

ОСТЕОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПАРАТГОРМОН-РОДСТВЕННОГО БЕЛКА

Бизенкова М.Н.², Курзанов А.Н.¹

¹ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Краснодар, e-mail: kurzanov@mail.ru;

²ООО «Оргметодотдел АЕ», e-mail: edition@rae.ru

В обзоре изложены основные факты об остеотропных эффектах паратгормон-родственного протеина (ПТГрП) как в ракурсе его физиологических функций, так и с акцентом на его роль в развитии различных патологических состояний. Часть информации об остеотропных эффектах ПТГрП, представленная в обзоре, была получена в исследованиях на генно-модифицированных линиях лабораторных животных с целенаправленно измененной экспрессией этого белка в костной ткани, а также в наблюдениях на людях с мутациями в гене ПТГрП или в гене его рецептора. Проведенный анализ научной литературы позволил констатировать, что в настоящее время ПТГрП рассматривается как один из ключевых регуляторов морфофункциональных, патобиохимических и патологических процессов в костной ткани человека и других биологических видов. Приведены существующие в литературе сведения о роли ПТГрП в пренатальном развитии скелета, регуляции метаболизма кальция и костного ремоделирования в постнатальном периоде, а также его участии в развитии различных видов рака, их костного метастазирования и участии в обеспечении взаимодействия опухолевых клеток и костной микросреды посредством эндокринных, паракринных, аутокринных и интракринных механизмов. Исследования в области фундаментальной биологии, патофизиологии и патобиохимии ПТГрП дали огромный и чрезвычайно многоплановый материал о роли этого протеина в развитии различных болезненных состояний и обозначили перспективы использования его биологически активных доменов в терапии патологических изменений костных структур, и в том числе остеопороза. В обзоре представлена информация о практических разработках в области медицины, базирующихся на использовании остеотропных эффектов ПТГрП в терапевтических целях. Таким образом, история этого мультипотентного белка является примером трансляционных исследований, которые впервые были инициированы клинически значимой проблемой гиперкальциемии, наблюдавшейся у онкологических больных. Нерешенность проблемы стимулировала последующие фундаментальные биомедицинские и доклинические научные исследования и разработки, результаты которых в настоящее время возвращаются в клинику в форме медицинских технологий и фармпрепаратов. Это в полной мере соответствует основному критерию трансляционных исследований - «от лаборатории к постели больного» («Bench to Bedside Translation»).

Ключевые слова: паратгормон-родственный белок, костное метастазирование, остеопороз, абалопаратид.

OSTEOTROPIC EFFECTS OF PARATHORMONE – RELATIVE PROTEIN

Bizenkova M.N.², Kurganov A.N.¹

¹Federal state budget educational institution of higher education “Kuban state medical university” of Russian Ministry, Krasnodar, e-mail: kurzanov@mail.ru;

²ООО «Оргметодотдел АЕ», e-mail: edition@rae.ru

The article presents basic facts on osteotropic effects of parathormone-relative protein (PTHrP) in aspect of its physiological function as well as its part in development of various pathological conditions. Part of information on osteotropic effects of PTHrP, presented in the review, has been received within research at genetically-modified lines of laboratory animals with targeted alteration in expression of this protein in bone tissue and also observation over patients with mutations in PTHrP gene or gene of its receptor. The undertaken analysis of scientific literature allowed us to state that nowadays PTHrP is studied as one of basic regulators in morpho-functional, pathobiochemical, and pathological processes in bone tissue of human and other biological kinds. The existing literature data on part of PTHrP in prenatal development of skeleton, regulation of calcium metabolism and bone remodeling in postnatal period, as well as its participation in establishing interaction between tumoral cells and bone microenvironment via paracrine, autocrine, and intracrine mechanisms is also provided. Research in the area of fundamental biology, pathophysiology, and pathobiochemistry of PTHrP has produced an enormous and extremely multidimensional material on part of this protein in development of different pathologic conditions and defined perspectives of using its biologically-active domains in therapy if pathologic change in bone structures, including osteoporosis. The review presents information on practical developments in the area of medicine that base upon usage of osteotropic PTHrP effect in therapeutic purpose. Thus, history of this multipotent protein is an example of translation research that was originally initiated by clinically-

significant problem of hypercalcemia, observed amongst oncological patients. Uncertainty of this issue has stimulated all further fundamental biomedical and pre-clinical scientific research and development, results of which are now returning to the clinic in shape of medical technologies and pharmaceutical preparations. This fact fully supports the basic criterion of translation research – from laboratory to bed of a patient («Bench to Bedside Translation»).

Keywords: parathormone-relative protein, bone metastasis, osteoporosis, abaloparatid.

В 1941 году Фуллер Олбрайт по материалам анализа большого клинического материала Массачусетского госпиталя выдвинул гипотезу о том, что у онкологических больных эктопически продуцируемый опухолевой тканью паратиреоидный гормон может быть фактором, который участвует в формировании паранеопластического синдрома злокачественной гиперкальциемии [3], поскольку этот гормон играет важную роль в регуляции гомеостаза кальция в организме. Гипотеза Олбрайта, что паратгормон был этиологическим фактором гиперкальциемии, ассоциированной с онкологическими заболеваниями, была логична с функциональной точки зрения, но не подтвердилась клинически [105]. Кульминацией многолетней интенсивной работы, направленной на понимание патофизиологии и биохимической идентификации причины синдрома гуморальной гиперкальциемии при злокачественных новообразованиях, стало открытие паратгормон-родственного протеина (ПТГрП). В 1987 году тремя независимыми исследовательскими группами из клеток рака почки [155], рака молочной железы [20] и рака легких [119] была выделена субстанция, которая обладала высокой N-концевой гомологией и сходной с паратиреоидным гормоном биологической активностью. Впоследствии было установлено, что ПТГрП продуцируется опухолевыми клетками многочисленных видов рака, и его роль в развитии злокачественной гиперкальциемии была выяснена. Активация общего рецептора паратгормона и паратгормон-родственного протеина (ПТГ/ПТГрП) в костной ткани вызывает активацию ее резорбции с высвобождением кальция [111].

В последующие годы было установлено, что ПТГрП кодируется геном, который входит в семейство паратиреоидного гормона (ПТГ), состоящего из группы структурно-родственных биологически активных факторов, участвующих в регуляции кальциевого и костного гомеостаза и процессов развития различных тканей и органов. Это эволюционное родство позволяет ПТГрП и ПТГ связываться с одним рецептором. В данном обзоре изложены основные факты об остеотропных эффектах ПТГрП как в ракурсе его физиологических функций, так и с акцентом на его роль в развитии различных патологических состояний. Этот белок оказывает многоплановое влияние на многие физиологические и патологические процессы и во многом определяет сложную систему их взаимодействия. Значительная часть информации об остеотропных эффектах ПТГрП, представленная в обзоре, была получена в экспериментальных исследованиях на

лабораторных животных с целенаправленной делецией в гене ПТГрП либо на трансгенных мышцах с гиперэкспрессией этого белка в костной ткани. Подтверждение результатов экспериментальных исследований во многих случаях было получено в наблюдениях на людях с мутациями в гене ПТГрП или в гене рецептора ПТГ/ПТГрП. Проведенный анализ большого массива научной литературы позволил констатировать, что в настоящее время ПТГрП рассматривается как один из ключевых регуляторов морфофункциональных, патобиохимических и патологических процессов в костной ткани человека и других биологических видов. В настоящее время исследования в области фундаментальной биологии, патофизиологии и патобиохимии ПТГрП дали огромный и чрезвычайно многоплановый материал о роли этого протеина в развитии различных болезненных состояний и обозначили перспективы использования его биологически активных доменов в терапии патологических изменений костных структур, и в том числе остеопороза. В обзоре представлена информация о практических разработках в области медицины, базирующихся на использовании остеотропных эффектов ПТГрП в терапевтических целях. Таким образом, история этого мультипотентного белка является примером трансляционных исследований, которые впервые были инициированы клинически значимой проблемой гиперкальциемии, наблюдавшейся у онкологических больных. Нерешенность проблемы стимулировала последующие фундаментальные биомедицинские и доклинические научные исследования и разработки, результаты которых в настоящее время возвращаются в клинику в форме медицинских технологий и фармпрепаратов. Это в полной мере соответствует основному критерию трансляционных исследований - «от лаборатории к постели больного» («Bench to Bedside Translation»).

Из всех членов семьи ПТГ ген ПТГрП демонстрирует самую сложную организацию и наиболее выраженную межвидовую изменчивость, что, возможно, отражает разнообразие функций ПТГрП в различных тканях [129; 131]. Ген ПТГрП генерирует несколько вариантов мРНК с помощью использования различных вариантов сплайсинга и различных промоторов. Транскрипты гена ПТГрП путём альтернативного сплайсинга образуют три различных вида мРНК, которые кодируют три первоначальные трансляционные изоформы белка, содержащие 139, 141 или 173 аминокислоты. Характер экспрессии мРНК ПТГрП различных изоформ может быть разным в различных типах клеток [139; 148]. Альтернативный сплайсинг и посттрансляционный протеолиз генерируют различные изоформы ПТГрП и фрагменты, которые могут вызывать различные клеточные ответы. Разнообразие ПТГрП фрагментов и различных механизмов действий (аутокринный, паракринный, эндокринный и интракринный) отражает сложность ПТГрП-индуцированных реакций. Роль различных

фрагментов ПТГрП в биологических реакциях клеток, которые они индуцируют, до сих пор полностью не выяснена.

Исходные продукты трансляции, образующие изоформы ПТГрП, различаются в основном за счет С-концевого домена. Каждая из изоформ ПТГрП содержит различные биологически значимые эпитопы. Посттрансляционная модификация исходных изоформ ПТГрП генерирует образование пептидов, которые функционируют в качестве паракринных эффекторов, имеют короткий период полураспада, а также многочисленные виды биологической активности [148; 129]. В результате процессинга ПТГрП образуется несколько зрелых форм биологически активных пептидов: N-концевой домен (1-34 или 1-36) содержит сигнальный пептид (SP), который участвует в обеспечении секреции белка, срединный фрагмент (midregion) (38-94 или 67-86) содержит сигнал ядерной локализации (NLS), и С-концевой домен (107-139 или 102-141) [154; 175], содержащий высококонсервативный эпитоп (107-111), получивший название «osteostatin» [48; 49] после того, как была описана его антирезорбтивная активность.

N-концевой пептид проявляет свойства, во многом сходные с N-концевым доменом паратгормона, обладая способностью активировать общий для ПТГ и ПТГрП рецептор (ПТГ/ПТГрП-рецептор) [154]. Срединная область белка (midregion) участвует в регуляции транспорта кальция и пролиферации клеток, а С-концевой домен (102-141) модулирует активность остеокластов, влияя на их пролиферацию [180], и оказывает угнетающее действие на резорбцию костной ткани *in vitro* и *in vivo* [69]. С-концевой домен (107-139) представляет собой отдельный циркулирующий пептид, который связан с модуляцией формирования костной ткани, а также с пролиферацией кератиноцитов [34]. N-концевой и С-концевой домены ПТГрП по-разному влияют на остеогенный потенциал мезенхимальных стволовых клеток человека [23].

Утверждается, что различные участки ПТГрП инициируют широкий спектр специфических остеотропных клеточных реакций [83]. ПТГрП (38-94), чей клеточный рецептор достоверно неизвестен, способен активировать внутриклеточные Ca^{++} -пути при низких концентрациях и участвует в транспорте кальция от матери к плоду через плаценту, которая является единственной нормальной тканью, где этот домен белка оказывает влияние [172]. Содержание ПТГрП в крови взрослого здорового человека очень низкое, и большая часть эффектов в этот период жизни обеспечивается не гуморальными, а иными механизмами. Содержание ПТГрП в крови значительно увеличивается в период беременности и развития плода, а также в период лактации, и в эти периоды жизни он действует как эндокринный фактор, регулирующий минеральный и костный гомеостаз независимо от ПТГ [79].

Сигнализация, опосредованная через ПТГ/ПТГрП-рецептор, играет важную роль в развитии скелета. Хотя ПТГ и ПТГрП действуют через общий рецептор, немало фактов свидетельствуют о различиях в остеотропных эффектах этих биологически активных молекул. Оба эти протеина могут стимулировать образование костей. Доказано, что ПТГрП участвует в естественном поддержании костной массы в постнатальном периоде. Например, у мышей, генетически дефицитных по ПТГрП, развивается остеопороз [6; 112], тогда как у мышей с дефицитом ПТГ наблюдается увеличение костной массы, которое может быть опосредовано местной компенсаторной индукцией ПТГрП [114]. Эти данные позволили предположить, что ПТГрП является природным скелетным анаболическим агентом, отсутствие которого физиологически не компенсируется эндогенным ПТГ [75; 154].

