



Presente y futuro de los anticuerpos monoclonales en el tratamiento de la osteoporosis

Jordi Fiter Aresté

Unidad de Reumatología, Hospital Universitari Son Espases, Palma de Mallorca, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 12 de abril de 2011

Aceptado el 15 de abril de 2011

On-line el 12 de junio de 2011

Palabras clave:

Osteoporosis

Anticuerpos monoclonales

Denosumab

R E S U M E N

El mejor conocimiento de la fisiopatología ósea ha llevado a encontrar nuevas dianas terapéuticas en osteoporosis y se ha conseguido bloquear alguna de ellas con anticuerpos monoclonales.

El sistema RANK-RANKL-OPG se considera el elemento efector final de los factores reguladores de la resorción ósea. El denosumab es un anticuerpo monoclonal completamente humanizado (IgG2) con una alta afinidad por el RANKL. Al unirse al RANKL mimetiza la acción de la OPG, impide la interacción RANK-RANKL, bloquea la activación de los osteoclastos e inhibe la resorción ósea. Denosumab ha demostrado en varios ensayos fase III que es un rápido, potente y seguro agente antirresortivo. Administrado por vía subcutánea cada 6 meses, aumenta la densidad mineral ósea y se acompaña de una rápida reducción de los marcadores de resorción ósea. Según los resultados del estudio FREEDOM en mujeres posmenopáusicas con osteoporosis, el tratamiento con 60 mg/sc de denosumab cada 6 meses durante 3 años se acompaña de una reducción de riesgo relativo de fractura vertebral del 68% (incidencia del 2,3% en pacientes tratadas con denosumab y del 7,2% en las que recibieron placebo), de fracturas no vertebrales del 20% (incidencia de 6,5% con denosumab frente al 8% con placebo) y de fracturas de cadera del 40% (incidencia de 0,7% con denosumab frente a un 1,2% con placebo). Es un fármaco seguro, con una frecuencia de efectos adversos similares al placebo, aunque parece existir un aumento de efectos adversos cutáneos.

Se está investigando el bloqueo mediante anticuerpos monoclonales de antagonistas de la vía de señalización Wnt/ β -catenina, y en concreto la utilidad de los anticuerpos antiesclerostina y de los anticuerpos anti-Dkk. Este bloqueo de la vía Wnt/ β -catenina tendría una acción anabólica sobre el remodelado óseo.

© 2011 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Present and future of the treatment of osteoporosis with monoclonal antibodies

A B S T R A C T

An improved knowledge of bone physiopathology has led to new therapeutic targets in osteoporosis, blocking some of them with monoclonal antibodies.

The RANK-RANKL-OPG system is considered the final effector pathway of bone resorption regulating factors. Denosumab is a humanized monoclonal antibody (IgG2) with a high affinity for RANKL. Upon binding RANKL it simulates the action of OPG, impedes the interaction between RANK-RANKL, blocks osteoclast activation and inhibits bone resorption. Denosumab has shown, in several phase III trials, to be a rapid, potent and safe antiresorptive agent. When administered subcutaneously every 6 months, it increases bone mineral density and is accompanied by a fast reduction in bone remodeling markers. According to the FREEDOM trial, in postmenopausal women with osteoporosis, treatment with 60 mg/sc of denosumab every 6 months for 3 years is accompanied by a reduction in the relative risk of fracture of 68% (incidence 2,3% in patients treated with denosumab and 7,2% in the placebo group), 20% in the case of non vertebral fractures (incidence 6,5% with denosumab vs. 8% with placebo) and 40% in hip fractures (incidence 0,7% with denosumab vs. 1,2% with placebo). It is a safe drug, with a frequency of adverse events similar to placebo, although an increased risk for skin reactions.

Keywords:

Osteoporosis

Monoclonal antibodies

Denosumab

Research is being done into blocking the Wnt/ β -catenin pathway with monoclonal antibodies, specifically antisclerostin antibodies and anti-Dkk antibodies. This block of the Wnt/ β -catenin pathway would have an anabolic action on bone remodeling.

