de hospitais vinculados ao SUS, em 2010, constatou que existe 1,53 leito geral e especializado/SUS por mil habitantes no Estado de São Paulo, o que é bem menor quando comparado com os dados de outros países desenvolvidos, que apontam número de leitos por mil habitantes bem maiores, como por exemplo a Holanda, com 3,0 leitos/mil habitantes.

Com base no exposto acima, o presente estudo, iniciado no ano de 2011, é resultado do trabalho colaborativo entre as disciplinas de Endocrinologia Clínica, Nefrologia Pediátrica e Radiologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). A partir de 2013 também houve colaboração do Shriners Hospital for Children em Montreal, Canadá. Trata-se de um esforço conjunto para ajustar e adequar à realidade brasileira o tratamento com pamidronato intravenoso em crianças e adolescentes portadores de Osteogênese Imperfeita.

A idéia de modificar o protocolo de 3 dias com o uso de pamidronato intravenoso para o tratamento de Osteogênese Imperfeita descrito por *Glorieux e Co/s* em 1998 surgiu em 2011 quando a lista de espera para o tratamento dos nossos pacientes com OI se tornou demasiadamente longa devido à pouca disponibilidade de leitos hospitalares. Neste momento nos veio a seguinte pergunta: Seria seguro e eficaz fazer uma dose única maior, num intervalo de tempo menor? Com isto, tornaríamos o nosso protocolo mais prático, mais conveniente para os nossos pacientes e mais acessível à nossa população.

Como descrito anteriormente, até o presente momento, todos os estudos publicados que mostraram os efeitos dos bisfosfonatos intravenosos para tratamento de crianças e adolescentes com OI se limitaram a 4 anos de seguimento, não estando elucidado os efeitos desta medicação no longo prazo. Baseado neste questionamento, a outra vertente do nosso estudo foi avaliar os efeitos dos bisfosfonatos nos pacientes com OI após um seguimento de pelo menos 10 anos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral 1

Analisar a segurança renal e eficácia de um novo protocolo com pamidronato intravenoso para o tratamento de crianças e adolescentes com Osteogênese Imperfeita.

2.2 Objetivo Específico 1

2.2.1 Comparar o protocolo padrão com pamidronato intravenoso no tratamento de OI em crianças e adolescentes a um protocolo simplificado, baseando-se em critérios de segurança renal e eficácia.

2.3 Objetivo Geral 2

Avaliar os efeitos do uso dos bisfosfonatos intravenosos no longo prazo.

2.4 Objetivos Específicos 2

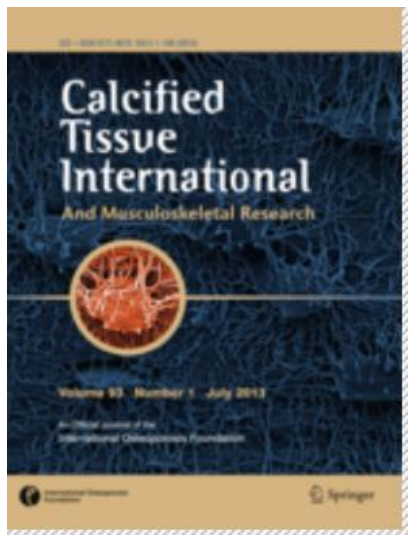
Verificar os resultados do tratamento com bisfosfonatos intravenosos (pamidronato e ácido zoledrônico) ao longo de pelo menos 10 anos de seguimento em crianças e adolescentes com OI em relação à:

2.4.1 Variações nos parâmetros antropométricos, na DMO da coluna lombar, nas taxas de fraturas de membros inferiores, na morfometria vertebral e na evolução da escoliose.

2.4.2 Analisar os resultados da pQCT em um subgrupo de pacientes, ao final do período de observação.

2.4.3 Avaliar as concentrações plasmáticas de CTX e P1NP após, pelo menos, 6 anos de tratamento.

3. RESULTADOS



ARTIGO 1.

Telma Palomo, Maria C. Andrade, Barbara S. E. Peters, Fernanda A. Reis, João Tomás A. Carvalhaes, Francis H. Glorieux, Frank Rauch, Marise Lazaretti-Castro

EVALUATION OF A MODIFIED PAMIDRONATE PROTOCOL FOR THE TREATMENT OF OSTEOGENESIS IMPERFECTA

PUBLICADO: Calcif Tissue Int. 2015 SEP 21.

FATOR DE IMPACTO: 3.272



ARTIGO 2.

Telma Palomo, François Fassier, Jean Ouellet, Atsuko Sato, Kathleen Montpetit, Francis H Glorieux, Frank Rauch

INTRAVENOUS BISPHOSPHONATE THERAPY OF YOUNG CHILDREN WITH OSTEOGENESIS IMPERFECTA: SKELETAL FINDINGS DURING FOLLOW UP THROUGHOUT THE GROWING YEARS

PUBLICADO: JBMR. 2015 JUNE 2.

FATOR DE IMPACTO: 6.832

Evaluation of a Modified Pamidronate Protocol for the Treatment of Osteogenesis Imperfecta

Telma Palomo^{1,5} · Maria C. Andrade² · Barbara S. E. Peters³ ·
Fernanda A. Reis⁴ · João Tomás A. Carvalhaes² ·
Francis H. Glorieux⁵ · Frank Rauch⁵ · Marise Lazaretti-Castro¹

Received: 1 May 2015 / Accepted: 9 September 2015
© Springer Science+Business Media New York 2015

Abstract Intravenous pamidronate is widely used to treat children with osteogenesis imperfecta (OI). In a well-studied protocol ('standard protocol'), pamidronate is given at a daily dose of 1 mg per kg body weight over 4 h on 3 successive days; infusion cycles are repeated every 4 months. Here, we evaluated renal safety of a simpler protocol for intravenous pamidronate infusions (2 mg per kg body weight given in a single infusion over 2 h, repeated every 4 months; 'modified protocol'). Results of 18 patients with OI types I, III, or IV treated with the modified protocol for 12 months were compared to 18 historic controls, treated with standard protocol. In the modified protocol, mild transient post-infusion increases in serum creatinine were found during each infusion but after 12 months serum creatinine remained similar from baseline [0.40 mg/dl (SD: 0.13)] to the end of the study [0.41 mg/dl (SD: 0.11)] ($P = 0.79$). The two protocols led to similar changes in serum creatinine during the first pamidronate infusion [modified protocol: +2 % (SD: 21 %); standard protocol: -3 % (SD: 8 %); $P = 0.32$]. Areal lumbar spine bone mineral density Z-scores

increased from -2.7 (SD: 1.5) to -1.8 (SD: 1.4) with the modified protocol, and from -4.1 (SD: 1.4) to -3.1 (SD: 1.1) with standard protocol ($P = 0.68$ for group differences in bone density Z-score changes). The modified pamidronate protocol is safe and may have similar effects on bone density as the standard pamidronate protocol. More studies are needed with longer follow-up to prove anti-fracture efficacy.

Keywords Pamidronate · Safety · Renal function · Osteogenesis imperfecta · Efficacy

Introduction

Osteogenesis imperfecta (OI) is a heritable connective tissue disorder that is mainly characterized by bone fragility and low bone mass. Four clinical types of OI are traditionally distinguished [1]. Type I OI comprises patients with mild presentation and normal height, whereas type II OI is lethal in the perinatal period. Type III is the most severe form in children surviving the neonatal period. Patients with a moderate to severe phenotype who do not fit into one of the above categories are classified as type IV OI [1].

Bisphosphonate therapy has been used widely for over 15 years in children with moderate to severe OI and is now considered the standard of care [2]. Cyclical intravenous (IV) therapy with pamidronate infusions is given to increase bone density and decrease fracture rates in children with OI. In the best-studied protocol ('standard protocol'), pamidronate is given at a dose of 1 mg per kg body weight per day given over 4 h on 3 successive days. These infusion cycles are repeated every 4 months (annual pamidronate dose: 9 mg per kg body weight) [3]. The

✉ Telma Palomo
telmapalomo@yahoo.com.br

¹ Bone and Mineral Unit, Division of Endocrinology, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brazil

² Department of Pediatric Nephrology, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brazil

³ Department of Nutrition, Public Health School, USP, São Paulo, Brazil

⁴ Department of Radiology, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brazil

⁵ Shriners Hospital for Children, 1529 Cedar Avenue, Montreal, QC H3G 1A6, Canada

drawback of the standard pamidronate protocol is that it puts a significant burden on patients, their caregivers, and health care organizations in terms of time lost from school or work and resource utilization. Besides, this long-term 3-day infusion can be a very relevant issue in countries with reduced number of hospital beds. A shorter pamidronate infusion protocol would improve the compliance on the treatment of children with OI.

Pamidronate is usually infused over an extended period of time due to concerns about renal toxicity involving tubular and glomerular injury. In clinical trials for adults with breast cancer and multiple myeloma, some transient deterioration in renal function occurred in 7–10 % of patients treated with a 2-h infusion of pamidronate [4]. The American Society of Clinical Oncology recommends that pamidronate (90 mg) be infused over at least 2 h [5, 6]. Although the effect of IV bisphosphonates on renal function has not been entirely clarified, nephrotoxicity is a significant potential limiting factor in the use of these agents, and seems to depend on several factors, such as the doses, infusion time, and the type of bisphosphonates [7]. Indeed, most cases of renal deterioration were seen with higher doses, rather than faster infusion time [6]. In a large trial comprising more than 1600 adult patients, the incidence of renal toxicity was 9.3 % for pamidronate and 10.7 % for zoledronic acid [4]. Some published articles suggest that the risk of renal deterioration may not increase significantly when pamidronate is infused over 1 h compared to 2-h infusion [6, 8].

Given these observations, we hypothesized that, if safe and effective, a one-day pamidronate infusion protocol would turn more suitable for the treatment of children with OI. Therefore, in the present study, we evaluated the renal safety of a shorter protocol, with lower annual dose but a higher concentration of pamidronate per dose during an observation period of 1 year.

Subjects and Methods

Subjects

This study comprised 18 children and adolescents (age: 3–17 years; ten girls, eight boys) with a clinical diagnosis of OI type I ($N = 9$), III ($N = 4$), or IV ($N = 5$), median age of 9.5 years (range 3.4–16.2 years), who were eligible to receive cyclic intravenous pamidronate therapy between May 2011 and June 2013 at the school-hospital of Universidade Federal de São Paulo, Brazil. Patients were eligible if they had clinical signs of OI and long-bone deformities or more than two fractures per year (including vertebrae) during the previous 2 years. The classification of OI types followed the criteria established by Sillence [9].

At enrollment, 14 (78 %) patients had received previous pamidronate treatment and 4 had never received any treatment. The study was approved by the ethics review board of Universidade Federal de São Paulo. Parents or legal guardians gave written informed consent. Assent was obtained from children and adolescents aged 7–17 years. The exclusion criteria were as follows: pre-existing chronic kidney conditions, use of nephrotoxic drugs, and pregnancy at any time of the study.

Results in the modified protocol group were compared to 18 OI patients who received standard protocol pamidronate therapy at the Shriners Hospital for Children (Montréal, Canada) between 1992 and 2002, as described [10]. For the purpose of the present analysis, datasets were selected from the results of this previous study to match with the patients receiving modified protocol by severity, age, sex, and pamidronate treatment status.

Study Design and Treatment Interventions

The modified protocol group was a prospective open-label study. Patients received pamidronate infusion cycles every 4 months, for a total of four cycles. Infusion cycles consisted of pamidronate given in a single dose of 2 mg per kg body weight over a 2-h period. The maximum dose of pamidronate in a single infusion was 60 mg. All patients were well hydrated orally before and during every infusion. Each dose was diluted in 10 mL of 0.9 % saline solution per kg body weight and administered over a 2-h period (maximum concentration of 0.2 mg of pamidronate per mL of 0.9 % saline solution). Study visits occurred at baseline, 4, 8, and 12 months of treatment.

Calcium supplementation was maintained as adequate according to the recommended daily allowance in all patients, and vitamin D supplementation was given at a dose of 7000 IU per week. During and after each infusion, blood samples were obtained before the infusion start (T0), and at 4, 8, and 24 h and 7 days later. Bone densitometry and kidney ultrasound were performed at baseline and at 12 months. Heart rate, systolic and diastolic blood pressure were measured at time points T0, 4, and 8 h. Reduction in urine output (documented oliguria <0.5 mL of urine per kg body weight per hour for 8 h) was used as an index of acute renal failure. Urine volume was measured during the first 8 h after each pamidronate infusion.

The historical control group was obtained from the databank of Montreal's Shriners Hospital for Children. They received pamidronate treatment intravenously at a dose of 1 mg per kg body weight on 3 consecutive days. Each dose was diluted in 0.9 % saline solution and administered slowly over 4 h (maximum concentration 0.1 mg of pamidronate per mL of 0.9 % saline solution). Cycles were repeated every 4 months [10]. Biochemical

profile, including serum total calcium, inorganic phosphorus, and creatinine levels, was performed on each patient at T0, 4, 24, 28, 48, and 52 h at the first infusion. The comparison between modified and standard groups is shown in Table 1.

Anthropometry

Height was measured using a Harpenden stadiometer (Holtain, Crymych, UK). Weight was determined using digital electronic scales for infants and mechanical scales for older children and adults (FilizolaR Mod E-300, sensitivity of 200 g). Height, weight, and body mass index (BMI) were converted to age- and sex-specific Z-scores on the basis of reference data published by the Centers for Disease Control and Prevention [11].

Radiology

Lumbar spine areal bone mineral density (LS-aBMD) was determined in the anterior–posterior direction at the lumbar spine (L1–L4) using a Hologic QDR 4500 device (Hologic Inc., Waltham, MA). The results were transformed to age-specific Z-scores combining published reference data [12, 13]. X-Ray films of the thoracic and lumbar spine and upper and lower limbs were obtained in all patients from the modified protocol group at baseline and throughout the study when fractures occurred. The postero-anterior radiographs of the left hand were taken, and bone age was determined according to the method of Greulich and Pyle [14].

Biochemical Measurements

After an overnight fast, serum levels of creatinine, blood urea nitrogen, total calcium, phosphorus, sodium, and potassium were measured using standard laboratory methods. The standard method for measurement of creatinine used in both groups was the Jaffé reaction. Urinalysis was determined by reagent strip cells and flow cell digital image, and urine microalbuminuria in an isolated sample was determined by laser turbidimetric method. The

estimated glomerular filtration rate was estimated in all patients according to the Schwartz equation [glomerular filtration rate $[\text{mL}/(\text{min } 1.73 \text{ m}^2)] = \text{height (cm)} \times \text{constant}/\text{serum creatinine (mg/dL)}$], and the constant was 0.55 (for children ≥ 2 years) [15]. Serum 25-hydroxyvitamin D was quantified by chemiluminescence immunoassay (LIAISON 25 OH Vitamin D Total-Diasorin, Stillwater, MN, USA).

Statistical Analyses

Raw results were transformed to age- and sex-specific Z-scores from the average result in the reference population, using the published reference data cited in the description of each measurement technique.

Mean and standard deviation (SD) were derived for all continuous variables. Longitudinal differences between two time points were tested for significance using paired *t* tests. The independent *t* test was used to compare the two mean from different groups. Differences between more than two time points were tested for significance using ANOVA for repeated measures. Post hoc comparisons were performed using Bonferroni's adjustment. All tests were two-tailed, and throughout the study, $P < 0.05$ was considered significant. OI severity was coded following the presumed severity (type I = 0, type IV = 1, type III = 2). Statistical analyses were performed utilizing SPSS software (version 19.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results

A total of 18 OI patients were enrolled in the modified protocol group and 14 of them completed the study. One OI type III patient died from pneumonia 3 months after the third infusion, and 3 others did not receive the last dose of pamidronate because they moved to another state of the country. None of the 14 patients previously treated with pamidronate and of the four patients who had their first infusion during the study had an acute phase reaction after treatment. No other side-effects of the treatment were noted.

Table 1 Comparison between the standard and modified pamidronate treatment protocols

	Modified protocol	Standard protocol
Dose [mg/(kg dose)]	2.0	1.0 on 3 successive days
Final pamidronate concentration in the infusion (mg/ml)	0.2	0.1
Infusion time (h)	2	4
Annual dose [mg/(kg year)]	6	9
Infusion interval (months)	4	4

Modified Protocol Group

Mild transient post-infusion increases in serum creatinine were found during each infusion (Fig. 1) but no persistent impairment in the renal function was observed with this treatment schedule during the follow-up period. No significant differences were observed in serum sodium and blood pressure. There was a significant decrease in urea and potassium probably related with oral hydration (Table 2). Mean urine output during the first 8 h of the first infusion was 5.8 (SD: 2.7) ml/(kg h). Urine volume measured during the first 8 h after each pamidronate infusion was >0.5 ml/(kg h) in all patients and infusions.

In the 14 patients from the modified protocol group who completed 12 months of follow-up, serum creatinine remained similar from baseline [0.40 mg/dl (SD: 0.13)] to the end of the study [0.41 mg/dl (SD: 0.11)] ($P = 0.79$). No significant differences were observed in creatinine clearance, urea, potassium, ionized calcium, and magnesium. There was a significant decrease in microalbuminuria from baseline [6.9 mg/l (SD: 10.1)] to the end of the study [2.6 mg/l (SD: 6.4)] ($P < 0.01$) (Table 3). Individual results of the 14 OI patients from the modified protocol group show minor fluctuations in serum creatinine from baseline to 7-day after fourth pamidronate infusion (Fig. 2). To determine whether younger patients are more susceptible to increases in serum creatinine after pamidronate treatment, the 18 patients from the modified protocol were divided in 9 younger (median 5.2 years; range 3.4–8.8 years) and 9 older children (median 13 years; range 10.1–16.2 years). No significant differences were observed in serum creatinine in the 9 younger patients during all the four infusions ($P = 0.56$). The older children had a transient increase in serum creatinine from baseline

to 8-h that was recovered from 8-h to 7-day after the pamidronate infusion during the 3rd and 4th infusion ($P = 0.02$ and $P = 0.006$, respectively). Serum creatinine remained similar from baseline to the end of the study in younger and older patients from the modified protocol group ($P = 0.66$ and $P = 0.37$, respectively). Renal ultrasound showed the kidneys to be normal in size for age, without abnormalities, either at baseline or at the end of the study. In the modified protocol group, 25-hydroxyvitamin D levels increased significantly after 1 year of vitamin D supplementation, from 24 ng/mL (SD: 7) to 30 ng/mL (SD: 8) ($P = 0.03$). Among the 18 patients, twelve (67 %) did not have any fractures during the 1-year follow-up and six had one long-bone fracture from the time pamidronate therapy was commenced to the last follow-up visit.

Comparison of Protocols

The modified protocol and standard protocol groups were well matched for severity, age, sex, prior pamidronate treatment status, and most other clinical characteristics (Table 4). No clinically significant differences were found between the groups.

Only minor fluctuations in serum creatinine occurred during the first infusion cycle in both groups (Fig. 3). In the modified protocol group, serum creatinine increased by 2 % (SD: 21 %) within 24 h after the start of the first pamidronate infusion, whereas serum creatinine decreased by 3 % (SD: 8 %) in the standard protocol group ($P = 0.32$). As expected, serum calcium and inorganic phosphorus decreased significantly during the first 24 h in both protocols, nevertheless, with no related symptoms. The changes in serum calcium [MP: -6 % (SD: 6 %); SP: -6 % (SD: 5 %); $P = 0.73$] and inorganic phosphorus [MP: -10 % (SD: 12 %); SP: -10 % (SD: 15 %); $P = 0.91$] were similar between groups.

During the 12 months study period, LS-aBMD Z-score increased by 1.1 (SD: 1.1) in the modified protocol group and by 1.0 (SD: 0.6) in the standard protocol group ($P = 0.68$ for the difference in increase between groups). Changes in height and weight Z-scores were also similar between groups.

Discussion

In this study, we confirmed the main hypothesis that our modified protocol with a shorter and higher concentration per dose of intravenous pamidronate was safe and may have similar effects on LS-aBMD as the standard pamidronate protocol. Intravenous bisphosphonate therapy is widely used to treat bone fragility in children with OI. This is largely based on studies in patients with severe bone

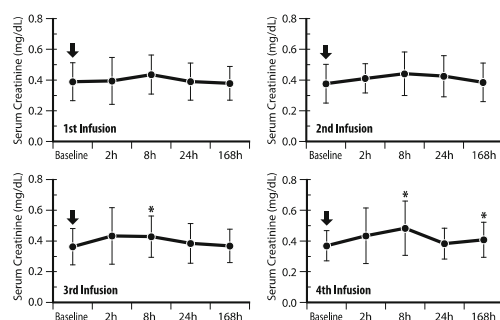


Fig. 1 Mean serum creatinine levels during and after each pamidronate infusion in patients treated with the modified protocol ($n = 18$ for infusions 1 to 3; $n = 14$ patients for infusion 4). The arrows indicate pamidronate infusions. The asterisks indicate a significant difference to the baseline creatinine concentration for the same infusion cycle

Table 2 Short-term effects of the first pamidronate infusion in patients treated with the modified pamidronate protocol

	N	Baseline	2 h	8 h	24 h	P
Creatinine clearance [ml/(min 1.73 m ²)]	18	168 (32)	179 (72)	148 (29)	168 (40)	0.15
Urea (mg/dL)	18	24 (7)	19 (4)	23 (5)	21 (5)	0.001
Sodium (mmol/l)	18	137 (3)	138 (3)	137 (2)	137 (2)	0.55
Potassium (mmol/l)	18	4.3 (0.3)	4.2 (0.3)	4.0 (0.3)	4.2 (0.3)	0.04
Microalbuminuria (mg/l)	16	7.4 (9.0)	ND	3.1 (4.2)	ND	0.16
BP _{syst} (mmHg)	18	102.6 (9.6)	101.8 (11.9)	98.7 (15.0)	ND	0.34
BP _{diast} (mmHg)	18	59.6 (9.2)	59 (10.3)	56.9 (10.9)	ND	0.33

Results are mean (SD)

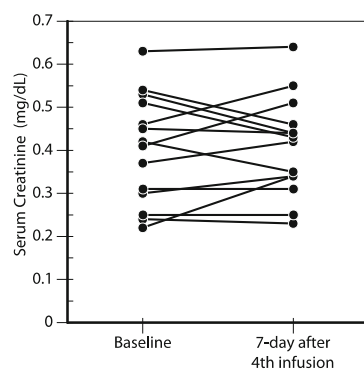
BP_{syst} systolic blood pressure, BP_{diast} diastolic blood pressure, ND not done

P values indicate the significance of the difference between all four time points (ANOVA for repeated measures)

Table 3 One-year effects of pamidronate therapy in patients treated according to the modified protocol

	N	Baseline	N	1 year	P
Serum creatinine (mg/dL)	14	0.40 (0.13)	14	0.41 (0.11)	0.79
Creatinine clearance [ml/(min 1.73 m ²)]	14	163.50 (29.85)	14	166.79 (25.57)	0.70
Microalbuminuria (mg/l)	14	6.94 (10.18)	14	2.61 (6.42)	<0.01
Urea (mg/dL)	14	23.36 (6.77)	14	21.36 (5.24)	0.35
Potassium (mmol/l)	14	4.31 (0.29)	14	4.29 (0.37)	0.80

Results are mean (SD). Results at 1 year indicate measures obtained 7 days after the last infusion

**Fig. 2** Individual changes in serum creatinine levels in 14 patients treated according to the modified protocol at baseline and 1 year (7 days after last infusion)

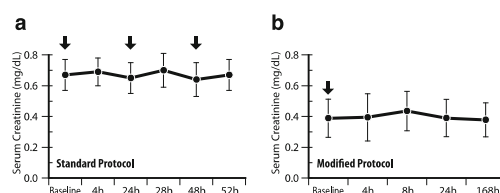
fragility who mostly had received intravenous pamidronate for periods of 2–4 years. [3, 16, 17] Other bisphosphonates, such as zoledronic acid [18–20], have also been used, with broadly similar results. The reported skeletal effects of intravenous bisphosphonate therapy in children with OI include a marked increase in areal bone mineral density (aBMD) at the lumbar spine, increased cortical thickness

and trabecular bone volume per tissue volume on iliac bone histomorphometry, radiologically apparent reshaping of compressed vertebral bodies, and decreased fracture rate of long bones [21, 22]. Our study showed that transient post-infusion increases in serum creatinine occurred, but no persistent impairment in the renal function was detected during the follow-up period. Renal toxicity of bisphosphonates has been reported in animal studies [23], and also in adults with multiple myeloma and metastatic breast carcinoma [24]. There are a very few data regarding bisphosphonate renal safety in children and teenagers. Previous studies reported transient post-infusion increases in serum creatinine in adults receiving other bisphosphonates, such as intravenous zoledronic acid, ibandronate, and oral risedronate [25–27]. However, in clinical trial for patients with osteoporosis, studies showed that treatment with these agents did not result in long-term renal function deterioration [28].

Low creatinine levels are expected in OI patients because creatinine is a marker of muscle mass [29]. Baseline levels of serum creatinine were lower in the modified protocol group than standard protocol group, probably due to different methods, since they were measured in two different laboratories. However, the most relevant aspect we took into consideration was the relative variations in serum creatinine in each group during the pamidronate infusion.

Table 4 Clinical characteristics of both groups at baseline

	<i>N</i>	Modified protocol	<i>N</i>	Standard protocol	<i>P</i>
Age (years)	18	9.4 (4.2)	18	9.2 (3.6)	0.91
Sex (f/m)	18	10/8	18	10/8	1.00
OI type (I/IV/III)	18	9/6/3	18	9/4/5	1.00
Prior Pamidronate (yes/no)	18	14/4	18	14/4	1.00
Height (Z-score)	18	−3.9 (3.2)	18	−4.1 (2.7)	0.87
Weight (Z-score)	18	−3.1 (2.6)	18	−2.7 (2.2)	0.63
LS-aBMD (Z-score)	17	−3.3 (1.7)	18	−4.1 (1.5)	0.17
Creatinine (mg/dL)	18	0.39 (0.12)	18	0.68 (0.10)	<0.01
Calcium (mg/dL)	18	9.8 (0.3)	18	9.6 (0.4)	0.06
Phosphorus (mg/dL)	18	4.8 (0.7)	18	4.6 (0.5)	0.31
25-hydroxyvitamin D (ng/mL)	18	23.5 (6.9)	17	21.6 (7.1)	0.42

Results are *N* or mean (SD)**Fig. 3** Short-term effects of a single pamidronate infusion cycle on mean serum creatinine levels in patients receiving treatment according to the standard protocol (**a**; *n* = 18) and the modified protocol (**b**; *n* = 18). The arrows indicate pamidronate infusions

As expected, all patients from both groups showed normal values of serum calcium and inorganic phosphorus. Their concentrations decreased rapidly in both groups during the first infusion cycle, probably reflecting the diminished calcium influx from bone into the circulating pool. Our results are similar to data published previously [3].

The lack of randomized trials comparing drugs and doses in patients with OI makes it difficult to declare the superiority of one regimen over others. In this study, we compared the most widely used protocol (annual dose of 9 mg/kg) [30] with this modified one (annual dose of 6 mg/kg); and our results showed a similar increase in LS-aBMD in both protocols. Due to the small number of study participants and the short follow-up time, a final conclusion on the anti-fracture efficacy of the modified protocol cannot be made. More studies are needed to allow definitive conclusions on efficacy of this new protocol.

Limitations of this study are the relative small number of patients and that is not a randomized study. To overcome this, we included data from historical matched controls. No other more sensitive biomarker measurement for acute kidney injury, such as, cystatin C, or *N*-acetyl-beta-D-

glucosaminidase, was done in addition to serum creatinine. Despite these limitations, this is the first study that compares safety and efficacy between two different protocols for OI. This modified protocol will add greater compliance to OI treatment, either by the convenience of patients and carers or the ability to be run on day-hospital clinics, reducing costs and not requiring hospital beds.