Первоначально полагали, что ПТГ и ПТГрП связываются и активируют общий рецептор одинаково. Однако в исследованиях на людях подтверждено, что введение ПТГ вызывает более сильное повышение концентрации в крови циркулирующего кальция и уровня 1, 25- (ОН) 2 витамина D, чем инфузия ПТГрП [70]. Кроме того, данные биохимических и биофизических исследований продемонстрировали, что ПТГ и ПТГрП связываются с ПТГ/ПТГрП-рецептором по-разному и генерируют отличающиеся последовательности внутриклеточных событий. Это объясняют различиями конформационного состояния рецептора при взаимодействии с ПТГ и ПТГрП [168]. Отличительные свойства связывания рецептора могут быть ответственны за различающиеся эффекты ПТГ и ПТГрП [125; 132]. ПТГ/ПТГрП-рецепторы продуцируются в остеобластах, остеоцитах и в стромальных клетках костного мозга, являющихся предшественниками остеобластов. Остеокласты не продуцируют ПТГ/ПТГрП-рецептор. Действие ПТГ и ПТГрП на остеокласты опосредовано остеобластами и остеоцитами, ответственными за секрецию факторов, которые активируют остеокласты. N-концевые терминалы ПТГ и ПТГрП взаимодействуют с J-доменом функциональной части их общего рецептора в остеобластах, стимулируя несколько сигнальных каскадов, и в том числе аденилатциклазный-протеинкиназный метаболический путь, фосфолипазный-С протеинкиназный-С и MAPK пути, что приводит к анаболическим и катаболическим процессам в костной ткани [35].

В костной ткани ПТГрП и ПТГ/ПТГрП-рецептор продуцируются в хондроцитах и в остеобластах. В этих клетках ПТГрП через взаимодействие с ПТГ/ПТГрП-рецептором может оказывать аутокринные и паракринные влияния, модулировать образование костной ткани и ее ремоделирование [35]. Было показано, что у нокаутных мышей, экспрессирующих усеченные формы ПТГрП с отсутствием срединного домена или C-концевой области, происходит преждевременное развитие остеопороза [158], что

свидетельствует о значительной роли этих фрагментов ПТГрП в развитии и метаболизме костной ткани.

Эндокринные механизмы физиологической регуляции метаболизма костной ткани при участии ПТГрП имеют место, когда продуцируемый в молочной железе белок поступает в кровоток [60] и в период эмбрионального развития плода, когда он регулирует трансплацентарный транспорт кальция [22; 60; 80; 149; 174]. Значительно больше известно о многочисленных паракринных эффектах ПТГрП в различных тканях. Как паракринный фактор, пептид регулирует рост и развитие многих тканей, и в первую очередь скелета и молочных желез [111]. Утверждается, что некоторые эффекты ПТГрП, и в частности влияние на повышенную выживаемость хондроцитов за счет ингибирования процессов апоптоза, связаны с ядрышковой локализацией пептида [64].

ПТГрП секретируется хрящевой тканью суставов в ответ на нагрузки и участвует в регуляции состояния суставного хряща [101]. ПТГрП также продуцируется и в других хрящевых структурах, таких как надхрящница, которая окружает реберный хрящ и гиалиновый хрящ суставных поверхностей, где ПТГрП предотвращает гипертрофическую дифференцировку хондроцитов и вторжение костной ткани в эти структуры, а также способствует моделированию связок и сухожилий во время их роста [24; 101]. Установлено, что ПТГрП может изменять рост и дифференцировку клеток хрящевой эпифизарной пластины ПТГрП [7]. Функции ПТГрП в поддержании суставного хряща и моделирования связочного и сухожильного аппарата позволили предположить, что этот протеин может быть задействован в патофизиологических механизмах остеоартрита [175].

Формирование скелета является одним из важнейших событий развития организма, в которых ПТГрП действует как главный регулятор. Во время эндохондральной оссификации ПТГрП продуцируется в околосуставных областях хряща плода (также именуемого пластинкой роста) и в перихондрии. Пластина роста кости состоит из колонн пролиферирующих и дифференцирующихся хондроцитов, которые постепенно увеличиваются до прегипертрофированных, а затем и гипертрофированных хондроцитов. Рецептор ПТГ/ПТГрП содержится в основном в прегипертрофических хондроцитах и значительно меньше в столбчатых пролиферирующих хондроцитах. В костях плода ПТГрП, синтезируемый перихондриальными клетками и хондроцитами на концах растущих костей, затем диффундирует от мест продукции и связывается с ПТГ/ПТГрП-рецепторами на близлежащих хондроцитах. Активация ПТГ/ПТГрП-рецепторов, расположенных на пролиферирующих и прегипертрофированных клетках, обеспечивает поддержание их пролиферации и замедление скорости их дифференцировки в гипертрофированные клетки. Считается, что ПТГрП принадлежит ключевая роль в контроле темпов созревания

хондроцитов в хрящевой ростовой пластине посредством предотвращения преждевременной дифференциации хондроцитов в прегипертрофированные и в гипертрофированные хондроциты [86], а также путем увеличения скорости пролиферации хондроцитов и подавления их терминальной дифференцировки. Ингибирование воздействия ПТГрП на хондроциты путем прерывания сигнализации через ПТГ/ПТГрП-рецепторы привело к ускорению дифференцировки хондроцитов и преждевременному исчезновению пластины роста [68].

В исследованиях на животных с генетически обусловленной избыточной либо сниженной экспрессией ПТГрП подтверждено, что ПТГрП, действуя через ПТГ/ПТГрП-рецепторы, координирует скорость дифференциации хондроцитов для поддержания упорядоченного роста длинных костей во время развития организма [83]. Эффекты ПТГрП, задерживающие дифференцировку хондроцитов, опосредованы фосфорилированием фактора транскрипции SOX9 и влиянием на синтез мРНК, кодирующей фактор транскрипции Runx2 [83]. ПТГрП секретируется в основном незрелыми хондроцитами в верхней части колонны под воздействием гена ИНН (Indian Hedgehog). Генетические исследования показали, что передача сигналов ПТГрП через рецептор регулирует дифференцировку хондроцитов для поддержания определенной длины ростовой пластинки через петлю отрицательной обратной связи с геном ИНН, экспрессированным в прегипертрофических и гипертрофических хондроцитах. Цикл отрицательной обратной связи ИНН-ПТГрП имеет центральное значение для правильного эндохондрального роста скелета [124].

Механизмы, с помощью которых под влиянием гена ИНН увеличивается экспрессия ПТГрП на концах пластинки роста, не совсем ясны, но этот процесс, вероятно, частично опосредован за счет прямого воздействия ИНН и отчасти косвенно посредством передачи сигналов трансформирующего фактора роста TGF β 2 [5; 66; 83]. Показано также, что ИНН повышает экспрессию ПТГрП в пластине роста, влияя антагонистически на активность фактора транскрипции Gli3 [67; 82]. ПТГрП действует на хондроциты через ПТГ/ПТГрП-рецепторы, в первую очередь за счет стимулирования производства цАМФ и модулирования активности протеинкиназы, которая, в свою очередь, опосредует ряд последующих событий, в том числе фосфорилирование SOX9, ингибирование экспрессии p57, индукцию Gli3, Bcl-2 и продукцию циклина D1, и в конечном счете фосфорилирование и деградацию факторов транскрипции Runx2 и Runx3, которые необходимы для дифференцировки хондроцитов [83; 106]. Показано также, что ПТГрП модулирует дифференциацию хондроцитов путем регулирования транспортировки гистондеацетилазы 4 (HDAC4) в ядро, которое, в свою очередь, регулирует активность сети транскрипционных факторов, таких как Zfp521, MEF2 и Runx2 [30; 81].

В ракурсе существующей информации о роли ПТГрП в хондрогенезе представляется достаточно перспективным и обоснованным использование ПТГрП и его пептидных доменов при решении задач по созданию тканеинженерных конструкций, содержащих хрящевые элементы, и в том числе трахеи, бронхов, суставов, сердечных клапанов. ПТГрП либо его биологически активные фрагменты могут быть использованы как покрытия биокаркасов либо как компоненты среды культивирования хондропрогениторных клеток в соответствии с конкретными задачами биоинженерии.

В исследованиях на эмбрионах мышей, гомозиготных по делеции гена ПТГрП либо по делеции гена рецептора ПТГ/ПТГрП, было установлено, что этот белок является важным физиологическим регулятором кальциевого обмена [80].

Действие ПТГрП, по крайней мере частично, осуществляется путем стимуляции особого рецептора, усиливающего плацентарный транспорт кальция, который отличается от ПТГ/ПТГрП-рецептора, присутствующего в других тканях, и выявлен только в плаценте. Указывается, что этот рецептор является важной детерминантой гомеостаза кальция у эмбриона. В постнатальном периоде ПТГрП продуцируется в наибольших количествах в эпителиальных клетках молочной железы в период лактации, а также в больших количествах секретруется в молоко [19; 164]. Из молочных желез ПТГрП поступает в системный кровоток и участвует в регуляции метаболизма кальция и метаболизма костной ткани в организме в период лактации, обеспечивая транспорт кальция из скелета матери и кровотока в развивающийся плод и грудное молоко [140]. Установлено, что наиболее активно трансплацентарный транспорт кальция инициировали фрагменты ПТГрП (67-86) и (38-94) [22; 174].

Источником ПТГрП, контролирующим транспорт кальция от матери к плоду для минерализации скелета плода, является ткань плаценты [149].

Быстрая потеря костной ткани в период лактации зафиксирована у кормящих женщин и лабораторных животных [78]. Повышенные уровни ПТГрП в системном кровотоке коррелируют с потерей костной массы в организме человека, а также циркулирующие уровни ПТГрП напрямую соотносятся с показателями костной резорбции и восстановления костной массы у мышей [151; 165]. Разрушение гена ПТГрП в эпителиальных клетках молочных желез снижает уровень циркулирующего ПТГрП, снижает уровень метаболизма костной ткани и сохраняет массу кости, демонстрируя, что секреция ПТГрП в кровоток в период лактации направлена на увеличение резорбции костной ткани [164].

Активация кальций-чувствительного рецептора (CASR) подавляет секрецию ПТГрП из клеток молочной железы [163], формируя классическую эндокринную петлю отрицательной обратной связи: ПТГрП мобилизует скелетный кальций, который в свою

очередь ингибирует дальнейшую секрецию ПТГрП в молочных железах. У рыб циркулирующий ПТГрП может мобилизовать кальций из чешуи во время созревания икринок [61]. Таким образом, репродуктивные функции ПТГрП являются древними, и системные действия ПТГрП в период лактации, вероятно, внесли свой вклад в эволюционные процессы, которые привели к формированию взаимодействия ПТГрП и ПТГ с общим ПТГ/ПТГрП-рецептором.

В постнатальном периоде ПТГрП играет важную роль в физиологической регуляции формирования костной ткани [6; 113], способствуя росту и выживанию остеобластов и участвуя в остеокластогенезе [49], а также является важным элементом сложной системы минерализации костей [16]. ПТГрП является также важным физиологическим регулятором массы костной ткани взрослых организмов [15]. Функциональная роль ядерной локализации сигнала ПТГрП в клетках остеобластов была изучена в экспериментах с использованием трансфицированных мышинных остеобластных MC3T3-E1 клеток, в которых оценивали внутриклеточный транспорт, пролиферацию и жизнеспособность, а также дифференцировку [57]. Полученные результаты показали сложность механизмов действия ПТГрП в остеобластах и позволили предположить, что действие этого протеина на их рост и функции паракринным, аутокринным и интракринным путями реализуется через несколько доменов последовательно при участии сигнального пептида N-концевого домена ПТГрП, сигнала ядерной локализации (NLS), содержащего последовательность ПТГрП (88-107) и ПТГ/ПТГрП-рецептора. Цитоплазма и / или ядерные эффекторы выступают в качестве преобразователей модулирующего действия ПТГрП через эти различные пути на рост, дифференцировку и функции остеобластов.

ПТГрП стимулирует остеобластную функцию через N- и C-концевые домены. Остеогенное действие C-концевого домена, по-видимому, зависит, по крайней мере частично, от его взаимодействия с системой сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF). Исследование предполагаемого механизма этого взаимодействия в остеобластах показало, что как ПТГрП (107-139), так и более короткий фрагмент ПТГрП (107-111), известный как остеостатин, способствовали появлению рецептора VEGF (VEGFR) 2 в клетках мышинных остеобластов линии MC3T3-E1. Более того, остеостатин значительно увеличивал фосфорилирование VEGFR2. Кроме того, остеостатин индуцировал фосфорилирование Src-киназы и внеклеточной сигнально-регулируемой киназы (ERK), что наблюдалось при активации VEGFR2 в этих остеобластических клетках. В совокупности эти данные показывают, что фрагмент C-терминального домена ПТГрП остеостатин фосфорилирует VEGFR2 через Src-активацию, которая представляет собой механизм модуляции функции остеобластов [56].

