

Katarzyna Pawlak-Buś¹, Piotr Leszczyński^{1, 2}

¹Oddział Reumatologii i Osteoporozy Szpitala im. Józefa Strusia w Poznaniu

²Katedra Fizjoterapii, Reumatologii i Rehabilitacji Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Inhibitory Wnt/ β -kateniny w terapii obniżonej masy kostnej — nowe perspektywy w leczeniu osteoporozy?

Wnt/ β -catenin inhibitors in the treatment of bone loss — new perspectives in the management of osteoporosis?

STRESZCZENIE

Leczenie oraz profilaktyka niskiej masy kostnej i złamań w przebiegu osteoporozy wymagają nowych perspektyw, zwłaszcza w tworzeniu metod terapii anabolicznej. Wzrost masy kostnej, lepsza jakość kości, a tym samym zapobieganie złamaniom w przebiegu osteoporozy powinny się stać celem stosowania nie tylko leków antyresorpcyjnych. Poznanie dróg przewodzenia sygnałów wewnątrzkomórkowych, takich jak szlak Wnt/ β -katenina, i identyfikacja cząsteczek biorących w nich udział dają możliwość wpływania na procesy remodelingu kości w kierunku jej budowania. Nowe metody immunoterapii, czyli tworzenia przeciwciał monoklonalnych swoiście unieczyniających odpowiednie białka bądź ich receptory, mogą zrewolucjonizować sposób patrzenia na problem ubytku masy kostnej i powikłania z tym związane. Kluczową cząsteczką hamującą czynność osteoblastów w tkance kostnej jest sklerostyna będąca białkiem Wnt-zależnym, a przeciwciała skierowane przeciw sklerostynie są obecnie w fazie badań klinicznych. Idealną terapią w leczeniu niskiej masy kostnej byłby preparat łączący w sobie zarówno właściwości antyresorpcyjne, hamujące niszczenie kości, jak i kościotwórcze.

Słowa kluczowe: Wnt/ β -katenina, sklerostyna, osteoporoza, terapia anaboliczna

Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii 2011, tom 7, nr 1, 11–15

Adres do korespondencji: dr n. med. Katarzyna Pawlak-Buś
 Oddział Reumatologii i Osteoporozy, Wielospecjalistyczny Szpital im. J. Strusia
 ul. Szkolna 8/12, 61–833 Poznań
 tel./faks: 61 858 57 56
 e-mail: k.bus@makabu.net
 Copyright © 2011 Via Medica
 Nadesłano: 17.03.2011 Przyjęto do druku: 11.05.2011

ABSTRACT

The treatment and prevention of low bone mass and osteoporotic fractures require new perspectives, especially in developing anabolic treatments. The increase in bone mass, improved bone quality and the resulting prevention of osteoporotic fractures should be the goal not only for using antiresorptive drugs. Gaining an understanding of intracellular signaling pathways, such as Wnt/ β -catenin, and identifying the involved molecules make it possible to affect bone remodelling by shifting the balance towards bone formation. Novel immunotherapies, such as the formation of monoclonal antibodies specifically inactivating specific proteins or their receptors, may revolutionise the way bone loss and related complications are approached. The key molecule that suppresses osteoblasts in the bone tissue is sclerostin, a Wnt-dependent protein, and antibodies to sclerostin are currently being investigated in clinical trials. An ideal treatment for low bone mass would be a product combining antiresorptive with osteogenic properties.

Key words: Wnt/ β -catenin, sclerostin, osteoporosis, anabolic therapy

Endocrinology, Obesity and Metabolic Disorders 2011, vol. 7, No 1, 11–15

Wstęp

W ostatnich latach obserwuje się znaczny postęp w zakresie nowych technologii i metod leczenia, w tym immunoterapii, czyli tworzenia przeciwciał monoklonalnych przeciw swoistym cząsteczkom biologicznym.

Profilaktyka i leczenie osteoporozy są problemem na świecie bardzo szeroko rozpowszechnionym i kosztochłonnym. Zapobieganie złamaniom w przebiegu osteoporozy jest ważnym celem terapeutycznym, gdyż zdecydowanie obniża koszty społeczne i redukuje śmiertelność.