In conclusion, these results suggest that the modified pamidronate protocol was safe and may have similar effects on bone density as the standard pamidronate protocol. Decreasing the infusion time may shorten the waiting list for treatment, reduce the average cost per treatment, and may improve quality of life for the patients, their families, and health care organizations in terms of time lost from school or work and resource utilization. More studies are needed to allow definitive conclusions on efficacy of this new protocol.

Acknowledgments We thank Mantecorp-Farmasa Inc for providing vitamin D₃ for the patients during the study period.

Author Contributions Telma Palomo designed the study, data collection and analysis, preparation of the first draft, conceptualized the project; She is guarantor. Maria C. Andrade, Fernanda A. Reis, João Tomás A. Carvalhaes contributed patient information. Barbara S.E. Peters contributed patient information and helped with statistical analysis of the data. Francis H. Glorieux contributed patient information and revised manuscript content; Frank Rauch and Marise Lazaretti-Castro conceptualized the project, contributed patient information, completed the report and accepts responsibility for the integrity of the data analysis.

Funding T. Palomo has received salary support from Brazilian Federal Agency for Support and Evaluation of Graduate Education (CAPES). This research did not receive any specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sector.

Compliance with Ethical Standards

Conflict of Interest Frank Rauch: Genzyme Inc: Advisory Board member; Novartis Inc: Study grant to institution; Alexion Inc: Study

grant to institution. Francis H. Glorieux: Novartis, Alexion, Kyowa-Kirin-Pharma: Study grants to institution. Amgen, Alexion, Novartis: consulting agreements. Marise Lazaretti-Castro: Sanofi: advisory board member. The other authors declare no conflict of interest.

Human and Animal Rights and Informed Consent All procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional and national) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000. Informed consent was obtained from study participants or the legal guardians.

References

- Plotkin H, Rauch F, Bishop NJ, Montpetit K, Ruck-Gibis J, Travers R, Glorieux FH (2000) Pamidronate treatment of severe osteogenesis imperfecta in children under 3 years of age. *J Clin Endocrinol Metab* 85:1846–1850
- Shapiro JR, Byers PH, Glorieux FH, Sponseller PD (2013) Osteogenesis imperfecta: a translational approach to brittle bone disease. Elsevier, New York
- Glorieux FH, Bishop NJ, Plotkin H, Chabot G, Lanoue G, Travers R (1998) Cyclic administration of pamidronate in children with severe osteogenesis imperfecta. *N Engl J Med* 339:947–952
- Rosen LS, Gordon D, Kaminski M, Howell A, Belch A, Mackey J, Apffelstaedt J, Hussein M, Coleman RE, Reitsma DJ, Seaman JJ, Chen BL, Ambros Y (2001) Zoledronic acid versus pamidronate in the treatment of skeletal metastases in patients with breast cancer or osteolytic lesions of multiple myeloma: a phase III, double-blind, comparative trial. *Cancer J* 7:377–387
- Berenenson JR, Hillner BE, Kyle RA, Anderson K, Lipton A, Yee GC, Biermann JS (2002) American Society of Clinical Oncology clinical practice guidelines: the role of bisphosphonates in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 20:3719–3736
- de Lemos ML, Taylor SC, Barnett JB, Hu F, Levin A, Moravan V, O'Reilly SE (2006) Renal safety of 1-hour pamidronate infusion for breast cancer and multiple myeloma patients: comparison between clinical trials and population-based database. *J Oncol Pharm Pract* 12:193–199
- Perazella MA, Markowitz GS (2008) Bisphosphonate nephrotoxicity. *Kidney Int* 74:1385–1393
- Tyrrell CJ (1994) Role of pamidronate in the management of bone metastases from breast cancer: results of a non-comparative multicenter phase II trial. Aredia Multinational Cooperative Group. *Ann Oncol* 5:S37–S40
- Sillence DO, Senn A, Danks DM (1979) Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta. *J Med Genet* 16:101–116
- Rauch F, Plotkin H, Travers R, Zeitlin L, Glorieux FH (2003) Osteogenesis imperfecta types I, III, and IV: effect of pamidronate therapy on bone and mineral metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 88:986–992
- Ogden CL, Kuczmarski RJ, Flegal KM, Mei Z, Guo S, Wei R, Grummer-Strawn LM, Curtin LR, Roche AF, Johnson CL (2002) Centers for Disease Control and Prevention 2000 growth charts for the United States: improvements to the 1977 National Center for Health Statistics version. *Pediatrics* 109:45–60
- Glastre C, Braillon P, David L, Cochat P, Meunier PJ, Delmas PD (1990) Measurement of bone mineral content of the lumbar spine by dual energy x-ray absorptiometry in normal children: correlations with growth parameters. *J Clin Endocrinol Metab* 70:1330–1333
- Southard RN, Morris JD, Mahan JD, Hayes JR, Torch MA, Sommer A, Zipf WB (1991) Bone mass in healthy children: measurement with quantitative DXA. *Radiology* 179:735–738
- Greulich WW, Pyle SI (1959) Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist. Stanford University Press, Stanford
- Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann CM Jr, Spitzer A (1976) A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics* 58:259–263
- Rauch F, Glorieux FH (2004) Osteogenesis imperfecta. *Lancet* 363:1377–1385
- Astrom E, Soderhall S (2002) Beneficial effect of long term intravenous bisphosphonate treatment of osteogenesis imperfecta. *Arch Dis Child* 86:356–364
- Barros ER, Saraiva GL, de Oliveira TP, Lazaretti-Castro M (2012) Safety and efficacy of a 1-year treatment with zoledronic acid compared with pamidronate in children with osteogenesis imperfecta. *J Pediatr Endocrinol Metab* 25:485–491
- Vuorimies I, Toivainen-Salo S, Hero M, Makitie O (2011) Zoledronic acid treatment in children with osteogenesis imperfecta. *Horm Res Paediatr* 75:346–353
- Palomo T, Fassier F, Ouellet J, Sato A, Montpetit K, Glorieux FH, Rauch F (2015) Intravenous bisphosphonate therapy of young children with osteogenesis imperfecta: skeletal findings during follow up throughout the growing years. *J Bone Miner Res*. doi:10.1002/jbmr.2567
- Rauch F, Travers R, Plotkin H, Glorieux FH (2002) The effects of intravenous pamidronate on the bone tissue of children and adolescents with osteogenesis imperfecta. *J Clin Invest* 110:1293–1299
- Land C, Rauch F, Munns CF, Sahebjam S, Glorieux FH (2006) Vertebral morphometry in children and adolescents with osteogenesis imperfecta: effect of intravenous pamidronate treatment. *Bone* 39:901–906
- Green JR, Seltene Meyer Y, Jaeggi KA, Widler L (1997) Renal tolerability profile of novel, potent bisphosphonates in two short-term rat models. *Pharmacol Toxicol* 80:225–230
- Markowitz GS, Appel GB, Fine PL, Fenves AZ, Loon NR, Jagannath S, Kuhn JA, Dratch AD, D'Agati VD (2001) Collapsing focal segmental glomerulosclerosis following treatment with high-dose pamidronate. *J Am Soc Nephrol* 12:1164–1172
- Boonen S, Sellmeyer DE, Lippuner K, Orlov-Morozov A, Abrams K, Mesenbrink P, Eriksen EF, Miller PD (2008) Renal safety of annual zoledronic acid infusions in osteoporotic postmenopausal women. *Kidney Int* 74:641–648
- Miller PD, Ragi-Eis S, Mautalen C, Ramirez F, Jonkanski I (2011) Effects of intravenous ibandronate injection on renal function in women with postmenopausal osteoporosis at high risk for renal disease—the DIVINE study. *Bone* 49:1317–1322
- Miller PD, Roux C, Boonen S, Barton IP, Dunlap LE, Burgio DE (2005) Safety and efficacy of risedronate in patients with age-related reduced renal function as estimated by the Cockcroft and Gault method: a pooled analysis of nine clinical trials. *J Bone Miner Res* 20:2105–2115
- Miller PD, Jamal SA, Evenepoel P, Eastell R, Boonen S (2013) Renal safety in patients treated with bisphosphonates for osteoporosis: a review. *J Bone Miner Res* 28:2049–2059
- Heymsfield SB, Arteaga C, McManus C, Smith J, Moffitt S (1983) Measurement of muscle mass in humans: validity of the 24-hour urinary creatinine method. *Am J Clin Nutr* 37:478–494

Intravenous Bisphosphonate Therapy of Young Children with Osteogenesis Imperfecta: Skeletal Findings During Follow Up Throughout the Growing Years

Telma Palomo, François Fassier, Jean Ouellet, Atsuko Sato, Kathleen Montpetit, Francis H Glorieux, and Frank Rauch

Shriners Hospital for Children and McGill University, Montreal, Quebec, Canada

ABSTRACT

Cyclical intravenous bisphosphonate therapy is widely used to treat children with osteogenesis imperfecta (OI), but little is known about long-term treatment outcomes. We therefore reviewed 37 children with OI (OI type I, $n = 1$; OI type III, $n = 14$; and OI type IV, $n = 22$) who started intravenous bisphosphonate therapy before 5 years of age (median 2.2 years; range, 0.1 to 4.8 years), and who had a subsequent follow-up period of at least 10 years (median 14.8 years; range, 10.7 to 18.2 years), during which they had received intravenous bisphosphonate treatment (pamidronate or zoledronic acid) for at least 6 years. During the observation period, the mean lumbar spine areal bone mineral density Z-score increased from -6.6 (SD 3.1) to -3.0 (SD 1.8), and weight Z-score increased from -2.3 (SD 1.5) to -1.7 (SD 1.7) ($p < 0.001$ and $p = 0.008$). At the time of the last assessment, patients with OI type IV had significantly higher height Z-scores than a control group of patients matched for age, gender, and OI type who had not received bisphosphonates. Patients had a median of six femur fractures (range, 0 to 18) and five tibia fractures (range, 0 to 17) during the follow-up period. At baseline, 35% of vertebrae were affected by compression fractures, whereas only 6% of vertebrae appeared compressed at the last evaluation ($p < 0.001$), indicating vertebral reshaping during growth. Spinal fusion surgery was performed in 16 patients (43%). Among the 21 patients who did not have spinal fusion surgery, 13 had scoliosis with a curvature ranging from 10 to 56 degrees. In conclusion, long-term intravenous bisphosphonate therapy was associated with higher Z-scores for lumbar spine areal bone mineral density and vertebral reshaping, but long-bone fracture rates were still high and the majority of patients developed scoliosis. © 2015 American Society for Bone and Mineral Research.

KEY WORDS: OSTEOGENESIS IMPERFECTA; PAMIDRONATE; ZOLEDRONIC ACID

Introduction

Osteogenesis imperfecta (OI) is a heritable disorder of the extracellular matrix.⁽¹⁾ The clinically most conspicuous manifestation of OI is bone fragility, but the disorder also often affects teeth (dentinogenesis imperfecta) and soft tissues (eg, discoloration of sclera, joint hyperlaxity). The clinical severity varies widely and ranges from lack of symptoms to perinatal lethality. In the large majority of cases, OI is inherited as an autosomal dominant trait and is caused by mutations in one of the two genes that code for collagen type I, *COL1A1* and *COL1A2*.⁽¹⁾ The clinical phenotype caused by such mutations is typically separated into four types, where OI type I represents the “milder” end of the spectrum, OI type II is the lethal form, OI type III is the most severe type of OI in survivors, and OI type IV is intermediate in severity between OI types I and III.⁽²⁾

Intravenous bisphosphonate therapy is widely used to treat bone fragility in children with OI. This is largely based on studies

in patients with severe bone fragility who mostly had received intravenous pamidronate for periods of 2 to 4 years.^(3–5) Other bisphosphonates, such as neridronate and zoledronic acid have also been used, with broadly similar results.^(6,7) The reported skeletal effects of intravenous bisphosphonate therapy in children with OI include a marked increase in areal bone mineral density (BMD) at the lumbar spine, increased cortical thickness and trabecular bone volume per tissue volume on iliac bone histomorphometry, radiologically apparent reshaping of compressed vertebral bodies, and decreased fracture rate of long bones.^(3–10)

Despite these and numerous other reports on bisphosphonate therapy in children with OI, many knowledge gaps remain, in particular regarding long-term outcomes when treatment is started in the first years of life. In the present study we therefore assessed young patients with OI who were at or close to final height after having received intravenous bisphosphonate treatment from before 5 years of age.

Received in original form February 15, 2015; revised form May 26, 2015; accepted June 2, 2015. Accepted manuscript online June 8, 2015.

Address correspondence to: Frank Rauch, MD, Shriners Hospital for Children, 1529 Cedar Avenue, Montreal, Quebec, Canada H3G 1A6.

E-mail: frauch@shriners.mcgill.ca

Journal of Bone and Mineral Research, Vol. xx, No. xx, Month 2015, pp 1–8

DOI: 10.1002/jbmr.2567

© 2015 American Society for Bone and Mineral Research

Patients and Methods

Study population

The study population comprised young patients who were followed at the Shriners Hospital for Children–Canada, in Montreal. Patients had a clinical diagnosis of OI type I, III, or IV according to the Silience classification,⁽¹¹⁾ after an assessment by one of the authors (FHG or FR). Data were obtained by retrospective chart review. The study was approved by the Institutional Review Board of McGill University. Because this study was a retrospective chart review, informed consent was not required.

In order to assess the effects of long-term intravenous bisphosphonate treatment during growth, the following criteria were used: ⁽¹⁾ intravenous bisphosphonate treatment was started before 5 years of age; ⁽²⁾ age was 14 years or older at the time of the last follow-up; ⁽³⁾ during the observation period, intravenous bisphosphonates had been given for at least 6 years; ⁽⁴⁾ absence of treatment with oral bisphosphonates; ⁽⁵⁾ follow-up period of at least 10 years. A total of 37 patients fulfilled the criteria. These patients had started intravenous bisphosphonate treatment between August 1995 and April 2001 and were last assessed between August 2008 and July 2014.

Results for anthropometry and lumbar spine densitometry in these patients were compared to those of 37 individuals who were matched for age, gender, and OI type, but who had not received bisphosphonate prior to the assessment (“control group”). The assessments in this control group were performed between July 1994 and February 2012. Twenty-two patients in the control group had undergone rodding surgery of the lower extremities prior to the examinations reported in the present study, and all but 1 of the patients in the control group were treated with bisphosphonates subsequent to the evaluation.

Treatment

A multidisciplinary treatment approach was used, consisting of intravenous bisphosphonate infusions, as well as orthopedic interventions and rehabilitation, as described.⁽¹²⁾ Intravenous bisphosphonate therapy consisted of infusions with pamidronate (PAM) and/or zoledronic acid (ZOL). Up to the year 2003, PAM was given exclusively. In the subsequent years, ZOL was increasingly used. The choice of drug was based on the preference of patients and their parents.

PAM was administered by intravenous infusion over a 4-hour period, on each of 3 successive days, as described.⁽²⁾ These 3-day PAM cycles were repeated every 2 months for patients below 2.0 years of age, every 3 months for children between 2.0 and 3.0 years, and every 4 months for patients who were older than 3.0 years of age. The initial annual dose of pamidronate was 9 mg/kg of body weight (“full-dose PAM”). ZOL infusions were administered over 45 min at a single dose of 0.05 mg/kg of body weight, repeated every 6 months. Thus, the annual dose of ZOL was 0.1 mg/kg of body weight (“full-dose ZOL”). The doses of both drugs were reduced to one-half of the “full-dose” schedules (ie, an annual PAM dose of 4.5 mg/kg of body weight, or an annual ZOL dose of 0.05 mg/kg of body weight), when the lumbar spine areal BMD (LS-aBMD) Z-score exceeded –2. Treatment was interrupted for at least 4 months after orthopedic interventions involving osteotomies or spine fusion, in order to facilitate bone healing. The bisphosphonate treatment schedule was not altered after fractures, because our previous studies had not shown an effect of PAM on bone healing after fractures.⁽¹³⁾

Bisphosphonate infusions were discontinued once longitudinal growth had ceased.

Calcium intake was maintained according to the recommended daily allowance. All patients underwent physiotherapy and occupational therapy evaluation and intervention, including exercises and the provision of special devices for ambulation, mobility, positioning, and activities of daily living. In children with significant lower-limb deformity, intramedullary rodding procedures were performed when the child started to show an interest and ability to pull up to stand. Revision surgeries were performed as clinically required (eg, when a rod bent during a fracture).

Measures

Height was measured using a Harpenden stadiometer (Holtain, Crymch, UK). Blood samples were obtained between 8:00 a.m. and 10:00 a.m. after an overnight fast. Serum amino-terminal propeptide of type I collagen (P1NP), cross-linked C-telopeptide of type I collagen (CTX; CrossLaps), and 25-hydroxyvitamin D were measured by immunochemiluminescence assays on an IDS-iSYS automated analyzer (Immunodiagnostic Systems, Scottsdale, AZ, USA).

Dual-energy X-ray absorptiometry was performed in the anteroposterior direction at the lumbar spine (L₁–L₄) using a Hologic QDR Discovery device (Hologic Inc., Waltham, MA, USA). LS-aBMD results were transformed to age- and gender-specific Z-scores using published reference data.^(14,15) Volumetric BMD (vBMD) was derived from BMC and projection area as described by Carter and colleagues⁽¹⁶⁾ using the formula: vBMD = BMC/(projection area)^{1.5}. Peripheral quantitative computed tomography (pQCT; XCT-2000, Stratec Inc., Pforzheim, Germany) was performed at the metaphysis (4% site) and at the diaphysis (65% site) of the radius as described, and Z-scores were calculated based on age- and gender-matched reference data established by one of the authors (FR).^(17–20)

Information about tibia and femur fractures as well as scoliosis was obtained from radiological reports, including results for the Cobb angle (degree of spine curvature on anteroposterior radiographs). Scoliosis was said to be present when a Cobb angle of >10 degrees was observed.⁽²¹⁾ Fractures of bones other than tibias and femurs were not analyzed, because such fractures often were not documented radiologically. Lateral spine radiographs were evaluated for the presence or absence of vertebral compression fractures. The Genant semiquantitative method was used for vertebral fracture assessment from T₁ to L₅.⁽²²⁾ Vertebral bodies were assigned a severity score: grade 0 (normal), grade 1 (mild), grade 2 (moderate), or grade 3 (severe). The spine deformity index (SDI) was determined by summing the grade of each vertebra in each patient.⁽²³⁾ This index is useful for summarizing the number and the severity of vertebral fractures in a single metric.⁽²³⁾ Because not all vertebrae were sufficiently visible for evaluation on all radiographs, the number of vertebral compressions and the SDI were expressed relative to the number of vertebrae that could be evaluated.

Level of ambulation was determined by a physiotherapist or occupational therapist using the modified Bleck scale and classified into one of the following categories: nonambulator, therapeutic ambulator, household ambulator, limited-community ambulator, or full-community ambulator.⁽²⁴⁾

Statistical analysis

Anthropometric measurements were converted to age- and gender-specific Z-scores based on reference data reported by the Centers for Disease Control and Prevention.⁽²⁵⁾ Group

differences in dichotomous variables were tested for significance using the chi-square test. Mean values of continuous variables were compared by *t* tests; medians were compared by the Mann-Whitney *U* test or the Wilcoxon test, as appropriate. The difference of Z-score results to 0 (ie, the mean result expected in the general population) was tested for significance using the one-sample *t* test. A 5% significance level was used throughout, and all tests were two-sided. Calculations were performed using SPSS version 22 for Windows (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

Results

Baseline characteristics

Among the 37 patients (16 male, 21 female) included in the present study, 1 had a diagnosis of OI type I, the others were diagnosed with OI type III (*n* = 14) or OI type IV (*n* = 22). All but 1 of the study participants had a known mutation in a collagen type I encoding gene (*COL1A1*, *n* = 12; *COL1A2*, *n* = 24). The distribution of affected genes according to OI type was OI type I: *COL1A1*, *n* = 0; *COL1A2*, *n* = 1. OI type III: *COL1A1*, *n* = 7; *COL1A2*, *n* = 7. OI type IV: *COL1A1*, *n* = 5; *COL1A2*, *n* = 16, no mutation found, *n* = 1.

Fractures or long-bone deformities had been noted at birth in 29 individuals. The number of fractures between birth and bisphosphonate treatment start could not be determined with any certainty due to lack of radiographic documentation in many patients. However, all patients had long-bone or vertebral compression fractures before intravenous bisphosphonate treatment was started. By the time bisphosphonate therapy was commenced, 8 of the patients had undergone intramedullary rodding surgery in a median of 2 (range, 1 to 4) lower extremity segments (femur and/or tibia) to correct bone deformities. Mean Z-scores for height and weight were very low (Table 1).

Bisphosphonate treatment history

Intravenous bisphosphonate treatment was started between 0.1 and 4.8 years of age (Table 1). All 37 patients initially received

PAM at an annual dose of 9 mg/kg of body weight. The follow-up period after the first PAM infusion ranged from 10.7 to 18.2 years (median, 14.8 years). The duration of bisphosphonate treatment during the follow-up period ranged from 6 to 17 years (median, 10.8 years). During the follow-up period, the dose of PAM was decreased to an annual dose of 4.5 mg/kg of body weight in 15 patients because their LS-aBMD Z-score exceeded -2. Thirty patients eventually received ZOL, 26 of whom received a first ZOL dose of 0.05 mg/kg of body weight; 4 patients started ZOL at a dose of 0.025 mg/kg of body weight because their LS-aBMD Z-score was above -2. Six of the 26 patients who initially received "full-dose" ZOL eventually continued on "half-dose" ZOL at the time of the last follow-up visit.

All 37 patients had bisphosphonate treatment interruptions during the follow-up, because the initial protocol had foreseen to limit PAM treatment to a period of 4 years. However, treatment discontinuation in growing children seemed to be associated with fractures in those parts of long bones that had grown after the last bisphosphonate infusion,^(26,27) and therefore the protocol was changed to continue bisphosphonate therapy until the end of the growing period. The median time of treatment interruptions was 3.2 years (range, 1.5 to 9.6 years).

At the time of the last follow-up visit, 12 of the 37 patients had discontinued bisphosphonate treatment for a median of 1.3 years (range, 0.5 to 5.5 years) because they had reached final height.

Clinical course after the start of bisphosphonate therapy

During the observation period from the first PAM infusion to the last follow-up visit (median duration, 14.8 years), patients had a median of six radiologically documented femur fractures (range, 0 to 18) and a median of five tibia fractures (range, 0 to 17). The mean rate of fracture in lower extremity long bones decreased during the first 2 years of treatment and remained stable afterward (Fig. 1). Five of the 37 patients had more than 20 long-bone fractures in the lower extremities during the follow-up period; 5 patients had fewer than five such fractures during the follow-up period.

Table 1. Changes in Anthropometric Measures During Bisphosphonate Treatment and Comparison of Results at the Time of the Last Bisphosphonate Infusion to Controls (Matched for Age, Gender, and OI Type) Who Had Not Received Bisphosphonate Treatment Prior to Examination

	At first treatment	At last treatment	<i>p</i> ^a	Controls ^b
Entire cohort	<i>n</i> = 37	<i>n</i> = 37		<i>n</i> = 37
Age (years)	2.2 (0.6; 3.4)	14.9 (14.2; 17.3)		14.0 (12.9; 15.8)*
Height (Z-score)	-4.8 (3.0)	-5.1 (2.6)	0.25	-6.2 (2.7)
Weight (Z-score)	-2.3 (1.5)	-1.7 (1.7)	0.008	-2.4 (1.5)*
OI Type III	<i>n</i> = 14	<i>n</i> = 14		<i>n</i> = 14
Age (years)	2.1 (0.4; 2.4)	15.6 (14.1; 17.4)		13.7 (11.9; 15.8)
Height (Z-score)	-7.3 (2.3)	-7.6 (1.8)	0.57	-7.7 (2.4)
Weight (Z-score)	-3.6 (1.0)	-3.2 (0.6)	0.15	-3.1 (1.4)
OI type IV	<i>n</i> = 22	<i>n</i> = 22		<i>n</i> = 22
Age (years)	2.2 (0.6; 3.5)	14.8 (14.1; 17.3)		14.0 (13.0; 15.6)**
Height (Z-score)	-3.4 (2.3)	-3.7 (1.8)	0.37	-5.5 (2.4)*
Weight (Z-score)	-1.7 (1.1)	-0.9 (1.5)	0.03	-1.9 (1.5)*

Results are given as mean (SD) or median (25th percentile; 75th percentile).

^aValues of *p* for differences between results of first and last treatment (paired *t* test).

^bValues of *p* for differences between controls and results at last treatment by *U* test (age) or by ANOVA after adjustment for age (height Z-scores and weight Z-scores) are indicated by asterisks: **p* < 0.05; ***p* < 0.01.

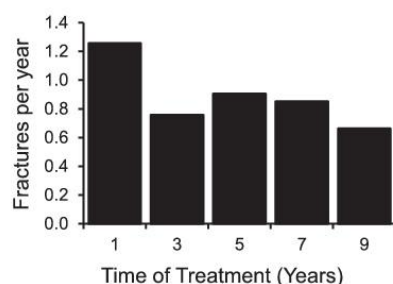


Fig. 1. Fractures rate of lower extremity long bones (femur and tibia/fibula combined) after the start of pamidronate treatment. The average age of the study population at 1 year of treatment was 3.2 years.

Regarding intramedullary rodding surgeries at the lower extremities, patients had a median of nine rods inserted in femurs and tibias during the observation period. This number includes initial rodding procedures to correct deformities, usually of both femurs and tibias (four segments), as well as any subsequent rod exchanges during revision surgeries. In addition, 16 patients had progressive scoliosis that was treated with spinal fusion surgery (OI type III: $n = 10$; OI type IV: $n = 6$). Among the 21 patients who did not have spinal fusion surgery, 13 had scoliosis with a curvature ranging from 10 to 56 degrees. Thus, overall 29 of the 37 patients (78%) had some degree of scoliosis. At the time of the last follow-up, the mobility status was as follows: nonambulator, $n = 11$; therapeutic ambulator, $n = 4$; household ambulator, $n = 4$; limited-community ambulator, $n = 7$; and full-community ambulator, $n = 11$.

At the time of the last assessment, height was low for most individuals, but height Z-scores in patients with OI type IV were significantly higher than in the control group of patients who were matched for age, gender, and OI type who had not received bisphosphonates (Table 1). Spinal fusion surgery did not seem to have a major effect on height Z-score, because in the 16 patients who underwent spinal fusion surgery, the mean (SD) height Z-score was -6.1 (2.7) before surgery and -6.4 (3.0) at 18 months after surgery ($p = 0.13$, paired t test).

As to lumbar spine bone densitometry by dual-energy X-ray absorptiometry, baseline areal BMD Z-scores at the start of bisphosphonate treatment were -6.6 (3.1) in the entire study population, -7.7 (3.5) in patients with OI type III, and -6.1 (2.6) in the OI type IV group. By the time of the last bisphosphonate infusion (or in patients who underwent spinal fusion surgery, the last spine densitometry prior to the intervention), areal BMD Z-scores had increased by an average of 3.6 in the whole population, and by the same amount in both OI type III and IV groups ($p < 0.001$ in each case). Compared to controls who had not received bisphosphonate treatment, the mean areal BMD Z-score was also higher by 3.6 in the treated cohort (Table 2). Both bone mineral content and bone projection area were higher in treated patients, but because the group difference was markedly larger for bone mineral content than for bone projection area, areal BMD and vBMD were higher in the treated cohort.