В работе [4] были получены данные о том, что домен ПТГрП (107-139) повышает выживаемость остеобластов человека путем активации рецептора-2 фактора роста эндотелия сосудов. Предынкубация с ПТГрП (107-139) ингибирует дексаметазон- или этопозид-индуцированную гибель остеобластических MG-63 клеток человека и человеческих остеобластподобных клеток из губчатой кости. Этот эффект был отменен ингибированием рецептора VEGF (VEGFR-2). Под влиянием ПТГрП (107-139), но не ПТГрП (1-36) увеличилось VEGFR-2 тирозин-фосфорилирование в MG-63 клетках. В соответствии с его влиянием на активацию VEGFR-2 ПТГрП (107-139) быстро индуцирует внеклеточную регулируемую киназу (ERK). Трансфекция с доминантно-негативной Runx2 конструкции отменяла действие ПТГрП (107-139) на выживаемость остеобластов. Полученные результаты показали, что взаимодействие ПТГрП (107-139) с VEGFR-2 способствует выживанию остеобластов клеток человека с помощью механизма с участием активации RUNX2.

Фрагмент С-концевого домена ПТГрП (107-111) ингибирует костную резорбцию остеокластами [48], и этот эффект связан с активацией протеинкиназы С. С-терминальный домен ПТГрП (107-139) и его фрагмент ПТГрП (107-111) ингибируют пролиферацию и дифференцировку клеток, подобных остеобластам человека. В дополнение к антимитогенному действию, ПТГрП (107-139) и ПТГрП (107-111) ингибировали активность базальной щелочной фосфатазы и 1, 25-дигидроксивитамин D3 (1, 25 (ОН) 2D3) - стимулированной щелочной фосфатазы. Оба пептидных фрагмента уменьшали секрецию проколлагена I типа, но секреция остеобластподобными клетками остеокальцина под воздействием С-концевых фрагментов РТНгР не изменялась [109]. Эти результаты показывают, что ПТГр может действовать как местный регулятор формирования костей. Данные экспериментов на трансгенных мышах показывают, что ПТГрП локально в костной ткани имеет важное значение для нормального костного ремоделирования. В то время как основной физиологической функцией ПТГ является гормональная регуляция обмена кальция, локально продуцируемый ПТГрП является важным постнатальным физиологическим регулятором ремоделирования кости [107].

Значение ПТГрП для развития скелета было убедительно продемонстрировано в экспериментах на мышях с нокаутом гена, контролирующего экспрессию этого протеина. У мышей с гомозиготной инактивацией гена РТНгР выявлялась выраженная хондродисплазия, отражающая дефект развития в пролиферации и дифференцировки хряща. Такие мыши имели множественные дефекты развития скелета [7] и погибали сразу после рождения от дыхательной недостаточности, связанной с дефектами формирования грудной клетки [68; 75]. У трансгенных мышей с торможением образования ПТГрП отмечено увеличение

апоптоза остеобластов и снижение образования остеокластов, что свидетельствует о существенной роли пептида в формировании костной ткани [112].

Человеческие эмбрионы с дефектными ПТГ/ПТГрП-рецепторами (Blomstrand-хондроостеодистрофия) умирают в утробе матери из-за множественных скелетных аномалий. У людей с метафизарной хондродисплазией Янсена проявляются нарушения роста (врожденная карликовость с деформацией конечностей, недоразвитием костей лица, брахицефалией, задержкой оссификации эпифизов), вызванные мутациями в гене, кодирующем ПТГ/ПТГрП-рецептор, которые делают рецептор активным даже в отсутствие лиганда, что приводит к задержке дифференциации хондроцитов [123].

ПТГрП может влиять на костный метаболизм, модулируя действия трансформирующего фактора роста (TGF- β) посредством уменьшения скорости синтеза остеокальцина, возможно, на уровне транскрипции, а также участвует в стимуляции дифференцировки клеток костной ткани [171]. Его влияние на костную ткань опосредуется через систему цитокинов, и в том числе интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли (ФНО-альфа), а также систему остеопрогерина/RANKL. В естественных условиях ПТГрП стимулирует экспрессию остеобластами интерлейкина-6.

Окислительное повреждение является важным фактором, способствующим морфологическим и функциональным изменениям костной ткани. Старение повышает уровень активных форм кислорода (АФК), которые вызывают оксидативный стресс и при этом стимулируют апоптоз остеобластов путем активации митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК), связанной с выживаемостью клеток. ПТГрП может регулировать активацию МАРК путем модуляции МАРК-фосфатазы-1 (МКР1) и таким образом защитить остеобласты от индуцированного оксидативным стрессом апоптоза. Было показано [9], что в остеобластах линии MC3T3-E1 домен ПТГрП (1-37) быстро усиливает экспрессию генов МКР1 и МКР1-зависимую активность каталазы. Кроме того, воздействие ПТГрП (1-37), адсорбированного на гидроксиапатит-керамическом имплантате, помещенном в дефект большеберцовой кости стареющих крыс, вызвало повышенную экспрессию генов МКР1 и каталазы в области заживления кости. Эти результаты показывают, что ПТГрП противодействует проапоптотическому действию активных форм кислорода с помощью механизма МКР1-индуцированного дефосфорилирования МАРК в остеобластах.

ПТГрП оказывает непосредственное влияние на цикл остеобластных клеток, которое зависит от стадии их развития. ПТГрП посредством уменьшения экспрессии циклина D1 индуцирует остановку клеточного цикла остеобластов. Эти данные свидетельствуют, что ПТГрП влияет на продолжительность жизни и активность остеобластов в костной ткани [36]. Остеобласты не единственные клетки, продуцирующие RANKL для ремоделирования

костной ткани. Две независимые группы исследовали роль остеоцитов в естественных условиях и обнаружили, что они играют важную роль в ремоделировании костной ткани, являясь основным источником RANKL для остеокластогенеза [121; 176]. Эти исследования поставили под сомнение догму костной биологии, постулирующую, что остеобласты являются ключевыми клетками, которые модулируют костное ремоделирование. Эффекты ПТГрП ограничены не только прямым воздействием на такие костные клетки, как остеобласты и остеоциты. Посредством активации этих клеток, ПТГрП индуцирует продукцию множества факторов роста и цитокинов, а также модулирует состояние других клеточных компонентов костного матрикса, таких как стромальные клетки и клетки иммунной системы. Исследования показали, что сопутствующая экспрессия воспалительных цитокинов, таких как TNF, IL-1 и IL-6, увеличивает активность резорбции кости [39; 144; 160].

Изучение остеотропных эффектов ПТГрП (1-36) или ПТГрП(107-139) проводили в опытах с ингибированием канонического сигнального пути Wnt воздействием высоких концентраций D-глюкозы в культуре остеобластических клеток мыши MC3T3-E1 [93]. Полученные данные демонстрируют, что высокая концентрация глюкозы может влиять на различные компоненты канонического пути Wnt. Деградация β -катенина является ключевым событием, приводящим к ингибированию передачи сигналов Wnt/ β -catenin в остеобластических клетках мыши. Оба исследованных пептида ПТГрП смогли противодействовать этому эффекту. Результаты экспериментов *in vitro* позволяют лучше понимать основные механизмы, посредством которых ПТГрП может оказывать остеогенный эффект.

Глюкокортикоид-индуцированное угнетение экспрессии ПТГрП и ПТГ/ПТГрП-рецептора в мезенхимальных стволовых клетках человека может быть одним из механизмов стероид-индуцированной потери костной массы [1].

В экспериментах на овариэктомированных мышах изучали изменения гистологической картины костной ткани, а также факторов костного ремоделирования, вызванные путем подкожной инъекции ПТГрП (1-36) или ПТГрП (107-139) [38], а также исследовали остеогенные эффекты этих пептидов в мезенхимальных клетках мыши при окислительном стрессе в опытах *in vitro*, вызывающих сходные с овариэктомией эффекты. По данным гистологического исследования маркеров дифференцировки остеобластов в длинных трубчатых костях у мышей с удаленными яичниками было показано, что ПТГрП (1-36) оказывает анаболическое действие на костную ткань. ПТГрП (107-139) был также эффективен в стимуляции нескольких факторов формирования костной ткани и резком уменьшении маркеров резорбции кости. Оба эти пептида модулируют DKK-1 и

Sost/склеростин в клетках остеобластов линии UMR-106, высоко экспрессирующих эти ингибиторы Wnt-сигнального пути, связанные с их остеогенным действием *in vivo*. Введение ПТГрП улучшало остеогенную дифференцировку в клетках костного мозга овариэктомированных мышей *ex vivo* и в мышечных мезенхимальных клетках СЗН10Т1/2 в условиях окислительного стресса *in vitro*. Эти данные свидетельствуют о том, что ПТГрП (1-36) и ПТГрП (107-139) могут оказывать сходные остеогенные эффекты, которые могут происходить частично за счет модуляции Wnt сигнального пути. Это подтверждает, что остеогенное действие ПТГрП (107-139), вероятно, является следствием его противорезорбционного и анаболического эффектов, а также свидетельствует о перспективности использования ПТГрП (1-36) в качестве костного анаболического фактора при дефиците эстрогенов в организме.

Было установлено, что периодическое введение ПТГрП (1-36) увеличивает массу костной ткани у грызунов [38; 152]. Прерывистое введение ПТГрП для стимуляции остеогенеза рассматривается как потенциальная возможность использования его физиологических эффектов в фармакотерапевтических целях [107].

ПТГрП отводится значительная роль в патофизиологии костных метастазов. Скелетные метастазы многих видов опухолей характеризуются как увеличением скорости резорбции кости, так и интенсивности формирования костной ткани взамен разрушенной. Интенсивный характер костного метаболизма с избыточной резорбцией костной ткани является архетипической чертой большинства, если не всех, костных метастазов [141]. Молекулярные механизмы метастазирования опухолей сложны, включают ряд последовательных событий и взаимосвязанных факторов. Несмотря на интенсивные исследования, молекулярные механизмы, лежащие в основе метастазирования, все еще остаются недостаточно изученными [27].

Известно, что ПТГрП играет важную роль в молекулярных механизмах костного метастазирования рака предстательной железы [27; 147], рака легкого [84], рака молочной железы [12; 62; 169], а также многих других видов опухолей [175]. ПТГрП оказывает сложное многофакторное влияние на процесс скелетного метастазирования различных видов опухолей: модулирует микросреду костной ткани и способствует автономному функционированию опухолевых клеток, и в том числе их росту и прогрессии [150].

ПТГрП рассматривается как ключевой фактор при скелетных осложнениях, связанных с метастазами солидных опухолей в кости. Этот плеiotропный протеин оказывает свои действия локально на опухолевые и стромальные клетки паракринно, аутокринно и интракринно кости. ПТГрП регулирует взаимодействия опухолевых и стромальных клеток, а также непосредственно участвует в туморогенезе, влияя на пролиферацию раковых клеток

[173]. Так как костным метастазам требуется взаимодействие между опухолевыми клетками и клетками костной ткани, то остециты в качестве ПТГрП-реагирующих клеток могут играть определенную роль в модуляции микросреды, с секрецией различных факторов роста, опосредующих рост опухоли.

Метастатическая колонизация отдаленных органов требует распространения опухолевых клеток, обладающих способностями к выживанию в кровеносном русле, вторжению во внеклеточный матрикс и адаптации к новой среде [138]. В связи с этим опухолевые клетки продуцируют многочисленные костные модулирующие цитокины, включая ПТГрП, остеопротегерин, лиганд рецептора активатора ядерного фактора-кВ (RANKL) и другие [40].

Продукция ПТГрП коррелирует с прогрессированием костных метастазов солидных опухолей, что связано с влиянием этого белка на микроокружение метастазов, и в том числе на остеобласты. При введении под кожу бестимусным мышам высокоэкспрессивных клеток рака простаты наблюдали образование опухолей бóльших размеров по сравнению с размерами опухолей, сформировавшихся у мышей, которым вводили опухолевые клетки с меньшей способностью к экспрессии ПТГрП. Введение ПТГрП в костную ткань совместно с опухолевым имплантом вызвало значительное увеличение костной массы, прилегающей к очагам опухоли с гиперэкспрессией ПТГрП [90].

Установлено, что ПТГрП вызывает усиленную пролиферацию стромальных клеток костного мозга и раннюю дифференциацию остеобластов. ПТГрП оказывал проангиогенный эффект косвенно, поскольку ангиогенез усиливался только в присутствии стромальных клеток костного мозга. Полученные данные позволили сделать вывод, что ПТГрП – ключевой посредник взаимодействия между клетками костных метастазов, клеточными элементами собственно костной ткани и пулом сигнальных биомолекул различной природы [90].