Dotychczas, aby uzyskać efekt zwiększenia masy kostnej i zmniejszenia ryzyka złamań niskoenergetycznych, stosowano głównie leki hamujące nadmierną resorpcję kości. Wiele leków z grupy bisfosfonianów, kalcytonina oraz selektywne modulatory receptora estrogenowego (SERM, *selective estrogen receptor modulator*), zapobiegają nadmiernej resorpcji kości, ale nie przeciwdziałają dalszej jej utracie. Nieliczne preparaty stosowane w leczeniu osteoporozy posiadają udowodnioną skuteczność w gojeniu już dokonanych złamań trzonów kręgowych. Obecnie jedynym preparatem o działaniu pobudzającym tworzenie nowej tkanki kostnej jest rekombinowany ludzki parathormon (PTH, 1–34 i 1–84), którego stosowanie jest bardzo ograniczone głównie z powodów ekonomicznych. Remodeling kości to stan równowagi pomiędzy procesami tworzenia i resorpcji kości i wydaje się, że idealnym preparatem wpływającym korzystnie na przebudowę kości byłaby cząsteczka łącząca w sobie obie te właściwości.

Zupełnie naturalną potrzebą wydaje się więc poszukiwanie nowych dróg farmakoterapii niskiej masy kostnej, zwłaszcza dających efekt anaboliczny z pobudzeniem tworzenia pełnowartościowej tkanki kostnej zwiększającej jej wytrzymałość i odporność na złamanie.

Odkrycie dróg przewodzenia sygnałów w procesach remodelingu kości stało się kluczem do uzyskania możliwości wpływania na biologię kości. Szereg molekuł zaangażowanych w przekazywanie sygnałów wewnątrz komórek tkanki kostnej może się stać potencjalnym celem terapeutycznym w zapobieganiu zmniejszenia gęstości kości. Jednym z ważnych białek odgrywających rolę w powyższych procesach jest sklerostyna odpowiedzialna za hamowanie tworzenia nowej tkanki kostnej. Właśnie to białko stało się obiektem intensywnych naukowych dociekań, a także celem terapeutycznym poddawanym już ocenie w badaniach klinicznych. Zablokowanie działania sklerostyny na szlaku sygnałów przewodzenia wewnątrzkomórkowego Wnt/ β -katenina jest równoznaczne z efektem anabolicznym i tym samym — z przewagą mechanizmów tworzenia tkanki kostnej. Stąd też dzięki immunoterapii, która znajduje swoje miejsce również w takiej dziedzinie jak leczenie osteoporozy i zapobieganie złamaniom, pojawiają się nowe możliwości terapeutyczne.

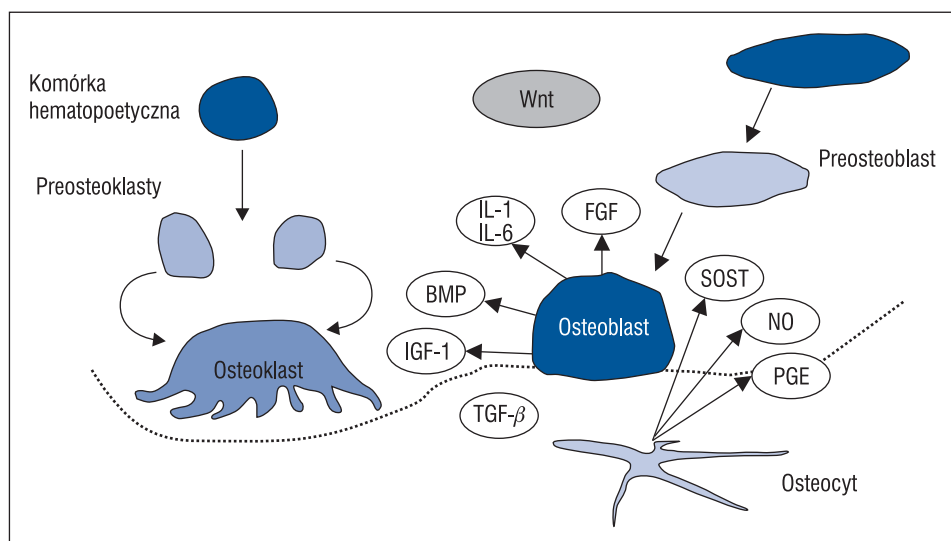
Komórki macierzy kostnej w sieci wzajemnych powiązań

Kość jest żywą tkanką, która podlega ciągłej przebudowie, czyli remodelingowi, posiadając nieograniczone możliwości naprawy w procesach tworzenia i resorpcji. Metabolizm tkanki kostnej w dużej mierze jest zależny od swoistego oddziaływania pomiędzy siecią komórek zatopionych w macierzy kostnej (*cross talking*).