The number of vertebra with visible compression fractures decreased markedly between the pretreatment radiograph and

Table 2. Lumbar Spine Densitometry Results After Long-Term Bisphosphonate Treatment, Compared to Controls (Matched for Age, Gender, and OI Type) Who Had Not Received Bisphosphonate Treatment Prior to Bone Densitometry

	Treated	Controls	<i>p</i>
Entire cohort	<i>n</i> = 37	<i>n</i> = 37	
Age (years)	14.5 (2.9)	14.3 (2.3)	0.73
BMC (g)	26.9 (12.9)	11.6 (8.3)	<0.001
Area (cm ²)	40.2 (12.0)	29.6 (10.2)	<0.001
Areal BMD (g/cm ²)	0.64 (0.16)	0.36 (0.16)	<0.001
Areal BMD (Z-score)	-2.5 (1.4)	-6.2 (2.4)	<0.001
Volumetric BMD (mg/cm ³)	102 (21)	67 (28)	<0.001
OI Type III	<i>n</i> = 14	<i>n</i> = 14	
Age (years)	13.4 (3.5)	14.0 (2.9)	0.60
BMC (g)	17.3 (8.2)	8.0 (4.8)	<0.001
Area (cm ²)	30.9 (7.3)	26.1 (8.8)	0.06
Areal BMD (g/cm ²)	0.54 (0.15)	0.30 (0.15)	<0.001
Areal BMD (Z-score)	-3.2 (1.4)	-7.1 (2.4)	<0.001
Volumetric BMD (mg/cm ³)	98 (22)	61 (31)	0.002
OI Type IV	<i>n</i> = 22	<i>n</i> = 22	
Age (years)	15.2 (2.4)	14.4 (1.8)	0.14
BMC (g)	32.5 (12.0)	13.1 (8.7)	<0.001
Area (cm ²)	45.7 (11.0)	31.0 (10.0)	<0.001
Areal BMD (g/cm ²)	0.69 (0.14)	0.39 (0.16)	<0.001
Areal BMD (Z-score)	-2.2 (1.2)	-5.8 (2.1)	<0.001
Volumetric BMD (mg/cm ³)	104 (21)	70 (25)	<0.001

Results are given as mean (SD). Values of p were calculated by paired t test. In patients who had undergone spinal fusion surgery ($n = 16$), the last result before the intervention was used.

the follow-up radiograph at the last bisphosphonate infusion (or the last radiograph prior to spinal fusion) (Table 3, Fig. 2). Correspondingly, the number of vertebral compression fractures was much lower at the time of the last bisphosphonate infusion than in a control group of patients who were matched for age, gender, and OI type, but who had not received bisphosphonate treatment.

To assess long-bone characteristics after intravenous bisphosphonate treatment, radius pQCT was assessed in patients at the time of the last bisphosphonate infusion. pQCT could not be performed at baseline, nor in most individuals that were included in the control group. pQCT showed normal mean trabecular and cortical vBMD, but bone mineral content was low because of small total bone cross-sectional area (see addition to Table 4). Total vBMD at the radial diaphysis was high for the same reason.

Serum concentrations of P1NP and CTX were mostly in the lower part of the reference range or below the lower limit of the reference range (Fig. 3). Mean 25-hydroxyvitamin D levels at the last visit were 70 nmol/L (SD 27 nmol/L). There was no significant difference in 25-hydroxyvitamin D serum concentrations between the OI type III and IV groups.

Discussion

In this study we found that intravenous bisphosphonate therapy given during most of the growing years was associated with an increase in LS-aBMD Z-scores and, in OI type IV, in increased height compared to untreated patients with the same age, gender, and OI type who had not received bisphosphonate therapy. Nevertheless, a significant proportion of patients had

Table 3. Vertebral Compression Fracture Status Before and After Bisphosphonate Treatment ($n = 30$ patients), and Comparison of Posttreatment Results to Controls ($n = 30$; Matched for Age, Gender, and OI Type) Who Had Not Received Bisphosphonates Prior to Examination

	Pretreatment	Posttreatment	p^a	Controls ^b
Age at spine X-ray (years)	2.0 (0.6; 3.4)	14.8 (13.3; 16.3)		13.6 (12.8; 15.7)
Evaluated vertebra (n)	17 (15.5; 17)	17 (11; 17)	0.08	17 (14; 17)
Compressed vertebra (n)	6 (0; 10)	1 (0; 2)	<0.001	5 (1; 12)**
Compressed vertebra (% evaluated)	35 (0; 66)	6 (0; 18)	<0.001	44 (12; 76)**
SDI/evaluated vertebra	0.6 (0.0; 1.6)	0.1 (0.0; 0.2)	<0.001	0.7 (0.1; 1.5)

Results are given as median (25th percentile; 75th percentile). Pretreatment radiographs were obtained less than 12 months prior to bisphosphonate therapy. Posttreatment radiographs were obtained either at the time of the last bisphosphonate infusion or prior to spinal fusion surgery.

SDI = spine deformity index.

^aValues of p indicate the level of significance in the differences between pretreatment and posttreatment results (Wilcoxon test).

^bValues of p for differences between controls and posttreatment results (Mann-Whitney U test) are indicated by asterisks: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

frequent fractures of lower-extremity long bones and progressive scoliosis despite intravenous bisphosphonate therapy.

We had previously shown that patients who had received intravenous PAM treatment over a period of 4 years were taller than historical controls who had not received treatment.⁽²⁸⁾ Similarly, the height in patients with OI type IV was on average 1.8 Z-score units higher than in controls who had not received bisphosphonate treatment, which translates into a difference in final height of about 10 cm. Bisphosphonates are not expected to have a direct stimulatory effect on growth plates, but might improve height by increasing metaphyseal bone mass, thus providing support for growth plates and preventing their disintegration ("popcorn epiphyses").⁽²⁹⁾ In patients with OI type

III, bisphosphonate therapy was not associated with a higher height Z-score, possibly because growth plates were already damaged by the time when bisphosphonate treatment was started.

Straightening of long-bone deformities by intramedullary rodding surgery may also have influenced longitudinal growth, even though in a previous study we did not find a short-term effect of rodding surgery on height Z-score in children with OI.⁽²⁸⁾ In order to straighten deformed bones, wedges of bone tissue are excised during rodding surgery, which initially will shorten bones. Nevertheless, it is possible that in the longer term better alignment of growth plates with the main axes of the lower extremities may stimulate growth plate activity, and thus

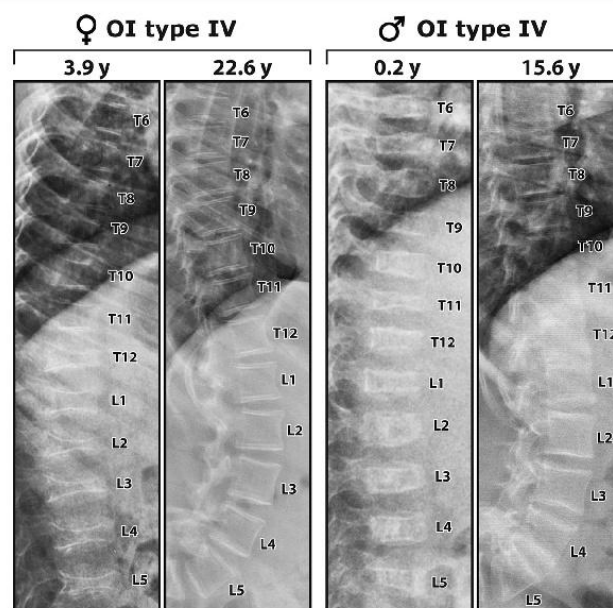


Fig. 2. Lateral spine radiographs of two patients with OI type IV before and after treatment with intravenous bisphosphonates. The images are at different scales to ensure that corresponding vertebra appear on similar levels. Reshaping of compressed vertebra is evident.

Table 4. pQCT at the Last Follow-Up Visit

	All	OI Type III	OI Type IV
pQCT at radial metaphysis (4% site)	<i>n</i> = 34	<i>n</i> = 11	<i>n</i> = 22
Total bone mineral content	−1.3 (1.9)***	−2.6 (2.1)**	−0.7 (1.6)*
Total cross-sectional area	−1.1 (1.4)***	−1.8 (1.5)**	−0.8 (1.3)*
Total vBMD	−0.3 (1.7)	−1.0 (2.7)	0.001 (1.0)
Trabecular vBMD	−0.6 (2.2)	−1.2 (2.9)	−0.3 (2.0)
pQCT at radial diaphysis (65% site)	<i>n</i> = 36	<i>n</i> = 13	<i>n</i> = 22
Total bone mineral content	−2.4 (1.7)***	−3.8 (1.4)***	−1.7 (1.5)***
Total cross-sectional area	−3.4 (2.0)***	−4.6 (1.8)***	−2.7 (1.9)***
Cortical cross-sectional area	−2.5 (1.9)***	−3.9 (2.2)***	−1.6 (1.2)***
Total vBMD	1.4 (1.2)***	1.3 (1.4)*	1.4 (1.1)***
Cortical vBMD	0.5 (1.9)	−0.1 (2.4)	0.8 (1.5)*
Strength-Strain Index	−3.6 (2.2)***	−5.2 (1.8)***	−2.8 (1.9)***
Muscle cross-sectional area	−1.6 (1.9)***	−3.3 (2.0)***	−0.7 (1.0)**

All results are expressed as mean (SD) of the age- and sex-specific Z-scores.

pQCT = peripheral quantitative computed tomography; vBMD = volumetric BMD.

p* < 0.05; *p* < 0.01; ****p* < 0.001 by one-sample *t* test (compared to 0).

rodding surgery might contribute to improved final height. We did not find a positive effect of spinal fusion surgery on height Z-scores, presumably because any increase in height that may result from straightening the spine is counteracted by the spinal growth arrest induced by the fusion surgery.

The rate of long-bone fractures in the lower extremities was at 1.25 fractures per year during the first 2 years of treatment and then remained stable at about 0.8 fractures per year during the subsequent 8 years. To put these numbers into perspective, we had found a lower-extremity long-bone fracture rate of 0.4 fractures per year in children and adolescents with mild OI type I

who had not received bisphosphonate treatment.⁽³⁰⁾ Thus, clearly the treatment was not sufficient to bring the long-bone fracture rate of children with severe OI down to the level of children with mild OI. Pretreatment fracture rates were not available in the present study and it is difficult to know in an observational study what the fracture rate would be without bisphosphonate treatment. Randomized studies on oral bisphosphonates suggest a beneficial effect on nonvertebral fractures.^(31,32) Overall, it appears likely that the treatment approach has contrasting effects on long-bone fracture rates in children. Bisphosphonate therapy per se may increase bone

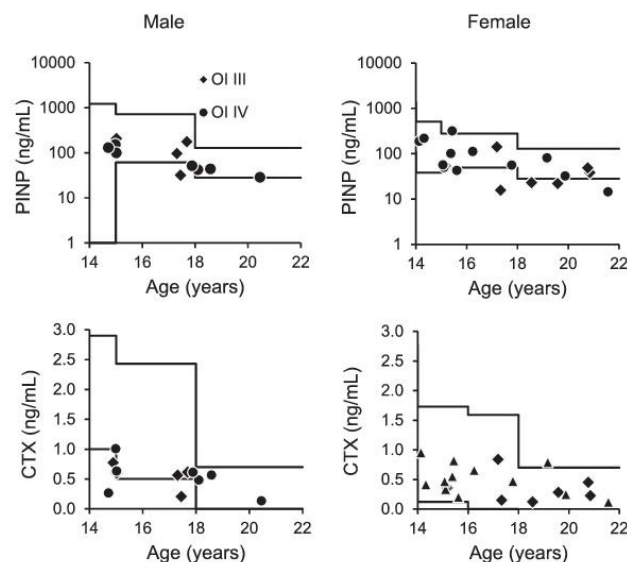


Fig. 3. Markers of bone metabolism at the end of the observation period. Results are compared to pediatric reference ranges for Canadian children and adolescents (black lines).^(3,8)

strength and facilitate rodding surgery. On the other hand, any improvements in mobility that result from improved clinical status may lead to a higher risk of falls and other accidents, thereby increasing fracture risk.

The decrease in compressed vertebra during long-term bisphosphonate treatment confirms previous observations that vertebra of bisphosphonate-treated children with OI can reshape during growth.⁽⁹⁾ The present study highlights the extent to which vertebral reshaping can occur, because both the number and the severity of vertebral compressions decreased markedly. This observation does not seem to reflect the natural history of vertebral compression fractures in children with OI, because patients who had received bisphosphonate treatment long term had far fewer radiographically apparent compressed vertebra than patients who were matched for age, gender, and OI type but had not received bisphosphonates.

Apart from the inherently lower bone quality in OI, fracture rates in long-bone diaphyses may also be high because of abnormal bone geometry. Children with OI not receiving bisphosphonate therapy have a very small bone cross-section and total vBMD is abnormally high at the diaphysis.⁽³³⁾ Elevated baseline total vBMD in long-bone shafts may limit the benefits that can be achieved at diaphyseal sites when using BMD-increasing agents such as bisphosphonates. Indeed, the pQCT results of the present study indicate that after long-term bisphosphonate treatment, total vBMD at the radius shaft was very high, but that the total bone cross-sectional area remained very low. This is in accordance with bone histomorphometric data that PAM treatment has little effect on periosteal expansion in children with OI.⁽⁸⁾

A substantial proportion of the patients described here had progressive scoliosis. Our observations match the findings of a recent study, in which scoliosis was noted in two-thirds of children with OI type III.⁽³⁴⁾ We have previously shown that PAM treatment is associated with the reshaping of compressed vertebral bodies.⁽⁹⁾ One might assume that better vertebral shape helps to prevent the occurrence of scoliosis. However, it is not clear to what extent scoliosis in OI is caused by factors other than vertebral shape, such as soft-tissue abnormalities. It is noteworthy that scoliosis is frequent in genetic disorders which affect ligaments and tendons, such as Ehlers-Danlos syndrome and Marfan syndrome, but which do not typically lead to vertebral compression fractures.^(35,36) Thus, the relative importance of soft-tissue versus bone abnormalities in the development of scoliosis in OI requires further study.

Bisphosphonate therapy is associated with decreased bone remodeling and therefore it is expected that biochemical markers of bone turnover are low after long-term bisphosphonate therapy. Nevertheless, most patients had serum CTX and P1NP levels within normal limits. This may reflect the fact that the disease process itself is characterized by increased bone turnover activity,⁽³⁷⁾ which may counteract to some extent the treatment-induced slowdown in bone turnover.

Among the limitations of the present study is its retrospective design, which is prone to introducing observation bias. Because there was no placebo-treated control group, it is difficult to disentangle the relative contribution of the various treatments (medical, orthopedic, rehabilitation) that were administered in parallel.

In conclusion, long-term intravenous bisphosphonate therapy in children with severe OI was associated with increasing Z-scores for LS-aBMD and taller stature in OI type IV, but patients

still had frequent fractures of long bones and often developed progressive scoliosis. On the one hand, these observations reinforce the notion that intravenous bisphosphonate therapy is not a cure for OI but rather an adjunct treatment for rehabilitation and orthopedic therapies. On the other, it is clear that current medical treatment approaches leave significant scope for further reductions in the disease burden carried by children with severe OI.

Disclosures

FF: Péga Médicale: royalties. JO: Research Grants from the AO Foundation unrelated to this research; DepuySynthes: consulting agreements. FHG: Novartis, Alexion, Kyowa-Kirin-Pharma: study grants to institution; Amgen, Alexion, Novartis, Genzyme: consulting agreements. FR: Genzyme Inc: Advisory Board member; Novartis Inc: Study grant to institution; Alexion Inc: Study grant to institution.

Acknowledgments

This work was supported by grants from the Chercheur-Boursier Clinicien program of the Fonds de Recherche du Québec - Santé (to FR); and the Shriners of North America. We are indebted to Johanne Brunelle for her invaluable contribution to the bisphosphonate infusion program. We thank Michaela Durigova for organizational support and Mark Lepik for the preparation of the figures.

Authors' roles: TP: data collection and analysis, preparation of the first draft; FF, JO, KM, and FG: contributed patient information and revised manuscript content; FR conceptualized the project, contributed patient information, completed the report, and accepts responsibility for the integrity of the data analysis. All authors read and approved of the final version of the manuscript.

References

- Forlino A, Cabral WA, Barnes AM, Marini JC. New perspectives on osteogenesis imperfecta. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;7:540–57.
- Rauch F, Glorieux FH. Osteogenesis imperfecta. *Lancet*. 2004;363:1377–85.
- Glorieux FH, Bishop NJ, Plotkin H, Chabot G, Lanoue G, Travers R. Cyclic administration of pamidronate in children with severe osteogenesis imperfecta. *N Engl J Med*. 1998;339:947–52.
- Astrom E, Soderhall S. Beneficial effect of long term intravenous bisphosphonate treatment of osteogenesis imperfecta. *Arch Dis Child*. 2002;86:356–64.
- Plotkin H, Rauch F, Bishop NJ, et al. Pamidronate treatment of severe osteogenesis imperfecta in children under 3 years of age. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:1846–50.
- Gatti D, Antoniazzi F, Prizzi R, et al. Intravenous neridronate in children with osteogenesis imperfecta: a randomized controlled study. *J Bone Miner Res*. 2005;20:758–63.
- Vuorimies I, Toiviainen-Salo S, Hero M, Makitie O. Zoledronic acid treatment in children with osteogenesis imperfecta. *Horm Res Paediatr*. 2011;75:346–53.
- Rauch F, Travers R, Plotkin H, Glorieux FH. The effects of intravenous pamidronate on the bone tissue of children and adolescents with osteogenesis imperfecta. *J Clin Invest*. 2002;110:1293–9.
- Land C, Rauch F, Munns CF, Sahebjam S, Glorieux FH. Vertebral morphometry in children and adolescents with osteogenesis imperfecta: effect of intravenous pamidronate treatment. *Bone*. 2006;39:901–6.

10. Land C, Rauch F, Montpetit K, Ruck-Gibis J, Glorieux FH. Effect of intravenous pamidronate therapy on functional abilities and level of ambulation in children with osteogenesis imperfecta. *J Pediatr*. 2006;148:456–60.
11. Silience DO, Senn A, Danks DM. Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta. *J Med Genet*. 1979;16:101–16.
12. Zeitlin L, Fassier F, Glorieux FH. Modern approach to children with osteogenesis imperfecta. *J Pediatr Orthop B*. 2003;12:77–87.
13. Munns CF, Rauch F, Zeitlin L, Fassier F, Glorieux FH. Delayed osteotomy but not fracture healing in pediatric osteogenesis imperfecta patients receiving pamidronate. *J Bone Miner Res*. 2004;19:1779–86.
14. Kalkwarf HJ, Zemel BS, Yolton K, Heubi JE. Bone mineral content and density of the lumbar spine of infants and toddlers: influence of age, sex, race, growth, and human milk feeding. *J Bone Miner Res*. 2013;28:206–12.
15. Zemel BS, Kalkwarf HJ, Gilsanz V, et al. Revised reference curves for bone mineral content and areal bone mineral density according to age and sex for black and non-black children: results of the bone mineral density in childhood study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:3160–9.
16. Carter DR, Bouxsein ML, Marcus R. New approaches for interpreting projected bone densitometry data. *J Bone Miner Res*. 1992;7:137–45.
17. Rauch F, Schoenau E. Peripheral quantitative computed tomography of the distal radius in young subjects—new reference data and interpretation of results. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2005;5:119–26.
18. Rauch F, Schoenau E. Peripheral quantitative computed tomography of the proximal radius in young subjects—new reference data and interpretation of results. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2008;8:217–26.
19. Neu CM, Rauch F, Rittweger J, Manz F, Schoenau E. Influence of puberty on muscle development at the forearm. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002;283:E103–7.
20. Schoenau E, Neu CM, Beck B, Manz F, Rauch F. Bone mineral content per muscle cross-sectional area as an index of the functional muscle-bone unit. *J Bone Miner Res*. 2002;17:1095–101.
21. Keynan O, Fisher CG, Vaccaro A, et al. Radiographic measurement parameters in thoracolumbar fractures: a systematic review and consensus statement of the spine trauma study group. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2006;31:E156–65.
22. Genant HK, Wu CY, van Kuijk C, Nevitt MC. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res*. 1993;8:1137–48.
23. Minne HW, Leidig G, Wuster C, et al. A newly developed spine deformity index (SDI) to quantitate vertebral crush fractures in patients with osteoporosis. *Bone Miner*. 1988;3:335–49.
24. Bleck EE. Nonoperative treatment of osteogenesis imperfecta: orthotic and mobility management. *Clin Orthop*. 1981;111–22.
25. Ogden CL, Kuczmarski RJ, Flegal KM, et al. Centers for Disease Control and Prevention 2000 growth charts for the United States: improvements to the 1977 National Center for Health Statistics version. *Pediatrics*. 2002;109:45–60.
26. Rauch F, Munns C, Land C, Glorieux FH. Pamidronate in children and adolescents with osteogenesis imperfecta: effect of treatment discontinuation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:1268–74.
27. Rauch F, Cornibert S, Cheung M, Glorieux FH. Long-bone changes after pamidronate discontinuation in children and adolescents with osteogenesis imperfecta. *Bone*. 2007;40:821–7.
28. Zeitlin L, Rauch F, Plotkin H, Glorieux FH. Height and weight development during four years of therapy with cyclical intravenous pamidronate in children and adolescents with osteogenesis imperfecta types I, III, and IV. *Pediatrics*. 2003;111:1030–6.
29. Obafemi AA, Bulas DI, Troendle J, Marini JC. Popcorn calcification in osteogenesis imperfecta: incidence, progression, and molecular correlation. *Am J Med Genet A*. 2008;146A:2725–32.
30. Ben Amor IM, Roughley P, Glorieux FH, Rauch F. Skeletal clinical characteristics of osteogenesis imperfecta caused by haploinsufficiency mutations in COL1A1. *J Bone Miner Res*. 2013;28:2001–7.
31. Sakkars R, Kok D, Engelbert R, et al. Skeletal effects and functional outcome with olpadronate in children with osteogenesis imperfecta: a 2-year randomised placebo-controlled study. *Lancet*. 2004;363:1427–31.
32. Bishop N, Adami S, Ahmed SF, et al. Risedronate in children with osteogenesis imperfecta: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2013;382:1424–32.
33. Rauch F, Land C, Cornibert S, Schoenau E, Glorieux FH. High and low density in the same bone: a study on children and adolescents with mild osteogenesis imperfecta. *Bone*. 2005;37:634–41.
34. Anissipour AK, Hammerberg KW, Caudill A, et al. Behavior of scoliosis during growth in children with osteogenesis imperfecta. *J Bone Joint Surg Am*. 2014;96:237–43.
35. Demetracopoulos CA, Sponseller PD. Spinal deformities in Marfan syndrome. *Orthop Clin North Am*. 2007;38:563–72.
36. Shirley ED, Demario M, Bodurtha J. Ehlers-Danlos syndrome in orthopaedics: etiology, diagnosis, and treatment implications. *Sports Health*. 2012;4:394–403.
37. Rauch F, Travers R, Parfitt AM, Glorieux FH. Static and dynamic bone histomorphometry in children with osteogenesis imperfecta. *Bone*. 2000;26:581–9.
38. Huang Y, Eapen E, Steele S, Grey V. Establishment of reference intervals for bone markers in children and adolescents. *Clin Biochem*. 2011;44:771–8.

4. DISCUSSÃO

Este estudo teve a finalidade de propor um protocolo de tratamento mais simples e seguro com o uso do pamidronato intravenoso em crianças e adolescentes com Osteogênese Imperfeita. Além disso, objetivou mostrar os efeitos no longo prazo desta classe de drogas com relação aos parâmetros ósseos, antropométricos e cirúrgicos nesta mesma população de pacientes.

Já é vastamente conhecido, que os bisfosfonatos intravenosos são utilizados principalmente para tratar pacientes com hipercalcemia da malignidade, mieloma múltiplo, metástases ósseas secundárias ao câncer de mama e próstata e osteoporose pós-menopausa. A sociedade americana de oncologia clínica (ASCO) recomenda, em pacientes adultos oncológicos, que a infusão do pamidronato seja administrada em um tempo superior a 2 horas para evitar riscos de deterioração da função renal (54), embora existam dados que sugerem que o tempo de infusão de 1 hora seja seguro (69, 70).

O uso de pamidronato intravenoso em OI e outras doenças ósseas pediátricas se difundiu por todo o mundo após a publicação de *Glorieux e cols* (19) em 1998 que mostrou um aumento na DMO da coluna lombar e diminuição na taxa de fraturas em 30 pacientes portadores de OI tratados com pamidronato durante um intervalo que variou de 1,3 a 5 anos de seguimento. Este protocolo, em crianças maiores do que 3 anos, preconiza o uso de pamidronato intravenoso na dose de 1mg/Kg/dia durante 3 dias consecutivos. O intervalo de tratamento proposto pelos autores é de 4 meses e o tempo de infusão de 4 horas foi definido arbitrariamente devido às preocupações relacionadas à segurança renal (19).

Nosso estudo, modificou o protocolo mais largamente utilizado (19) com o uso de pamidronato intravenoso para o tratamento de crianças e adolescentes com OI objetivando um esquema terapêutico mais simples e prático que consistiu na administração de pamidronato intravenoso em uma dose única diária de 2 mg/Kg que foi administrada em um tempo de infusão mais curto (2 horas). Ou seja, propusemos um protocolo modificado com uma infusão mais rápida do pamidronato intravenoso e conseqüentemente com uma concentração por dose mais elevada desta solução; na avaliação deste novo protocolo monitoramos a segurança renal e os efeitos da droga na DMO da CL após comparar com controles históricos. Parâmetros de segurança renal foram monitorados cuidadosamente ao longo de uma semana durante cada infusão (Tabela 2 – Artigo 1) e o intervalo de tratamento

proposto foi de quatro meses com um seguimento de 1 ano. Nossos dados (Artigo 1) mostraram um aumento transitório discreto da creatinina sérica entre 8 e 24 horas após a administração do pamidronato que retornou ao basal sete dias após o tratamento (Figura 1 – Artigo 1). Não encontramos alterações significativas na creatinina sérica entre o início e o final do tratamento com pamidronato intravenoso ($0,40 \pm 0,13$ mg/dl e $0,41 \pm 0,11$ mg/dl) ($p= 0,79$), mostrando que a droga foi segura após 1 ano. A toxicidade renal com altas doses dos bisfosfonatos tem sido relatada em estudos animais (51) e também em adultos com mieloma múltiplo e câncer de mama que foram tratados com doses elevadas desta medicação (52). Entretanto, os dados são escassos com relação à segurança renal dos bisfosfonatos em crianças e adolescentes com doenças ósseas. Nossos resultados foram semelhantes aos previamente descritos com o uso de outros bisfosfonatos em adultos mostrando um aumento transitório, pós infusional da creatinina sérica em pacientes que foram tratados com ácido zoledrônico, ibandronato e risedronato oral (71-73). Entretanto os mesmos dados mostraram que estas drogas não resultam em deterioração da função renal no longo prazo. Em estudos clínicos de pacientes com osteoporose tratados com bisfosfonatos, não houve deterioração da função renal (74).

Nosso estudo também mostrou mínimas variações individuais da creatinina sérica no início e no final do estudo (7 dias após a quarta infusão) entre os 14 indivíduos que finalizaram o protocolo modificado (Figura 2 – Artigo 1). Na tentativa de observar se as crianças mais novas desta amostra são mais suscetíveis ao aumento de creatinina sérica após a administração do pamidronato intravenoso, dividimos nosso grupo de 18 pacientes em 9 crianças mais novas (mediana idade: 5,2 anos) e 9 crianças mais velhas (mediana idade: 13 anos). Não encontramos diferença significativa nas variações de creatinina sérica durante as 4 infusões nas crianças mais novas ($p=0,56$). Já nas crianças mais velhas desta amostra, em concordância com os resultados do grupo como um todo, houve um aumento transitório da creatinina sérica logo após a infusão do pamidronato que retornou ao basal 7 dias após o tratamento. Quando comparamos os valores de creatinina sérica no início e no final do estudo (1 ano após 4ª infusão) no 2 grupos separadamente, também não observamos diferença significativa entre os 2 tempos ($p=0,66$ e $p=0,37$), mostrando que as crianças mais novas deste estudo não foram mais

suscetíveis à nefrotoxicidade da droga.

É sabido que a creatinina é um marcador de massa muscular (75). Desse modo, sabemos que pacientes com OI têm valores mais baixos de creatinina sérica, refletindo a baixa massa muscular encontrada nestes pacientes. Da mesma forma, nosso estudo também evidenciou valores mais baixos de creatinina sérica nos 18 pacientes do PM.