© 2011 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Obtener mejores tratamientos para la osteoporosis es uno de los actuales retos de la medicina. Los recientes descubrimientos en la fisiopatología ósea han llevado a encontrar nuevas dianas terapéuticas¹ y en los últimos años se ha realizado un amplio esfuerzo para lograr bloquear alguna de estas dianas con anticuerpos monoclonales. Los frutos de este trabajo han llegado a buen fin y ya es posible bloquear el sistema RANK-RANKL-OPG con denosumab (AMG 162), un anticuerpo monoclonal con una potente acción antirresortiva².

Para un futuro no muy lejano se está investigando el bloqueo mediante anticuerpos de alguno de los antagonistas de la vía de señalización Wnt/ β -catenina, y en concreto la utilidad de los anticuerpos antisclerostina (AMG 785) y de los anticuerpos anti-Dkk1^{3,4}. Este bloqueo de la vía Wnt/ β -catenina tendría una acción anabólica sobre el remodelado óseo.

Sistema RANK-RANKL-OPG

El sistema del RANK-RANKL-OPG tiene un papel crucial en la regulación de la resorción ósea y del remodelado óseo⁵⁻⁷. Desde hace varios años se ha intentado obtener agentes terapéuticos capaces de actuar sobre la vía del RANK-RANKL-OPG.

El RANKL es una proteína transmembrana que se encuentra en la superficie de las células de la línea osteoblástica, así como en una forma soluble liberada por proteólisis. También se expresa en otras células, como linfocitos, células mamarias, células dendríticas, osteoclastos, sinoviocitos y en células cancerosas de la mama y de la próstata. En presencia del factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), el RANKL es un mediador fundamental en la formación, función y supervivencia de los osteoclastos⁸.

El RANKL se une a su receptor RANK en los osteoclastos y provoca su maduración hacia osteoclastos activados. El RANK es un miembro de la familia de receptores del TNF- α y se expresa en los precursores de osteoclastos y en osteoclastos. La osteoprotegerina (OPG) es un inhibidor endógeno natural del RANKL y actúa como un receptor señuelo. La OPG se une al RANKL y neutraliza sus efectos, inhibiendo la resorción ósea⁹. La OPG actúa como un inhibidor de la función y diferenciación de los osteoclastos.

El presente: bloqueo del RANKL

Desde 1997 se han evaluado diferentes compuestos dirigidos a bloquear al RANKL. Inicialmente, se utilizaron proteínas de fusión en estudios preclínicos y clínicos. En las proteínas Fc-OPG y OPG-Fc, la OPG se fusionó con la porción Fc de la IgG₁; la molécula RANK-Fc se formó a partir de la fusión del dominio extracelular del RANK con la porción Fc de la IgG₁. Más tarde se investigó un anticuerpo monoclonal totalmente humano dirigido al RANKL, el AMG 162, obtenido a partir de ratones transgénicos¹⁰. Estos ratones se generan mediante la sustitución de genes Ig murinos por Ig humanos. Teóricamente, los anticuerpos obtenidos tienen una menor propensión a desarrollar respuestas anti-anticuerpo. En los estudios preclínicos realizados con ratones, y debido a su gran especificidad para el RANKL humano, denosumab no suprime la resorción ósea. En ratones *knockout* que expresan RANKL quimérico, denosumab reduce la resorción ósea y aumenta la masa ósea¹¹.

Sólo se continuó con el desarrollo clínico del AMG 162 (denosumab) por sus mejores características. Aunque todas las moléculas eran eficaces, denosumab presentaba mejores propiedades, con

una mayor actividad y duración del efecto antirresortivo. Además, tenía ventajas de seguridad; en los estudios no se detectaron anticuerpos neutralizantes. Por otro lado, denosumab no se une al TNF- α , al TNF- β , al ligando CD40 ni al ligando relacionado con el inductor de apoptosis del TNF (TRAIL)¹⁰.

Denosumab: características farmacocinéticas

Denosumab es el primer agente biológico aprobado para el tratamiento de la osteoporosis. Se une con gran afinidad y especificidad al RANKL humano, mimetiza la acción de la OPG y reduce la resorción ósea⁷. La unión de denosumab al RANKL se ha investigado *in vitro* mediante citometría de flujo y ELISA. Denosumab se une tanto a la forma soluble como a la forma transmembrana. Esta unión es inhibida por un exceso de RANKL, pero no de TNF- α , TNF- β , TRAIL o del ligando CD40.