Dotychczas głównymi komórkami skupiającymi uwagę badaczy były osteoblasty (tworzące kość) i osteoklasty (resorbujące kość). Nie doceniano roli najliczniejszej populacji komórek kostnych, czyli osteocytów (ryc. 1) [1]. Obecnie wiadomo, że to właśnie one są dyrygentami w tej orkiestrze i że to osteocyty odbierają bodźce mechaniczne i przekazują informacje, będąc swoistymi mechanosensorymi. W przypadku mikrourazów i mikrozłamań (*microcracks*) [2] dają one sygnał do uruchomienia procesów naprawczych i adaptacji kości do napięć mechanicznych. Śmierć osteocytów sama w sobie również stanowi rodzaj uszkodzenia i może powodować zwiększoną łamliwość kości [3]. Osteoblasty i osteoklasty wchodziły w skład tak zwanych jednostek przebudowy kości (BRU, *bone remodeling units*) uczestniczących w procesie remodelingu. Zadaniem osteoblastów jest tworzenie macierzy kostnej oraz jej mineralizacja, czyli procesy anaboliczne [4]. Aktywne dojrzałe osteoblasty produkują osteokalcynę, RANKL (*receptor activator of nuclear factor kappa B ligand* — ligand dla receptora aktywującego czynnik jądrowy kappa B, przeciwciało z nadrodziny TNF α), osteoprotegerynę oraz receptor dla PTH (PTHr1). Osadzając się głęboko w macierzy kostnej, przechodzą transformację w osteocyty i wówczas wykazują ekspresję takich istotnych molekuł jak sklerostyna [5]. Jedynymi komórkami zdolnymi do resorpcji kości są osteoklasty. Receptor RANK (*receptor activator of nuclear factor kappa B*) i jego ligand (RANKL) oraz osteoprotegeryna to najważniejsze cząsteczki konieczne do aktywacji, różnicowania i przeżycia osteoklastów. Wszystkie komórki macierzy kostnej tworzą sieć wzajemnych powiązań, których efekty modulują równowagę dynamiczną kości. Przewaga procesów resorpcji nad tworzeniem nowej tkanki kostnej w wyniku zaburzeń remodelingu może prowadzić do osteoporozy.

Sklerostyna

Jednym z kluczowych białek biorących udział w regulacji remodelingu kości jest sklerostyna. Jest to białko produkowane i uwalniane przez dojrzałe osteocyty w celu zahamowania procesów kościotwórczych. Osteocyty jako



Rycina 1. Sieć komórek macierzy kostnej; SOST — gen kodujący sklerostynę; NO — tlenek azotu; PGE — prostaglandyny; TGF β (*transforming growth factor β*) — transformujący czynnik wzrostu β ; IGF-1 (*insulin-like growth factor 1*) — insulinopodobny czynnik wzrostu 1; BMP (*bone morphogenic proteins*) — białka morfogenetyczne; IL-1 — interleukina 1; IL-6 — interleukina 6; FGF (*fibroblast growth factor*) — czynnik wzrostu dla fibroblastów; Wnt (*wingless-type like signalling*) — szlak przewodzenia sygnałów wewnątrzkomórkowych

detektory bodźców mechanicznych uszkodzających kość przez ekspresję sklerostyny minimalizują działanie osteoblastów, aby zachować równowagę w przebudowie kości. Uszkodzenie tkanki kostnej powoduje hamowanie ekspresji sklerostyny i przewagę procesów naprawczych i tworzenia nowej tkanki kostnej [6, 7].