Após a realização do nosso estudo, comparamos o dados de segurança renal e eficácia de nossos pacientes com controles históricos publicados previamente (Tabela 4 – Artigo 1) (20). Com relação à segurança renal, ambos os grupos tiveram mínimas variações não significativas nas creatinina sérica (Figura 3), além de não existir diferença significativa nas variações de creatinina entre os 2 grupos ($p=0,32$); demonstrando que, o protocolo modificado foi tão seguro quanto o protocolo padrão.

Não diferentemente de outros estudos (19,39,41,49,76-81) que mostram um aumento da DMO da CL com o uso de bisfosfonatos em pacientes com OI, verificamos que o nosso protocolo foi tão eficaz em aumentar a densidade mineral óssea da coluna dos pacientes portadores de OI quanto o protocolo padrão durante o período observado (Artigo 1). Além disso, 67% dos pacientes do PM não apresentaram nenhuma fratura durante o seguimento de 1 ano. Entretanto, vale ressaltar, que 1 ano de seguimento não é suficiente para permitir uma conclusão definitiva da eficácia anti-fratura do novo protocolo, sendo necessário estudos placebo-controlado com um tempo de acompanhamento mais longo.

Alguns estudos já relataram valores normais de cálcio e fósforos séricos em pacientes com OI, além da diminuição de suas concentrações durante as primeiras infusões de bisfosfonatos intravenosos (19). Em nosso estudo houve uma diminuição significativa dos níveis de cálcio e fósforo séricos durante as primeiras 24 horas da primeira infusão em ambos os protocolos. Todavia, estas alterações não foram relacionadas a nenhum sintoma de hipocalcemia.

Zeitlin e cols relatou um aumento do Z-score do peso e altura com o tratamento com bisfosfonatos intravenosos em OI (42). No presente estudo, ambos os grupos tiveram aumento significativo no Z-score do peso e altura, sem diferenças significativas entre os 2 grupos.

Outro ponto importante, é que devido aos escassos estudos randomizados comparando diferentes doses e tipos de bisfosfonatos no tratamento de OI, fica

difícil afirmar a superioridade de um regime de tratamento sobre o outro. Este foi o primeiro estudo que comparou 2 protocolos diferentes com relação a segurança renal e eficácia.

Nosso estudo optou por este novo protocolo em função de algumas possíveis vantagens sobre o protocolo padrão. Acreditamos que ajustando o tratamento para uma dose única diária, o tornaria muito mais prático e possivelmente reduziria a lista de espera de leito hospitalar, para tratá-los por 3 dias consecutivos. Adicionalmente, os pacientes, seus familiares e as organizações de saúde se beneficiariam com a maior comodidade do esquema proposto, menor absenteísmo na escola e no trabalho; e, se pensarmos em aspectos socioeconômicos, possivelmente o novo protocolo seria menos oneroso para o sistema de saúde. Além do mais, em termos práticos, um dia de tratamento o tornaria mais viável de ser realizado em hospitais-dia e em centros hospitalares de menor complexidade.

Como limitação deste estudo (Artigo 1), podemos citar que faltaram as dosagens dos biomarcadores mais sensíveis de lesão renal aguda, o número de pacientes incluídos na amostra foi pequeno, o intervalo de seguimento de 1 ano foi relativamente curto, este estudo não foi placebo-controlado e não houve uma análise de custos comparando os 2 protocolos. Devido ao pequeno número de participantes incluídos neste estudo e ao curto intervalo de seguimento do mesmo, uma conclusão final da eficácia anti-fratura do protocolo modificado não pode ser feita neste momento, sendo necessário mais estudos para obter uma conclusão definitiva da sua eficácia.

Aproveitando a oportunidade de acesso ao banco de dados do grupo canadense que descreveu o protocolo padrão com pamidronato intravenoso em 1998, pudemos avaliar de forma inédita a evolução destes pacientes após pelo menos 10 anos de seguimento. Realizamos uma análise retrospectiva de pacientes portadores de OI tratados com bisfosfonatos intravenosos durante o período de crescimento (Artigo 2). Com este estudo foi possível verificar segurança e eficácia do uso de bisfosfonatos intravenosos no longo prazo, além de avaliar os efeitos do mesmo nas taxas de fraturas de membros inferiores, no remodelamento das fraturas vertebrais durante o crescimento, no número de cirurgias ortopédicas realizadas no período e na evolução de escoliose durante a puberdade.

Existe evidência em estudos observacionais e placebo-controlados, de que a

terapia com bisfosfonatos intravenosos aumenta a densidade mineral óssea da coluna em pacientes com OI (59). Entretanto, nenhum estudo prévio teve um tempo seguimento superior a 4 anos. Neste estudo observamos que o tratamento no longo prazo (mais de 6 anos) com o uso de bisfosfonatos intravenosos (pamidronato ou ácido zoledrônico) foi associado a um aumento significativo no Z-score da densidade mineral óssea da coluna lombar em todos os pacientes (Tabela 2 – Artigo 2).

Nos pacientes com OI tipo IV, houve um aumento no Z-score da estatura final, em média, de 1,8 unidades acima dos controles históricos com OI pareados, que não receberam tratamento (Tabela 1 – Artigo 2). Em termos práticos, isto se traduz por um estatura final 10 cm acima da esperada. Esses achados foram semelhantes ao estudo publicado por *Zeitlin e cols* (42). Vale ressaltar, que não é esperado que os bisfosfonatos tenham um efeito direto estimulatório na placa de crescimento, porém, acreditamos que ele contribua para a melhora da estatura final por aumentar a massa óssea da metáfise dos ossos longos, fornecendo uma melhor sustentação para a placa de crescimento e com isto, prevenindo a sua desintegração. Já nos pacientes com OI tipo III, o tratamento com bisfosfonatos não foi associado a um aumento significativo do Z-score de estatura, possivelmente porque a placa de crescimento já estava danificada quando a terapia com bisfosfonatos foi iniciada.

Adicionalmente, o alinhamento das deformidades de ossos longos através da colocação de haste intramedular nos membros inferiores, também deve contribuir para o crescimento longitudinal e melhora da estatura final, embora um estudo prévio não tenha demonstrado isto em curto prazo (42). Supomos que este resultado se deve ao fato de que ao alinhar os ossos arqueados, parte do osso é retirado durante o procedimento cirúrgico, levando ao encurtamento dos ossos longos num primeiro momento. Não obstante, acreditamos que ao longo do tempo, o melhor alinhamento das placas de crescimento com o eixo principal dos membros inferiores deva estimular a atividade da placa de crescimento e, conseqüentemente, contribuir para a melhora da estatura final.

Um outro dado a ser destacado é que este estudo não encontrou um efeito positivo do alinhamento cirúrgico da coluna sobre o Z-score da estatura final, provavelmente porque o ganho causado pelo alinhamento da coluna seria neutralizado pelo não crescimento adicional após a fusão dos corpos vertebrais. Além disso, dezesseis pacientes (42%) foram submetidos à cirurgia corretiva da

escoliose devido à progressão significativa da mesma, apesar do tratamento com bisfosfonatos. Estes dados se assemelham a um recente estudo que observou uma incidência de escoliose em dois terços dos pacientes com OI tipo III que apresentavam uma média da taxa de progressão da escoliose de 6% ao ano. Também mostrou que o tratamento precoce em pacientes com OI tipo III reduziu a taxa de progressão anual da escoliose para 3,8% (82).

Ainda não está elucidado o mecanismo da escoliose em OI. Provavelmente existem anormalidades de partes moles associadas às alterações na forma e estrutura da vértebra (fraturas vertebrais). Mutações no colágeno tipo I não alteram somente a força do osso mas também a composição de ligamentos e tendões. A escoliose é uma alteração frequente, muitas vezes idiopática, que afeta ligamentos e tendões, tais como nas síndromes de Ehlers-Danlos e Marfan, nas quais fraturas vertebrais não são características típicas (83,84).

Apesar do tratamento com bisfosfonatos intravenosos, nosso estudo observou que um grande número de pacientes apresentaram várias fraturas de membros inferiores (mediana de 6 fraturas de fêmures e 5 de tíbias) durante o seguimento. A taxa de fraturas de ossos longos de membros inferiores neste estudo, foi de 1,25 fraturas por ano nos primeiros 2 anos de tratamento. Nos 8 anos subsequentes, as taxas de fraturas ficaram estáveis em 0,8 fraturas ao ano (Figura 1 – Artigo 2). *Ben Amor e cols*, em um estudo de pacientes com OI tipo I sem tratamento, mostrou que a taxa de fraturas de membros inferiores foi de 0,4 (85). Deste modo, fica claro que o tratamento com bisfosfonatos não é suficiente para reduzir as taxas de fraturas de membros inferiores em pacientes com as formas mais graves de OI, para valores semelhantes aos pacientes que apresentam a forma leve da doença.

Infelizmente este foi um estudo observacional e a taxa de fraturas pré-tratamento não estava disponível. Outros estudos randomizados, que utilizaram bisfosfonatos orais, sugerem um efeito benéfico da droga nas fraturas não vertebrais (80,86). Como hipótese adicional, podemos pensar que a melhora clínica proporcionada pelo tratamento levaria a uma maior mobilidade e, com isto, poderia aumentar o número de quedas e acidentes e, conseqüentemente, aumentar a taxa de fraturas.

Baseados nestes resultados a longo prazo, somos intuídos a relembrar o

conceito de que o tratamento com bisfosfonatos na OI não visa a corrigir a mutação genética que causa a doença, o que não nos deixa surpresos com o fato de que fraturas de ossos longos continuem a ocorrer.

A análise da estrutura óssea pela pQCT após pelo menos 6 anos de tratamento (Tabela 4 – Artigo 2), demonstrou valores normais da densidade óssea volumétrica trabecular (*trabecular vBMD*) na metáfise do rádio de nossos pacientes. Entretanto, a análise feita na diáfise do rádio distal mostrou que não houve melhora na área de secção transversal do rádio, com valores de Z-score significativamente abaixo do normal. Estes dados estão em concordância com os dados histomorfométricos publicados previamente mostrando que o tratamento com pamidronato tem pequeno efeito na expansão do periósteo em crianças com OI (39).

O presente estudo também destaca o impressionante ganho da altura vertebral e após o uso de bisfosfonatos intravenosos, mostrando uma diminuição significativa do número e da gravidade das fraturas por compressão vertebrais (Tabela 3 e figura 2 – Artigo 2). Este mesmo dado também foi demonstrado previamente por *Land e cols* (41).

Sabe-se que a terapia com bisfosfonatos leva a uma redução nos marcadores do metabolismo ósseo após longo tempo de tratamento. Uma outra abordagem deste estudo foi avaliar os marcadores do metabolismo ósseo. Os valores de CTX e P1NP estavam abaixo da média de indivíduos normais para idade e sexo na última visita do seguimento. Este dado pode refletir o fato de que a doença por si só já é caracterizada por um aumento de turnover ósseo (87), o que poderia minimizar o maior declínio destes marcadores para níveis inferiores aos valores de referência sugerindo que o tratamento no esquema utilizado não induziu uma supressão excessiva do turnover ósseo.

O uso de bisfosfonatos no longo prazo levanta algumas preocupações sobre o risco aumentado de osteopetrose induzida por bisfosfonatos e um aumento do risco de fraturas atípicas. Em 2003 e 2008 *White e cols* (88) (89) descreveram um caso de um paciente de 12 anos com dor óssea idiopática que foi tratado com pamidronato e evoluiu com osteopetrose após aumento progressivo da dose. *Nicolaou e cols* (90) descreveram alguns casos de fratura subtrocanterica em uma análise retrospectiva de adultos com OI tratados com bisfosfonatos por longo prazo. *Holm e cols* (91) descreveu um relato de caso de uma fratura atípica após

longo prazo de uso de bisfosfonatos em uma paciente de 70 anos com OI tipo I. Neste caso houve consolidação da fratura com o tratamento de teriparatida por 18 meses. Com relação à osteonecrose de mandíbula, *Hennedige e cols* (92) em uma revisão sistemática não evidenciou uma relação causal entre bisfosfonatos e osteonecrose de mandíbula em crianças e adolescentes com OI. Outra preocupação é o atraso da consolidação de fraturas com o uso de bisfosfonatos (93). Em 2004 *Munns e cols* descreveram um atraso da consolidação de fraturas após a osteotomia e não após fraturas (94). E em 2015 *Anam e cols* (95) descreveram um atraso de osteotomia muito menos frequente do que descrito pelo mesmo grupo 10 anos antes devido às mudanças no manejo medicamentoso e cirúrgico da OI.

Dentre as limitações deste estudo, podemos dizer que o fato do mesmo ter sido um estudo observacional, pode induzir a alguns vieses de observação. Além do mais, devido ao fato de não ser um estudo placebo-controlado, fica difícil analisar o papel individual de cada modalidade de tratamento, tais como, tratamento medicamentoso, cuidados ortopédicos e reabilitação.

Portando, podemos concluir que o tratamento no longo prazo com bisfosfonatos intravenosos, em crianças com OI nas formas moderadas a graves, foi associado a um aumento no Z-score da DMO da coluna lombar, uma maior estatura final nos pacientes com OI tipo IV e um remodelamento das fraturas vertebrais. Entretanto as taxas de fraturas de ossos longos continuam altas e a evolução da escoliose progrediu em alguns pacientes independentemente do tratamento.

Perspectivas Futuras

Embora o tratamento com bisfosfonatos, especialmente os intravenosos, tenha proporcionado um enorme avanço na qualidade de vida e uma modificação na história natural da doença para muitos pacientes com OI, podemos constatar que este benefício não é uniforme, pois em vários pacientes se observa a progressão da doença, o que mostra a necessidade de se buscar novas alternativas terapêuticas.

A teriparatida em adultos com OI foi experimentada por *Orwoll e cols* (96), que evidenciou um aumento significativo da BMD da coluna e do quadril, especialmente nos pacientes com OI tipo I. Este ganho foi menos pronunciado nos pacientes com as formas mais graves da doença (OI tipo III e IV); entretanto, neste mesmo estudo, não foi possível evidenciar diferenças nas taxas de fraturas entre os grupos tratado e placebo. O uso da teriparatida em crianças e adolescentes não está liberado pelo FDA, devido ao receio de osteosarcoma, visto em estudos animais.

O uso do hormônio de crescimento (GH) também já foi testado, mostrando um aumento da BMD e do crescimento longitudinal nos pacientes com OI tipo I, entretanto, também sem efeito evidente na redução da taxa de fraturas. (97,98)

Pesquisadores alemães descreveram alguns benefícios do tratamento com denosumabe em um pequeno número de crianças com OI, particularmente observados naqueles com o tipo VI da doença (99,100). Já está em andamento um estudo prospectivo maior desenhado para avaliar a eficácia e segurança do denosumabe (Clinical-Trials.gov Identifier: NCT01799798) (17) em paciente com OI com mutações no colágeno tipo 1.

O anticorpo anti-esclerosteína poderá ser benéfico para o tratamento de OI devido ao seu efeito anabólico no esqueleto por estimular a via WNT. A esclerosteína é uma molécula secretada pelo osteócito, que atua como antagonista da sinalização WNT por ligar-se ao receptor LRP5 (low density lipoprotein receptor related protein 5). Os efeitos do anticorpo anti-esclerosteína em ratos em crescimento e adultos mostrou resultados contraditórios (101). Desta forma, acredita-se que este tratamento poderá ter efeitos variáveis, de acordo com o tipo de OI.

Outra perspectiva futura para o tratamento de OI é o anticorpo TGF- β . O TGF-

β é um dos moduladores do remodelamento ósseo, secretado pelos osteoblastos e é estocado de forma inativa na matriz óssea. Curiosamente, tanto sua falta quanto o seu excesso pode resultar em baixa massa óssea em modelos animais (17). *Grafe e cols* (102) demonstraram que a alteração na via de sinalização do TGF- β é o fator importante para a baixa massa óssea em pelo menos 2 formas de OI e que a inibição farmacológica é capaz de melhorar este fenótipo ósseo em modelos animais. Em humanos, um estudo clínico fase I, com um anticorpo TGF- β contra as 3 isoformas, *fresolimumab*, tem sido bem tolerado em pacientes com fibrose pulmonar idiopática e glomeruloesclerose primária segmentar focal, abrindo a possibilidade de testar a droga em pacientes com OI.

Alguns estudos têm sido realizados com o transplante de células mesenquimais (103,104). Em 2014 dois pacientes com OI receberam o transplante pré e pós-natal. Este tratamento resultou na redução da incidência de fraturas e recuperação do crescimento (105). Pode-se dizer que o transplante de células mesenquimais é um potencial alvo terapêutico para a OI, sugerindo uma possível melhora do crescimento longitudinal e da estrutura e integridade do osso. Entretanto, vários pontos desta nova abordagem terapêutica ainda precisam ser elucidados.

A terapia gênica certamente representa a perspectiva de cura futura. A possibilidade de silenciamento do gene COL1A1 ou COL1A2 mutado, seguido de sua substituição, poderia levar à cura das formas mais comuns de OI. Acredita-se que a supressão específica de um dos alelos mutados, teoricamente, poderia ser suficiente para transformar uma forma grave (defeitos estruturais do colágeno), nas formas mais leves da doença causadas por defeitos quantitativos do colágeno. Até o momento o silenciamento gênico tem sido testado apenas in vitro (17).

Nas próximas décadas, os avanços no conhecimento da biologia óssea associados aos da terapia gênica, do transplante de células-tronco e das novas moléculas, certamente representarão uma nova era no tratamento das doenças esqueléticas monogênicas.

5. CONCLUSÕES

Em crianças e adolescentes com OI :

- Artigo 1 :

- A infusão intravenosa com pamidronato na dose de 2 mg/kg administrados em um tempo de 2 horas, a cada 4 meses ao longo de 1 ano não provocou deterioração da função renal, avaliada através da medida da creatinina plasmática, clearance de creatinina calculado, ureia, eletrólitos, microalbuminúria e ultrassonografia renal.
- Este mesmo protocolo modificado mostrou ganho da densidade mineral óssea da coluna, semelhante ao obtido com o protocolo padrão no período avaliado.

- Artigo 2 :

- A terapia no longo prazo com bisfosfonatos intravenosos durante o período de crescimento foi associada, em todos os pacientes, com aumento no Z-score da DMO da coluna lombar, aumento do Z-score do peso, redução do número de fraturas vertebrais e recuperação do formato dos corpos vertebrais previamente fraturados.
- Mostrou ainda uma redução do número de fraturas de ossos longos nos primeiros 2 anos de seguimento, permanecendo estável nos 8 anos subsequentes.
- Nos pacientes com OI tipo IV, foi possível observar uma melhora no Z-score da altura com a terapia no longo prazo.
- O tratamento no longo prazo com bisfosfonatos intravenosos manteve as concentrações séricas dos marcadores de remodelamento ósseo próximas ao limite inferior, embora ainda dentro das faixas da normalidade.
- Apesar do tratamento no longo prazo com bisfosfonatos intravenosos, 42% da amostra evoluiu com piora da escoliose, requerendo cirurgia.
- A pQCT do rádio realizada a pelo menos 6 anos após o início do tratamento com bisfosfonatos intravenosos mostrou uma densidade óssea volumétrica trabecular (*trabecular vBMD*) normal na metáfise do rádio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Shapiro JR, Byers PH, Glorieux FH, Sponseller PD. Osteogenesis imperfecta: a translational approach to brittle bone disease. Elsevier Inc. 2013.
2. Smith R, Francis MJO, Houghton GR. The brittle bone syndrome osteogenesis imperfecta: Butterworths; 1983.
3. Seedorff KS. Osteogenesis imperfecta; a study of clinical features and heredity based on 55 Danish families comprising 180 affected members. Universitetsforlaget. 1949.
4. Sillence DO, Senn A, Danks DM. Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta. J Med Genet. 1979;16(2):101-16.
5. Rauch F, Glorieux FH. Osteogenesis imperfecta. Lancet. 2004;363(9418):1377-85.
6. Glorieux FH, Rauch F, Plotkin H, Ward L, Travers R, Roughley P, et al. Type V osteogenesis imperfecta: a new form of brittle bone disease. J Bone Miner Res. 2000;15(9):1650-8.
7. Glorieux FH, Ward LM, Rauch F, Lalic L, Roughley PJ, Travers R. Osteogenesis imperfecta type VI: a form of brittle bone disease with a mineralization defect. J Bone Miner Res. 2002;17(1):30-8.
8. Ward LM, Rauch F, Travers R, Chabot G, Azouz EM, Lalic L, et al. Osteogenesis imperfecta type VII: an autosomal recessive form of brittle bone disease. Bone. 2002;31(1):12-8.
9. Marini JC, Cabral WA, Barnes AM. Null mutations in LEPRE1 and CRTAP cause severe recessive osteogenesis imperfecta. Cell and tissue research. 2010;339(1):59-70.
10. Marini JC, Reich A, Smith SM. Osteogenesis imperfecta due to mutations in non-collagenous genes: lessons in the biology of bone formation. Curr Opin Pediatr. 2014;26(4):500-7.
11. Shapiro JR, Sponseller PD. Osteogenesis imperfecta: questions and answers. Curr Opin Pediatr. 2009;21(6):709-16.
12. Van Dijk FS, Byers PH, Dalgleish R, Malfait F, Maugeri A, Rohrbach M, et al. EMQN best practice guidelines for the laboratory diagnosis of osteogenesis imperfecta. Eur J Hum Genet. 2012;20(1):11-9.
13. Forlino A, Cabral WA, Barnes AM, Marini JC. New perspectives on osteogenesis imperfecta. Nat Rev Endocrinol. 2011;7(9):540-57.

14. Forlino A, Marini JC. Osteogenesis imperfecta. *Lancet*. 2015.
15. Zeitlin L, Fassier F, Glorieux FH. Modern approach to children with osteogenesis imperfecta. *Journal of pediatric orthopedics Part B*. 2003;12(2):77-87.
16. Dogba MJ, Bedos C, Durigova M, Montpetit K, Wong T, Glorieux FH, et al. The impact of severe osteogenesis imperfecta on the lives of young patients and their parents -- a qualitative analysis. *BMC Pediatr*. 2013;13(1):153.
17. Besio R, Forlino A. Treatment Options for Osteogenesis Imperfecta. *Expert opinion on orphan drugs*. 2015;3 (2).
18. Montpetit K, Palomo T, Glorieux FH, Fassier F, Rauch F. Multidisciplinary Treatment of Severe Osteogenesis Imperfecta - Functional Outcomes at Skeletal Maturity. *Arch Phys Med Rehabil*. 2015.
19. Glorieux FH, Bishop NJ, Plotkin H, Chabot G, Lanoue G, Travers R. Cyclic administration of pamidronate in children with severe osteogenesis imperfecta. *N Engl J Med*. 1998;339(14):947-52.
20. Rauch F, Plotkin H, Travers R, Zeitlin L, Glorieux FH. Osteogenesis imperfecta types I, III, and IV: effect of pamidronate therapy on bone and mineral metabolism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(3):986-92.
21. Rauch F, Cornibert S, Cheung M, Glorieux FH. Long-bone changes after pamidronate discontinuation in children and adolescents with osteogenesis imperfecta. *Bone*. 2007;40(4):821-7.
22. Lowing K, Astrom E, Oscarsson KA, Soderhall S, Eliasson AC. Effect of intravenous pamidronate therapy on everyday activities in children with osteogenesis imperfecta. *Acta Paediatr*. 2007;96(8):1180-3.
23. Choi JH, Shin YL, Yoo HW. Short-term efficacy of monthly pamidronate infusion in patients with osteogenesis imperfecta. *Journal of Korean medical science*. 2007;22(2):209-12.
24. Bajpai A, Kabra M, Gupta N, Sharda S, Ghosh M. Intravenous pamidronate therapy in osteogenesis imperfecta: response to treatment and factors influencing outcome. *J Pediatr Orthop*. 2007;27(2):225-7.
25. Poyrazoglu S, Gunoz H, Darendeliler F, Bas F, Tutunculer F, Eryilmaz SK, et al. Successful results of pamidronate treatment in children with osteogenesis imperfecta with emphasis on the interpretation of bone mineral density for local standards. *J Pediatr Orthop*. 2008;28(4):483-7.

26. Vallo A, Rodriguez-Leyva F, Rodriguez Soriano J. Osteogenesis imperfecta: anthropometric, skeletal and mineral metabolic effects of long-term intravenous pamidronate therapy. *Acta Paediatr.* 2006;95(3):332-9.
27. Arikoski P, Silverwood B, Tillmann V, Bishop NJ. Intravenous pamidronate treatment in children with moderate to severe osteogenesis imperfecta: assessment of indices of dual-energy X-ray absorptiometry and bone metabolic markers during the first year of therapy. *Bone.* 2004;34(3):539-46.
28. Forin V, Arabi A, Guigonis V, Filipe G, Bensman A, Roux C. Benefits of pamidronate in children with osteogenesis imperfecta: an open prospective study. *Joint Bone Spine.* 2005;72(4):313-8.
29. Plotkin H, Rauch F, Bishop NJ, Montpetit K, Ruck-Gibis J, Travers R, et al. Pamidronate treatment of severe osteogenesis imperfecta in children under 3 years of age. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(5):1846-50.
30. Astrom E, Soderhall S. Beneficial effect of long term intravenous bisphosphonate treatment of osteogenesis imperfecta. *Arch Dis Child.* 2002;86(5):356-64.
31. Pazianas M, Abrahamsen B. Safety of bisphosphonates. *Bone.* 2011;49(1):103-10.
32. Bellido T, Plotkin LI. Novel actions of bisphosphonates in bone: preservation of osteoblast and osteocyte viability. *Bone.* 2011;49(1):50-5.
33. Pazianas M, Cooper C, Ebtino FH, Russell RG. Long-term treatment with bisphosphonates and their safety in postmenopausal osteoporosis. *Ther Clin Risk Manag.* 2010;6:325-43.
34. Cheung MS, Glorieux FH. Osteogenesis Imperfecta: update on presentation and management. *Rev Endocr Metab Disord.* 2008;9(2):153-60.
35. Cundy T. Recent advances in osteogenesis imperfecta. *Calcif Tissue Int.* 2012;90(6):439-49.
36. Russell RG. Bisphosphonates: mode of action and pharmacology. *Pediatrics.* 2007;119(2):S150-62.
37. Astrom E, Magnusson P, Eksborg S, Soderhall S. Biochemical bone markers in the assessment and pamidronate treatment of children and adolescents with osteogenesis imperfecta. *Acta Paediatr.* 2010;99(12):1834-40.

38. Cabral de Menezes Filho H, Rodrigues JM, Radonsky V, Della Manna T, Kuperman H, Steinmetz L, et al. Decrease of serum alkaline phosphatase after three cycles of pamidronate disodium in children with severe osteogenesis imperfecta. *Horm Res.* 2007;68 Suppl 5:207-8.
39. Rauch F, Travers R, Plotkin H, Glorieux FH. The effects of intravenous pamidronate on the bone tissue of children and adolescents with osteogenesis imperfecta. *J Clin Invest.* 2002;110(9):1293-9.
40. Rauch F, Travers R, Munns C, Glorieux FH. Sclerotic metaphyseal lines in a child treated with pamidronate: histomorphometric analysis. *J Bone Miner Res.* 2004;19(7):1191-3.
41. Land C, Rauch F, Munns CF, Sahebjam S, Glorieux FH. Vertebral morphometry in children and adolescents with osteogenesis imperfecta: effect of intravenous pamidronate treatment. *Bone.* 2006;39(4):901-6.
42. Zeitlin L, Rauch F, Plotkin H, Glorieux FH. Height and weight development during four years of therapy with cyclical intravenous pamidronate in children and adolescents with osteogenesis imperfecta types I, III, and IV. *Pediatrics.* 2003;111(5 Pt 1):1030-6.
43. Montpetit K, Plotkin H, Rauch F, Bilodeau N, Cloutier S, Rabzel M, et al. Rapid increase in grip force after start of pamidronate therapy in children and adolescents with severe osteogenesis imperfecta. *Pediatrics.* 2003;111(5 Pt 1):e601-3.
44. Zacharin M, Bateman J. Pamidronate treatment of osteogenesis imperfecta--lack of correlation between clinical severity, age at onset of treatment, predicted collagen mutation and treatment response. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2002;15(2):163-74.
45. Rauch F, Travers R, Glorieux FH. Pamidronate in children with osteogenesis imperfecta: histomorphometric effects of long-term therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(2):511-6.
46. Gatti D, Antoniazzi F, Prizzi R, Braga V, Rossini M, Tato L, et al. Intravenous neridronate in children with osteogenesis imperfecta: a randomized controlled study. *J Bone Miner Res.* 2005;20(5):758-63.
47. Ipach I, Kluba T, Wolf P, Pontz B, Mittag F. The influence of ibandronate treatment on bone density and biochemical bone markers in patients with osteogenesis imperfecta. *Orthopedic reviews.* 2012;4(3):e29.