Denosumab tiene una farmacocinética no lineal, similar a otros anticuerpos monoclonales humanos. Tras su administración subcutánea (sc) se absorbe por vía linfática para llegar al torrente sanguíneo. Presenta una primera fase de absorción, con una C_{máx} entre los días 5-21 según la dosis utilizada, una segunda fase con una semivida media de 32 días para las dosis altas y una fase de descenso rápido cuando la concentración está por debajo de 1.000 ng/ml. El aclaramiento se produce a través el sistema retículo endotelial y no tiene excreción renal.

La administración sc de denosumab produce una reducción rápida, entre 12 y 72 h, y dependiente de la dosis de la función osteoclástica, que se mantiene durante 6 meses como pone de manifiesto la supresión de los marcadores de resorción. En un estudio fase I en mujeres posmenopáusicas¹², se estudió el efecto de una dosis única de denosumab o placebo sobre los marcadores de remodelado óseo (MRO). Se observó una reducción dependiente de la dosis del telopéptido N-terminal (NTX), un marcador de resorción ósea. Esta reducción fue rápida; a los 3 meses alcanzaba el 84% respecto al valor inicial, se mantuvo cerca de 6 meses y fue reversible tras la retirada del fármaco. La reducción en los marcadores de formación fue más tardía y menos pronunciada.

Denosumab y densidad mineral ósea

En un estudio de fase II, doble ciego y controlado con placebo, un total de 412 mujeres posmenopáusicas con una densidad mineral ósea (DMO) baja fueron aleatorizadas a recibir varias dosis de denosumab cada 3 o 6 meses, alendronato semanal o placebo. La variable principal de desenlace fue el cambio en la DMO lumbar a los 12 meses. En el grupo tratado con denosumab se observó un incremento significativo de la DMO lumbar, entre un 3,0 y un 6,7% según dosis y pauta de dosificación. El aumento en el fémur total fue del 1,9 al 3,6% y en el radio distal del 0,4 al 1,3%. El tratamiento con denosumab produjo una reducción rápida, dependiente de la dosis, de los MRO, que se mantuvo durante los 12 meses¹³.

Resultados de estudios de extensión confirman estos mismos resultados, tanto para el aumento de la DMO como en la reducción de los MRO. La prolongación del estudio a 4 años y 6 años muestra un aumento progresivo de la DMO. A los 4 años el tratamiento con denosumab se asoció con un aumento entre el 9,4 al 11% en la columna lumbar y del 4 al 6,1% en el fémur total. El tratamiento durante 6 años con denosumab 60 mg/sc cada 6 meses se acompañó de un aumento de la DMO del 13,3% en la columna lumbar¹⁴.

El estudio DEFEND es un estudio internacional controlado con placebo de 2 años de duración realizado para conocer el efecto de denosumab sobre la DMO en mujeres con osteopenia. Participaron 332 mujeres posmenopáusicas con edades entre 65 y 90 años, y valores del T-score en columna lumbar entre -1 y -2,5. El objetivo del estudio fue evaluar el cambio en la DMO lumbar después de 2 años de tratamiento. Comparado con placebo, el tratamiento con denosumab 60 mg sc cada 6 meses aumentó de forma significativa la DMO en la columna lumbar (6,5% vs -0,6%) y redujo los MRO¹⁵. En un subestudio que analizaba los cambios en la DMO mediante pQTC del radio, el tratamiento con denosumab se acompañó de un aumento de la DMO y de la mejoría en parámetros de resistencia ósea¹⁶.