Niedobór sklerostyny ewidentnie koreluje z wysoką masą kostną. Fakt ten dał początek poszukiwaniom przyczyn sklerosteozy — choroby po raz pierwszy opisaną przez Truswella w 1958 roku jako osteopetrozy z towarzyszeniem syndaktylii [8]. Terminu sklerosteozą użył jako pierwszy Hansen blisko 10 lat później [9]. W sklerosteozie dochodzi do uogólnionej hyperostozy, czyli nadmiernego kościotworzenia, co manifestuje się gigantyzmem, zniekształceniami twarzoczaszki i dysplazją kości, a także współistnieniem zaburzeń neurologicznych prowadzących do objawów związanych z podwyższonym ciśnieniem wewnątrzczaszkowym. Dotychczas w literaturze opisano około 100 przypadków sklerosteozy, głównie wśród Afrykanów [10].

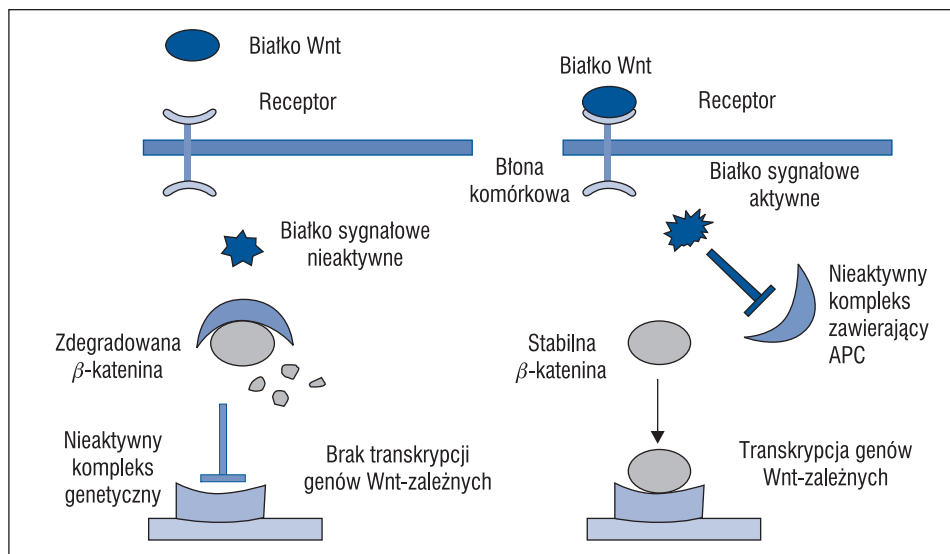
Badanie przyczyn zaburzeń metabolicznych prowadzących do opisanej hyperostozy doprowadziło ponad 30 lat później do zidentyfikowania podłoża genetycznego tej choroby [11, 12]. Okazało się, że sklerosteozą jest wywołana deficytem sklerostyny wynikającym z mutacji genu kodującego sklerostynę (SOST) zlokalizowanego na chromosomie 17 (region 17q12-q21; delecja 52kb) i kodującego to białko [11]. Efektem mutacji jest wysoka masa kostna, która nie zmniejsza wartości strukturalnej i jakości tkanki kostnej, a tym samym nie prowadzi do złamań.

Do ekspresji genu kodującego sklerostynę autosomalnie recesywnie dochodzi w osteocytach tylko dojrzalej kości. Stąd też przeważa pogląd, że układ SOST/sklerostyna jest regulatorem masy kostnej u dorosłych. Układ ten wpływa na aktywność osteoblastów, czyli komórek odpowiedzialnych za procesy anaboliczne i tym stanowi klucz do tworzenia nowej pełnowartościowej tkanki kostnej. Działanie potencjalnych przeciwciał blokujących sklerostynę może dać efekt anaboliczny w stosunku do kości i ta idea znajduje swoje odzwierciedlenie w badaniach nad nowymi preparatami w terapii osteoporozy. Do cząsteczek działających w kierunku pobudzenia kościotworzenia należą również parathormon (PTH), insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF, *insulin growth factor*), kostne białka morfogenetyczne (BMP, *bone morphogenic proteins*), endotelina-1 oraz agoniści prostaglandyn.