48. Vuorimies I, Toiviainen-Salo S, Hero M, Makitie O. Zoledronic acid treatment in children with osteogenesis imperfecta. *Horm Res Paediatr*. 2011;75(5):346-53.
49. Barros ER, Saraiva GL, de Oliveira TP, Lazaretti-Castro M. Safety and efficacy of a 1-year treatment with zoledronic acid compared with pamidronate in children with osteogenesis imperfecta. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2012;25(5-6):485-91.
50. Perazella MA, Markowitz GS. Bisphosphonate nephrotoxicity. *Kidney Int*. 2008;74(11):1385-93.
51. Green JR, Seltenmeyer Y, Jaeggi KA, Widler L. Renal tolerability profile of novel, potent bisphosphonates in two short-term rat models. *Pharmacol Toxicol*. 1997;80(5):225-30.
52. Markowitz GS, Appel GB, Fine PL, Fenves AZ, Loon NR, Jagannath S, et al. Collapsing focal segmental glomerulosclerosis following treatment with high-dose pamidronate. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(6):1164-72.
53. Desikan R, Veksler Y, Raza S, Stokes B, Sabir T, Li ZJ, et al. Nephrotic proteinuria associated with high-dose pamidronate in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2002;119(2):496-9.
54. Kyle RA, Yee GC, Somerfield MR, Flynn PJ, Halabi S, Jagannath S, et al. American Society of Clinical Oncology 2007 clinical practice guideline update on the role of bisphosphonates in multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2007;25(17):2464-72.
55. Marini JC. Bone: Use of bisphosphonates in children-proceed with caution. *Nat Rev Endocrinol*. 2009;5(5):241-3.
56. Brizola E, Shapiro JR. Bisphosphonate Treatment of Children and Adults with Osteogenesis Imperfecta: Unanswered Questions. *Calcif Tissue Int*. 2015.
57. Phillipi CA, Remington T, Steiner RD. Bisphosphonate therapy for osteogenesis imperfecta. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008;8(4).
58. Dwan K, Phillipi CA, Steiner RD, Basel D. Bisphosphonate therapy for osteogenesis imperfecta. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;7:Cd005088.
59. Hald JD, Evangelou E, Langdahl BL, Ralston SH. Bisphosphonates for the Prevention of Fractures in Osteogenesis Imperfecta: Meta-Analysis of Placebo-Controlled Trials. *J Bone Miner Res*. 2014.

60. Shi CG, Zhang Y, Yuan W. Efficacy of Bisphosphonates on Bone Mineral Density and Fracture Rate in Patients With Osteogenesis Imperfecta: A Systematic Review and Meta-analysis. *American journal of therapeutics*. 2015.
61. Bachrach LK, Ward LM. Clinical review 1: Bisphosphonate use in childhood osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(2):400-9.
62. Portaria GM/MS 2305. Aprova o Protocolo de Indicação de Tratamento Clínico da osteogenesis imperfecta com pamidronato dissódico no âmbito do Sistema Único de Saúde – SUS. *Diário Oficial da União* 2001; 19 dez.
63. MAFD Lima DH. Contradições das políticas públicas voltadas para doenças raras: o exemplo do Programa de Tratamento da Osteogênese Imperfeita no SUS. *Ciência & Saúde Coletiva*, 2014; 19(2):475-480.
64. MAFD L. Aplicação clínica da evidência científica: o caso da osteogênese imperfeita e o tratamento medicamentoso com bifosfonatos [dissertação]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz; 2010.
65. Portaria GM/MS 714. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas – Osteogênese Imperfeita. *Diário Oficial da União* 2010; 22 dez.
66. Portaria GM/MS 1306. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Osteogênese Imperfeita. *Diário Oficial da União* 2013; 20 nov.
67. Horovitz DDG, Jr JCL, Mattos RA. Atenção aos defeitos congênitos no Brasil: panorama atual. *Cad Saúde Pública* 2005; 21:1055-64. 2005.
68. Bittar OJNV, Mendes, JDV; Magalhães A. Rede hospitalar no Estado de São Paulo: mapear para regular. Secretaria do Estado da Saúde. 2011.
69. de Lemos ML, Taylor SC, Barnett JB, Hu F, Levin A, Moravan V, et al. Renal safety of 1-hour pamidronate infusion for breast cancer and multiple myeloma patients: comparison between clinical trials and population-based database. *J Oncol Pharm Pract*. 2006;12(4):193-9.
70. Chantzichristos D, Andreasson B, Johansson P. Safe and tolerable one-hour pamidronate infusion for multiple myeloma patients. *Ther Clin Risk Manag*. 2008;4(6):1371-4.
71. Boonen S, Sellmeyer DE, Lippuner K, Orlov-Morozov A, Abrams K, Mesenbrink P, et al. Renal safety of annual zoledronic acid infusions in osteoporotic postmenopausal women. *Kidney Int*. 2008;74(5):641-8.

72. Miller PD, Ragi-Eis S, Mautalen C, Ramirez F, Jonkanski I. Effects of intravenous ibandronate injection on renal function in women with postmenopausal osteoporosis at high risk for renal disease-the DIVINE study. *Bone*. 2011;49(6):1317-22.
73. Miller PD, Roux C, Boonen S, Barton IP, Dunlap LE, Burgio DE. Safety and efficacy of risedronate in patients with age-related reduced renal function as estimated by the Cockcroft and Gault method: a pooled analysis of nine clinical trials. *J Bone Miner Res*. 2005;20(12):2105-15.
74. Miller PD, Jamal SA, Evenepoel P, Eastell R, Boonen S. Renal safety in patients treated with bisphosphonates for osteoporosis: A review. *J Bone Miner Res*. 2013;28(10):2049-59.
75. Heymsfield SB, Arteaga C, McManus C, Smith J, Moffitt S. Measurement of muscle mass in humans: validity of the 24-hour urinary creatinine method. *Am J Clin Nutr*. 1983;37(3):478-94.
76. Alcausin MB, Briody J, Pacey V, Ault J, McQuade M, Bridge C, et al. Intravenous Pamidronate Treatment in Children with Moderate-to-Severe Osteogenesis Imperfecta Started under Three Years of Age. *Horm Res Paediatr*. 2013;79(6):333-40.
77. Shapiro JR, Thompson CB, Wu Y, Nunes M, Gillen C. Bone mineral density and fracture rate in response to intravenous and oral bisphosphonates in adult osteogenesis imperfecta. *Calcif Tissue Int*. 2010;87(2):120-9.
78. Ward LM, Rauch F, Whyte MP, D'Astous J, Gates PE, Grogan D, et al. Alendronate for the treatment of pediatric osteogenesis imperfecta: a randomized placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(2):355-64.
79. Shapiro JR, McCarthy EF, Rossiter K, Ernest K, Gelman R, Fedarko N, et al. The effect of intravenous pamidronate on bone mineral density, bone histomorphometry, and parameters of bone turnover in adults with type IA osteogenesis imperfecta. *Calcif Tissue Int*. 2003;72(2):103-12.
80. Bishop N, Adami S, Ahmed SF, Anton J, Arundel P, Burren CP, et al. Risedronate in children with osteogenesis imperfecta: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2013;382(9902):1424-32.
81. Chevrel G, Schott AM, Fontanges E, Charrin JE, Lina-Granade G, Duboeuf F, et al. Effects of oral alendronate on BMD in adult patients with osteogenesis

imperfecta: a 3-year randomized placebo-controlled trial. *J Bone Miner Res.* 2006;21(2):300-6.

82. Anissipour AK, Hammerberg KW, Caudill A, Kostiuik T, Tarima S, Zhao HS, et al. Behavior of scoliosis during growth in children with osteogenesis imperfecta. *J Bone Joint Surg Am.* 2014;96(3):237-43.

83. Demetracopoulos CA, Sponseller PD. Spinal deformities in Marfan syndrome. *The Orthopedic clinics of North America.* 2007;38(4):563-72, vii.

84. Shirley ED, Demaio M, Bodurtha J. Ehlers-danlos syndrome in orthopaedics: etiology, diagnosis, and treatment implications. *Sports health.* 2012;4(5):394-403.

85. Ben Amor IM, Roughley P, Glorieux FH, Rauch F. Skeletal clinical characteristics of osteogenesis imperfecta caused by haploinsufficiency mutations in COL1A1. *J Bone Miner Res.* 2013;28(9):2001-7.

86. Sakkars R, Kok D, Engelbert R, van Dongen A, Jansen M, Pruijs H, et al. Skeletal effects and functional outcome with olpadronate in children with osteogenesis imperfecta: a 2-year randomised placebo-controlled study. *Lancet.* 2004;363(9419):1427-31.

87. Rauch F, Travers R, Parfitt AM, Glorieux FH. Static and dynamic bone histomorphometry in children with osteogenesis imperfecta. *Bone.* 2000;26(6):581-9.

88. Whyte MP, Wenkert D, Clements KL, McAlister WH, Mumm S. Bisphosphonate-induced osteopetrosis. *N Engl J Med.* 2003;349(5):457-63.

89. Whyte MP, McAlister WH, Novack DV, Clements KL, Schoenecker PL, Wenkert D. Bisphosphonate-induced osteopetrosis: novel bone modeling defects, metaphyseal osteopenia, and osteosclerosis fractures after drug exposure ceases. *J Bone Miner Res.* 2008;23(10):1698-707.

90. Nicolaou N, Agrawal Y, Padman M, Fernandes JA, Bell MJ. Changing pattern of femoral fractures in osteogenesis imperfecta with prolonged use of bisphosphonates. *J Child Orthop.* 2012;6(1):21-7.

91. Holm J, Eiken P, Hyldstrup L, Jensen JE. Atypical femoral fracture in an osteogenesis imperfecta patient successfully treated with teriparatide. *Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists.* 2014;20(10):e187-90.

92. Henedige AA, Jayasinghe J, Khajeh J, Macfarlane TV. Systematic review on the incidence of bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw in children

diagnosed with osteogenesis imperfecta. Journal of oral & maxillofacial research. 2013;4(4):e1.

93. Alharbi M, Pinto G, Finidori G, Souberbielle JC, Guillou F, Gaubicher S, et al. Pamidronate treatment of children with moderate-to-severe osteogenesis imperfecta: a note of caution. Horm Res. 2009;71(1):38-44.

94. Munns CF, Rauch F, Zeitlin L, Fassier F, Glorieux FH. Delayed osteotomy but not fracture healing in pediatric osteogenesis imperfecta patients receiving pamidronate. J Bone Miner Res. 2004;19(11):1779-86.

95. Anam EA, Rauch F, Glorieux FH, Fassier F, Hamdy R. Osteotomy Healing in Children With Osteogenesis Imperfecta Receiving Bisphosphonate Treatment. J Bone Miner Res. 2015;30(8):1362-8.

96. Orwoll ES, Shapiro J, Veith S, Wang Y, Lapidus J, Vanek C, et al. Evaluation of teriparatide treatment in adults with osteogenesis imperfecta. J Clin Invest. 2014;27 (71101).

97. Antoniazzi F, Monti E, Venturi G, Franceschi R, Doro F, Gatti D, et al. GH in combination with bisphosphonate treatment in osteogenesis imperfecta. European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies. 2010;163(3):479-87.

98. Marini JC, Hopkins E, Glorieux FH, Chrousos GP, Reynolds JC, Gundberg CM, et al. Positive linear growth and bone responses to growth hormone treatment in children with types III and IV osteogenesis imperfecta: high predictive value of the carboxyterminal propeptide of type I procollagen. J Bone Miner Res. 2003;18(2):237-43.

99. Hoyer-Kuhn H, Semler O, Schoenau E. EFFECT OF DENOSUMAB ON THE GROWING SKELETON IN OSTEOGENESIS IMPERFECTA. J Clin Endocrinol Metab. 2014:jc20143072.

100. Semler O, Netzer C, Hoyer-Kuhn H, Becker J, Eysel P, Schoenau E. First use of the RANKL antibody denosumab in osteogenesis imperfecta type VI. Journal of musculoskeletal & neuronal interactions. 2012;12(3):183-8.

101. Roschger A, Roschger P, Keplinger P, Klaushofer K, Abdullah S, Kneissel M, et al. Effect of sclerostin antibody treatment in a mouse model of severe osteogenesis imperfecta. Bone. 2014;66:182-8.

102. Grafe I, Yang T, Alexander S, Homan EP, Lietman C, Jiang MM, et al. Excessive transforming growth factor-beta signaling is a common mechanism in osteogenesis imperfecta. *Nature medicine*. 2014;20(6):670-5.
103. Horwitz EM, Gordon PL, Koo WK, Marx JC, Neel MD, McNall RY, et al. Isolated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfecta: Implications for cell therapy of bone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2002;99(13):8932-7.
104. Le Blanc K, Gotherstrom C, Ringden O, Hassan M, McMahon R, Horwitz E, et al. Fetal mesenchymal stem-cell engraftment in bone after in utero transplantation in a patient with severe osteogenesis imperfecta. *Transplantation*. 2005;79(11):1607-14.
105. Gotherstrom C, Westgren M, Shaw SW, Astrom E, Biswas A, Byers PH, et al. Pre- and postnatal transplantation of fetal mesenchymal stem cells in osteogenesis imperfecta: a two-center experience. *Stem cells translational medicine*. 2014;3(2):255-64.

7. ANEXOS

ANEXO 1.

Termo de Consentimento e Assentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pós-informação

ANEXO 2.

Parecer Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

ANEXO 3.

Banco de Dados

7.1. Anexo 1 - Termo de Consentimento e Assentimento (TCLE)



DEPARTAMENTO DE ENDOCRINOLOGIA - UNIFESP

Rua Pedro de Toledo, 650 – 2º andar –
Tel.: (0xx11) 5571-9826 Ramal: 4229/4235
Vila Clementino – São Paulo – SP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Protocolo de Pesquisa: **“Análise da segurança renal com o uso de pamidronato endovenoso em um tempo de infusão de 2 horas para o tratamento de crianças e adolescentes com Osteogênese Imperfeita nas formas moderadas a graves”.**

I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. Dados de Identificação

Nome do Paciente:.....

Documento de Identidade Nº:..... Sexo: () M () F

Data de Nascimento:...../...../.....

Endereço:..... Nº:..... Apto:.....

.....

Bairro:..... Cidade:.....

.....

CEP:..... Telefone:.....

.....

2. Responsável Legal:.....

Natureza (grau de parentesco, tutor, curador, etc.):

Documento de Identidade Nº :..... Sexo: () M () F

Data de Nascimento:...../...../.....

Endereço:..... Nº:..... Apto:.....

Bairro:..... Cidade:.....

CEP:..... Telefone:.....

II – DADOS SOBRE A PESQUISA

A Osteogênese Imperfeita é uma doença rara, causada por um defeito genético que deixa o osso mais fraco e sujeito a muitas fraturas ao longo da vida. Até alguns anos atrás, não havia tratamento para esta enfermidade. Há cerca de 15 anos, entretanto, descobriu-se que uma medicação chamada pamidronato poderia melhorar a qualidade de vida destes pacientes e diminuir o número de fraturas. Este medicamento é realizado usualmente em infusões intravenosas que duram 4 horas, repetidas a cada 3 ou 4 meses.

Este estudo envolve o uso de pamidronato intravenoso em crianças e adolescentes com Osteogênese Imperfeita nas formas moderadas a graves. Neste projeto vamos avaliar a segurança da diminuição do tempo de infusão do pamidronato para 2 horas, com o objetivo de reduzir o desconforto do paciente e aumentar a adesão ao tratamento, diminuindo os custos e viabilizando a terapia em pequenos centros.

O uso do pamidronato já é aprovado no Brasil para tratamento da Osteogênese Imperfeita, assim como para outras doenças como hipercalcemia, osteoporose e Doença de Paget. Como efeito colateral imediato da infusão do pamidronato, pode ocorrer uma queda do cálcio no sangue que, na grande maioria das vezes, é assintomática, isto é, o paciente não percebe, pois o próprio organismo se incumba da sua recuperação. Nos casos sintomáticos o paciente pode sentir formigamentos e câibras (tetanias) e, nos casos graves, até convulsão. Entre 30 e 50% dos pacientes que recebem o pamidronato pela primeira vez pode ter uma reação tipo Gripe, com mal estar, dor muscular, febre baixa, falta de apetite e vômitos. Esses sintomas normalmente surgem 12 a 36 horas após a infusão e geralmente são bem controlados com terapia anti-térmica, que desaparecem espontaneamente após 24 a 48 horas.

Outras reações adversas raras incluem: alterações oculares, fibrilação atrial, reações na pele (rash), dor abdominal, problemas renais como insuficiência renal aguda ou síndrome nefrótica e osteonecrose de mandíbula.

Antes de tomar qualquer decisão sobre sua participação neste estudo, é importante que você leia e compreenda a explicação dos procedimentos propostos abaixo. Este termo de consentimento livre e esclarecido descreve a finalidade, os procedimentos, os benefícios, riscos, desconfortos e advertências deste estudo.

Sua participação incluirá:

1. Comparecimento a cada 4 meses com datas pré-determinadas a serem combinadas para infusão da medicação (pamidronato) e permanecer em observação para monitoramento do débito urinário por um período de 8 horas e coletas de sangue e urina nos tempos 0, 2, 8 horas.
2. Retornar no dia seguinte da infusão (24 horas após início da infusão) para novas coletas de sangue e urina.
3. Retornar 7 dias após cada infusão para dosagem sérica de creatinina plasmática.
4. Realizar medidas de peso e estatura (comprimento supino) antes de cada infusão para cálculo da dose. Todas estas medidas serão realizadas por uma médica treinada.
5. Realizar densitometria para análise da massa óssea e da composição corporal e ultrasson de rins e vias urinárias no início e no final do estudo.
6. RX de coluna tóraco-lombar no início do estudo e durante o estudo se ocorrerem fraturas.

Para a densitometria óssea, o indivíduo será posicionado deitado sob uma mesa móvel e deverá permanecer imóvel até o exame findar, com duração média de 3 minutos e será realizado por uma técnica em densitometria devidamente

treinada. Para medir a massa corporal, utilizar-se-á uma balança eletrônica; para medir a estatura uma trena métrica.

A coleta de sangue será realizada por um profissional de enfermagem devidamente treinado no Hospital dia da UNIFESP (setor nefropediatria) nos dias e tempos descritos acima. A coleta poderá trazer leve desconforto, o que raramente ocorre, gerando um pequeno hematoma (mancha roxa) no local da punção. Se ocorrer, desaparecerá em 3 a 5 dias. Os materiais utilizados serão todos descartáveis.

2. Avaliação de Risco da Pesquisa

Risco moderado de ocorrência de algum dano imediato ou tardio para o participante, considerando os procedimentos da pesquisa que incluem: coleta de sangue venoso (20 ml) e amostra isolada de urina, medida da pressão arterial, peso e altura, controle do volume da urina por 8hs após infusão do pamidronato, densitometria óssea (exame que avalia a massa óssea), RX de coluna no início do estudo e se ocorrerem fraturas durante o estudo, ultrassonografia de rins e vias urinárias no início e no final do estudo.

Exames de Sangue: A coleta de sangue será realizada por um profissional de enfermagem devidamente treinado no Hospital dia da UNIFESP, setor de nefropediatria, localizado nas dependências do Hospital São Paulo, em dia e hora pré-agendados com os participantes do estudo. A coleta poderá trazer leve desconforto, o que raramente ocorre, gerando um pequeno hematoma (mancha roxa) no local da punção. Se ocorrer, desaparecerá em 3 a 5 dias. Os materiais utilizados serão todos descartáveis.

Raio-X: RX de coluna tóraco-lombar e será realizado no início do estudo. RX será realizado em qualquer tempo do estudo se ocorrer qualquer fratura ou suspeita de fratura. Pouco RX será realizado para minimizar a exposição dos participantes à radiação.

Densitometria óssea: não oferece risco ao indivíduo, já que será realizada por uma técnica em radiologia do Ambulatório de Fragilidades Ósseas da Disciplina de Endocrinologia do Departamento de Clínica Médica da UNIFESP. Este exame não necessita de preparo prévio e sua radiação é 50 vezes menor do que a oferecida em um exame de raio X comum, tornando sua realização segura.

Os participantes ficarão em observação no setor de nefropediatria do hospital-dia da UNIFESP por um período de 8 hs no dia da infusão, que ocorrerá a cada 4 meses.

3. Duração da Pesquisa: 12 (doze) meses.

4. Benefícios: Não há benefício direto para o participante. Trata-se de um estudo experimental mas se for determinado segurança renal do pamidronato em um tempo de infusão de 2 horas, pode ser uma adição valiosa ao tratamento de osteogênese imperfeita, que beneficiará o próprio paciente no futuro, assim como todos os outros indivíduos que sofrem por esta doença.

III – ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA

1. Direitos de fazer perguntas

Qualquer provável benefício do estudo para o bem estar da população dependerá de sua participação. Assim, se você tiver dúvidas sobre este estudo, tiver problemas relacionados a ele, ou quiser informações sobre os procedimentos, riscos e benefícios relacionados a esta pesquisa, a qualquer momento você poderá entrar em contato com a médica Endocrinologista Telma Palomo de Oliveira (CREMESP 127.266) pelo telefone (11) 9934-7882 ou com a Dra. Marise Lazaretti Castro (CREMESP 42.493), endocrinologista, pelo telefone (11) 5549-7255, ou com a Dra. Maria Cristina de Andrade (CREMESP 55.067), nefrologista pediátrica pelo telefone (11)-5083-8370. Para entrar em contato com o Comitê de Ética da UNIFESP, o telefone é (11) 5571-1062 ou (11) 5539-7162.

2. Participação e retirada voluntária do Estudo

Você é livre para participar do estudo e para interromper sua participação em qualquer momento, sem ter que dar um motivo. Se você decidir se retirar do estudo, deve informar à médica Telma, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na instituição.

3. Uso de resultados e confidencialidade do estudo

Não haverá riscos para sua integridade mental ou moral. Todas as informações prestadas nesta entrevista são de caráter confidencial e serão utilizadas somente para fins científicos descritos no protocolo desta pesquisa, sem qualquer identificação pessoal. Caso os resultados sejam publicados, sua identidade não será revelada.

É seu direito ser mantido atualizado sobre os resultados parciais desta pesquisa. Importante deixar claro que você está isento das despesas pessoais para participação em qualquer fase deste estudo, incluindo exames e consultas. Também não haverá compensação financeira relacionada à sua participação. Se houver qualquer despesa adicional, esta será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos deste estudo, você terá direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

V – INFORMAÇÕES PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Nome: Telma Palomo de Oliveira

Telefone: (11) 9934 7882 ou (11) 5549 7255 ou pelo e-mail:

telmapalomo@yahoo.com.br

Endereço: Borges Lagoa, 800

Bairro: Vila Clementino

Cidade: São Paulo

VII – CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Acredito ter sido suficientemente esclarecido a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Análise da segurança renal com o uso de pamidronato endovenoso em um tempo de infusão de 2 horas para o tratamento de crianças e adolescentes com Osteogênese Imperfeita nas formas moderadas a graves”.

Eu conversei com a médica Telma Palomo de Oliveira sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação não terá custos e que tenho garantia do acesso a tratamento médico quando necessário.

Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

São Paulo, _____ de _____ de _____.

Assinatura do sujeito de pesquisa

Assinatura do responsável legal

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo



DEPARTAMENTO DE ENDOCRINOLOGIA - UNIFESP

Rua Pedro de Toledo, 650 – 2º andar –
Tel.: (0xx11) 5571-9826 Ramal: 4229/4235
Vila Clementino – São Paulo – SP

Termo de Assentimento Informado
- Participantes com Osteogênese Imperfeita -

Meu nome é Telma Palomo de Oliveira e o objetivo do meu trabalho é avaliar o uso de uma medicação (pamidronato) para o tratamento de crianças com Osteogênese Imperfeita em um tempo de infusão menor do que o normalmente utilizado com o objetivo de facilitar o tratamento desses pacientes.

Eu vou informar você e convidá-lo a participar desta pesquisa. Você pode escolher se quer participar ou não. Discutimos esta pesquisa com seus pais ou responsáveis e eles sabem que também estamos pedindo seu acordo. Se você vai participar da pesquisa, seus pais ou responsáveis também terão que concordar. Mas se você não desejar fazer parte da pesquisa, não é obrigado, até mesmo se seus pais concordarem.

Queremos melhorar o tratamento dos pacientes com Osteogênese Imperfeita e facilitar o uso da medicação em outros serviços menores. Para podermos encurtar o tempo de infusão precisamos fazer esta pesquisa e comprovar que não há risco para o paciente.

Iremos fazer esta pesquisa em crianças/adolescentes que são da sua idade (pacientes menores do que 18 anos com osteogênese imperfeita nas formas moderadas a graves).

Você não precisa participar desta pesquisa se não quiser. É você quem decide. Se decidir não participar da pesquisa, é seu direito e nada mudará no seu tratamento de saúde. Mesmo assim, este serviço de saúde estará disponível para você.

Se você decidir participar desta pesquisa deverá comparecer a cada 4 meses para a infusão da medicação (pamidronato) e permanecer em observação por 8 horas para coletas de sangue e urina. Retornar no dia seguinte de cada infusão e a cada 7 dias para novos exames. Eu tenho um quadro aqui para lhe mostrar o que acontecerá em cada momento. Você pode me pedir que eu explique a qualquer momento mais informações sobre o processo.

Há algumas coisas que eu gostaria que você soubesse. Haverá mais coletas de sangue do que normalmente ocorre no nosso ambulatório. Poderá ficar um pouco vermelho ou causar alguma dor no local da coleta. Precisaremos também coletar toda a urina que você fizer nas primeiras 8 horas após a infusão da medicação. E você precisará ficar mais tempo após a infusão do que normalmente você fica.

Nada realmente de bom poderá acontecer a você. Mas esta pesquisa poderá nos ajudar a encurtar o tempo de infusão e melhorar o tratamento de outras crianças com osteogênese imperfeita e possivelmente o seu tratamento futuro.

Não falaremos para as outras pessoas que você está nesta pesquisa e também não compartilharemos informação sobre você para qualquer um que não trabalha no projeto.

Se você ficar doente durante a pesquisa, cuidaremos de você. Informamos aos seus pais sobre o que fazer se você adoecer durante o estudo.

Quando terminarmos a pesquisa, eu sentarei com você e seus pais e falaremos sobre o que aprendemos com este trabalho.

Você pode aceitar participar da pesquisa agora ou responder depois se você preferir pensar sobre o assunto. Se você aceitar participar e mudar de ideia depois, não há problema algum você se retirar do nosso estudo. Continuará tendo o mesmo atendimento médico em nosso serviço.

Este é meu telefone para contato se você precisar falar comigo a qualquer momento durante o estudo estarei à disposição para conversar com você: 11 – 5549 7255 ou 11 -9934 7882.

Eu entendi sobre esta nova pesquisa com o uso do Pamidronato endovenoso em um tempo de infusão menor para crianças e adolescentes com Osteogênese Imperfeita nas formas moderadas a graves. Eu entendi que virei para uma infusão da medicação em 2 horas e ficarei em observação por 8 horas e serão colhidos exames com maior frequência.