Продуцируемый опухолью ПТГрП может действовать различными способами, чтобы модулировать рост опухоли, прогрессирование и метастазирование. Когда опухоль метастазирует в кости, ПТГрП действует паракринно в костной микросреде, активируя остеобласты. Кроме того, опухолевые клетки также продуцируют ПТГ/ПТГрП-рецептор, участвующий в реализации аутокринных эффектов ПТГрП и способствующий росту и пролиферации клеток. И, наконец, ПТГрП также действует интракринным образом, увеличивая выживаемость клеток и их устойчивость к апоптозу [50]. Существующие данные подтверждают гипотезу о том, что ПТГрП также изменяет микросреду опухоли, потенциально способствуя развитию метастазов. В соответствии с гипотезой Стивена Педжета о метастазировании опухолей (гипотеза о «семенах и почве») диссеминированные

опухолевые клетки («семена») могут сформировать метастазы только тогда, когда они попадают в «правильную почву» [51; 127].

ПТГрП в скелетных метастазах обладает способностью действовать на оба компонента процесса, подготавливая «семена» (опухолевые клетки) и «почву» (костную микросреду). Взаимодействие опухолевых клеток с костной микросредой - важнейшее условие роста опухоли и ремоделирования кости в процессе скелетного метастазирования [170]. Опухолевые клетки секретируют такие факторы, как ПТГрП, TNF-alpha, IL-1, IL-6, IL-8 и IL-11, которые стимулируют костные клетки. В свою очередь, активированные остеобласты и остеокласты секретируют другие факторы, которые способствуют росту опухоли и поддерживают разрушительный каскад метастатического роста [26]. ПТГрП может выступать в качестве эндокринного или паракринного фактора, модулирующего клеточные аспекты костной микросреды, тем самым способствуя формированию благоприятных условий для метастазирования рака в кости.

Рентгенологические проявления костных метастазов имеют различные характеристики. При остеобластических по структуре метастазах фиксируется повышенная активность остеобластов и формирование аномальной кости. При остеолитических метастазах отмечается усиление активности остеокластов и выявляется аномальная резорбция кости [92; 170].

ПТГрП может активировать локальный остеолитизис в участках кости, прилегающих к костным метастазам, что создает благоприятные условия для их развития, и таким образом ПТГрП участвует в аутокринной регуляции роста опухоли. Наиболее выражена взаимосвязь инвазивного фенотипа опухоли и развития костного метастазирования с присутствием изоформы ПТГрП (1-139). ПТГрП является эффектором трансформирующего фактора роста (TGF-beta), участвующего в развитии и прогрессировании остеолитических костных метастазов. Этот ростовой фактор, высвобождающийся из костной матрицы во время остеолитической резорбции костной ткани, индуцирует образование ПТГрП в опухолевых клетках. Затем этот белок стимулирует резорбцию костной ткани, что повышает потенциал развития костных метастазов [42].

Ангиогенез представляет собой хорошо изученный процесс поддержки роста и прогрессии опухоли. Появляется все больше свидетельств того, что ПТГрП может повлиять на развитие костных метастазов с помощью стимуляции ангиогенеза. Недавнее исследование с использованием модели спонтанного рака молочной железы у мышей со специфической делеции гена ПТГрП, показало, что экспрессия ПТГрП влияет не только на инициацию опухоли, ее прогрессирование и метастазирование, но и на ангиогенез опухоли. ПТГрП абляция приводит к снижению ангиогенеза [88]. ПТГрП паракринно стимулировал

ангиогенез костных метастазов. Проангиогенный эффект ПТГрП зависел от наличия стромальных клеток костного мозга [90]. Показано, что ангиогенный эффект ПТГрП зависит от активности остеокластов и продукции ММР9 [21]. ПТГрП активирует клетки костной микросреды, стимулируя ангиогенез, и таким образом способствует метастатическому росту костной ткани.

ПТГрП широко исследуется в качестве важного фактора при опухолях, которые имеют значительный костный тропизм, особенно при раке простаты и молочной железы. Кости являются общим местом для опухолевых метастазов, и скелетные метастазы являются одной из основных причин смертности среди пациентов с раком молочной железы, простаты и рака легких. Примерно 70% умерших больных раком молочной железы и около 90% больных раком простаты имели признаки костных метастазов [18; 28].

Рак простаты отличается выраженной склонностью к метастазированию в кости [44]. Более 70% пациентов с раком предстательной железы имеют на поздней стадии заболевания костные метастазы, что существенно снижает качество жизни [120; 141]. Костные метастазы различных видов рака часто растут более быстрыми темпами, чем первичная опухоль или метастазы другой локализации, что определяется наличием факторов, которые способствуют росту или ингибируют гибель клеток опухоли. Метастазы преимущественно локализуются в регионах с высоким уровнем метаболизма костной ткани [145]. Сообщалось об увеличенной экспрессии рецептора ПТГрП в костных метастазах рака предстательной железы по сравнению с первичными опухолями, что указывает на потенциальную роль рецептор-опосредованных механизмов в формировании скелетных метастазов [71; 141].

Клетки рака простаты способны к высокой степени адгезии и локализации в участках костной ткани с активным ремоделированием, которое регулируется с участием ПТГрП [102]. ПТГрП активизирует различные митогенные пути, и в том числе способствует эпителиально-мезенхимальному переходу в раковых стволовых клетках, что стимулирует костное метастазирование опухолей [126].

Значение микросреды костной ткани в регионах скелета, имеющих метастазы, становится все более очевидным, поскольку данных, свидетельствующих о существовании значительных изменений нормального ремоделирования кости у онкобольных, становится все больше. В норме процессы формирования костной ткани остеобластами и резорбции старых костных структур остеокластами взаимосвязаны во времени и в пространстве последовательностью событий, определяющих процесс ремоделирования костной ткани. При наличии в костных структурах метастазов в зоне костной ткани, примыкающей к очагу неопластического процесса, нарушается нормальная регуляция процессов образования костной ткани и ее резорбции [179]. Для того чтобы создать пространство для своего роста,

клетки метастаза опухоли стимулируют резорбцию костной ткани остеокластами. Цитокин RANKL является одним из ключевых активаторов остеокластов, в то время как остеопротегерин (ОПГ) представляет собой рецептор, конкурирующий с RANK за RANKL, и поэтому является ингибитором остеокластогенеза. RANK/RANKL/OPG сигнальный путь является важнейшим регуляторным механизмом, определяющим дифференцировку и активацию остеокластов в процессе ремоделирования костной ткани как в физиологических условиях, так и при патологических процессах, ассоциированных с опухолевым ростом и развитием метастазов [14]. ОПГ уменьшает онкоиндуцированное разрушение кости. Было предположено, что ОПГ, вырабатываемый клетками костного метастаза, вызывает локальное снижение уровня RANKL, формируя более крутой градиент RANKL от опухоли к костной ткани, что приводит к более быстрой резорбции и росту опухолей. Эта гипотеза была проверена с помощью математической модели на основе системы нелинейных дифференциальных уравнений, описывающих пространственную динамику ОПГ, RANKL, ПТГрП, остеокластов, массы опухоли и костной массы. Показано, что экспрессия опухолью ПТГрП, индуцирующего RANKL, имеет важное значение для правильной ориентации градиента RANKL. Метаанализ продукции ОПГ, RANKL и ПТГрП в клетках нормальной простаты, клетках рака железы и в ткани ее метастазов продемонстрировал увеличение экспрессии ОПГ, но не RANKL, а также положительную корреляцию между ОПГ и ПТГрП в метастазах рака предстательной железы [142].

Известно, что костные метастазы РПЖ отличаются от костных метастазов других видов рака выраженной минерализацией ткани опухоли.

При этом рентгенологически часто фиксируется склерозирование участков пораженной кости, формирующееся на фоне относительного превалирования процессов остеогенеза над процессами костной резорбции [146]. Механизмы этого до настоящего времени недостаточно понятны, что обуславливает их активное изучение. Предполагается, что избыточная минерализация ткани костных метастазов связана с анаболическими эффектами прерывистого воздействия ПТГрП.

В отличие от метастазов при раке легких или молочной железы, которым присущи остеолитические повреждения, костные метастазы при РПЖ являются преимущественно бластными, хотя они также содержат остеорезорбтивный компонент [118]. Остеобластные метастазы при РПЖ происходят на участках предшествующей остеорезорбции остеокластами и характеризуются слабой, плохоорганизованной структурой кости, способствующей возникновению переломов различных костных элементов скелета [135; 137]. В иммуногистохимических исследованиях экспрессии ПТГрП в биоптатах ткани костных метастазов у больных РПЖ, не получавших лечения, установлена разная степень

выраженности продукции ПТГрП в разных образцах, не связанная со степенью дифференциации клеток опухоли [17].

Под влиянием факторов костной микросреды клетки скелетных метастазов рака молочной железы продуцируют ПТГрП больше, чем клетки первичной опухоли [2]. TGF- β , поступающий из локусов резорбции кости, регулирует производство ПТГрП через сигнальный путь с участием фактора транскрипции Gli2 [2; 73]. В свою очередь, ПТГрП увеличивает выработку рецептора активатора ядерного фактора-kB лиганда и снижает производство остеопротегерина, увеличивая количество остеокластов и их активность [2]. Это формирует порочный круг взаимозависимости между продукцией ПТГрП и резорбцией костной ткани, способствуя активации остеолита. Кроме того, CASR-сигнализация в клетках рака молочной железы стимулирует выработку ПТГрП и может оказывать влияние синергично с эффектами TGF-бета [104; 143].

Установлено, что ПТГрП модулирует адгезию, миграцию и инвазию не только клеток костных метастазов, но и может быть важным фактором развития первичных опухолей костной ткани и, в частности, гигантоклеточной опухоли кости [102]. Показано, что С-концевой домен ПТГрП (107-139) и его фрагмент ПТГрП (107-111) человека ингибировали пролиферацию остеобластов линии UMR-106 остеосаркомы крыс. Обнаружено, что антипролиферативное действие этих С-концевых пептидов ПТГрП может быть независимым от цАМФ и опосредованным протеинкиназой-С [161].

Установлено, что в клетках РПЖ и в ткани костных метастазов имеет место усиленная экспрессия конститутивно активированной рецепторной тирозинкиназы DDR2, участвующей в регуляции клеточной дифференцировки, ремоделировании внеклеточного матрикса, клеточной миграции и дифференциации, что способствует активации инвазии опухолевых клеток. Сверхэкспрессия DDR2 в клетках приводит к заметному ускорению дифференциации остеокластов и активации резорбции костной ткани, в то время как нокаунт DDR2 вызывал противоположные эффекты. Доказано, что DDR2 способствует остеолитическому метастазированию, регулируя экспрессию, секрецию и активацию промотора ПТГрП посредством модулирования фактора транскрипции RUNX2. Таким образом, DDR2 участвует в TGF-бета-опосредованной активации остеокластов и резорбции костной ткани и играет существенную роль в костном метастазировании рака простаты [178].

Установлено, что активация универсального фактора транскрипции NF-kB «каппа – би», контролирующего апоптоз и клеточный цикл, коррелирует с прогрессированием рака простаты и способствует метастазированию опухоли, влияя на миграцию клеток опухоли и ангиогенез. Инактивация NF-kB сигнализации в клетках опухоли приводит к повышению

экспрессии ПТГрП и RANKL и способствует пролиферации костных метастазов, включая как остеобластные, так и остеокластные процессы [72].

ПТГрП стимулирует остеокласт-опосредованную резорбцию кости. Матричные металлопротеиназы (ММП-2, -3, -7, -9) могут осуществлять процессинг ПТГрП 1-36 на отдельные пептиды (ПТГрП 1-17; ПТГрП 18-26 и ПТГрП 27-36). ММП-индуцированные пептиды обладают разными биологическими свойствами и влиянием на остеобласты и остеокласты. Установлено выраженное влияние ПТГрП 1-17 и ПТГрП 1-36 на стимулирование дифференцировки остеобластов *in vitro*. Однако *in vivo* ПТГрП 1-36 индуцировал четкий остеолитический эффект, который не наблюдался у ПТГрП 1-17. Эти данные позволили полагать, что ММП играют существенную роль в регуляции остеолитически-остеогенной реакции при метастатическом раке [52].

Продуцируемый первичными опухолями ПТГрП, функционируя как эндокринный фактор, может участвовать в регуляции костной микросреды в различных структурах скелета и таким образом может поддерживать формирование «преметастатической ниши», в которой существуют условия, необходимые для развития микрометастазов [74]. Так, ПТГрП продуцируемый опухолью, может индуцировать экспрессию CCL2 в остеобластах, вызывая хемотаксис макрофагов и активацию остеокластогенеза, способствуя модуляции костной микросреды, благоприятной для метастазирования, что будет способствовать росту и прогрессии опухолей [89]. Кроме ПТГрП, опухоли секретируют и другие факторы, которые также могут дистанционно моделировать костную микросреду. Это свидетельствует о потенциальной возможности формирования локусов костной ткани с микросредой, благоприятствующей для последующей колонизации опухолевыми клетками и развития метастазов. Так, фермент гепараназа, вырабатываемый клетками рака молочной железы, расщепляет гепаран для производства синдекана-1, который, поступая из первичной опухоли в кости, стимулирует остеокластогенез, что способствует остеолиту и росту метастазов [76; 77].