Sklerostyna, jak szereg innych białek, działa poprzez układ przewodzenia sygnałów wewnątrzkomórkowych Wnt (*wingless-type like signalling*) [13].

Przewodnictwo sygnałów wewnątrzkomórkowych szlakiem Wnt/ β -katenina

Szlak Wnt stanowi jedną z dróg wewnątrzkomórkowego przekazywania sygnałów. W perspektywie poszukiwań nowych rozwiązań terapeutycznych szlak Wnt/ β -katenina wzbudza obecnie duże zainteresowanie. Identyfikacja i poznanie mechanizmów działania szlaku Wnt nastąpiły podczas badań nad ekspresją



Rycina 2. Szlak Wnt/ β -katenina — gdy do komórki nie dociera białko Wnt, białko APC, wspomagając degradację β -kateniny, utrzymuje szlak sygnałowy nieaktywnym (lewa strona). Obecność białka Wnt i jego połączenie z receptorem stabilizują β -kateninę i, łącząc się z kompleksem genów, umożliwiają ich transkrypcję (prawa strona)

genów odpowiedzialnych za aktywację, różnicowanie i dojrzewanie komórek, głównie w badaniach biologii nowotworów i poszukiwaniu nowych terapii onkologicznych. Określenie Wnt powstało z połączenia nazw genów poznanych u muszki owocówki (*wingless*) i ludzi (*int-1*). Białka z rodziny Wnt stanowią ligand dla receptora Frizzled (Fzd) i uruchamiają przewodnictwo sygnałów powodujące stabilizację kluczowego białka odpowiedzialnego za ekspresję genów, czyli β -kateniny. Brak połączenia liganda ze swoistym receptorem powoduje, że szlak sygnałowy Wnt pozostaje nieaktywny i nie uruchamia transkrypcji genów Wnt-zależnych (ryc. 2).

Mechanizm ten jest uniwersalnym procesem przewodzenia sygnałów wewnątrz każdej komórki. Udowodniono, że powstanie mutacji mającej wpływ na kształt białek uczestniczących w tym procesie i ich ekspresję może powodować procesy nowotworzenia, ale również choroby o podłożu autoimmunologicznym, jak reumatoidalne zapalenie stawów (zmiany ekspresji białek rodziny Wnt i receptorowych Frizzled). Wpływ na poszczególne ogniwa kaskady szlaku Wnt/ β -katenina daje potencjalną możliwość modelowania przewodzenia sygnałów, a tym samym — sterowania transkrypcją odpowiednich genów. W związku z tym rośnie zainteresowanie inhibitorami szlaku Wnt/ β -katenina uczestniczącymi w patogenezie wielu schorzeń. Farmakologiczna inhibicja tej drogi może się stać skuteczną bronią nie tylko w walce z nowotworami.

W procesach metabolizmu kości aktywacja szlaku Wnt [14] powoduje stymulację procesów kościotwórczych poprzez pobudzenie różnicowania osteoblastów

i hamuje resorpcję kości poprzez blokowanie aktywatorów układu RANK/RANKL [15]. Sygnały Wnt stanowią więc punkt krytyczny dla metabolizmu kości [16]. Już blisko 20 lat temu udowodniono zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* udział sygnałów szlaku Wnt/ β -katenina w osteoblastogenezie i osteoklastogenezie. Proliferaacja, dojrzewanie, różnicowanie i migracja komórek to procesy kluczowe w rozwoju, a mechanizmy przewodnictwa szlaku Wnt biorą udział w ich regulacji. Ważnym elementem zależnym od prawidłowego funkcjonowania szlaków sygnałowych Wnt jest również zjawisko apoptozy [17]. Nadmierna aktywacja przekazywania tą drogą, na przykład z powodu mutacji w białkach szlaku Wnt, może zainicjować niekontrolowaną proliferację klonalną komórek i proces nowotworzenia. Ingerencja w mechanizmy przekazywania informacji wewnątrz komórki nie jest więc obojętna i musi być niezwykle precyzyjna i swoista, ponieważ może się wiązać również z niekorzystnymi konsekwencjami. Zarówno parathormon, jak i aktywacja szlaku Wnt działają komplementarnie w kierunku anabolicznym i wiadomo, że długość terapii PTH jest ograniczona właśnie ryzykiem wystąpienia kostniakomięsaka (osteosarcoma) [18, 19].