São Paulo, --- de-----de 20----

Assinatura da criança/adolescente-----

Assinatura dos pais/responsáveis-----

Assinatura do pesquisador-----

7.2 Anexo 2 - Parecer Comitê de Ética (CEP/UNIFESP)

 UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO 1933	Universidade Federal de São Paulo Escola Paulista de Medicina	Comitê de Ética em Pesquisa Hospital São Paulo
--	--	---

São Paulo, 5 de novembro de 2010.
CEP 1066/10

Ilmo(a). Sr(a).
Pesquisador(a) **TELMA PALOMO DE OLIVEIRA**
Co-Investigadores: Maria Cristina de Andrade, Marise Lazaretti Castro (orientadora)
Disciplina/Departamento: Endocrinologia/Medicina da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo
Patrocinador: Recursos Próprios.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: **"Análise da segurança renal com o uso de pamidronato endovenoso em um tempo de infusão de 2 horas para o tratamento de crianças e adolescentes com Osteogênese Imperfeita nas formas moderadas e graves"**.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Intervenção terapêutica.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: Risco médio, desconforto moderado, envolvendo coleta de sangue.

OBJETIVOS: Avaliar a segurança renal com o uso do pamidronato endovenoso em um tempo de infusão de 2 horas em crianças e adolescentes portadores de osteogênese Imperfeita nas formas moderadas a graves por um período de 12 meses..

RESUMO: Trata-se de um estudo prospectivo, nacional, em um centro único, aberto, de segurança e eficácia. O estudo será realizado no Ambulatório de Fragilidades Ósseas da Disciplina de Endocrinologia da UNIFESP e no Hospital Dia do Serviço de Nefropediatria da UNIFESP. O estudo será composto por um grupo de 20 indivíduos com osteogênese imperfeita (OI) nas formas moderadas a graves, com idade inferior a 18 anos e sem sinais de doença renal crônica. Serão recrutados pacientes com diagnóstico clínico de osteogênese imperfeita, que serão submetidos ao tratamento com pamidronato endovenoso em um tempo de infusão de 2 horas por um período de 12 meses. Além do diagnóstico clínico de OI devem ter pelo menos 1 dos critérios: deformidades de ossos longos, fraturas de compressão vertebral e/ou mais do que uma fratura por ano. Devem apresentar função renal normal. O pamidronato endovenoso será administrado na dose de 2mg/Kg/dose a cada 4 meses. Após avaliação inicial serão colhidas amostras de sangue no jejum antes de cada infusão nos momentos: basal, 4 meses, 8 meses e 12 meses. A suplementação de cálcio e vitamina D é obrigatória durante todo o estudo. Este estudo constará das avaliações da segurança renal através do perfil bioquímico e USG dos rins e vias urinárias, massa óssea, avaliação de fraturas de coluna e ossos longos, marcadores de remodelamento ósseo e 25 OH vitamina D.

FUNDAMENTOS E RACIONAL: O tratamento com pamidronato em infusões intravenosas periódicas modificou a história natural desta doença, melhorando sensivelmente a qualidade de vida e reduzindo o número de fraturas. Este tratamento é padronizado pelo SUS, através da portaria nº 2305. Entretanto, temos como grande limitante para a efetividade deste tratamento a dificuldade de conseguir a internação destes pacientes para receberem infusões ao longo de 4 horas. Existem vários indícios de que infusões mais rápidas apresentam-se seguras, embora não existam

1

Rua Botucatu, 572 - 1º andar - conj. 14 - CEP 04023-062 - São Paulo / Brasil
Tel.: (011) 5571-1062 - 5539.7162

dados específicos em pacientes com Osteogênese Imperfeita. Caso uma redução no tempo de infusão se mostre segura, será possível reduzir os custos, aumentar a adesão ao tratamento e viabilizar a terapia em pequenos centros..

MATERIAL E MÉTODO: Estão descritos os procedimentos do estudo..

TCLE: Apresentado adequadamente o TCLE e o Termo de Assentimento para menores de idade.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: FAPESP R\$ 47 417,90.

CRONOGRAMA: 12 meses.

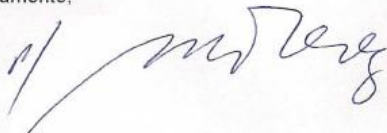
OBJETIVO ACADÊMICO: Não envolve obtenção de título.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 31/10/2011 e 30/10/2012.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU e APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,



Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

1066/10

APRESENTAR APROVAÇÃO FAPESP ASSIM QUE FOR OBTIDA

7.3 Anexo 3 – Banco de Dados

TABELAS 1 - 18 (ARTIGO 1)

Tabela 1 - Variações individuais da creatinina sérica (mg/dL) durante a 1ª infusão nos pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Iniciais	Tipo OI	n de fraturas inicio	Pamid prévio	Creat basal 1	Creat 2 hs após 1	Creat 8 hs após 1	Creat 24 hs após 1	Creat 7 dias após 1
1	VMJ	III	17	sim	0,24	0,37	0,42	0,16	0,28
2	CSG	III	90	sim	0,37	0,27	0,31	0,30	0,30
3	GSB	I	3	não	0,46	0,50	0,57	0,58	0,56
4	KFRS	I	10	sim	0,53	0,75	0,54	0,48	0,49
5	ABFS	IV	12	sim	0,25	0,11	0,19	0,18	0,25
6	PLGS	IV	5	não	0,30	0,42	0,39	0,34	0,39
7	NAGS	IV	3	não	0,37	0,50	0,46	0,39	0,40
8	LSB	I	7	sim	0,63	0,42	0,72	0,56	0,61
9	ESA	I	8	sim	0,51	0,41	0,46	0,46	0,40
10	JSA	I	4	sim	0,54	0,50	0,53	0,52	0,45
11	DGP	III	16	sim	0,20	0,16	0,27	0,29	0,22
12	VAS	I	8	sim	0,48	0,55	0,62	0,49	0,43
13	TAS	I	2	não	0,31	0,41	0,36	0,42	0,25
14	CHSN	III	21	sim	0,22	0,28	0,36	0,28	0,34
15	JRP	I	4	sim	0,42	0,27	0,42	0,42	0,34
16	GHB	III	20	sim	0,31	0,25	0,36	0,29	0,25
17	AFPC	I	3	sim	0,45	0,46	0,44	0,43	0,41
18	KMWS	IV	30	sim	0,41	0,47	0,42	0,43	0,44

Tabela 2 - Variações individuais da creatinina sérica (mg/dL) durante a 2ª infusão nos pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	creat basal2	creat 2 hs após 2	creat 8 hs após 2	creat 24 hs após2	creat 7 dias após2
1	VMJ	III	0,16	0,45	0,55	0,21	0,20
2	CSG	III	0,31	0,34	0,37	0,42	0,30
3	GSB	I	0,51	0,53	0,71	0,56	0,57
4	KFRS	I	0,51	0,56	0,47	0,51	0,52
5	ABFS	IV	0,21	0,24	0,21	0,27	0,20
6	PLGS	IV	0,29	0,38	0,41	0,42	0,38
7	NAGS	IV	0,36	0,42	0,53	0,48	0,39
8	LSB	I	0,53	0,50	0,49	0,55	0,61
9	ESA	I	0,49	0,42	0,42	0,44	0,45
10	JSA	I	0,55	0,45	0,75	0,51	0,45
11	DGP	III	0,21	0,21	0,38	0,33	0,21
12	VAS	I	0,51	0,51	0,51	0,47	0,46
13	TAS	I	0,31	0,4	0,36	0,40	0,34
14	CHSN	III	0,42	0,32	0,2	0,28	0,34
15	JRP	I	0,29	0,34	0,35	0,34	0,30
16	GHB	III	0,25	0,49	0,36	0,23	0,26
17	AFPC	I	0,43	0,44	0,44	0,74	0,45
18	KMWS	IV	0,43	0,40	0,43	0,49	0,50

Tabela 3 - Variações individuais da creatinina sérica (mg/dL) durante a 3ª infusão nos pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	creat basal3	creat 2 hs após3	creat 8 hs após 3	creat 24 hs após 3	creat 7 dias após3
1	VMJ	III	0,22	0,27	0,26	0,24	0,20
2	CSG	III	0,36	0,33	0,46	0,35	0,32
3	GSB	I	0,55	0,51	0,54	0,56	0,58
4	KFRS	I	0,55	0,51	0,52	0,51	0,50
5	ABFS	IV	0,21	0,23	0,19	0,17	0,20
6	PLGS	IV	0,25	0,34	0,45	0,30	0,35
7	NAGS	IV	0,38	0,52	0,54	0,42	0,44
8	LSB	I	0,52	0,64	0,66	0,66	0,5
9	ESA	I	0,43	0,46	0,46	0,37	0,42
10	JSA	I	0,36	0,41	0,41	0,41	0,36
11	DGP	III	0,24	0,29	0,33	0,30	0,24
12	VAS	I	0,53	0,81	0,64	0,53	0,46
13	TAS	I	0,31	0,82	0,44	0,37	0,36
14	CHSN	III	0,22	0,21	0,27	0,22	0,22
15	JRP	I	0,33	0,28	0,36	0,36	0,33
16	GHB	III	0,27	0,24	0,22	0,26	0,32
17	AFPC	I	0,38	0,46	0,48	0,39	0,39
18	KMWS	IV	0,42	0,47	0,48	0,50	0,43

Tabela 4 - Variações individuais da creatinina sérica (mg/dL) durante a 4ª infusão nos pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	creat basal4	creat 2 hs após 4	creat 8 hs após 4	creat 24 hs após4	creat 7 dias após4
1	VMJ	III	0,22	0,24	0,27	0,26	0,23
2	CSG	III					
3	GSB	I	0,45	0,77	0,79	0,55	0,55
4	KFRS	I	0,47	0,6	0,51	0,41	0,44
5	ABFS	IV	0,21	0,27	0,24	0,25	0,25
6	PLGS	IV	0,30	0,35	0,44	0,3	0,34
7	NAGS	IV	0,39	0,39	0,48	0,42	0,42
8	LSB	I	0,53	0,81	0,73	0,54	0,64
9	ESA	I	0,39	0,37	0,43	0,36	0,43
10	JSA	I	0,38	0,47	0,78	0,37	0,46
11	DGP	III					
12	VAS	I					
13	TAS	I					
14	CHSN	III	0,28	0,25	0,31	0,28	0,34
15	JRP	I	0,36	0,48	0,43	0,43	0,35
16	GHB	III	0,28	0,27	0,34	0,28	0,31
17	AFPC	I	0,44	0,43	0,51	0,42	0,44
18	KMWS	IV	0,46	0,37	0,50	0,49	0,51

Tabela 5 - Variações individuais de DMO CL (g/cm²), Z-score DMO CL e 25OHD (ng/mL) nos pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	Idade início	DMO CL início	DMO CL final	Z coluna início	Z coluna final	25OHD início	25OHD final
1	VMJ	III	8	0,323	0,368	-4,1	-3,8	17,3	44,7
2	CSG	III	16	0,472		-4,9		20,7	22,1
3	GSB	I	10	0,455	0,539	-2,2	-1,5	26,1	23,3
4	KFRS	I	8	0,517	0,609	-1,1	-0,3	21,5	24,2
5	ABFS	IV	3	0,303	0,375	-3,4	-2,1	10,0	45,0
6	PLGS	IV	8	0,269	0,306	-4,7	-4,1	25,9	35,6
7	NAGS	IV	13	0,461	0,615	-5,0	-3,6	23,6	29,5
8	LSB	I	13	0,739	0,863	-1,0	-0,5	16,0	24,5
9	ESA	I	6	0,477	0,556	-0,7	0,3	26,9	34,2
10	JSA	I	13	0,659	0,817	-2,1	-1,2	17,9	19,8
11	DGP	III	3		0,365	0,0	-2,9	24,0	23,8
12	VAS	I	15	0,338		-5,9		21,9	23,8
13	TAS	I	4	0,237		-5,2		28,7	37,0
14	CHSN	III	5	0,291	0,338	-4,3		43,8	36,6
15	JRP	I	4	0,268	0,381	-4,7	-2,6	23,4	31,0
16	GHB	III	10					21,3	38,1
17	AFPC	I	10	0,460	0,546	-2,9	-2,2	25,7	21,9
18	KMWS	IV	11	0,564	0,645	-1,2	-0,8	28,6	22,3

Tabela 6 - Variações individuais do CTX (ng/mL), P1NP (ng/mL), FA (U/L), PTH (pg/mL), Cai (mmol/l), Mg⁺² (mg/dL) no basal da 1ª infusão nos 18 pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	PTH basal 1	CTX basal 1	P1NP basal 1	Ca i basal 1	magnésio basal 1	FA basal 1
1	VMJ	III	30,2	0,41	219,2	1,24	2,1	277
2	CSG	III	22,5	0,48	144,6	1,29	1,9	131
3	GSB	I	39,5	0,9	488,1	1,27	2,4	355
4	KFRS	I	27,8	0,09	217,7	1,25	1,6	260
5	ABFS	IV	25,1	0,34	170,7	1,31	2,2	203
6	PLGS	IV	28,4	0,95	474,6	1,29	2,0	257
7	NAGS	IV	37,5	0,8	383,0	1,26	1,8	354
8	LSB	I	25,5	1,03	412,8	1,32	2,0	262
9	ESA	I	10,5	0,8	204,2	1,27	2,2	291
10	JSA	I	34,2	1,1	478,1	1,26	2,0	283
11	DGP	III	19,4	0,48	190,8	1,27	2,0	193
12	VAS	I	36,9	1,1	490,5	1,20	2,1	236
13	TAS	I	32,4	0,78	496,4	1,24	1,9	252
14	CHSN	III	19,3	0,6	453,2	1,32	2,2	166
15	JRP	I	21,0	0,7	303,4	1,24	1,9	283
16	GHB	III	21,7	1,4	886,8	1,27	1,9	288
17	AFPC	I	35,9	1,29	426,4	1,25	1,9	267
18	KMWS	IV	26,2	1,29	431,2	1,23	2,0	269

Tabela 7 - Variações individuais do CTX (ng/mL), P1NP (ng/mL), FA (U/L), PTH (pg/mL), Cai (mmol/l), Mg⁺² (mg/dL) no basal da 2ª infusão nos 18 pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	PTH basal 2	CTX basal 2	P1NP basal 2	Ca i basal 2	magnésio basal 2	FA basal 2
1	VMJ	III	22,3	0,34	243,7	1,17	1,8	289
2	CSG	III	33,2	0,40	80,28	1,15	2,2	90
3	GSB	I	37,7	1,30	774,4	1,29	1,9	340
4	KFRS	I	47,4	1,10	249	1,2	1,8	159
5	ABFS	IV	20,0	0,56	384,9	1,25	2,6	228
6	PLGS	IV	27,4	0,60	261,1	1,20	1,9	213
7	NAGS	IV	29,6	0,70	248,3	1,20	1,8	234
8	LSB	I	24,5	0,90	394,7	1,11	1,8	215
9	ESA	I	11,9	0,50	148,3	1,25	2,2	233
10	JSA	I	33,6	0,80	541,2	1,16	1,8	289
11	DGP	III	26,6	0,48	206	1,18	2,1	240
12	VAS	I	24,5	1,30	727,3	1,17	2,0	228
13	TAS	I	13,7	0,42	304	1,19	2,0	239
14	CHSN	III	10,2	0,39	292,2	1,26	2,1	128
15	JRP	I	31,7	0,67	253,8	1,22	1,9	297
16	GHB	III	18,5	0,40	391,1	1,17	1,9	242
17	AFPC	I	31,3	1,15	581,5	1,14	1,6	210
18	KMWS	IV	32,0	1,10	403,6	1,14	1,7	308

Tabela 8 - Variações individuais do CTX (ng/mL), P1NP (ng/mL), FA (U/L), PTH (pg/mL), Cai (mmol/l), Mg⁺² (mg/dL) no basal da 3ª infusão nos 18 pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	PTH basal 3	CTX basal 3	P1NP basal 3	Ca i basal 3	magnésio basal 3	FA basal 3
1	VMJ	III	24,9	0,31	210,2	1,26	1,8	294
2	CSG	III	27,9	0,40	107,8	1,3	1,8	107
3	GSB	I	19,1	0,98	515	1,19	1,8	347
4	KFRS	I	39,0	1,10	222,2	1,06	2,0	185
5	ABFS	IV	14,5	0,44	317	1,27	2,0	208
6	PLGS	IV	10,7	0,17	209,3	1,27	1,8	152
7	NAGS	IV	24,8	1,37	265,5	1,23	1,8	228
8	LSB	I	33,9	0,86	277,7	1,2	1,6	177
9	ESA	I	15,1	0,78	159,7	1,25	2,0	246
10	JSA	I	27,9	0,61	412,7	1,24	1,8	188
11	DGP	III	30,5	0,39	236,9	1,22	2,1	
12	VAS	I	45,4	1,10	513,7	1,26	1,8	193
13	TAS	I	12,1	0,38	270,6	1,23	1,9	204
14	CHSN	III	22,2	0,65	413,1	1,32	1,9	215
15	JRP	I	26,1	0,83	233,3	1,22	2,0	283
16	GHB	III	25,4	1,94	904,8	1,31	2,1	247
17	AFPC	I	36,7	0,48	412,7	1,28	2,2	222
18	KMWS	IV	26,0	1,15	728,2	1,20	2,3	345

Tabela 9 - Variações individuais do CTX (ng/mL), P1NP (ng/mL), FA (U/L), PTH (pg/mL), Cai (mmol/l), Mg⁺² (mg/dL) no basal da 4ª infusão nos 18 pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	PTH basal4	CTX basal4	P1NP basal4	Cai basal4	magnésio basal 4	FA basal 4
1	VMJ	III	27,2	0,33	194	1,22	1,7	240
2	CSG	III						
3	GSB	I	33,6	0,97	351,7	1,29	1,9	327
4	KFRS	I	36,8	0,78	271	1,26	1,7	215
5	ABFS	IV	10,5	0,47	230,2	1,28	2,1	169
6	PLGS	IV	17,6	0,62	254,4	1,21	1,9	244
7	NAGS	IV	24,4	0,6	206,6	1,19	1,8	216
8	LSB	I	28,4	0,92	204	1,27	1,8	162
9	ESA	I	17,4	0,69	136,7	1,23	2,2	227
10	JSA	I	43,6	0,97	310,9	1,09	2,0	338
11	DGP	III						
12	VAS	I						
13	TAS	I						
14	CHSN	III	10,5	0,56	355	1,30	1,8	150
15	JRP	I	21,2	0,5	215	1,19	2,0	268
16	GHB	III	24,9	1,2	613,3	1,24	2,0	241
17	AFPC	I	27,2	0,77	406,9	1,32	1,9	
18	KMWS	IV	27,2	1,4	862	1,26	1,9	411

Tabela 10 - Variações individuais da microalbuminúria (mg/l), Sódio (mmol/l) e Potássio (mmol/l) durante as 24 horas pós 1ª infusão do pamidronato intravenoso nos 18 pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	microalb basal1	microalb 8 hs após1	Na basal1	Na 2hs após 1	Na 8 hs após1	Na 24 hs após1	K basal 1	K 2hs após1	K 8hs após1	K 24hs após1
1	VMJ	III	2,8	0,9	137	136	138	136	4,3	4,4	4,2	5,0
2	CSG	III	11,8	não	136	135	139	134	4,2	4,4	3,6	4,2
3	GSB	I	1,2	0,5	138	138	137	137	4,5	3,8	3,9	3,8
4	KFRS	I	9,6		137	137	138	137	3,9	4,2	4,6	4,2
5	ABFS	IV	2,4	16,2	133	139	139	134	4,8	4,4	4,0	4,3
6	PLGS	IV	6	3,9	137	139	139	136	4,4	4,1	3,8	4,1
7	NAGS	IV	3,9	4,7	136	135	135	134	4,7	4,3	3,7	4,2
8	LSB	I	0,6	1,9	136	137	136	137	4,4	3,8	4,0	4,0
9	ESA	I	1,8	1,1	132	136	133	138	4,5	4,3	4,1	4,6
10	JSA	I	1,5	0,05	138	139	135	137	4,1	4,3	4,0	3,9
11	DGP	III	12,6	2	136	137	137	135	4,3	4,1	4,0	4,4
12	VAS	I	5,4	9,6	138	137	136	142	4,3	4,3	4,0	4,4
13	TAS	I	7,1	0,3	135	136	135	138	4,8	4,2	4,9	4,0
14	CHSN	III	1,2	0,5	136	132	134	134	4,0	3,9	3,6	3,8
15	JRP	I	23,1	2,5	138	137	137	136	4,1	4,4	4,0	3,7
16	GHB	III	0,5	2,3	138	139	140	139	3,9	5,2	4,0	3,7
17	AFPC	I	6,9	0,5	136	142	139	139	4,2	3,8	4,0	4,5
18	KMWS	IV	35,7	2,5	145	145	142	141	4,6	3,8	4,0	4,3

Tabela 11 - Variações individuais da microalbuminúria (mg/l), Sódio (mmol/l) e Potássio (mmol/l) durante as 24 horas pós 2ª infusão do pamidronato intravenoso nos 18 pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	microalb basal 2	microalb 8 hs após 2	Na basal 2	Na 2hs após 2	Na 8 hs após 2	Na 24 hs após 2	K basal 2	K 2hs após 2	K 8hs após 2	K 24hs após 2
1	VMJ	III	0,20	0,2	135	140	138	137	4,2	4,0	3,9	4,7
2	CSG	III	37,6	4,3	136	136	136	141	4,4	4,1	3,8	3,7
3	GSB	I	1,30	0,4	136	135	136	137	4,1	4,0	4,3	4,2
4	KFRS	I	45,1	0,4	133	139	138	141	4,2	3,6	3,6	4,1
5	ABFS	IV	18,1	13,1	139	138	138	140	4,3	4,4	4,4	4,5
6	PLGS	IV	6,80	0,5	134	135	134	135	4,1	3,9	3,8	4,4
7	NAGS	IV	5,10	0,5	131	133	130	133	4,0	4,2	4,1	4,5
8	LSB	I	6,50	0,9	139	138	135	137	4,3	4,0	4,3	4,2
9	ESA	I	não	0,1	139	136	138	138	5,3	4,3	4	4,4
10	JSA	I	23,3	0,5	135	133	136	136	3,8	3,9	3,9	4,3
11	DGP	III	22,5	22,1	139	140	138	138	4,2	4,0	3,7	3,7
12	VAS	I	6,90	6,2	138	138	139	140	4,4	4,5	4,1	4,3
13	TAS	I	17,4	2,7	137	138	139	138	4,3	4,3	4,2	4,0
14	CHSN	III	não	1,3	135	134	135	137	4,2	não	4	4,3
15	JRP	I	8,40	1,8	140	138	138	136	4,2	3,8	3,9	4,1
16	GHB	III	0,10	0,2	137	140	138	138	5,4	4,1	4,3	4,2
17	AFPC	I	0,05	0,05	133	136	140	141	4,5	4,4	3,9	4,1
18	KMWS	IV	12,5	0,05	139	142	139	141	4,9	4,4	4,6	4,4

Tabela 12 - Variações individuais da microalbuminúria (mg/l), Sódio (mmol/l) e Potássio (mmol/l) durante as 24 horas pós 3ª infusão do pamidronato intravenoso nos 18 pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	microalb basal 3	microalb 8 hs após 3	Na basal 3	Na 2hs após 3	Na 8 hs após 3	Na 24 hs após 3	K basal 3	K 2hs após 3	K 8hs após 3	K 24hs após 3
1	VMJ	III	1,50	4,50	138	140	136	140	4,2	4,1	3,6	4,3
2	CSG	III	10,1	2,20	140	139	139	136	4,1	4	3,9	4,1
3	GSB	I	0,05	0,05	138	139	140	141	4,7	4,1	4	4,1
4	KFRS	I	2,10	0,05	133	148	138	138	não	3,9	4,1	4,6
5	ABFS	IV	4,70	6,10	136	139	135	138	4,8	5,1	4,2	4,5
6	PLGS	IV	3,70	0,05	138	136	136	136	3,8	5,6	4,1	4,0
7	NAGS	IV	2,80	0,40	138	137	135	136	4,1	3,9	3,9	4,3
8	LSB	I	4,30	0,10	138	139	138	137	4,5	4,0	4,2	4,2
9	ESA	I	7,40	0,30	137	136	136	138	4,7		4,8	4,2
10	JSA	I	88?	26,9	135	136	137	138	3,9	não	não	4,3
11	DGP	III	5,60	1,80	138	139	140	141	4,4	3,7	3,6	3,5
12	VAS	I	4,80	0,10	138	137	139	139	4,3	4,4	4,2	4,4
13	TAS	I	6,50	4,90	138	133	138	137	4,6		4,1	4,8
14	CHSN	III	2,60	0,10	136	136	137	138	4,3	4,0	4,0	4,1
15	JRP	I	6,50	0,80	136	139	139	140	4,5	4,4	4,4	4,6
16	GHB	III	1,70	0,05	139	137	138	141	4,4	4,4	4,2	4,8
17	AFPC	I	0,05	1,40	135	134	137	138	4,3	4,7	4,2	4,3
18	KMWS	IV	113	2,30	134	135	136	136	4,3	4,1	4,2	4,4

Tabela 13 - Variações individuais da microalbuminúria (mg/l), Sódio (mmol/l) e Potássio (mmol/l) durante as 24 horas pós 4^a infusão do pamidronato intravenoso nos 18 pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	microalb basal 4	microalb 8 hs após 4	Na basal 4	Na 2hs após 4	Na 8 hs após 4	Na 24 hs após 4	K basal 4	K 2hs após 4	K 8hs após 4	K 24hs após 4
1	VMJ	III	0,05	0,05	139	143		142	4,2	3,8	3,8	4,7
2	CSG	III										
3	GSB	I	0,05	0,05	140	142	140	148	4,4	3,9	3,9	4,3
4	KFRS	I	4,7	0,05	138	139	139	139	4,6	4,8	3,6	4,4
5	ABFS	IV	16,1	1,5	139	142	140	143	4,6	4,3	4,5	4,9
6	PLGS	IV	14,4	1	143	144	141	140	4,1	4	4,2	4,2
7	NAGS	IV	15,7	0,05	141	139	137	142	4,3	4,5	4,4	3,9
8	LSB	I	6,5	1,8	138	136	138	140	4,8		4,3	4,9
9	ESA	I	3,6	0,05	135	136	138	136	4,6	3,9	3,9	4,2
10	JSA	I	34,9	0,05	140	140	137	141	4,1	3,9	4,4	4,3
11	DGP	III										
12	VAS	I										
13	TAS	I										
14	CHSN	III	0,05	0,05	137	137	136	136	4,0	4,0		4,1
15	JRP	I	8,7	8,2	140	140	139	140		3,7	3,8	3,8
16	GHB	III	9,5	0,05	133	141	138	137	4,2	3,9	4,6	4,4
17	AFPC	I	5,7	0,05	142	139	143	141	4,4	5	4,1	3,7
18	KMWS	IV	65,6	23,6	137	138	137	141	4,6	4,1	4,1	4,2

Tabela 14 - Variações individuais do Cálcio Total (mg/dL) e Fósforo (mg/dL) durante as 24 horas pós 1ª infusão do pamidronato intravenoso nos 18 pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	CaT basal 1	CaT 2 hs após 1	CaT 8 hs após 1	CaT 24 hs após 1	P basal 1	P 2 hs após 1	P 8 hs após 1	P 24 hs após 1
1	VMJ	III	9,9	9,7	10	9,7	5,3	4,8	4,8	5,2
2	CSG	III	10,1	9,1	9	9,4	3,9	3,9	3,7	4
3	GSB	I	9,7	9,4	9,7	9,3	4,4	4,6	4,6	4,3
4	KFRS	I	9,6	9,3	9,7	9	3,1	4,4	5,1	3,8
5	ABFS	IV	10,3	8,5	9,4	9	4,2	4,5	4,7	4,2
6	PLGS	IV	9,4	9,7	9,7	9	4,9	4,5	5,5	4,5
7	NAGS	IV	9,5	9,4	9,4	9,1	4,8	5	5,1	3,7
8	LSB	I	9,7	8,4	9,2	9,5	4,7	4,1	5,1	Não
9	ESA	I	9,5	9,5	9,8	9,6	4,7	4,6	4,4	4,2
10	JSA	I	9,6	9,4	9,3	9	4,8	4,9	4,2	4,5
11	DGP	III	9,6	9,7	9,9	9,5	5,6	4,8	5,5	4,6
12	VAS	I	9,6	9,1	9,6	9,3	5,7	6,3	6,2	5,4
13	TAS	I	9,9	10,1	10,1	8,6	5,8	5,6	5,6	5
14	CHSN	III	10,2	9,3	9,1	10,5	5,4	4,9	4,5	4,5
15	JRP	I	10,1	9,1	8,6	9,3	4,5	4,9	4,8	3,1
16	GHB	III	9,4	7,8	9,2	7,4	5,2	4,9	3,8	4,1
17	AFPC	I	10,3	9,5	10,1	9,7	5,4	4,7	5,3	4,4
18	KMWS	IV	9,8	8,9	8,9	9,3	4,8	5	4,8	4,3