Eficacia antifractura del denosumab

El estudio FREEDOM es un ensayo clínico internacional en fase III, aleatorizado y controlado con placebo, de 3 años de duración, realizado para evaluar la eficacia de denosumab en la reducción de fracturas¹⁷. Se incluyeron a 7.868 mujeres posmenopáusicas con edades comprendidas entre los 60 y los 90 años. Todas las mujeres tenían una DMO en la columna lumbar y/o fémur total, con un T-score entre -2,5 y -4. Se excluyó a las pacientes con fractura vertebral grave, dos o más fracturas de grado moderado o concentraciones de 25(OH)D₃ por debajo de 12 ng/ml. Las pacientes recibieron denosumab 60 mg sc cada 6 meses o placebo. Aproximadamente un 24% tenía una fractura vertebral prevalente. El riesgo medio de fractura principal a 10 años según FRAX fue del 18,3% para el denosumab y del 18,4% para el placebo. Todas las pacientes recibieron 1 g de calcio y dosis variables de vitamina D, según la concentración de 25(OH)D₃. El objetivo principal era la reducción de nuevas fracturas morfológicas vertebrales a los 3 años. Comparado con placebo, denosumab redujo la incidencia a los 3 años de nuevas fracturas vertebrales del 7,2 al 2,3% (reducción del riesgo relativo del 68%). Para la fractura de cadera la reducción a 3 años fue del 1,2 al 0,7%, lo que representa una reducción del riesgo relativo del 40%. La reducción del riesgo relativo de fractura no vertebral fue del 20%, con una reducción de la incidencia a 3 años del 8,0% al 6,5%¹⁷. La reducción del riesgo de fractura se acompañó de un aumento de la DMO a los 36 meses del 9,2% en columna lumbar y del 6% en fémur total, y de una reducción de los MRO.

Estudios comparativos de denosumab con alendronato

Se han realizado varios estudios de no inferioridad para comparar el efecto de denosumab frente a alendronato sobre la DMO. No hay estudios comparativos sobre la reducción de fracturas.

El estudio DECIDE es un estudio en fase III, aleatorizado y doble ciego, para determinar si existen diferencias en la DMO de fémur total en mujeres posmenopáusicas con baja DMO que reciben denosumab respecto de las que reciben alendronato semanal. Se incluyó a 1.189 mujeres, con una edad media de 64 años y un T-score $\leq 2,0$ en la columna lumbar o en el fémur total¹⁸. Las pacientes se aleatorizaron para recibir denosumab 60 mg sc cada 6 meses más placebo oral o alendronato 70 mg semanal más inyecciones sc de placebo cada 6 meses. La variable principal fue el cambio en la DMO en fémur total a los 12 meses. Otras variables analizadas fueron los cambios en la DMO de columna, el cuello femoral, el trocánter y el tercio distal del radio y los cambios en los MRO. A los 12 meses, el tratamiento con denosumab comparado con alendronato dio lugar a aumentos significativamente mayores de la DMO en el fémur total (3,5% vs 2,6%), la columna lumbar, el trocánter, el cuello femoral y el tercio distal del radio.

El estudio STAND es un estudio fase III internacional, aleatorizado, doble ciego, de grupos paralelos y de 1 año de seguimiento, con el objetivo de comparar la eficacia y seguridad de denosumab

en pacientes tratados previamente con alendronato¹⁹. Se incluyó a 504 mujeres posmenopáusicas previamente tratadas con alendronato y se evaluaron los efectos del cambio a denosumab sobre la DMO y los MRO respecto a seguir el tratamiento con alendronato. La variable principal fue el cambio de la DMO en el fémur total a los 12 meses. Un objetivo secundario fue la seguridad de denosumab respecto al alendronato. Las pacientes tenían una masa ósea baja, con un T-score $\leq -2,0$ y $\geq -4,0$ en la columna o el fémur total. Las pacientes que pasaron a ser tratadas con denosumab tuvieron un mayor incremento de la DMO en la columna, el fémur total y el radio distal. La DMO en el fémur total aumentó en un 1,90% en las pacientes tratadas con denosumab frente al 1,05% en las que continuaron con alendronato. El perfil de seguridad entre ambos grupos de tratamiento fue similar.

Seguridad del denosumab

Los resultados publicados de los estudios en fase I y fase II muestran una frecuencia similar de efectos adversos en los grupos placebo, denosumab y alendronato, que fue el fármaco comparador activo¹²⁻¹⁴. En los estudios en fase III se aprecia un buen perfil de seguridad, sin diferencias significativas entre placebo y denosumab. Así en el estudio FREEDOM se observa una incidencia similar de infecciones oportunistas, tumores malignos y fallecimientos entre los grupos denosumab y placebo¹⁷. No se detectó en ningún caso el desarrollo de anticuerpos frente a denosumab. En cuanto a la aparición de infecciones, no se observa un aumento en el número total de infecciones, en infecciones de las vías respiratorias o en infecciones graves en los pacientes tratados con denosumab. El tratamiento con denosumab parece aumentar la incidencia de infecciones de la vía urinaria baja.