Другие факторы, такие как остеопонтин и матричные металлопротеиназы, также могут играть определенную роль в содействии росту опухоли и ее скелетному метастазированию [8; 99].

С остеотропными эффектами ПТГрП связано явление «заторможенности» опухолевого процесса. Заторможенность опухолевой клетки является одной из самых больших проблем в скелетном метастазировании, которая связана с рецидивированием опухоли [55]. Метастазирование очень неэффективный процесс, в котором менее чем 0, 01% попадающих в циркуляторное русло опухолевых клеток формируют метастатические очаги [51; 85]. Скелет представляет собой очень сложную среду с постоянным ремоделированием

костной ткани, участием в кроветворении и очень богатой внутренней средой, содержащей большой пул факторов роста и минеральных компонентов. Это объясняет тот факт, что кости являются одним из наиболее общих участков метастазирования различных видов опухолей. Считается, что распространение опухоли является процессом, который происходит уже на ранних этапах онкогенеза, но при этом большинство клеток, попавших в циркуляторное русло, не могут достигнуть подходящей ниши («почвы») для ее колонизации [51]. Утверждается, что, когда опухолевыми клеткам удастся преодолеть эту проблему и найти далекий орган, чтобы колонизировать, они могут оставаться в состоянии покоя («клеточной дремоты») в течение многих лет [122]. Это может быть причиной того, что у пациентов с солидными опухолями, которые были полностью удалены, десятилетия спустя развиваются костные метастазы, даже если первичные опухоли больше не существуют. Другая проблема состоит в том, что обнаружение таких дремлющих клеток представляет трудности. Большинство скелетных метастазов диагностируется только тогда, когда опухоли могут быть визуализированы, и часто это становится возможным на поздних стадиях. Клеточная неподвижность при клеточной дремоте также является большой проблемой, так как большинство противораковых терапевтических стратегий нацелены на высоко пролиферативные клетки. Обнаружение циркулирующих опухолевых клеток в костном мозге показало, что кости также могут быть потенциальной средой-убежищем [55], где опухолевые клетки остаются в состоянии покоя, пока они не будут передислоцированы в другие сайты или даже вернуться к месту своего происхождения. ПТГрП является интересным кандидатом для инициации клеточной «дремоты», поскольку действует не только интракринно и аутокринно для модуляции экспрессии генов и клеточных реакций в опухолях, но и паракринно участвует в модуляции костной микросреды. Действие ПТГрП в регуляции клеточного цикла и экспрессии интегринов может быть благоприятным для клеток опухоли, чтобы прикрепиться к кости и приобрести состояние покоя, до того момента, когда они будут активированы до процесса пролиферации и образования обнаруживаемых метастазов.

В последние годы остеогенные свойства ПТГрП привлекают внимание исследователей, занимающихся проблемами травматологии и ортопедической хирургии, регенеративной медицины и тканевой инженерии. Коррекция костных дефектов является серьезной проблемой, решение которой требует создания оптимальных имплантов из материала, обладающего должными механическими характеристиками и способного стимулировать регенерацию костной ткани. Ортопедические и стоматологические имплантаты успешно использовались в течение многих десятилетий для замены или ремонта поврежденных или отсутствующих костей, суставов и зубов. **Применение имплантов в**

большой мере обусловлены проблемами, связанными с недостаточной их интеграцией с окружающими тканями и воспалением.

Много различных типов поверхностных покрытий были разработаны с целью устранения этих недостатков, в том числе и те, которые включают остеоиндуктивные факторы и терапевтические средства для обеспечения локализованной доставки к зоне имплантации.

При коррекции дефектов костей, вызванных травмой или другими причинами, используют различные биологически активные факторы для стимуляции регенерации костной ткани. Ангиогенез и формирование кости - критически связанные биологические процессы. Поскольку достижение быстрой васкуляризации является ключевым фактором успешного приживления трансплантата при любой трансплантации, взаимодействие ПТГрП с системой сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) имеет первостепенное значение [4]. Проангиогенные и проостеогенные факторы остеобластов или сосудистых эндотелиальных клеток индуцированные ПТГрП увеличивают образование костной ткани и остеоинтеграцию аллотрансплантантов в костных дефектах, способствуя повышению их приживления [65]. Ряд подходов используются для доставки таких средств в зону заживления костных дефектов. В этой связи большой интерес исследователей был проявлен к фрагменту С-концевого домена ПТГрП (107-111), известного как остеостатин. Установлено, что иммобилизация пентапептида паратиреоидного гормона (ПТГрП 107-111) на каркасе из коллаген-гидроксиапатита поддерживает его проостеогенное влияние на остеобласты. При имплантации такого каркаса в костный дефект фиксируется значительно большее образование нового объема костной ткани по сравнению с нефункционализирующими остеостатинными каркасами [136]. Это исследование показывает, что такой подход локализованной доставки остеогенного биологически активного вещества обеспечивает больший пространственно-временной контроль над факторами роста и может существенно модулировать процессы регенерации костной ткани.

Остеостатин был использован в качестве покрытия имплантов из пористого титана, которые применяют при коррекции критических костных дефектов.

Нанесение пептидного покрытия на импланты, использованные для коррекции дефектов бедренной кости у крыс, улучшило раннюю регенерацию костной ткани по сравнению с имплантами из титана без покрытия остеоиндуктивным пептидным фрагментом ПТГрП [162]. В опытах *in vitro* исследовали полученные из человеческой надкостницы остеопрогениторные клетки, которые культивировали на титановых каркасах, покрытых остеостатином. В культивируемых клетках не было отмечено существенных изменений маркеров остеогенеза (щелочной фосфатазы, остеокальцина, коллагена первого типа,

транскрипционного фактора 2 [Runx2]), а также сосудистого эндотелиального фактора роста [VEGF]), но выявлено повышение экспрессии остеопротегерина и снижение лиганда рецептора активатора ядерного фактора-кВ (RANKL).

В другом исследовании импланты на основе диоксида кремния, покрытые остеостатином, использовали для восстановления костной ткани в экспериментах с полостным дефектом бедренной кости кролика [159].

Установлено, что биокерамические импланты с таким покрытием значительно улучшают местную индукцию костной ткани. Формирование новой костной ткани в зоне имплантов с остеостатином было более значительным по сравнению с имплантами без пептидной нагрузки. Это было подтверждено иммуногистохимическими исследованиями различных маркеров остеобластов.

Известно, что фактор роста фибробластов (FGF)-2 модулирует функцию остеобластов и индуцирует ангиогенез, и может способствовать адгезии остеобластов и их пролиферации после его иммобилизации на керамическом каркасе из легированного кремнием гидроксиапатита. В экспериментах *in vitro* с использованием клеточной линии остеобластов MC3T3-E1 показано, что биологическая эффективность FGF-2-покрытия на каркасе из кремний-гидроксиапатита повышается в присутствии остеостатина. Добавление этого пептидного эпитопа ПТГрП к FGF-2 покрытию каркаса значительно усиливает экспрессию гена Runx2, остеокальцина, сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и рецепторов VEGF 1 и 2, не оказывая значительного влияния на FGF-рецепторы в этих клетках. Результаты исследования показали, что остеоостатин увеличивает остеогенный эффект FGF-2, иммобилизованного на каркасе из кремний-гидроксиапатита с помощью механизма с митоген-активируемой протеинкиназой и внутриклеточного Ca (2+). Эти данные представляют собой привлекательную стратегию для инженерии костной ткани [98].

Разработка биodeградирующих полимерных каркасов является одной из ключевых задач регенеративной медицины [153]. Поиск оптимального биополимера для тканевой инженерии был предпринят в исследованиях [96; 97]. В экспериментах на крысах в полостной дефект в зоне дистального метафиза большеберцовой кости был имплантирован биоразлагаемый каркас из нанокристаллического гидроксиапатита с желатин-глутаральдегидным покрытием, содержащим эпитоп (107-111) С-концевого домена ПТГрП. Через 4 недели, по данным гистологических, генетических и микротомографических исследований, зафиксировано увеличение объема костной ткани, размеров ее трабекул, кортикальной толщины, экспрессии гена остеокальцина и молекул адгезии сосудистых клеток, а также снижение экспрессии генов ингибиторов Wnt-сигнального пути и белка, ингибирующего дифференцировку остеобластов (DKK-1), являющегося ключевым

регулятором костного ремоделирования как в физиологических условиях, так и при патологических состояниях. Эти данные рассматриваются как доказательство целесообразности использования остеоостатина в биоразлагаемых каркасах и свидетельствуют о том, что нанесение покрытия, содержащего остеоостатин, придает остеогенные свойства мезопористым биоматериалам на основе диоксида кремния, используемым для восстановления костей.

В другом исследовании с использованием локальной доставки N-концевого (1-37) и C-концевого (107-111) доменов ПТГрП, нанесенных на имплант на основе гидроксиапатита, изучали регенерацию костной ткани у старых крыс с диабетом, индуцированным инъекцией стрептозотоцина вскоре после рождения крысят, а также у старых крыс без диабета. И старение, и наличие сахарного диабета связаны с увеличением ломкости костей и повышенным риском перелома. Оценивали эффективность введения пептидных фрагментов ПТГрП в состав покрытия для имплантов в область транскортикального дефекта большеберцовой кости. Гистологические и микрокомпьютеризированные томографические исследования показали более выраженные нарушения структуры костной ткани у старых крыс с диабетом по сравнению с животными того же возраста контрольной группы. Через 4 недели после имплантации геля, содержащего фрагменты ПТГрП, в транскортикальных дефектах большеберцовой кости зафиксировано частичное восстановление кости. Заживление дефектов сопровождалось увеличением объема, а также трабекулярной и кортикальной толщины костной ткани в имплантатах у старых крыс с диабетом и в контрольной группе. Формирование вновь образованной костной ткани вокруг остеоинтегрированных имплантатов увеличивало генную экспрессию остеокальцина и фактора роста эндотелия сосудов (маркеров образования костной ткани и кровеносных сосудов). Полученные данные свидетельствуют о том, что локальная доставка ПТГрП (1-37) или ПТГрП (107-111) из биодеградирующегося имплантата является перспективным подходом для улучшения регенерации костной ткани у пожилых и пациентов с диабетом [10].

Анаболические остеотропные эффекты паратгормона и паратгормон-родственного белка послужили основанием для изучения возможности использования функционально активных доменов и их синтетических аналогов в терапевтических целях при остеопатиях, и в первую очередь при остеопении и остеопорозе [46; 47; 58], и в том числе при глюкокортикоид-индуцированном остеопорозе [37] и остеопении, связанной с диабетом [94; 95; 110] Лечение остеопороза осуществляется, как правило, либо путем ингибирования резорбции кости антирезорбтивными агентами, либо посредством стимуляции образования костной ткани с использованием анаболических средств [156]. В настоящее время

терипаратид (рекомбинантный человеческий гормон паращитовидной железы 1-34 [rhPTH (1-34)]) является единственным доступным одобренным анаболическим средством в США [134]. Терипаратид является мощным анаболическим препаратом, и его внедрение существенно изменило лечение остеопороза. Терипаратид увеличивает образование губчатого вещества кости, главным образом на участках, подвергающихся активному ремоделированию, но имеет ограниченное влияние на формирование надкостницы и увеличивает пористость кортикального слоя [11; 29].

У женщин с остеопорозом лечение терипаратидом снижает риски вертебральных и внепозвоночных переломов. Тем не менее применение терипаратида имеет два важных ограничения, которые представлены необходимостью вводить препарат посредством ежедневных подкожных инъекций, а также тем, что продолжительное лечение терипаратидом приводит не только к формированию новой костной ткани, но и одновременно стимулирует резорбцию кости, что приводит к постепенному снижению анаболического эффекта. Это стимулировало поиск других ПТГ и ПТГрП аналогов, которые были бы чисто анаболическими, стимулируя образование костной ткани без стимуляции ее резорбции [11].

Было проведено прямое сравнение остеотропных эффектов ПТГ (1-34), ПТГрП (1-36) и аналога ПТГ SDZ-ПТГ 893 в естественных условиях в модели постклимактерического остеопороза у взрослых крыс, получавших по 40 мкг/кг массы тела в день одного из исследованных веществ. Установлено, что у животных всех трех групп, получавших пептиды, увеличилась масса кости (по данным денситометрии и по показателю массы костной золы), улучшились гистоморфометрические характеристики трабекулярной и кортикальной кости и биомеханические свойства по данным исследования прочности тел позвонков и диафиза бедренной кости, а также заметно возросли показатели образования костной ткани. Степень выраженности позитивных эффектов в сравнительном ряду: SDZ-ПТГ-893>ПТГ> ПТГрП. Выраженность негативных эффектов также была наибольшей при введении животным SDZ-ПТГ-893. Все три пептида признаны перспективными в качестве скелетных анаболических агентов [152].