Tabela 15 - Variações individuais do Cálcio Total (mg/dL) e Fósforo (mg/dL) durante as 24 horas pós 2ª infusão do pamidronato intravenoso nos 18 pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	CaT basal 2	CaT 2 hs após 2	CaT 8 hs após 2	CaT 24 hs após 2	P basal 2	P 2 hs após 2	P 8 hs após 2	P 24 hs após 2
1	VMJ	III	9,8	9	10	9,5	5	4,7	4,8	5,1
2	CSG	III	9,5	9,3	9,4	9,7	4,7	4,3	4,5	3,5
3	GSB	I	9,5	9,8	9,6	9,4	4,4	4,4	4,5	3,6
4	KFRS	I	9,3	7,9	8,1	9,1	4,5	3,7	3,7	3,5
5	ABFS	IV	9,7	9,8	9,8	10,5	5,3	5,6	5	4,3
6	PLGS	IV	9,8	10	10	9,4	5,2	5,2	5,3	4,5
7	NAGS	IV	9,7	9,5	9,2	9,1	?	5,2	4,7	3,9
8	LSB	I	10,4	9,9	9,2	9,6	4,5	4,1	4,5	3,6
9	ESA	I	9,7	9,5	9,8	9,5	5,0	4,4	4,8	4,7
10	JSA	I	9,1	9,7	9,1	9,4	5,3	5,2	4,7	5,1
11	DGP	III	8,9	7,2	8,8	9,7	5,0	4,5	4,9	4,1
12	VAS	I	9,8	9,3	9,5	9,2	5,9	5,6	5,6	5,7
13	TAS	I	9,7	9,7	10,2	9,6	5	4,8	4,8	3,9
14	CHSN	III	10,1	9,3	10,1	9,7	4,1	4,3	4,1	4,2
15	JRP	I	10,1	9,2	9,7	9,2	4,8	4,2	4,9	4,3
16	GHB	III	9,5	9,1	9,8	9,2	5,5	4,7	5,2	4,5
17	AFPC	I	10,3	9,6	10,2	10,1	5,6	4,8	5,1	3,2
18	KMWS	IV	9,6	9,2	9,1	9,3	4,8	4,6	4,9	4,5

Tabela 16 - Variações individuais do Cálcio Total (mg/dL) e Fósforo (mg/dL) durante as 24 horas pós 3ª infusão do pamidronato intravenoso nos 18 pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	CaT basal 3	CaT 2 hs após 3	CaT 8 hs após 3	CaT 24 hs após 3	P basal 3	P 2 hs após 3	P 8 hs após 3	P 24 hs após 3
1	VMJ	III	9,4	10,1	9,6	9,1	4,7	4,4	4,8	4,6
2	CSG	III	9,4	9,5	9,5	10	4,6	4,1	5	4
3	GSB	I	10,1	9,8	10,1	9,3	4,3	4,6	4,5	3,8
4	KFRS	I	9,8	8,5	9,9	9,7	5,9	4,3	5,1	3,9
5	ABFS	IV	10,2	9,6	9,3	9,9	5,8	5,3	5,2	4,4
6	PLGS	IV	9,8	9,3	9,7	9,8	5,2	5	4,7	4,3
7	NAGS	IV	9,3	9,1	8,9	9,3	5,1	5	5,1	4,3
8	LSB	I	9,7	9,2	9,8	10,4	4	4,2	4,8	4,6
9	ESA	I	10,4	9,1	9,6	9,9	5,1	4,8	4,5	4,4
10	JSA	I	10	8,8	9,1	9,3	5	5,3	5,3	4,9
11	DGP	III	9,1	9,5	8,9	8,9	4,2	3,4	4	4,1
12	VAS	I	9,4	8,8	9,7	9,6	5,4	5,7	5,9	5,4
13	TAS	I	10	8,8	10	10	4,8	5,5	5,1	4,9
14	CHSN	III	10,1	10	10,3	9,9	4,9	4,6	4,5	4,4
15	JRP	I	10,3	9,3	10	10,3	4,9	4,4	5	3,9
16	GHB	III	10,1	9,6	9,8	8,8	5,9	5,1	5,7	5,2
17	AFPC	I	9,7	9,9	10,3	9,8	5,1	3,7	4,7	4,4
18	KMWS	IV	9,5	9,1	9,2	9,3	5,4	5	6,1	4,8

Tabela 17 - Variações individuais do Cálcio Total (mg/dL) e Fósforo (mg/dL) durante as 24 horas pós 4ª infusão do pamidronato intravenoso nos 18 pacientes do Protocolo Modificado:

N Pacientes	Nome	Tipo OI	CaT basal 4	CaT 2 hs após 4	CaT 8 hs após 4	CaT 24 hs após 4	P basal 4	P 2 hs após 4	P 8 hs após 4	P 24 hs após 4
1	VMJ	III	8,7	9,1	9,5	8,9	4,6	4,3	4,7	5,1
2	CSG	III								
3	GSB	I	10,1	9,3	10,1	9,7	4,2	4,2	4,7	4
4	KFRS	I	9,7	9,3	9	9,8	4,5	4,3	4,6	3,8
5	ABFS	IV	10,3	10,4	10,2	10,3	5	4,9	5,3	4,9
6	PLGS	IV	9,9	9,9	9,8	9,7	4,8	4,3	4,9	4,9
7	NAGS	IV	9,7	9,5	9,5	9,6	5,0	4,6	4,7	4,4
8	LSB	I	10	9,6	10	9,9	4,7	5,4	5,1	4,3
9	ESA	I	9,9	9,4	9,9	9,9	4,5	3,9	4,4	4,4
10	JSA	I	9,8	9,5	9,9	9,3	4,6	4,6	5,3	4,6
11	DGP	III								
12	VAS	I								
13	TAS	I								
14	CHSN	III	10,3	9,4	9,6	9,5	4,6	4,5	5,2	4,7
15	JRP	I	10	9,1	8,9	9,2	4,9	4	4,4	4,2
16	GHB	III	9,7	9,3	9,2	9,1	5,7	5,1	5,1	4,7
17	AFPC	I	9,8	9,6	9,6	9,5	3,2	3,9	4,9	4,2
18	KMWS	IV	9,8	8,5	9,1	9,3	4,8	4,8	5,2	4,8

Tabela 18 - Variações individuais de Creatinina sérica, Calcio Total e Fósforo durante a 1ª infusão nos Grupos Canadá e Brasil (Protocolo Padrão e Protocolo Modificado):

Mat ch	Inicia is	País	Dx	Pamid Prévio	Sexo	Idade	Creat Basal	Creat 4h	Creat 24h	CaT Basal	CaT 4h	CaT 24h	P Basal	P 4h	P 24h
1	AK	Canada	OI-III	sim	F	7,4	0,63	0,62	0,66	9,8	8,84	9,44	5,29	4,77	4,37
2	HK	Canada	OI-IV	sim	F	14,4	0,70	0,62	0,63	9,44	8,62	9,04	4,30	3,90	3,75
3	BC	Canada	OI-I	não	M	12,6	0,72	0,76	0,72	9,68	9,26	8,9	5,05	5,45	4,30
4	CS	Canada	OI-I	sim	F	9,5	0,69	0,69	0,67	9,56	8,8	9,18	4,06	4,06	4,01
5	CK	Canada	OI-III	sim	F	4,4	0,51	0,57	0,50	9,64	9,24	8,64	4,09	3,72	3,62
6	HWK	Canada	OI-IV	não	M	8,5	0,58	0,68	0,69	9,12	9,32	9,4	4,67	3,34	5,11
7	HK	Canada	OI-IV	não	F	13,4	0,60	0,63	0,55	8,88	8,36	8,76	4,74	4,02	4,12
8	CS	Canada	OI-I	sim	F	13,0	0,83	0,84	0,79	9,72	9,04	8,72	4,77	4,30	4,27
9	PJ	Canada	OI-I	sim	M	5,8	0,74	0,74	0,60	10,2	9,12	8,92	5,54	4,86	4,43
10	DGV	Canada	OI-I	sim	F	13,5	0,81	0,83	0,77	9,36	8,96	8,42	4,57	4,47	4,50
11	LP	Canada	OI-IV	sim	M	4,4	0,64	0,63	0,55	9,72	9,18	8,52	5,91	5,28	4,92
12	CP	Canada	OI-I	sim	M	9,2	0,77	0,80	0,75	9,96	9,62	9,36	4,13	4,50	4,57
13	MR	Canada	OI-I	não	F	4,2	0,54	0,61	0,54	9,24	8,9	8,44	4,74	3,47	4,41
14	BR	Canada	OI-IV	sim	M	4,58	0,60	0,66	0,54	9,4	9,16	8,84	4,58	3,99	4,24
15	CJ	Canada	OI-I	sim	F	6,4	0,59	0,68	0,62	10,18	9,66	9,34	4,09	3,99	4,15
16	CM	Canada	OI-III	sim	M	11,1	0,63	0,59	0,57	9,8	8,68	8,92	4,37	4,30	4,67
17	PI	Canada	OI-I	sim	F	10,6	0,85	0,88	0,88	9,62	9,72	9,44	4,50	4,61	4,72
18	MF	Canada	OI-IV	sim	M	12,9	0,77	0,78	0,71	9,00	8,48	9,08	4,02	4,15	3,81

Continuação Tabela 18

Mat ch	Iniciais	País	Dx	Pamid Prévio	Sexo	Idade	Creat Basal	Creat 4h	Creat 24h	CaT Basal	CaT 4h	CaT 24h	P Basal	P 4h	P 24h
1	VMJ	Brasil	OI-III	sim	F	8,1	0,24	0,37	0,16	9,9	9,7	9,7	5,3	4,8	5,2
2	CSG	Brasil	OI-III	sim	F	16,2	0,37	0,27	0,3	10,1	9,1	9,4	3,9	3,9	4,0
3	GSB	Brasil	OI-I	não	M	10,7	0,46	0,5	0,58	9,7	9,4	9,3	4,4	4,6	4,3
4	KFRS	Brasil	OI-I	sim	F	8,11	0,53	0,75	0,48	9,6	9,3	9,0	3,1	4,4	3,8
5	ABFS	Brasil	OI-IV	sim	F	3,4	0,25	0,11	0,18	10,3	8,5	9,0	4,2	4,5	4,2
6	PLGS	Brasil	OI-IV	não	M	8,5	0,3	0,42	0,34	9,4	9,7	9,0	4,9	4,5	4,5
7	NAGS	Brasil	OI-IV	não	F	13,8	0,37	0,50	0,39	9,5	9,4	9,1	4,8	5,0	3,7
8	LSB	Brasil	OI-I	sim	F	13	0,63	0,42	0,56	9,7	8,4	9,5	4,7	4,1	
9	ESA	Brasil	OI-I	sim	M	6,5	0,51	0,41	0,46	9,5	9,5	9,6	4,7	4,6	4,2
10	JSA	Brasil	OI-I	sim	F	13,7	0,54	0,5	0,52	9,6	9,4	9,0	4,8	4,9	4,5
11	DGP	Brasil	OI-III	sim	M	3,8	0,2	0,16	0,29	9,6	9,7	9,5	5,6	4,8	4,6
12	VAS	Brasil	OI-I	sim	M	15,5	0,48	0,55	0,49	9,6	9,1	9,3	5,7	6,3	5,4
13	TAS	Brasil	OI-I	não	F	4,1	0,31	0,41	0,42	9,9	10,1	8,6	5,8	5,6	5,0
14	CHSN	Brasil	OI-III	sim	M	5,2	0,22	0,28	0,28	10,2	9,3	10,5	5,4	4,9	4,5
15	JRP	Brasil	OI-I	sim	F	4,11	0,42	0,27	0,42	10,1	9,1	9,3	4,5	4,9	3,1
16	GHB	Brasil	OI-III	sim	M	11,1	0,31	0,25	0,29	9,4	7,8	7,4	5,2	4,9	4,1
17	AFPC	Brasil	OI-I	sim	F	10,9	0,45	0,46	0,43	10,3	9,5	9,7	5,4	4,7	4,4
18	KMWS	Brasil	OI-IV	sim	M	11,9	0,41	0,47	0,43	9,8	8,9	9,3	4,8	5,0	4,3

TABELAS 19 - 24 (ARTIGO 2)

Tabela 19 – Características basais dos 37 pacientes com OI incluídos no estudo e tempo de tratamento com bisfosfonatos intravenosos (Pamidronato e Ácido Zoledrônico):

n	Initials	Sex	AgePAM Start1	Dx	Timeof PAM1x	Length of treatment interrupt ion 1	Timeof PAM2x	Length of treatment interrupt ion 2	TimeofZ OLtx1	TimeofZ OLtx2	Timeof BSP
1	ECB	M	0,40	OI-IV	6,92				5,37		12,3
2	MTLA	F	3,66	OI-III	8,13	1,72	0,85				9,0
3	CSD	F	3,19	OI-III	5,44				2,60		8,0
4	HRC	F	0,50	OI-IV	5,34				4,37		9,7
5	OCE	F	0,60	OI-IV	4,14				1,94		6,1
6	SH	F	4,16	OI-IV	6,94				4,58		11,5
7	PJ	M	4,80	OI-IV	6,75	3,39	5,02				11,8
8	JDG	M	3,42	OI-III	8,23				3,07		11,3
9	MJ	F	2,64	OI-III	8,76	5,67	3,83		4,09		16,7
10	CK	F	3,48	OI-III	7,67				0,82		8,5
11	AM	M	2,44	OI-IV	6,65	3,84	4,14				10,8
12	TLMA	M	3,10	OI-IV	6,53	2,26	3,47		2,38		12,4
13	MMA	F	3,95	OI-IV	6,80				3,01		9,8
14	LPN	M	3,42	OI-IV	6,21	3,78	1,95		3,66		11,8
15	LA	F	3,67	OI-III	8,00	2,95	1,32		3,18		12,5
16	CE	F	0,21	OI-III	5,56	1,28	3,06		3,55		12,2
17	SC	F	1,71	OI-III	11,43				3,78		15,2

18	PP	M	0,82	OI-IV	3,26	0,48	1,49	5,22			8,2
19	BT	M	1,40	OI-IV	6,66				0,52	1,52	8,7
20	HCP	M	1,40	OI-III	6,18	2,12	2,60		5,15		13,9
21	RS	M	4,81	OI-IV	4,93				3,10		8,0
22	WH	F	3,88	OI-IV	5,20	4,59	4,25				9,4
23	WR	F	2,24	OI-IV	5,04	3,03	4,54				9,6
24	KJ	M	3,15	OI-III	5,71	1,05	1,93		5,59		13,2
25	MT	M	0,11	OI-III	5,19	2,53	1,60		5,27		12,1
26	JE	F	3,43	OI-IV	4,69	4,17	0,67		3,58		8,9
27	NM	F	0,51	OI-IV	4,31	3,58	1,43		5,13		10,9
28	GA	F	1,96	OI-I	4,99				4,25		9,2
29	QT	M	0,22	OI-III	4,70	1,92	4,13		3,70		12,5
30	IJ	M	0,24	OI-IV	5,31	1,96	2,63		4,16		12,1
31	TT	F	1,61	OI-IV	4,00	1,50	4,46		3,18		11,6
32	WM	F	0,52	OI-III	4,96	3,08	6,23				11,2
33	WN	F	2,32	OI-IV	4,75				5,06		9,8
34	STP	M	0,62	OI-IV	4,94				4,58		9,5
35	PMR	F	0,21	OI-IV	4,06	2,86	2,39		3,98		10,4
36	SRD	F	2,21	OI-IV	4,93	1,59	2,72		2,55		10,2
37	RBP	M	1,37	OI-III	7,71				0,48		8,2

Tabela 20 – Tempo de seguimento desde o início do pamidronato e Z-score do peso e altura no início e no final do estudo:

n	Initials	Sex	Dx	AgeLast Appointment	FUtimesince PAMStart	zht_0	zwt_0	zht_Last	zwt_Last
1	ECB	M	OI-IV	15,0	14,6	-8,51	-5,37	-5,68	-2,93
2	MTLA	F	OI-III	14,3	10,7	-10,66	-4,33	-9,37	-3,20
3	CSD	F	OI-III	17,2	14,0	-4,72	-3,45	-7,46	-3,58
4	HRC	F	OI-IV	15,1	14,6	-7,80	-3,90	-3,70	-0,29
5	OCE	F	OI-IV	15,6	15,0	-4,74	-2,99	-3,28	-0,57
6	SH	F	OI-IV	19,9	15,7	-4,99	-3,05	-7,02	-1,88
7	PJ	M	OI-IV	21,5	16,7	-0,97	0,18	-2,31	-1,22
8	JDG	M	OI-III	17,0	13,6	-4,48	-3,61	-5,49	-2,70
9	MJ	F	OI-III	20,8	18,2	-9,17	-4,69	-10,91	-3,21
10	CK	F	OI-III	20,8	17,3	-6,46	-4,13	-10,73	-2,90
11	AM	M	OI-IV	20,3	17,9	-5,39	-2,27	-2,43	-0,82
12	TLMA	M	OI-IV	18,1	15,0	-4,30	-1,91	-3,41	-2,92
13	MMA	F	OI-IV	21,6	17,6	-4,67	-2,51	-3,64	-0,28
14	LPN	M	OI-IV	20,5	17,0	-3,50	-2,16	-4,64	1,42
15	LA	F	OI-III	19,6	15,9	-7,48	-3,74	-6,70	-3,08
16	CE	F	OI-III	17,3	17,1	-13,71	-5,19	-7,95	-2,87
17	SC	F	OI-III	18,6	16,8	-10,03	-5,79	-12,81	-5,13
18	PP	M	OI-IV	17,9	17,1	-2,31	-2,50	-3,47	-0,73
19	BT	M	OI-IV	18,6	17,2	-0,09	-2,99	-2,69	-0,57
20	HCP	M	OI-III	17,4	16,0	-8,32	-4,42	-11,28	-3,33
21	RS	M	OI-IV	18,3	13,5	-9,09	-2,19	-9,50	2,38
22	WH	F	OI-IV	19,2	15,3	-3,60	-1,96	-3,65	-1,74
23	WR	F	OI-IV	16,2	14,0	-3,87	-0,91	-1,67	0,40
24	KJ	M	OI-III	17,3	14,2	-8,92	-4,72	-9,28	-4,42
25	MT	M	OI-III	14,9	14,8	-8,29	-3,88	-7,83	-4,03

26	JE	F	OI-IV	17,8	14,3	-4,80	-3,14	-5,88	-1,13
27	NM	F	OI-IV	15,4	14,9	-1,76	-1,31	-1,48	-0,29
28	GA	F	OI-I	15,2	13,2	-2,53	-0,47	-1,47	0,75
29	QT	M	OI-III	15,0	14,8	-13,56	-4,06	-5,93	-3,13
30	IJ	M	OI-IV	15,0	14,8	-11,95	-3,79	-3,28	0,46
31	TT	F	OI-IV	15,1	13,5	-5,77	-3,21	-4,44	-2,27
32	WM	F	OI-III	14,1	13,6	-6,94	-3,33	-6,54	-2,48
33	WN	F	OI-IV	15,4	13,0	-4,61	-2,17	-4,46	-2,19
34	STP	M	OI-IV	14,7	14,1	-8,51	-4,25	-5,95	-2,54
35	PMR	F	OI-IV	14,1	13,9	-8,97	-3,49	-3,67	0,29
36	SRD	F	OI-IV	14,3	12,1	-6,59	-4,23	-1,82	-0,04
37	RBP	M	OI-III	17,7	16,3	-6,90	-4,03	-9,36	-5,09

Tabela 21 – LS-aBMD início e no final do estudo durante o tratamento com bisfosfonatos intravenosos:

n	Initials	Sex	Dx	Age_ aBMD_0	aBMD_0	z_aBMD result_0	Age_aBMD _Last	aBMD_ Last	z_aBMDresult _Last
1	ECB	M	OI-IV	0,4	0,095	-5,38	14,5	0,424	-4,80
2	MTLA	F	OI-III	3,7	0,209	-5,57	14,3	0,587	-3,16
3	CSD	F	OI-III	3,2	0,163	-6,24	17,2	0,389	-3,08
4	HRC	F	OI-IV	0,5	0,148	-3,72	15,1	0,702	-2,40
5	OCE	F	OI-IV	0,6	0,199	-2,27	14,6	0,948	0,19
6	SH	F	OI-IV	4,2	0,16	-6,62	18,3	0,434	-2,77
7	PJ	M	OI-IV	4,8	0,291	-4,28	21,5	0,756	-3,04
8	JDG	M	OI-III	3,3	0,142	-6,70	17,0	0,794	-2,04
9	MJ	F	OI-III	2,6	0,119	-6,86	19,9	0,588	-3,88
10	CK	F	OI-III	3,3	0,164	-6,28	19,5	0,534	-2,50
11	AM	M	OI-IV	2,4	0,251	-4,16	17,7	0,882	-1,47
12	TLMA	M	OI-IV	3,1	0,249	-4,53	18,1	0,653	-3,63
13	MMA	F	OI-IV	4,0	0,182	-6,21	21,6	0,866	-1,45
14	LPN	M	OI-IV	3,4	0,255	-4,57	20,5	0,918	-1,57
15	LA	F	OI-III	3,6	0,198	-5,75	17,6	0,522	-3,47
16	CE	F	OI-III	0,2	0,121	-3,95	16,6	0,843	-1,54
17	SC	F	OI-III	1,7	0,123	-6,25	13,7	0,366	-3,51
18	PP	M	OI-IV	0,8	0,146	-4,39	16,9	0,737	-2,65
19	BT	M	OI-IV	1,4	0,098	-6,52	16,4	0,778	-1,83
20	HCP	M	OI-III	1,3	0,093	-6,62	16,1	0,732	-2,55
21	RS	M	OI-IV	4,8	0,196	-5,93	18,3	0,712	-3,13
22	WH	F	OI-IV	3,9	0,339	-3,20	15,8	0,596	-3,69
23	WR	F	OI-IV	2,3	0,306	-2,97	16,2	0,934	-0,70

24	KJ	M	OI-III	3,2	0,122	-7,02	17,3	0,349	-6,25
25	MT	M	OI-III	0,1	0,201	-0,24	14,9	0,538	-3,85
26	JE	F	OI-IV	3,4	0,185	-5,92	15,8	0,694	-2,33
27	NM	F	OI-IV	0,5	0,166	-3,15	12,5	0,603	-2,16
28	GA	F	OI-I	2,0	0,283	-3,15	15,2	0,842	-1,13
29	QT	M	OI-III	0,2	0,103	-4,69	14,3	0,496	-4,02
30	IJ	M	OI-IV	0,2	0,091	-5,22	14,5	0,674	-2,38
31	TT	F	OI-IV	1,6	0,12	-6,23	15,1	0,720	-2,22
32	WM	F	OI-III	0,5	0,185	-2,49	11,5	0,429	-3,56
33	WN	F	OI-IV	2,3	0,17	-5,71	14,1	0,585	-3,06
34	STP	M	OI-IV	0,6	0,176	-3,11	14,0	0,463	-4,22
35	PMR	F	OI-IV	0,2	0,114	-4,23	13,0	0,604	-2,35
36	SRD	F	OI-IV	2,2	0,097	-7,12	14,3	0,829	-0,81
37	RBP	M	OI-III	1,3	0,1300	-5,69	9,1	0,437	-2,72

Tabela 22 –Tipo de Mutação, Escoliose e número de Fraturas durante o seguimento:

n	Initials	Sex	Dx	Gene affected	Mutation type	Scoliosis_ Last degree all patients	Scoliosis_Last degree without spinefusion	Coments scoliosis	Total of Fractures femur+tibia	Roddings Total N_during treat(femur + tibia)
1	ECB	M	OI-IV	COL1A1	Glycine	20	20		10	9
2	MTLA	F	OI-III	COL1A1	Glycine	32	32		18	1
3	CSD	F	OI-III	COL1A2	Glycine	50		spine fusion	9	11
4	HRC	F	OI-IV	COL1A2	Glycine	0	0	minimal curvature	12	7
5	OCE	F	OI-IV	COL1A2	Glycine	9	9		7	6
6	SH	F	OI-IV	COL1A2	Glycine	24		spine fusion	8	6
7	PJ	M	OI-IV	COL1A2	Glycine	0	0	no significant scoliosis	12	13
8	JDG	M	OI-III	COL1A1	Glycine	37		spine fusion	9	9
9	MJ	F	OI-III	COL1A2	Glycine	0		spine fusion	31	8
10	CK	F	OI-III	COL1A1	Glycine	40		spine fusion	7	4
11	AM	M	OI-IV	COL1A2	Glycine	0	0	no significant scoliosis	18	11
12	TLMA	M	OI-IV	COL1A2	Glycine	48	48		20	7
13	MMA	F	OI-IV	COL1A2	Glycine	0	0	no significant scoliosis	11	10
14	LPN	M	OI-IV	COL1A2	Glycine	0	0	no significant scoliosis	15	16
15	LA	F	OI-III	COL1A2	Glycine	46		spine fusion	20	12
16	CE	F	OI-III	COL1A2	Glycine	22	22		11	10
17	SC	F	OI-III	COL1A1	Glycine	76		spine fusion	13	7

18	PP	M	OI-IV	COL1A2	Glycine	10	10		13	4
19	BT	M	OI-IV	COL1A1	C-propep	0		spine fusion	22	18
20	HCP	M	OI-III	COL1A1	Glycine	67		spine fusion	3	9
21	RS	M	OI-IV	COL1A2	Glycine	28	28		4	4
22	WH	F	OI-IV	COL1A2	Glycine	0		spine fusion	6	9
23	WR	F	OI-IV			7	7	37 degree of kyphosis	9	4
24	KJ	M	OI-III	COL1A1	Glycine	60		spine fusion	18	10
25	MT	M	OI-III	COL1A2	Glycine	41	41		8	10
26	JE	F	OI-IV	COL1A1	Glycine	0		spine fusion	6	4
27	NM	F	OI-IV	COL1A1	Splice site	0		spine fusion	22	11
28	GA	F	OI-I	COL1A2	Glycine	6	6		0	0
29	QT	M	OI-III	COL1A2	Glycine	55	55		27	14
30	IJ	M	OI-IV	COL1A2	Splice site	31	31		23	12
31	TT	F	OI-IV	COL1A2	Glycine	28	28		9	12
32	WM	F	OI-III	COL1A1	Glycine	17		spine fusion	11	12
33	WN	F	OI-IV	COL1A2	Glycine	44		spine fusion	6	5
34	STP	M	OI-IV	COL1A2	Glycine	21	21		21	20
35	PMR	F	OI-IV	COL1A2	3 aa deletion	56	56		56	10
36	SRD	F	OI-IV	COL1A1	Splice site	45	45		45	2
37	RBP	M	OI-III	COL1A2	Glycine	80		spine fusion	4	6