Existe una mayor frecuencia de dolor de garganta y lesiones cutáneas, como eczema, erisipela y celulitis en los pacientes que recibieron denosumab. Estos efectos adversos podrían estar relacionados con un efecto directo de denosumab sobre el sistema inmunitario.

El riesgo de hipocalcemia con denosumab es mayor en los pacientes que están en diálisis o que tienen un aclaramiento < 30 ml/min. El tratamiento con denosumab está contraindicado en los pacientes con hipocalcemia. Desde el punto de vista práctico, debe prestarse especial atención en asegurar una ingesta adecuada de calcio y vitamina D.

Los efectos adversos más frecuentes durante el tratamiento con denosumab (1-10%) recogidos en la ficha técnica fueron infecciones del tracto urinario, infecciones de las vías respiratorias, dolor ciático, cataratas, estreñimiento, erupción cutánea y dolor en brazos o piernas. Los casos de cataratas han aparecido sobre todo entre varones que reciben denosumab por cáncer de próstata.

Se ha descrito algún caso aislado de osteonecrosis de mandíbula²⁰. De manera similar a lo que ocurre con los bisfosfonatos, la utilización de denosumab a dosis elevadas en enfermos oncológicos se acompaña de la aparición de casos de osteonecrosis de mandíbula, con una incidencia cercana al 2%. La mayoría de los casos aparecen al utilizar dosis mensuales de 120 mg²¹. No se han comunicado casos de fractura atípica del fémur ni de retraso en la consolidación de fracturas en pacientes con osteoporosis tratados con denosumab.

Denosumab y artritis reumatoide

Dado el papel que tienen los osteoclastos en la erosión articular, el tratamiento con denosumab podría ser útil para prevenir el daño estructural en la artritis reumatoide. La destrucción ósea parece estar relacionada con los factores que inducen la activación de los osteoclastos, como IL-6, IL-11, IL-17 y, especialmente IL-1,

TNF y RANKL. En modelos animales de artritis el bloqueo de RANKL detiene tanto la progresión del daño radiológico, como la pérdida ósea yuxtaarticular. En estos modelos la administración de OPG no inhibe la inflamación sinovial ni la neoformación ósea asociada a la inflamación.

Cohen et al²² han publicado un estudio en fase II realizado para evaluar el efecto de denosumab sobre el daño estructural en pacientes con artritis reumatoide. Se incluye a 227 pacientes tratados con metotrexato y se establecen tres grupos de tratamiento: denosumab 60 sc cada 6 meses, denosumab 180 mg sc cada 6 meses y un grupo control. Para estudiar el daño estructural se realiza una RM de la mano al inicio y después de 6 meses de tratamiento; los cambios en las erosiones por RM se miden mediante la puntuación RAM-RIS propuesta por OMERACT. En pacientes con artritis reumatoide y tratados con metotrexato, denosumab parece detener la progresión del daño estructural y se observan menos erosiones articulares por RM. El tratamiento con denosumab reduce los MRO, detiene la pérdida ósea yuxtaarticular y aumenta la DMO de la mano medida por DXA²³.

Denosumab y cáncer

Una posible indicación del tratamiento con denosumab es la osteopenia asociada a tratamientos hormonales en pacientes con cáncer. El estudio HALT analiza el efecto de denosumab sobre la DMO en 1.468 varones en tratamiento antiandrogénico por cáncer de próstata y alto riesgo de fractura²⁴. Se trata de un estudio doble ciego y controlado con placebo. El objetivo principal fue el cambio en la DMO lumbar a los 3 años. Se observa un aumento significativo de DMO lumbar y femoral en el grupo tratado con denosumab. A los 36 meses, los pacientes del grupo de denosumab tenían una incidencia de nuevas fracturas vertebrales del 1,5 frente al 3,9% en el grupo placebo, lo que supone una reducción del riesgo relativo de fractura vertebral del 62% a 3 años²⁴.

Recientemente se han publicado los resultados de dos estudios comparando el efecto de denosumab frente a zoledronato en la progresión de la metástasis en pacientes con cáncer de próstata resistente a la castración²⁵ y en pacientes con cáncer de mama avanzado²¹. La variable principal fue la aparición de algún evento óseo relacionado, ya fuera una fractura patológica, la compresión medular o la necesidad de radioterapia o cirugía por metástasis ósea. En los dos estudios el tratamiento con denosumab retrasó la aparición de los eventos óseos relacionados con la metástasis.