Эффекты ПТГрП (1-34) на массу костной ткани в естественных условиях исследовали в экспериментах с использованием динамической модели остеогенеза [128]. Было показано, что введение ПТГрП (1-34) мышам с эктопически пересаженными позвонками (модель vossicle) усиливает их приживание и увеличивает костную массу этих имплантов, что фиксировали методом неинвазивного мониторинга на основе анализа биолюминесценции и флуоресцентных изображений [65]. Прерывистое введение ПТГрП (107-139), включающего в себя всю С-концевую область мажорной изоформы ПТГрП, оказывает остеогенный эффект в

различных моделях остеопороза у мышей [37; 38; 95]. Полагают, что эти действия С-концевого пептида ПТГрП реализуются при участии остеоостатина [96].

В экспериментах с использованием крысиной модели остеопороза изучили влияние ПТГрП (1-34) на метаболизм костной ткани путем измерения минеральной плотности костной ткани (МПКТ), а также путем исследования гистоморфометрических и биомеханических параметров кости. Установлено, что ежедневное подкожное введение ПТГрП овариэктомированным крысам увеличивает показатели минеральной плотности поясничных позвонков и бедренной кости, улучшает биомеханические свойства костей, повышает прочность кости и способствует формированию новой костной ткани. Полученные результаты указывают на высокий потенциал терапевтического применения ПТГрП (1-34) при остеопорозе [177]. Согласно доклиническим данным, ежедневная подкожная инъекция человеческого ПТГрП (1-36) может стимулировать образование костной ткани без значительного увеличения костной резорбции или ожидаемых побочных эффектов, таких как гиперкальциемия. Таким образом, ПТГрП (1-36) может быть одним из перспективных остеотропных препаратов для лечения остеопороза [157].

В одном из ранних исследований женщинам в постменопаузе с дефицитом эстрогенов вводили ежедневно подкожно ПТГрП (1-36) в течение 14 дней, чтобы определить его влияние на остеогенез в дозах, которые не изменяют системный минеральный гомеостаз, но увеличивают маркеры обмена костной ткани. Было установлено, что введение ПТГрП (1-36) разобщает процессы образования костной ткани от ее рассасывания, в пользу остеогенеза. Эти данные позволили авторам предсказать, что ПТГрП (1-36) может быть мощным анаболическим терапевтическим средством для лечения остеопороза [133].

В последние годы существует большой интерес к изучению аналогов ПТГрП в качестве потенциальных чистых анаболических агентов, которые могут применяться при остеопорозе. В лаборатории Roche Bioscience был разработан синтетический аналог фрагмента ПТГрП, который обозначили как «RS-66271» [167]. Анаболические остеотропные эффекты RS-66271 и ПТГрП (1-34) были исследованы в экспериментах на овариэктомированных крысах с выраженными проявлениями остеопении. Подкожное введение ПТГрП (1-34) при 80 мкг/кг/сутки частично восстанавливало эстроген-индуцированную потерю губчатой кости, но было неэффективным в кортикальном слое кости. В отличие от этого, после введения животным с остеопенией RS-66271 в такой же дозе отмечено восстановление и трабекулярной, и кортикальной костной ткани большеберцовой кости до уровня ложнопериоперированных животных, что подтверждено данными гистоморфометрического исследования. С помощью электронной микроскопии показано увеличение относительной площади поверхности трабекул тел позвонков,

покрытых остеобластами у животных, получавших RS-66271. Эти исследования показали, что новый синтетический аналог имеет большую остеонаболическую активность, чем анаболический эффект исходного пептида. Полученные результаты позволили заключить, что RS-66271 может быть перспективным кандидатом в фармпрепараты для лечения остеопороза.

В доклинических исследованиях *in vivo* и *in vitro* исследовали особенности взаимодействия RS-66271 и рекомбинантного человеческого ПТГ (1-34) (LY333334) с рецептором ПТГ/ПТГрП и сравнили их фармакологические эффекты [53]. Оба пептида также показали равную способность стимулировать производство цАМФ в крысиных остеобластах клеточной линии типа UMR-106, в то время как в остеобластоподобных человеческих клетках линии СДЛ-2 человека RS-66271 был в 7,6 раза менее активен в стимулировании продукции инозитолфосфата. В исследованиях *in vivo* молодые самцы крыс получали ежедневно подкожно дозу 10 или 40 мкг пептида на кг массы тела на протяжении 1, 2 или 4 недель. Объемную МПКТ проксимального отдела большеберцовой кости определяли с помощью периферической количественной компьютерной томографии. В трабекулярной и кортикальной частях дистального отдела бедренной кости анализировали содержание кальция и сухой вес. Поясничные позвонки (L4-L6) анализировали с помощью гистоморфометрии. Выявлено зависимое от дозы пептида и длительности его введения увеличение губчатой и кортикальной костной массы по сравнению с контрольной группой. Эти изменения были очевидны уже в 1 неделю после начала приема препарата. Несмотря на сниженную аффинность связывания RS-66271 с ПТГ / ПТГрП-рецептором по сравнению с ПТГ (1-34), оба пептида демонстрировали сходные *in vivo* и *in vitro* биологическую активность и фармакологические эффекты.

Этот же аналог ПТГрП RS-66271 (Семпаратид ацетат) был изучен в двух рандомизированных плацебо-контролируемых исследованиях по оценке влияния на МПКТ у женщин с постменопаузальным остеопорозом. На фоне терапии семпаратидом биохимические маркеры костеобразования (сывороточный проколлаген пептида 1 типа, костная щелочная фосфатаза, остеокальцин) и резорбции (деоксипиридинолин и N-телопептид/креатинин в моче) продемонстрировали дозозависимое увеличение уже через три недели после начала лечения. Результаты исследования показывают, что ежедневное применение семпаратида при постменопаузальном остеопорозе приводит к быстрому и достоверному увеличению МПКТ позвонков и бедренной кости, которое сохраняется через 6 месяцев после прекращения лечения [54].

Биофармацевтическая компания RadiusHealth разработала фармпрепарат BA058 (Abalaparitid), являющийся рекомбинантным пептидным аналогом человеческого ПТГрП (1-

34), который позиционируется как средство для лечения остеопороза и снижения риска переломов в критических анатомических участках скелета. Абалопаратид представляет собой пептид, взаимодействующий с ПТГ/ПТГрП-рецептором (PTHrP1). Структура абалопаратиды имеет 41% гомологии с ПТГ (1-34) и 76% гомологии с ПТГрП (1-34). Первые 21 аминокислотных остатков идентичны с ПТГрП (1-34), а остальные содержат ряд замен, которые были выполнены для повышения стабильности структуры. Эти структурные особенности абалопаратиды определили его как аналог ПТГрП, представляющий собой мощный селективный активатор ПТГ / ПТГрП-рецептора [43; 63; 166].

Растущий интерес к абалопаратиду основывается на результатах некоторых исследований на животных и людях, которые показали, что этот синтетический пептид обладает мощной и быстрой анаболической активностью с уменьшенным эффектом резорбции костной ткани по сравнению с терипаратидом и улучшенными характеристиками стабильности [45; 63; 177].

В клеточной линии человеческих остеобластов абалопаратид и терипаратид увеличили экспрессию факторов, связанных с формированием и резорбцией костной ткани (RANKL и M-CSF), но эти эффекты были быстро устранены после удаления абалопаратиды из культуральной среды, в то время как в клетках обработанных терипаратидом они были более длительными [103]. Кроме того, доклинические исследования, проведенные на животных, показали заметную остеотропную анаболическую активность абалопаратиды у овариэктомированных крыс, получавших препарат после развития остеопении. Цель этих исследований состояла в определении долгосрочных эффектов воздействия абалопаратиды на массу костной ткани как кортикальной, так и губчатой кости, которые оценивали по показателю МПКТ, определяемой периферической количественной компьютерной томографией, и прочности кости, определяемой путем биомеханического тестирования. Механизмы, с помощью которых абалопаратид влияет на кости, исследовали путем оценки биомаркеров ремоделирования кости и гистоморфометрических показателей метаболизма костной ткани. Данные, полученные в исследовании на крысах, показали дозозависимое увеличение МПКТ после введения абалопаратиды, увеличение маркеров формирования костей, но не маркеров ее резорбции, а также увеличение прочности кости [177].

В исследовании на животных [13] с моделированием остеопороза оценивали влияние 6-недельного ежедневного введения абалопаратиды на кость у взрослых крыс. Общая МПКТ была измерена методом двойной рентгеновской абсорбциометрии *in vivo* в конце 8-недельного периода после овариэктомии. Эти данные верифицировали развитие остеопении всей бедренной кости, диафиза бедренной кости и поясничного позвонка. Оценку

трабекулярной архитектуры в поясничном позвонке (L4) и метафазе дистального отдела бедренной кости и геометрии кортикальной кости проводили с использованием микрокомпьютерной томографии при использовании модели *ex vivo*. Были также оценены морфометрические параметры, включая объемную долю кости, объем кости, трабекулярное число, толщину трабекулы, трабекулярный интервал, плотность связи и плотность кости, площадь и толщину кортикальной кости. Позвонки были протестированы в деструктивном биомеханическом испытании на сжатие. Полученные результаты впервые описывают действие абалопаратида на прочность кости, указывают на то, что лечение экспериментально смоделированной остеопении с помощью абалопаратида полностью восстановило вызванную потерю костной ткани и увеличивало прочность кости на поясничном отделе позвоночника, диафизе бедра и шейке бедра крысы. Биомеханическая оценка кости показала существенное улучшение ее структурной прочности у животных, получавших абалопаратид. Параметры костной массы и прочности у животных, получавших инъекции абалопаратида, превышали таковые у контрольных животных с неудаленными яичниками, что еще больше подчеркивает мощный анаболический потенциал этого аналога ПТГрП.

В другом экспериментальном исследовании, проведенном на крысах с остеопенией, индуцированной удалением яичников, изучали механизмы, с помощью которых абалопаратид увеличивает костную массу. Животные получали ежедневные подкожные инъекции препарата на протяжении 12 месяцев. По данным денситометрических, биохимических и гистоморфометрических исследований установлено, что на фоне введения абалопаратида увеличились биохимические маркеры формирования костной ткани без увеличения маркеров резорбции кости и без гиперкальциемии. Абалопаратид увеличил гистоморфометрические показатели формирования кости на трабекулярной, эндокортикальной и периостальной поверхностях без увеличения остеокластогенеза, индуцировал значительное увеличение трабекулярного объема костной ткани, ее плотности и улучшения в трабекулярной микроархитектуре. Абалопаратид стимулировал периостальное увеличение кости и увеличение объема кортикальной костной ткани большеберцовой кости. МПКТ у крыс с остеопенией увеличилась на 25% после 12 месяцев введения абалопаратида. Полученные данные позволили предположить, что зафиксированные изменения в кортикальной и губчатой костной ткани связаны с селективными анаболическими эффектами абалопаратида, при отсутствии одновременной активации резорбции кости [166].

Результаты исследования на овариэктомированных обезьянах, которым после окончания периода развития остеопении ежедневно вводили абалопаратид, также позволили зафиксировать заметный анаболический эффект. Отмечен значительный прирост МПКТ, а

также увеличение прочности кости и маркеров формирования костной ткани. Введение абалопаратида привело к полному восстановлению индуцированной овариэктомией потери прочности тела позвонков, шейки бедренной кости, увеличению МПКТ метафиза большеберцовой кости. Это исследование показало, что абалопаратид способствует быстрому формированию качественно новой костной ткани у обезьян с остеопенией, а также улучшению прочности костей в клинически значимых участках [45].

Сообщалось, что абалопаратид и терипаратид имеют сравнимую эффективность в предупреждении разрушения позвоночника у женщин в постменопаузальном периоде с возможным более ранним и более выраженным эффектом абалопаратида в снижении риска основных костных событий, связанных с остеопорозом [33; 87; 115]. Результаты испытаний на основании данных двойной рентгеновской абсорбциометрии и биохимических маркеров костного метаболизма зафиксировали высокую эффективность абалопаратида (ВА058) в стимуляции роста и увеличения МПКТ в бедренной кости, шейке бедренной кости и в поясничном отделе позвоночника у женщин в постменопаузе с остеопорозом [11; 87]. Эти эффекты значительно превосходили аналогичное действие на костную ткань терипаратида.

Однако сравнительная оценка анаболических эффектов терипаратида и абалопаратида имеет немало дискуссионных моментов и противоречивых логических умозаключений. Основная причина этих дискуссий состоит в различной трактовке зафиксированных во многих исследованиях эффектов обоих лигандов ПТГ/ПТГрП-рецептора [108]. Является ли это результатом недостаточной эффективности терипаратида и свидетельством эффективности абалопаратида? Определение преимущества одного препарата над другим является сложной задачей, особенно когда анализируемые в ходе исследования события (костные переломы) являются, в общем-то, нечастыми. Утверждения о том, что абалопаратид стимулирует образование костной ткани с меньшим сопутствующим увеличением ее резорбции, чем терипаратид, имеют существенный недостаток. Существуют убедительные доказательства [91; 100], что анаболический эффект ПТГ через ПТГ/ПТГрП-рецептор у человека обеспечивается в основном (70%) за счет увеличения количества и активности структурно-функциональных единиц костной ткани.