Sklerostyna stanowi jedno z białek działających antagonistycznie w stosunku do przekazników szlaku Wnt i tym samym hamuje procesy anaboliczne, czyli tworzenie tkanki kostnej zależne od osteoblastów. Sklerostyna wiąże się z częściami receptora dla lipoprotein o bardzo niskiej gęstości LRP5 i LRP6 (*low density lipoprotein co-receptor*) — koreceptorami, które modulują przekazywanie sygnałów pozakomórkowych, hamując szlak Wnt [20].

Inhibitory Wnt/ β -katenina krokiem w przyszłość?

Wśród już poznanych i stosowanych leków działających jako niespecyficzne inhibitory szlaku Wnt/ β -katenina są niesteroidowe leki przeciwzapalne (fosforylacja β -kateniny) oraz preparaty przeciwnowotworowe, na przykład stosowany w leczeniu białaczek imatinib (Glyvec). Obecnie, dzięki osiągnięciom biologii molekularnej i biotechnologii, rozwija się immunoterapia bazująca na tworzeniu specyficznych przeciwciał monoklonalnych skierowanych również przeciw konkretnym cząsteczkom działającym na szlaku kaskady Wnt. W onkologii są znane przeciwciała blokujące wiązanie białek Wnt z receptorem Frizzled i tym samym indukujące apoptozę komórek nowotworowych.

W leczeniu niskiej masy kostnej, profilaktyce i reparaacji złamań [1] ważnym celem wydaje się pobudzenie tworzenia tkanki kostnej przy jednoczesnym hamowaniu jej resorpcji. Przeciwciała monoklonalne swoiście blokujące działanie sklerostyny wydają się odpowiednią metodą stymulacji rzeczywistego wzrostu masy kostnej, a nie jedynie hamowaniem fizjologicznego lub nadmiernego ubytku tkanki kostnej. Pierwsze doniesienia o humanizowanych przeciwciałach klasy IgG2 podawanych podskórnie i poddawanych obecnie badaniom klinicznym są obiecujące [21, 22]. Odkrycie

nowych cząsteczek, takich jak sklerostyna, wpływających na regulację dojrzewania, aktywacji komórek kościotwórczych, odgrywających kluczową rolę w remodelingu kości, z pewnością stanowi obiecującą perspektywę opracowania nowych metod terapii osteoporozy.

Pomimo zaawansowania wiedzy i metod terapii w codziennej praktyce klinicznej mamy do czynienia głównie z lekami antyresorpcyjnymi. Ze względu na ograniczenia związane ze stopniem wchłaniania bisfosfonianów stosuje się już coraz szerzej formy dożyłne, a także ostatnio zarejestrowany lek w formie podskórnej — denosumab, będący inhibitorem RANKL, stworzony na bazie immunoterapii. Poprawia się i ulepsza metody terapeutyczne, działając nadal w obszarze hamowania nadmiernej resorpcji kości. Ponadto wydaje się, że 50-procentowa redukcja złamań w wyniku działania leków antyresorpcyjnych nie do końca wyczerpuje możliwości, satysfakcjonuje i gwarantuje powodzenie leczenia. Nowa, zdrowa, pełnowartościowa tkanka kostna, powstała w wyniku przewagi mechanizmów anabolicznych, pozostaje ciągle jednak celem terapii przyszłości. Mechanizmy szlaku przewodnictwa wewnątrzkomórkowego Wnt/ β -katenina dają duże możliwości. Czy jesteśmy gotowi, aby praktycznie wykorzystać te perspektywy w modelowaniu metabolizmu kości, pokażą wyniki badań obecnie prowadzonych i dalsze pogłębianie wiedzy na temat tych procesów.