Hacia el futuro. Activación de la vía Wnt/ β -catenina

Anticuerpos antiesclerostina

La esclerostina es una proteína codificada por el gen SOST capaz de inhibir la osteoblastogénesis²⁶. Mutaciones de la proteína LRP5 impiden la interacción normal entre la esclerostina y el correceptor de Wnt, y provocan un síndrome de masa ósea alta. La falta de expresión de esclerostina por mutaciones del gen SOST es la causa de la enfermedad de Van Buchem y de la esclerosteosis; estas displasias esqueléticas se caracterizan por un importante aumento de la DMO. Estos hallazgos en diferentes trastornos genéticos ha llevado a estudiar el bloqueo o la inactivación de la esclerostina como una posible diana terapéutica anabólica, a través de la vía Wnt, en la osteoporosis³.

El tratamiento con anticuerpos monoclonales humanizados frente a la esclerostina (AMG 785) estimula la vía de señalización Wnt/ β -catenina y aumenta la masa ósea en estudios en ratones y en primates. En ratas ovariectomizadas, la administración de anticuerpos antiesclerostina revierte la pérdida ósea, aumenta la masa ósea trabecular y mejora las propiedades estructurales del hueso³.

Recientemente, se ha publicado un estudio clínico fase I en humanos controlado con placebo. La administración de una dosis única de anticuerpos antiesclerostina (AMG 785) en sujetos sanos, comparado con el placebo, se acompaña de un aumento de la DMO, un aumento de los marcadores de formación ósea y la reducción en los marcadores de resorción ósea²⁷. Los anticuerpos antiesclerostina tienen un efecto anabólico cuando se administran a mujeres posmenopáusicas. Parece ser un tratamiento seguro y bien tolerado. En el estudio publicado se recoge un caso de hepatitis tóxica y la aparición en varios casos de anticuerpos neutralizantes. Se están realizando estudios de fase II para evaluar el efecto del anticuerpo antiesclerostina (AMG 785) sobre la DMO en mujeres posmenopáusicas con baja densidad ósea y también sobre la consolidación de fracturas.

Anticuerpos anti-Dkk1

Los antagonistas de Wnt, como las proteínas Dickkopf (Dkk), tienen un papel determinante en la regulación del remodelado óseo y en la pérdida de hueso asociada a la inflamación. Anticuerpos capaces de bloquear a Dkk1 pueden tener un papel protector frente a la pérdida ósea y las erosiones⁴.

Se ha estudiado en un modelo animal de artritis si la estimulación de la vía Wnt con un anticuerpo anti-Dkk1 altera la pérdida ósea mediada por la inflamación articular. En ratones transgénicos para el TNF humano —un modelo animal de artritis erosiva— el tratamiento con anticuerpos anti-Dkk1 inhibe la pérdida ósea inducida por el TNF, sin alterar la inflamación sinovial²⁸. La modulación de la vía Wnt/ β -catenina mediante el bloqueo de Dkk1 puede ser un tratamiento útil frente a la enfermedad ósea asociada al mieloma y actualmente se está realizando un estudio fase I en pacientes con mieloma múltiple.