Последние данные [41] свидетельствуют, что существует также некоторое моделирование эффекта на поверхности надкостницы. Поэтому если абалопаратид действует через ПТГ/ПТГрП-рецептор и при этом используется «ПТГ-анаболический» путь ремоделирования кости, резорбция является неизбежным компонентом этого процесса, так как анаболический механизм ПТГ требует набора и активации новых структурно-функциональных единиц костной ткани. По логике вещей, если будет меньше ремоделирование, будет меньшим и анаболический эффект. Механизм действия

абалопаратида представляет интерес независимо от того, является ли он идентичным действием терипаратида. При трактовке эффектов абалопаратида и терипаратида необходимо принимать во внимание тот факт, что оба препарата действуют через один и тот же рецептор [108].

Молекулярные механизмы, лежащие в основе различий между абалопаратидом и терипаратидом, неизвестны, но могут определяться различиями в селективности этих двух лигандов для различных конформаций ПТГ/ПТГрП-рецептора и расходящимися путями внутриклеточной сигнализации в клетках костной ткани, что может определять отличия в их совокупном ответе на эти пептидные препараты.

Структурно различные лиганды могут связываться с разными конформациями рецептора. Конформация рецептора R0 является G-белок-независимой и, таким образом, не зависит от аналогов, которые действуют путем диссоциации комплекса G-белок-рецептор. Следовательно, при активации рецептора лигандом длительного действия, таким как аналог РТН (терипаратид), чистый эффект включает как анаболический, так и остеорезорбтивный компоненты. И наоборот, лиганд короткого действия (абалопаратид) взаимодействует с G-белок-зависимой конформацией (RG) рецептора. При этом взаимодействие рецептора с рецептором происходит лишь на короткое время из-за быстрой диссоциации комплекса лиганд-рецептор вследствие активации G-белка, тем самым вызывая чистый анаболический эффект в естественных условиях. Абалопаратид отличается от ПТГ и его аналога в 1000 раз более высокой селективной афинностью в отношении белок-зависимой (RG) конформации ПТГ/ПТГрП-рецептора [63].

Было проведено исследование эффективности и безопасности применения абалопаратида для предотвращения новых переломов позвоночника у женщин в постменопаузе с риском развития остеопоротических переломов в сравнении с терипаратидом и плацебо. Среди женщин в постменопаузе с остеопорозом использование подкожного введения абалопаратида в течение 18 месяцев, по сравнению с плацебо, снижало риск новых вертебральных и внепозвоночных переломов [115]. Результаты исследования биоптатов гребня подвздошной кости с использованием количественной гистоморфометрии в подгруппах пациентов, получавших плацебо, абалопаратид подкожно в дозе 80 мкг или терипаратид в дозе 20 мкг в течение от 12 до 18 месяцев с целью оценки безопасности влияния абалопаратида на костную ткань подтвердили, что у женщин в постменопаузе с остеопорозом, получавших абалопаратид, структура костной ткани, костной матрицы, морфология костных клеток и костного мозга были нормальными. Не было зафиксировано никаких признаков чрезмерного роста кости, фиброза костного мозга или нарушений минерализации [117].

В 2015 году на заседаниях Эндокринологического общества (Сан-Диего, Калифорния, 5-8 марта) и Американского общества минеральных исследований (Сиэтл, штат Вашингтон, 9-12 октября) были представлены предварительные результаты исследования ACTIVE, в рамках которого исследовали эффекты 18-месячного введения абалопаратида на показатели МПКТ, возникновение новых переломов тел позвонков, а также внепозвоночных переломов у женщин с остеопорозом в постменопаузе в сравнении с этими же показателями у женщин, получавших терипаратид [59].

У исследуемых, получавших абалопаратид, зафиксировано наибольшее снижение частоты возникновения новых переломов позвоночника и внепозвоночных переломов по сравнению с пациентами, получавшими терипаратид либо плацебо. Абалопаратид снижал риск развития новых переломов позвонков на 86% и внепозвоночных переломов на 43% по сравнению с плацебо [33]. В конце 18-месячного периода исследования у пациентов, получавших либо абалопаратид, либо терипаратид, отмечен рост МПКТ в поясничном отделе позвоночника. У пациентов, получавших абалопаратид, зафиксировано значительно большее увеличение МПКТ в бедренной кости, в дистальной части лучевой кости и в шейке бедра по сравнению с группой, получавшей терипаратид [31; 87; 116]. Результаты проведенных исследований подтверждают, что абалопаратид может стать эффективным анаболическим средством для терапии остеопороза [32].

Препарат прошел в 2014 году 3-ю фазу рандомизированных, двойных слепых плацебо и компаратор контролируемых клинических испытаний в рамках международного многоцентрового исследования в 28 медицинских центрах США, Великобритании, Индии, Аргентины [115; 116]. Выводы по результатам 3-й фазы клинических испытаний предполагают, что абалопаратид может быть эффективным анаболическим агентом, применяемым в качестве препарата первой линии для лечения остеопороза. Меньшая по сравнению с терипаратидом стимуляция ремоделирования может предотвратить увеличение пористости и обеспечить более быстрое повышение прочности кортикальной части костной ткани. Важно определить, какой эффект вызывает введение абалопаратида после мощной антирезорбтивной терапии с использованием деносумаба или бисфосфонатов. Меньшая степень ремоделирования стимуляции в этой ситуации может удовлетворить потребности большой группы пациентов, для которых анаболический эффект является целесообразным [32]. В настоящее время абалопаратид проходит рассмотрение в Управлении по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA). Одобрение ожидается в 2017 году [25]. Утверждается, что дальнейшее исследование других аналогов ПТГрП является перспективным и целесообразным, поскольку у них есть потенциал, чтобы выступать в

качестве альтернативных анаболических скелетных факторов, которые могли бы преодолеть некоторые из проблем современной медицины [11; 107].

В заключение обзора данных литературы по вопросу остеотропных эффектов ПТГрП представляется возможным констатировать, что ПТГрП является важным белком не только для нормальных физиологических процессов, таких как пренатальное развитие скелета, участие в метаболизме кальция и регуляция костного ремоделирования в постнатальном периоде, но и в качестве важного фактора развития различных видов рака и их костного метастазирования. ПТГрП является ключевым регулятором взаимодействия опухолевых клеток и костной микросреды, оказывая многогранное действие посредством эндокринных, паракринных, аутокринных и интракринных механизмов на различные биологические функции.

Список литературы

1. Ahlstrom M., Pekkinen M., Lamberg-Allardt C. Dexamethasone downregulates the expression of parathyroid hormone-related protein (PTHrP) in mesenchymal stem cells // *Steroids*. – 2009. – 74 (2):277-282.
2. Akhtari M., Mansuri J., Newman K.A. et al. Biology of breast cancer bone metastasis // *Cancer Biol Ther*. – 2008. – 7:3–9.
3. Albright F. Case records of the Massachusetts General Hospital (case 27461) // *N Engl J Med*. – 1941. – V. 225. – № 20. – С. 789-791.
4. Alonso V., de Gortázar A.R., Ardura J.A. et al. Parathyroid hormone-related protein (107–139) increases human osteoblastic cell survival by activation of vascular endothelial growth factor receptor-2 // *J. Cell. Physiol*. – 2008. – 217:717–727.
5. Alvarez J., Sohn P., Zeng X. et al. TGFβ2 mediates the effects of hedgehog on hypertrophic differentiation and PTHrP expression // *Development*. – 2002. – 129:1913–1924.
6. Amizuka N., Karaplis A.C., Henderson J.E. et al. Haploin sufficiency of parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) results in abnormal postnatal bone development // *DevBiol*. – 1996. – 175 (1):166–176.
7. Amizuka N., Warshawsky H., Henderson J.E. et al. Parathyroid hormone-related peptide-depleted mice show abnormal epiphyseal cartilage development and altered endochondral-bone formation // *J Cell Biol*. – 1994. – 126 (6):1611–1623.
8. Anborgh P.H., Mutrie J.C., Tuck A.B., Chambers A.F. Role of the metastasis-promoting protein osteopontin in the tumour microenvironment // *J. Cell. Mol. Med*. – 2010. – 14 (8):2037–2044.

9. Ardura J.A., Portal-Núñez S., Castelbón-Calvo I. et al. Parathyroid Hormone-Related Protein Protects Osteoblastic Cells From Oxidative Stress by Activation of MKP1 Phosphatase // *J. Cell. Physiol.* - 2017. - 232: 785–796.
10. Ardura J.A., Portal-Núñez S., Lozano D. et al. Local delivery of parathyroid hormone-related protein-derived peptides coated onto a hydroxyapatite-based implant enhances bone regeneration in old and diabetic rats // *J Biomed Mater Res Part A.* – 2016. - 104A:2060–2070.
11. Augustine M., Horwitz M.J. Parathyroid hormone and parathyroid hormone-related protein analogs as therapies for osteoporosis // *Curr Osteoporos Rep.* – 2013. - 11:400–406.
12. Azim H.A., Kamal N.S., Azim H.A. Bone metastasis in breast cancer: the story of RANK-ligand // *J Egypt Natl Canc Inst.* – 2012. – 24 (3):107-114.
13. Bahar H., Gallacher K., Downall J., Carol A. Nelson, Maysoun Shomali and Gary Hattersley Six Weeks of Daily Abaloparatide Treatment Increased Vertebral and Femoral Bone Mineral Density, Microarchitecture and Strength in Ovariectomized Osteopenic Rats // *Calcif Tissue Int.* – 2016. – 99 (5): 489–499.
14. Baud'huin M., Duplomb L., RuizVelasco C. et al. Key roles of the OPG-RANK-RANKL system in bone oncology // *Expert Rev Anticancer Ther.* - 2007. - 7. (2): 221–232.
15. Bisello A., Horwitz M.J., Stewart A.F. Parathyroid hormone-related protein: an essential physiological regulator of adult bone mass // *Endocrinology.* – 2004. - Aug; 145 (8):3551-3553.
16. Boileau G., Tenenhouse H.S., Desgroseillers L. et al. Characterization of PHEX endopeptidase catalytic activity: identification of parathyroid-hormone-related peptide 107-139 as a substrate and osteocalcin, PPI and phosphate as inhibitors // *Biochem J.* – 2001. - May 1; 355 (Pt 3):707-713.
17. Bryden A.A., Islam S., Freemont A.J. et al. Parathyroid hormone-related peptide: expression in prostate cancer bone metastases // *Prostate Cancer Prostatic Dis.* – 2002. – 5 (1):59-62.
18. Bubendorf L., Schopfer A., Wagner U. et al. Metastatic patterns of prostate cancer: an autopsy study of 1, 589 patients // *Hum. Pathol.* – 2000. – 31 (5):578–583.
19. Budayr A.A., Halloran B.P., King J.C. et al. High levels of a parathyroid hormone-like protein in milk // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1989. - 86:7183–7185.
20. Burtis W.J., Wu T., Bunch C. et al. Identification of a novel 17, 000-dalton parathyroid hormone-like adenylatecyclase-stimulating protein from a tumor associated with humoral hypercalcemia of malignancy // *J Biol Chem.* – 1987. - 262:7151–7156.
21. Cackowski F.C., Anderson J.L., Patrene K.D. et al. Osteoclasts are important for bone angiogenesis // *Blood.* – 2010. – 115 (1):140–149.
22. Care A.D., Abbas S.K., Pickard D.W. et al. Stimulation of ovine placental transport of calcium and magnesium by mid-molecule fragments of human parathyroid hormone-related protein // *Exp Physiol.* – 1990. - 75:605–608.