Tabela 23 – Características clínicas ao nascimento e manifestações extraesqueléticas dos 37 pacientes com OI:

n	Initials	Sex	Dx	Blue Sclerae?	DI?	Joint Hyperlaxity?	Wormian Bones?	Birth Weight (g)	Fractures at birth?	Deformities at birth?	Gestational Age
1	ECB	M	OI-IV	yes	yes	yes	yes	2538	yes	yes	38
2	MTLA	F	OI-III	no	yes	yes	yes	2525	yes	yes	40
3	CSD	F	OI-III	yes	yes	yes	yes	2722	yes	yes	40
4	HRC	F	OI-IV	yes	yes	yes	yes	3488	no	no	40
5	OCE	F	OI-IV	no	yes	yes	yes	3100	yes	no	38
6	SH	F	OI-IV	yes	no	no	yes	3175	yes	no	40
7	PJ	M	OI-IV	yes	no	no	yes	3580	no	no	41
8	JDG	M	OI-III	no	yes	yes	yes	2850	yes	yes	39
9	MJ	F	OI-III	yes	yes	no	yes	2628	yes	no	37
10	CK	F	OI-III	yes	yes		yes	4200	yes		40
11	AM	M	OI-IV	no	no	no	yes	3458	yes	yes	41
12	TLMA	M	OI-IV	no	yes	yes	yes	3175	yes	yes	40
13	MMA	F	OI-IV	yes	no	no	yes	2970	no	no	38
14	LPN	M	OI-IV	no	yes	no	yes	3343	yes	yes	38
15	LA	F	OI-III	yes	yes	yes	yes	2100	yes	yes	37
16	CE	F	OI-III	no	no	yes	yes	2126			37
17	SC	F	OI-III	yes	no	yes	yes	2040	yes	yes	37
18	PP	M	OI-IV	yes	yes	yes	yes	3425	no	yes	40
19	BT	M	OI-IV	yes	no	yes	yes	4200	yes	no	40
20	HCP	M	OI-III	yes	yes	no	yes	3710	yes	yes	41
21	RS	M	OI-IV	yes	yes		yes	2500	yes		39
22	WH	F	OI-IV	yes	yes	no	yes	2940	no	no	40
23	WR	F	OI-IV	no	yes	no	yes	3000	yes	yes	40

24	KJ	M	OI-III	yes	yes	yes	yes	2960	yes	yes	40
25	MT	M	OI-III	yes	yes	yes	yes	2860	yes	yes	40
26	JE	F	OI-IV	yes	yes	yes	yes	3325	yes	yes	
27	NM	F	OI-IV	yes	no	yes	yes	3430	no	no	40
28	GA	F	OI-I	no	yes	yes	no	2965	no	no	38
29	QT	M	OI-III	yes	yes	no	yes	3175	yes	yes	38
30	IJ	M	OI-IV	yes	yes	no	yes	3091	yes	yes	40
31	TT	F	OI-IV	yes	yes	no	yes	2636	no	yes	38
32	WM	F	OI-III	no	yes	yes	yes	1729	yes	yes	35
33	WN	F	OI-IV	yes	yes	yes	yes	3455	no	yes	40
34	STP	M	OI-IV	yes	yes	yes	yes	2040	yes	yes	38
35	PMR	F	OI-IV	yes	no	yes		4167	yes		38
36	SRD	F	OI-IV	yes	no	yes	yes	3700	no	no	40
37	RBP	M	OI-III	no	yes	yes	yes		yes	yes	

Tabela 24 – Marcadores do metabolismo ósseo no no final do tratamento com bisfosfonatos intravenosos:

n	Initials	Sex	DX	25OHD	P1NP	CTX	NTX	PTH	FA
1	ECB	M	OI-IV	45	153,1	1,008	298	6	151
2	MTLA	F	OI-III	98			258	4	122
3	CSD	F	OI-III	77,3	141,4	0,842	916	6	113
4	HRC	F	OI-IV	78	49,8	0,337802	188	6	82
5	OCE	F	OI-IV	57	42,8	0,204	98	8	71
6	SH	F	OI-IV	138	32,2	0,251	157	7	89
7	PJ	M	OI-IV	80			41	5	69
8	JDG	M	OI-III	80			90	5	108
9	MJ	F	OI-III	84,1	38,2	0,228	172	7	82
10	CK	F	OI-III	43,5	48,7	0,452	235	8	93
11	AM	M	OI-IV	71,8			264	7	147
12	TLMA	M	OI-IV	31,8	42,4	0,484	125	7	85
13	MMA	F	OI-IV	73,3	14,4	0,12	36	7	47
14	LPN	M	OI-IV	54,2	28,8	0,135	42	5	61
15	LA	F	OI-III	55,7	22	0,284	170	4	95
16	CE	F	OI-III	88,3	15,7	0,152	100	6	102
17	SC	F	OI-III	57,3	23,1	0,123	302	5	82
18	PP	M	OI-IV	35,6	51,7	0,614	178	4	97
19	BT	M	OI-IV	63	44	0,567	136	11	112
20	HCP	M	OI-III	89,1	31,9	0,207	376	5	85
21	RS	M	OI-IV	35,2			46	6	70
22	WH	F	OI-IV	28	80,8	0,792	78	7	89
23	WR	F	OI-IV	46,3	111,6	0,658	275	6	88
24	KJ	M	OI-III	62,7	97,3	0,566	354	15	109
25	MT	M	OI-III	76	117,6	0,773	239	6	179

26	JE	F	OI-IV	45,8	56	0,472	123	9	60
27	NM	F	OI-IV	71	317,3	0,821	365	4	81
28	GA	F	OI-I	71	53,5	0,358	117	8	84
29	QT	M	OI-III	85,9	208,3	0,598	285	4	168
30	IJ	M	OI-IV	51,5	99,9	0,634	368	8	110
31	TT	F	OI-IV	115,2	56,6	0,469	190		82
32	WM	F	OI-III	140,1			478		178
33	WN	F	OI-IV	92,1	101,3	0,554	283		133
34	STP	M	OI-IV	76,1	130,7	0,267	323		171
35	PMR	F	OI-IV	93,1	187,9	0,955	344		229
36	SRD	F	OI-IV	42,4	218,5	0,416	365		117
37	RBP	M	OI-III	45,5	177,1	0,618	213	5	117

8. APÊNDICES – OUTRAS PUBLICAÇÕES

APÊNDICE I



ARTIGO 3.

Barros ER, Saraiva GL, de Oliveira TP, Lazaretti-Castro M

SAFETY AND EFFICACY OF A 1-YEAR TREATMENT WITH ZOLEDRONIC ACID COMPARED WITH PAMIDRONATE IN CHILDREN WITH OSTEOGENESIS IMPERFECTA

PUBLICADO: J Pediatr Endocrinol Metab. 2012

FATOR DE IMPACTO: 0.995

Pamidronate (PAM) infusion is the standard treatment in children with osteogenesis imperfecta (OI). Zoledronic acid (ZOL) is a bisphosphonate with higher potency and faster intravenous infusion, but its efficacy and safety has not been established for OI patients. We report an open-label, prospective, and randomized clinical analysis to study the safety and efficacy of ZOL compared with PAM in 23 children with OI. They were selected to receive PAM (PAM group), 1 mg/kg/day, over 2 days or ZOL (ZOL group), 0.025-0.05 mg/kg/day, over 2 days every 3-4 months according to their ages, during a 1-year follow-up. They were observed for clinical and biochemical parameters, side effects, bone mineral density (BMD), and fracture rate. After treatment, the PAM and ZOL groups average lumbar spine (LS) BMD increased by 51.8% ($p = 0.053$) and 67.6% ($p = 0.003$), respectively. Parallel improvement was seen in LS Z-score in the PAM and ZOL groups, with scores of -5.3 to -3.8 ($p = 0.032$) and -4.8 to -2.3 ($p = 0.007$), respectively. LS Z-score for the ZOL group at the end of treatment was higher compared with the PAM group but only a borderline significance ($p = 0.053$). The total alkaline phosphatase (AP) in the ZOL group significantly decreased from baseline at third and fourth infusion ($p = 0.032$). Mild side effects were similar in both groups, but no severe clinical symptoms were reported. In conclusion, the present study shows that the use of ZOL in the dosage and period studied was safe and efficient to promote a clinical and densitometric improvement, similarly to PAM. Further studies are needed to establish optimal dosing and long-term safety.



ARTIGO 4.

Telma Palomo, Francis H. Glorieux, Frank Rauch

CIRCULATING SCLEROSTIN IN CHILDREN AND YOUNG ADULTS WITH HERITABLE BONE DISORDERS

PUBLICADO: J Clin Endocrinol Metab. 2014 MAY

FATOR DE IMPACTO: 6.209

CONTEXT: Sclerostin is an inhibitor of bone formation and is an important determinant of bone mass. The role of sclerostin in heritable metabolic bone disorders has not been studied in detail. **OBJECTIVE:** We evaluated serum sclerostin levels in patients with X-linked hypophosphatemic rickets (XLH) and osteogenesis imperfecta (OI) and analyzed the relationship of circulating sclerostin concentrations with lumbar spine areal bone mineral density (LS-aBMD). **SETTING:** The study was conducted in the metabolic bone clinic of a pediatric orthopedic hospital. **PATIENTS:** Participants were 128 individuals, including 30 patients with XLH, 76 patients with OI types I, III, and IV, and 22 healthy subjects. **MAIN OUTCOME MEASURES:** Sclerostin was quantified in serum samples. **RESULTS:** Patients with XLH had higher circulating sclerostin concentrations (mean [SD]: 30.2 [16.7] pmol/L) than healthy control subjects (21.4 [9.2] ng/mL) ($P = .02$), as well as relatively high LS-aBMD Z-scores (+1.1 [1.7]). In the XLH cohort, serum sclerostin levels were positively associated with the LS-aBMD Z-score ($r = 0.56$; $P < .002$) and with alkaline phosphatase ($r = 0.45$; $P = .01$). In patients with OI, sclerostin serum levels were similar to those of healthy control subjects despite low LS-aBMD. **CONCLUSIONS:** The elevated sclerostin serum levels in XLH and the normal concentrations in OI suggest that the bone mass abnormalities in these disorders are not caused by primary sclerostin dysregulation.



ARTIGO 5.

Palomo T, Al-Jallad H, Moffatt P, Glorieux FH, Lentle B, Roschger P, Klaushofer K, Rauch F

SKELETAL CHARACTERISTICS ASSOCIATED WITH HOMOZYGOUS AND HETEROZIGOUS WNT1 MUTATIONS

PUBLICADO: BONE. 2014 OCTOBER

FATOR DE IMPACTO: 3.973

Recent reports have shown that homozygous or compound heterozygous mutations in WNT1 can give rise to severe bone fragility resembling osteogenesis imperfecta, whereas heterozygous WNT1 mutations have been found in adults with dominant early-onset osteoporosis. Here we assessed the effects of WNT1 mutations in four children with recessive severe bone fragility and in heterozygous family members. In vitro studies using the Topflash luciferase reporter system showed that two WNT1 missense mutations that were observed in these families, p.Cys143Phe and p.Val355Phe, decreased the ability of WNT1 to stimulate WNT signaling by >90%. Analyses of iliac bone samples revealed no major abnormalities in bone mineralization density distribution, an indicator of material bone properties, whereas a shift towards higher bone mineralization density is characteristic of classical osteogenesis imperfecta caused by mutations in COL1A1/COL1A2. Intravenous bisphosphonate treatment of four children with homozygous or compound heterozygous WNT1 mutations was associated with increasing lumbar spine areal bone mineral density z-scores, as measured by dual energy X-ray absorptiometry, but the effect was smaller than what had previously been reported for children with classical osteogenesis imperfecta. Family members with heterozygous WNT1 mutation tended to have low bone mass. Three of these heterozygous individuals had radiographic signs of vertebral fractures. These observations suggest that more effective treatment approaches are needed for children with recessive WNT1-related bone fragility and that a systematic work-up for osteoporosis is warranted for WNT1 mutation carriers in these families.

APÊNDICE IV



ARTIGO 6.

Al-Jallad H, Palomo T, Moffatt P, Roughley P, Glorieux FH, Rauch F

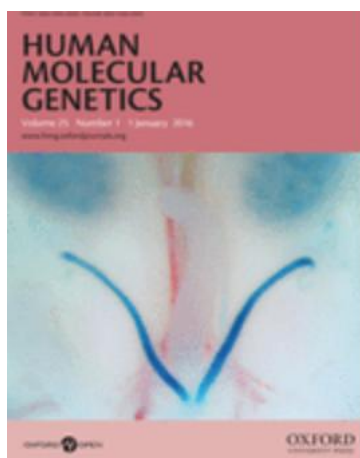
NORMAL BONE DENSITY AND FAT MASS IN HETEROZYGOUS SERPINF1 MUTATION CARRIERS

PUBLICADO: J Clin Endocrinol Metab. 2014 NOV

FATOR DE IMPACTO: 6.209

CONTEXT: Homozygous mutations in SERPINF1 cause deficiency of pigment epithelium-derived factor (PEDF) and lead to osteogenesis imperfecta (OI) type VI, but it is not known whether heterozygous mutations in SERPINF1 cause a phenotype. **OBJECTIVE:** In the present study, we therefore assessed family members of individuals with OI type VI and compared the results of SERPINF1 mutation carriers with those of noncarriers of SERPINF1 mutations. **SETTING:** This study was conducted at a metabolic bone clinic of a pediatric orthopedic hospital. **SUBJECTS:** The study population comprised 29 family members (age range 8-89 y; 18 females, 11 males) of patients with a diagnosis of OI type VI. Eighteen individuals were heterozygous for SERPINF1 mutations, but the others did not carry a mutation. **MAIN OUTCOME MEASURES:** PEDF expression was assessed in skin fibroblasts from four heterozygous SERPINF1 mutation carriers. Skeletal characteristics and body composition were measured using dual-energy X-ray absorptiometry and peripheral quantitative computed tomography. Serum samples were used to quantify markers of bone metabolism, lipid status, and PEDF. **RESULTS:** Carriers of heterozygous stop or frame shift mutations in SERPINF1 had low SERPINF1 transcript levels. Mean PEDF serum concentrations were significantly lower in the carrier group than in the noncarriers ($P = .04$). However, no group differences were found with regard to areal bone density at the lumbar spine and total body, volumetric bone density at the radius and tibia, body composition, lipid status, and markers of bone metabolism. **CONCLUSION:** Heterozygous SERPINF1 mutation carriers had no detectable abnormalities in fat and bone, despite decreased PEDF expression.

APÊNDICE V



ARTIGO 7.

Fahiminiya S, Al-Jallad H, Majewski J, Palomo T, Moffatt P, Roschger P, Klaushofer K, Glorieux FH, Rauch F

A POLYADENYLATION SITE VARIANT CAUSES TRANSCRIPT-SPECIFIC BMP1 DEFICIENCY AND FREQUENT FRACTURES IN CHILDREN

PUBLICADO: Hum Mol Genet. 2015 JAN 15.

FATOR DE IMPACTO: 6.393

We had previously published the clinical characteristics of a bone fragility disorder in children that was characterized mainly by lower extremity fractures and a mineralization defect in bone tissue but not on the growth plate level. We have now performed whole-exome sequencing on four unrelated individuals with this phenotype. Three individuals were homozygous for a nucleotide change in BMP1, affecting the polyadenylation signal of the transcript that codes for the short isoform of BMP1 (BMP1-1) (c.*241T>C). In skin fibroblasts of these individuals, we found low levels of BMP1-1 transcript and protein. The fourth individual was compound heterozygous for the c.*241T>C variant in BMP1-1 and a variant in BMP1 exon 15 (c.2107G>C) that affected splicing in both BMP1-1 and the long isoform of BMP1 (BMP1-3). Both the homozygous 3'UTR variant and the compound heterozygous variants were associated with impaired procollagen type I C-propeptide cleavage, as the amount of free C-propeptide in the supernatant of skin fibroblasts was less than in controls. Peripheral quantitative computed tomography showed that all individuals had elevated volumetric cortical bone mineral density. Assessment of iliac bone samples by histomorphometry and quantitative backscattered electron imaging indicated that the onset of mineralization at bone formation sites was delayed, but that mineralized matrix was hypermineralized. These results show that isolated lack of BMP1-1 causes bone fragility in children.



ARTIGO 8.

Al-Jallad H, Palomo T, Roughley P, Glorieux FH, McKee MD, Moffatt P, Rauch F

THE EFFECT OF SERPINF1 IN-FRAME MUTATIONS IN OSTEOGENESIS IMPERFECTA TYPE VI

PUBLICADO: Bone. 2015 APR 11.

FATOR DE IMPACTO: 3.973

Osteogenesis imperfecta type VI is caused by mutations in SERPINF1, which codes for pigment-epithelium derived factor (PEDF). Most of the reported SERPINF1 mutations lead to premature termination codons, but three in-frame insertion or deletion mutations have also been reported. It is not clear how such in-frame mutations lead to OI type VI. In the present study we therefore investigated how SERPINF1 in-frame mutations affect the intracellular localization and secretion of PEDF. Skin fibroblasts affected by SERPINF1 in-frame mutations transcribed SERPINF1 at slightly reduced levels but secretion of PEDF was markedly diminished. Two deletions (p.F277del and the deletion of SERPINF1 exon 5) were associated with retention of PEDF in the endoplasmic reticulum and a stress response in osteoblastic cells. A recurrent in-frame duplication of three amino acids (p.Ala91_Ser93dup) appeared to lead to intracellular degradation but no retention in the endoplasmic reticulum or stress response. Immunofluorescence imaging in transiently transfected osteoblastic MC3T3-E1 cells suggested that PEDF affected by in-frame mutations was not transported along the secretory pathway. MC3T3-E1 osteoblasts stably overexpressing SERPINF1 with the p.Ala91_Ser93dup mutation had decreased collagen type I deposition and mineralization. Thus, the assessed homozygous in-frame deletions or insertions lead to retention or degradation within cellular compartments and thereby interfere with PEDF secretion. We had previously published the clinical characteristics of a bone fragility disorder in children that was characterized mainly by lower extremity fractures.



ARTIGO 9.

Mendoza-Londono R; Fahiminiya S; Majewski J, Tétreault M; Nadaf J; Kannu P; Sochett E; Howard A; Stimec J; Depuis L; Roscheger P; Klaushofer K; Palomo T; Ouellet J; Al-Jallad H; Mort JS; Moffat P; Boudko S; Bachinger HP; Rauch F

RECESSIVE OSTEOPENESIS IMPERFECTA
CAUSED BY MISSENSE MUTATION IN SPARC

PUBLICADO: Am J Hum Genet. 2015 JUNE 2.

FATOR DE IMPACTO: 10.931

Secreted protein, acidic, cysteine-rich (SPARC) is a glycoprotein that binds to collagen type I and other proteins in the extracellular matrix. Using whole-exome sequencing to identify the molecular defect in two unrelated girls with severe bone fragility and a clinical diagnosis of osteogenesis imperfecta type IV, we identified two homozygous variants in SPARC (GenBank: NM_003118.3; c.497G>A [p.Arg166His] in individual 1; c.787G>A [p.Glu263Lys] in individual 2). Published modeling and site-directed mutagenesis studies had previously shown that the residues substituted by these mutations form an intramolecular salt bridge in SPARC and are essential for the binding of SPARC to collagen type I. The amount of SPARC secreted by skin fibroblasts was reduced in individual 1 but appeared normal in individual 2. The migration of collagen type I alpha chains produced by these fibroblasts was mildly delayed on SDS-PAGE gel, suggesting some overmodification of collagen during triple helical formation. Pulse-chase experiments showed that collagen type I secretion was mildly delayed in skin fibroblasts from both individuals. Analysis of an iliac bone sample from individual 2 showed that trabecular bone was hypermineralized on the material level. In conclusion, these observations show that homozygous mutations in SPARC can give rise to severe bone fragility in humans.

APÊNDICE VIII



ARTIGO 10.

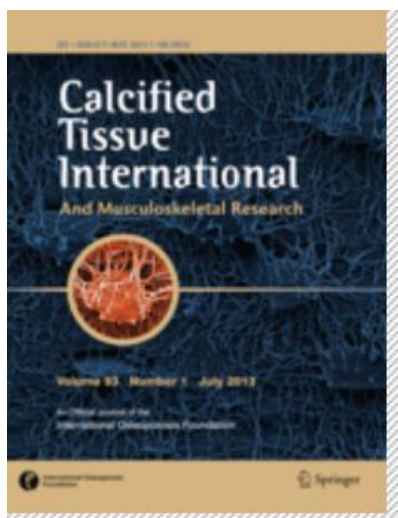
Montpetit K, Palomo T, Glorieux FH, Fassier F, Rauch F.

MULTIDISCIPLINARY TREATMENT OF SEVERE OSTEOGENESIS IMPERFECTA – FUNCTIONAL OUTCOMES AT SKELETAL MATURITY.

PUBLICADO: ARCH PHYS MED REHABIL. 2015 JUNE 30.

FATOR DE IMPACTO: 2.565

OBJECTIVE: To determine the functional outcomes associated with long-term multidisciplinary treatment, intravenous bisphosphonate treatment, orthopedic surgery, and rehabilitation in children with severe osteogenesis imperfecta (OI) (diagnosed clinically as OI types III or IV). **DESIGN:** Retrospective study where outcomes were measured prospectively. **SETTING:** Pediatric orthopedic hospital. **PARTICIPANTS:** Adolescents (N=41; age range, 15-21y) with severe OI (OI type III: n=17; OI type IV: n=24) who had started therapy before the age of 6 years, had received treatment for at least 10 years, and had achieved final height. **INTERVENTIONS:** Intravenous bisphosphonate treatment, orthopedic surgery, and rehabilitation. **MAIN OUTCOME MEASURE:** Pediatric Evaluation of Disability Inventory. **RESULTS:** At the time of the last available follow-up examination, none of the individuals diagnosed with OI type III (most severely affected group) was able to ambulate without ambulation aids, whereas 20 (83%) patients with OI type IV were able to ambulate without ambulation aids. Regarding self-care, we specifically assessed 8 skills that we deemed essential for living independently (grooming; dressing; toileting; bed, chair, toilet, tub, and car transfers). Only 6 (35%) of the youths with OI type III were able to complete all 8 items, whereas 23 (96%) individuals with OI type IV managed to perform all tasks. Teens with OI type III often needed assistance for the transfer to toilet, tub, and car and for personal hygiene and clothing management associated with toileting, usually because of limitations in upper-extremity function. **CONCLUSIONS:** These observations suggest that further improvements in the functional status of the most severely affected children with OI are contingent on advances in the clinical management of upper-extremity issues.



ARTIGO 11.

Bardai G, Lemyre E, Moffatt P, Palomo T, Glorieux FH, Tung J, Ward L, Rauch F.

OSTEOGENESIS IMPERFECTA TYPE I CAUSED BY COL1A1 DELETIONS

PUBLICADO: Calcif Tissue Int. 2015 OCT 19.

FATOR DE IMPACTO: 3.272

Osteogenesis imperfecta (OI) type I is usually caused by COL1A1 stop or frameshift mutations, leading to COL1A1 haploinsufficiency. Here we report on 12 individuals from 5 families who had OI type I due to an unusual cause-heterozygous deletions of the entire COL1A1 gene. The deletions were initially detected by semiconductor-based sequencing of genomic DNA and confirmed by quantitative PCR. Array comparative genomic hybridization in DNA of the index patient in each family showed that deletion size varied from 18.5 kb to 2.23 Mb between families, encompassing between 1 and 47 genes (COL1A1 included). The skeletal phenotype of the affected individuals was similar to that of patients with haploinsufficiency caused by COL1A1 stop or frameshift mutations. However, one individual with a deletion that included also DLX3 and DLX4 had tooth discoloration and bone fragility. Three individuals from 2 families had deletions that included also CACNA1G, and these individuals had learning disabilities. These features are not usually observed in COL1A1 haploinsufficiency, but are in accordance with previously described individuals in whom deletions included the same genes. In summary, we found deletions of COL1A1 in 5 out of 161 families (3 %) with OI type I that were evaluated. Deletions encompassing not only COL1A1 but also neighboring genes can lead to contiguous gene syndromes that may include dental involvement and learning disability.

APÊNDICE X



ARTIGO 12.

Palomo T, Glorieux FH, Schoenau E, Rauch F.

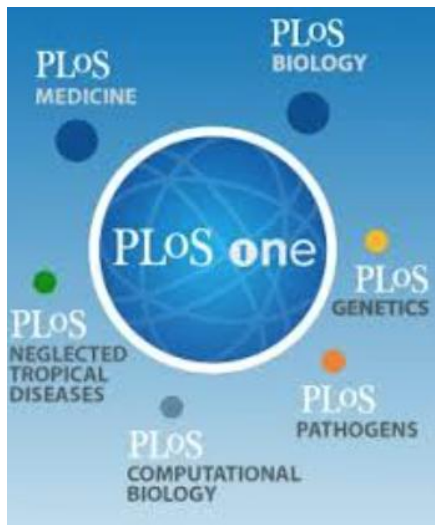
BODY COMPOSITION IN CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH OSTEOPENIA IMPERFECTA

PUBLICADO: THE JOURNAL OF PEDIATRICS. 2015 NOV 21.

FATOR DE IMPACTO: 3.790

OBJECTIVE: To use peripheral quantitative computed tomography to determine the cross-sectional area (CSA) of subcutaneous fat and muscle (fat CSA, muscle CSA) in transverse forearm scans in patients with osteopenia imperfecta (OI). **STUDY DESIGN:** Fat and muscle CSA were quantified in 266 individuals (142 female) aged 5-20 years who had a diagnosis of OI type I, III, or IV and who had mutations in COL1A1 or COL1A2. Results were compared with those of 255 healthy controls. **RESULTS:** In a subgroup of 39 patients with OI type I, % fat CSA correlated closely with total body percentage fat mass as determined by dual-energy x-ray absorptiometry ($R^2 = 0.69$; $P < .001$). In the entire study cohort, muscle CSA adjusted for age, sex, and forearm length was lower in OI type I and III than in controls ($P < .05$ each), but fat CSA was similar between OI types and controls. No relationship between the type of disease-causing mutation in the COL1A1 or COL1A2 genes and fat CSA or muscle CSA was found. **CONCLUSIONS:** Children and adolescents with OI have low muscle size but a normal amount of subcutaneous fat at the forearm.

APÊNDICE XI



ARTIGO 13.

Dogba MJ, Dahan-Oliel N, Snider L, Glorieux FH, Durigova M, Palomo T, Cordey M, Bédard MH, Bedos C, Rauch.

INVOLVING FAMILIES WITH OSTEOGENESIS IMPERFECTA IN HEALTH SERVICE RESEARCH: JOINT DEVELOPMENT OF OI/ECE QUESTIONNAIRE

PUBLICADO: PLoS One. 2016 Jan 22.

FATOR DE IMPACTO: 3.23

BACKGROUND: Despite the growing interest in understanding the psycho-social impact of rare genetic diseases, few studies examine this concept and even fewer seek to obtain feedback from families who have lived the experience. The aim of this project was to involve families of children living with osteogenesis imperfecta (OI) in the development of a tool to assess the impact of OI on the lives of patients and their families.

METHODS:

This project used an integrated knowledge translation approach in which knowledge users (clinicians and people living with OI and their families) were consulted throughout the four steps of development, that is: content mapping, item generation, tool appraisal and pre-testing of the questionnaires. The International Classification of Functioning and Health was used as a framework for content mapping. Based on a scoping review we selected two validated tools to use as a basis for developing the questionnaire. The final parent self-report version measured six domains: experience of diagnosis; use of health services; use of social and psychological support services; expectations about tertiary specialized centers; and socio-demographic information.

RESULTS:

A total of 27 out of 40 families receiving care at the Shriners Hospital for Children-Canada and invited to participate in the pre-test returned the completed questionnaires. In more than two-thirds of families (69%; n = 18) OI was suspected

either at or within the first 3 months after birth. Up to 46% of families consulted between 3 and 5 doctors (46%; n = 12) prior to final diagnosis. The use of services by families varied from 0 to 16 consultations, 0 to 9 exploratory examinations and 1 to 10 types of allied health services. In the 12 months prior to the study, fewer than a quarter of children had been admitted, for treatment, for hospital stays of longer than 8 hours or to an emergency department (24% and 9% respectively). Only 29% of parents received psychological support.

CONCLUSION:

This joint development process generated a tool, with good psychometric properties, that provides unique insight into the experiences of patients and families with OI, the psycho-social impact of the illness, and their service needs and expectations.