Bibliografía

- Roux S. New treatment targets in osteoporosis. *Joint Bone Spine*. 2010;77:222–8.
- Lewiecki EM. Treatment of osteoporosis with denosumab. *Maturitas*. 2010;66:182–6.
- Paszy C, Turner CH, Robinson MK. Sclerostin: A gem from the genome leads to bone-building antibodies. *J Bone Miner Res*. 2010;25:1897–904.
- Canalis E. Update in new anabolic therapies for osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:1496–504.
- Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor κ B ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. *Endocr Rev*. 2008;29:155–92.
- Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*. 2003;423:337–42.
- Hofbauer LC, Schoppet M. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. *JAMA*. 2004;292:490–5.
- Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*. 1998;93:165–76.
- Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*. 1997;89:309–19.
- Schwarz EM, Ritchlin CT. Review. Clinical development of anti-RANKL therapy. *Arthritis Res Ther*. 2007;9 Suppl 1:S7.
- Kostenuik PJ, Nguyen HQ, McCabe J, Warmington KS, Kurahara C, Sun N, et al. Denosumab, a fully human monoclonal antibody to RANKL, inhibits bone resorption and increases BMD in knock-in mice that express chimeric (murine/human) RANKL. *J Bone Miner Res*. 2009;24:182–95.
- Bekker PJ, Holloway DL, Rasmussen AS, Murphy R, Martin SW, Leese PT, et al. A single-dose placebo-controlled study of AMG 162, a fully human monoclonal antibody to RANKL, in postmenopausal women. *J Bone Miner Res*. 2004;19:1059–66.
- McClung MR, Lewiecki EM, Cohen SB, Bolognese MA, Woodson GC, Moffett AH, et al. The AMG 162 Bone Loss Study Group. Denosumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med*. 2006;354:821–31.
- Miller PD, Wagman RB, Peacock M, Lewiecki EM, Bolognese MA, Weinstein RL, et al. Effect of denosumab on bone mineral density and biochemical markers of bone turnover: Six-year results of a phase 2 clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:394–402.

15. Bone HG, Bolognese MA, Yuen CK, Kendler DL, Wang H, Liu Y, et al. Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:2149–57.
16. Genant HK, Engelke K, Hanley DA, Brown JP, Omizo M, Bone HG, et al. Denosumab improves density and strength parameters as measured by QCT of the radius in postmenopausal women with low bone mineral density. *Bone.* 2010;47:131–9.
17. Cummings SR, San Martin J, McClung MR, Siris ES, Eastell R, Reid IR, et al., the FREEDOM trial. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med.* 2009;361:756–65.
18. Brown JP, Prince RL, Deal C, Recker RR, Kiel DP, De Gregorio LH, et al. Comparison of the effect of denosumab and alendronate on BMD and biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women with low bone mass: a randomized, blinded, phase 3 trial. *J Bone Miner Res.* 2009;24:153–61.
19. Kendler DL, Roux C, Benhamou CL, Brown JP, Lillstol M, Siddhanti S, et al. Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women transitioning from alendronate therapy. *J Bone Miner Res.* 2010;25:72–81.
20. Taylor KH, Middlefell LS, Mizen KD. Osteonecrosis of the jaws induced by anti-RANK ligand therapy. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2010;48:221–3.
21. Stopeck AT, Lipton A, Body JJ, Steger GG, Tonkin K, De Boer RH, et al. Denosumab compared with zoledronic acid for the treatment of bone metastases in patients with advanced breast cancer: A randomized double-blind study. *J Clin Oncol.* 2010;28:5132–9.
22. Cohen SB, Dore RK, Lane NE, Ory PA, Peterfy CG, Sharp JT, et al. Denosumab treatment effects on structural damage, bone mineral density, and bone turnover in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008;58:1299–309.
23. Deodhar A, Dore RK, Mandel D, Schechtman J, Shergy W, Trapp R, et al. Denosumab-mediated increase in hand bone mineral density associated with decreased progression of bone erosion in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Care Res.* 2010;62:569–74.
24. Smith MR, Egerdie B, Hernández Toriz N, Feldman R, Tammela TLJ, Saad F, et al., the Denosumab HALT Prostate Cancer Study Group. Denosumab in men receiving androgen-deprivation therapy for prostate cancer. *N Engl J Med.* 2009;361:745–55.
25. Fizazi K, Carducci M, Smith M, Damião R, Brown J, Karsh L, et al. Denosumab versus zoledronic acid for treatment of bone metastases in men with castration-resistant prostate cancer: a randomised, double-blind study. *Lancet.* 2011;377:813–22.
26. Poole KE, Van Bezooijen RL, Loveridge N, Hamersma H, Papapoulos SE, Lowik CW, et al. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *FASEB J.* 2005;19:1842–4.
27. Padhi D, Jang G, Stouch B, Fang L, Posvar E. Single-dose, placebo-controlled, randomized study of AMG 785, a sclerostin monoclonal antibody. *J Bone Miner Res.* 2011;26:19–26.
28. Ruiz Heiland G, Zwerina K, Baum W, Kireva T, Distler JH, Grisanti M, et al. Neutralisation of Dkk-1 protects from systemic bone loss during inflammation and reduces sclerostin expression. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:2152–9.