Piśmiennictwo

- Rochefort G.Y., Pallu S., Benhamou C.L.: Osteocyte: the unrecognized side of bone tissue. *Osteoporos Int.* 2010; 21 (9): 1457–1469.
- Chapurlat R.D., Delmas P.D.: Bone microdamage: a clinical perspective. *Osteoporos Int.* 2009; 20 (8): 1299–1308.
- Roux C.: Kość żyjąca tkanka. *Via Medica, Gdańsk* 2009.
- D'Amelio P., Cristofaro M.A., Grimaldi A.C. i wsp.: The Role of Circulating Bone Cell Precursors in Fracture Healing. *Calcif. Tissue Int.* 2010; 86 (6): 463–469.
- Dallas S.L., Bonewald L.F.: Dynamics of the transition from osteoblast to osteocyte. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2010; 1192 (1): 437–443.
- Khosala S., Westendor J.J., Oursler M.J.: Building bone to reverse osteoporosis and repair fractures. *J. Clin. Invest.* 2008; 118 (2): 421–428.
- Gaudio A., Pennisi P., Bratengeier C. i wsp.: Increased Sclerostin Serum Levels Associated with Bone Formation and Resorption Markers in Patients with Immobilization-Induced Bone Loss. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010; 95 (5): 2248–2253.
- Truswell A.S.: Osteopetrosis with syndactyly. A morphological variant of Albers-Schonberg disease. *J. Bone Joint Surg. (Br.)* 1958; 40: 208–218.
- Hansen H.G.: Sklerosteose. W: Opitz H., Schmidt F. i wsp. *Handbuch der Kinderheilkunde.* 1967; 6: 351.
- Hamersma H., Gardner J., Beighton P.: Natural history of sclerosteosis. *Clin. Genet.* 2003; 63 (3): 192–197.
- Balemans W., Ebeling M., Patel N. i wsp.: Increased bone density in sclerosteosis is due to the deficiency of a novel secreted protein (SOST). *Hum. Mol. Genet.* 2001; 10: 537–543.
- Balemans W., Patel N., Ebeling M. i wsp.: Identification of a 52 kb deletion downstream of the SOST gene in patients with van Buchem disease. *J. Med. Genet.* 2002; 39: 9197.
- Kramer L., Halleux C., Keller H. i wsp.: Osteocyte Wnt/beta-Catenin Signaling Is Required for Normal Bone Homeostasis. *Mol. Cell Biol.* 2010; 30 (12): 3071–3085.
- Yavropoulou M.P., Yovos J.G.: The role of the Wnt signaling pathway in osteoblast commitment and differentiation. *Hormones* 2007; 6 (4): 279–294.
- Jackson A., Vayssiere B., Garcia T. i wsp.: Gene array analysis of Wnt-regulated genes in C3H10T1/2 cells. *Bone* 2005; 36: 585–598.
- Ott S.M.: Sclerostin and Wnt Signaling — The Pathway to Bone Strength. *J. Clin. Endocrinol. & Metabol.* 2005; 90 (12): 6741–6743.
- Bodine P.V.N.: Wnt signaling control of bone cell apoptosis. *Cell Research* 2008; 18: 248–25.
- Bodine P.V.N., Seestaller-Wehr L., Kharode Y.P.: Bone anabolic effects of parathyroid hormone are blunted by deletion of the Wnt antagonist secreted frizzled-related protein-1. *J. Cell Physiol.* 2007; 210: 352–357.
- Berdiaki A., Datsis G.A., Nikitovic D. i wsp.: Parathyroid hormone (PTH) peptides through the regulation of hyaluronan metabolism affect osteosarcoma cell migration. *IUBMB Life* 2010; 62 (5): 377–386.
- Choi H.Y., Dieckmann M., Herz J.: Lrp4, a Novel Receptor for Dickkopf 1 and Sclerostin, Is Expressed by Osteoblasts and Regulates Bone Growth and Turnover In Vivo. *PLoS One* 2009; 4 (11).
- Warmington K., Ominsky M., Bolon B. i wsp.: Sclerostin monoclonal antibody treatment of osteoporotic rats completely reverses one year of ovariectomy-induced systemic bone loss. *J. Bone Miner. Res.* 2005; 20: S22.
- Ominsky M.S., Vlasseros F., Jollette J. i wsp.: Two doses of sclerostin antibody in cynomolgus monkeys increases bone formation, bone mineral density and bone strength. *J. Bone Miner. Res.* 2010; 25 (5): 948–959.