23. Casado-Diaz A., Santiago Mora R., Quesada J.M. The N- and C-terminal domains of parathyroid hormone-related protein affect differently the osteogenic and adipogenic potential of human mesenchymal stem cells // *Exp. Mol. Med.* – 2010. - 42 (2). 87-98.
24. Chen X., Macica C., Nasiri A. et al. Mechanical regulation of PTHrP expression in entheses // *Bone.* – 2007. - 41:752–759.
25. Chew C.K., Clarke B.L. Abaloparatide: Recombinant human PTHrP (1-34) anabolic therapy for osteoporosis // *Maturitas.* – 2017. - Mar. 97:53-60.
26. Chirgwin J.M., Guise T.A. Skeletal metastases: decreasing tumor burden by targeting the bone microenvironment // *J. Cell. Biochem.* – 2007. – 102 (6):1333–1342.
27. Clarke N.W., Hart C.A., Brown M.D. Molecular mechanisms of metastasis in prostate cancer // *Asian Journal of Andrology.* – 2009. - 11: 57–67.
28. Coleman R.E. Clinical features of metastatic bone disease and risk of skeletal morbidity // *Clin. Cancer Res.* – 2006. – 12 (20 Pt 2):6243s–6249s.
29. Compston J.E. Skeletal actions of intermittent parathyroid hormone: effects on bone remodelling and structure // *Bone.* – 2007. - 40:1447–1452.
30. Correa D., Hesse E., Seriwatanachai D. et al. Zfp521 is a target gene and key effector of parathyroid hormone-related peptide signaling in growth plate chondrocytes // *Dev Cell.* – 2010. - 19 : 533–546.
31. Cosman F., Miller P., Hattersley G. et al. Eighteen Months of Treatment with Abaloparatide Followed by Six Months of Treatment with Alendronate in Postmenopausal Women with Osteoporosis – Results of the AC-TIVExtend Trial. [Accessed December 15] // *J Bone Miner Res.* - 2015. – 30 (Suppl 1). – URL: <http://www.asbmr.org/education/AbstractDetail?aid=2c415387-d6d3-48d3-adca-697f94489dec>.
32. Cosman F. Abaloparatide: a new anabolic therapy on the horizon // *BoneKey Reports.* – 2015. - 4:661.
33. Cosman F., Hattersley G., Hu M. - y. et al. Effects of Abaloparatide-SC on Fractures and Bone Mineral Density in Subgroups of Postmenopausal Women With Osteoporosis and Varying Baseline Risk Factors // *J Bone Miner Res.* – 2017. - 32: 17–23.
34. Cuthbertson R.M., Kemp B.E., Barden J.A. Structure study of osteostatinPTHrP[Thr107](107-139) // *BiochimBiophysActa.* - 1999. - Jun 15; 1432 (1):64-72.
35. Datta N.S., Abou-Samra A.B. PTH and PTHrP signaling in osteoblasts // *Cell. Signal.* – 2009. – 21 (8):1245–1254.
36. Datta N.S., Pettway G.J., Chen C. et al. Cyclin D1 as a target for the proliferative effects of PTH and PTHrP in early osteoblastic cells // *J. Bone Miner. Res.* – 2007. – 22 (7):951–964.

37. de Castro L.F., Lozano D., Dapía S. et al. Role of the N- and C-terminal fragments of parathyroid-hormone-related protein as putative therapies to improve bone regeneration under high glucocorticoid treatment // *Tissue Eng Part A*. – 2010. - 16:1157–1168.
38. de Castro L.F., Lozano D., Portal-Núñez S. et al. Comparison of the skeletal effects induced by daily administration of PTHrP (1-36) and PTHrP (107-139) to ovariectomized mice. // *J. Cell. Physiol.* – 2012. - Apr; 227 (4):1752-60.
39. de la Mata J., Uy H.L., Guise T.A. et al. Interleukin-6 enhances hypercalcemia and bone resorption mediated by parathyroid hormone-related protein in vivo // *J. Clin. Invest.* – 1995. – 95 (6):2846–2852.
40. Deftos L.J., Barken I., Burton D.W. et al. Direct evidence that PTHrP expression promotes prostate cancer progression in bone // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2005. - 327: 468–472.
41. Dempster D., Zhou H., Recker R.R. et al. Longitudinal changes in modelling- and remodelling-based bone formation with an anabolic vs an antiresorptive agent in the AVA Osteoporosis Study // *J Bone Miner Res.* – 2016. - 31 (Suppl 1).
42. Devys A., Lortholary A., Audran M. PTHrP and breast cancer // *Bull Cancer.* – 2001. - Nov; 88 (11):1075-80.
43. Dong J., Shen Y., Culler M. et al. Highly potent analogs of human parathyroid hormone and human parathyroid hormone-related protein // Houghten R.L., Lebl M., editors. *Peptides: the wave of the future*. American Peptide Society. – 2001. - P. 668–9.
44. Dougherty K.M., Blomme E.A., Koh A.J. et al. Parathyroid hormone-related protein as a growth regulator of prostate carcinoma // *Cancer Res.* – 1999. - Dec; 59 (23):6015-22.
45. Doyle N., Varela A., Smith S., Hattersley G. Long Term effect of BA058, a Novel Human PTHrP Analog, Restores Bone Mass in the Aged Osteopenic Ovariectomized Cynomolgus Monkey. [Accessed November 17, 2013] // *J Bone Miner Res.* - 28(Suppl 1). – URL: <http://www.asbmr.org/education/AbstractDe-tail?aid=2f8effe2-87b6-4858-bf42-bb30c3c50689>.
46. Esbrit P., Alcaraz V.J. Current perspectives on parathyroid hormone (PTH) and PTH-related protein (PTHrP) as bone anabolic therapies // *Biochemical Pharmacology.* – 2013. - V. 85, Issue 10, 15 May. – P. 1417–1423.
47. Esbrit P., Herrera S., Portal-Núñez S. et al. Parathyroid Hormone-Related Protein Analogs as Osteoporosis Therapies // *Calcified Tissue International.* – 2016. - April, V. 98, Issue 4. – P. 359–369.
48. Fenton A.J., Kemp B.E., Hammonds R.G. et al. A potent inhibitor of osteoclastic bone resorption within a highly conserved pentapeptide region of parathyroid hormone-related protein; PTHrP[107-111] // *Endocrinology.* - 1991. - 129 (6): 3424–3426.

49. Fenton A.J., Kemp B.E., Kent G.N. et al. A carboxyl-terminal peptide from the parathyroid hormone-related protein inhibits bone resorption by osteoclasts // *Endocrinology*. - 1991. - 129 (4): 1762–1768.
50. Fiaschi-Taesch N.M., Stewart A.F. Minireview: parathyroid hormone-related protein as an intracrine factor – trafficking mechanisms and functional consequences // *Endocrinology*. – 2003. – 144 (2):407–411.
51. Fidler I.J. The pathogenesis of cancer metastasis: the ‘seed and soil’ hypothesis revisited // *Nat. Rev. Cancer*. – 2003. – 3 (6):453–458.
52. Frieling J.S., Shay G., Lynch C.C. MMP processing of bone metastatic prostate cancer-derived PTHrP yields novel osteogenic peptides. [abstract] / Proceedings of the 106th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research; 2015 Apr 18-22; Philadelphia (PA): AACR // *Cancer Res*. – 2015. - 75 (15 Suppl):Abstract nr 2386.
53. Frolik C.A., Cain R.L., Sato M. et al. Comparison of Recombinant Human PTH(1–34) (LY333334) with a C-Terminally Substituted Analog of Human PTH-Related Protein(1–34) (RS-66271): In Vitro Activity and In Vivo Pharmacological Effects in Rats // *J Bone Miner Res*. – 1999. - 14: 163–172.
54. Gallagher J.C. et al. (Semparatide Investigators). PTHrP (1-34) analog, semparatide acetate (RS-66271) causes sustained increases BMD in spine in postmenopausal osteoporotic women: two randomised placebo-controlled trials // *J. Bone and Miner. Res. Annual Meeting*. September 30-October 4 1999; St. Louis, Mo. Abstr. 1018.
55. Gao C.L., Dean R.C., Pinto A. et al. Detection of circulating prostate specific antigen expressing prostatic cells in the bone marrow of radical prostatectomy patients by sensitive reverse transcriptase polymerase chain reaction // *J. Urol*. – 1999. – 161 (4):1070–1076.
56. García-Martín A., Acitores A., Maycas M. et al. Src kinases mediate VEGFR2 transactivation by the osteostatin domain of PTHrP to modulate osteoblastic function // *J. Cell. Biochem*. – 2013. - 114:1404–1413.
57. García-Martín J.A., Ardura M., Maycas D. et al. Functional Roles of the Nuclear Localization Signal of Parathyroid Hormone-Related Protein (PTHrP) in Osteoblastic Cells. // *Mol Endocrinol*. – 2014. - 28 (6): 925-934.
58. Goltzman D. Studies on the mechanisms of the skeletal anabolic action of endogenous and exogenous parathyroid hormone // *Arch Biochem Biophys*. - 2008. - 473. - 218–224.
59. Gonnelli S., Caffarelli C. Abaloparatide // *Clin Cases Miner Bone Metab*. – 2016. - May-Aug; 13 (2): 106–109.
60. Grill V., Hillary J., Ho P. M. et al. Parathyroid hormone-related protein: a possible endocrine function in lactation // *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. – 1992. - 37:405–410.

61. Guerreiro P.M., Renfro J.L., Power D.M., Canario A.V. The parathyroid hormone family of peptides: structure, tissue distribution, regulation, and potential functional roles in calcium and phosphate balance in fish // *Am. J. Physiol. RegulIntegr. Comp. Physiol.* – 2007. - 292 :R679 – R696.
62. Guise T.A., Kozlow W.M., Heras-Herzig A. et al. Molecular mechanisms of breast cancer metastases to bone // *Clin Breast Cancer.* – 2005. - Feb; 5 Suppl (2):S46-53.
63. Hattersley G., Dean T., Corbin B.A., Bahar H., Gardella T.J. Binding selectivity of abaloparatide for PTH-type-1-receptor conformations and effects on downstream signaling // *Endocrinology.* – 2016. – 157 (1):141–9.
64. Henderson J.E., Amizuka N., Warshawsky H. et al. Nucleolar localization of parathyroid hormone-related peptide enhances survival of chondrocytes under conditions that promote apoptotic cell death // *Molecular and Cellular Biology.* - 1995. - 15. - 4064–4075.
65. Hildreth B.E., Williams M.M., Dembek K.A. et al. Engraftment and bone mass are enhanced by PTHrP 1–34 in ectopically transplanted vertebrae (vossicle model) and can be non-invasively monitored with bioluminescence and fluorescence imaging // *Transgenic Research.* December. – 2015. – V. 24, Issue 6. – P. 955–969.
66. Hilton M.J., Tu X., Cook J., Hu H., Long F. Ihh controls cartilage development by antagonizing Gli3, but requires additional effectors to regulate osteoblast and vascular development // *Development.* – 2005. - 132 : 4339–4351.
67. Hilton M.J., Tu X., Long F. Tamoxifen-inducible gene deletion reveals a distinct cell type associated with trabecular bone, and direct regulation of PTHrP expression and chondrocyte morphology by Ihh in growth region cartilage // *Dev Biol.* – 2007. - 308:93–105.
68. Hirai T., Chagin A.S., Kobayashi T. et al. Parathyroid hormone/parathyroid hormone-related protein receptor signaling is required for maintenance of the growth plate in postnatal life // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2011. - 108 (1):191-196.
69. Hook V.Y., Burton D., Yasothornsrikul S. et al. Proteolysis of ProPTHrP (1-141) by "pro-hormonethiol protease" at multibasic residues generates PTHrP-related peptides: implications for PTHrP peptide production in lung cancer cells // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2001. - Jul 27; 285 (4):932-938.
70. Horwitz M.J., Tedesco M.B., Sereika S.M. et al. Continuous PTH and PTHrP infusion causes suppression of bone formation and discordant effects on 1, 25(OH)₂ vitamin D // *J Bone Miner Res.* – 2005. - 20:1792–1803.
71. Iddon J., Bundred N.J., Hoyland J. et al. Expression of parathyroid hormone-related protein and its receptor in bone metastases from prostate cancer // *The Journal of pathology.* – 2000. - 191: 170–174.

72. Jin R., Sterling J.A., Edwards J.R. et al. Activation of NF-kappa B signaling promotes growth of prostate cancer cells in bone // *PLoS One*. – 2013. – 8 (4):e 60983.
73. Johnson R.W., Nguyen M.P., Padalecki S.S. et al. TGF- β promotion of Gli2-induced expression of parathyroid hormone-related protein, an important osteolytic factor in bone metastasis, is independent of canonical Hedgehog signaling // *Cancer Res*. – 2011. - 71:822–831.
74. Kaplan R.N., Psaila B., Lyden D. Bone marrow cells in the ‘pre-metastatic niche’: within bone and beyond // *Cancer Metastasis Rev*. – 2006. – 25 (4):521–529.
75. Karaplis A.C., Luz A., Glowacki J. et al. Lethal skeletal dysplasia from targeted disruption of the parathyroid hormone-related peptide gene // *Genes Dev*. – 1994. - 8:277–289.
76. Kelly T., Suva L.J., Huang Y. et al. Expression of heparanase by primary breast tumors promotes bone resorption in the absence of detectable bone metastases // *Cancer Res*. – 2005. – 65 (13):5778–5784.
77. Kelly T., Suva L.J., Nicks K.M. et al. Tumor-derived syndecan-1 mediates distal cross-talk with bone that enhances osteoclastogenesis // *J. Bone Miner. Res*. – 2010. – 25 (6):1295–1304.
78. Kovacs C.S. Calcium and bone metabolism in pregnancy and lactation // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2001. - 86:2344–2348.
79. Kovacs C.S. The role of PTHrP in regulating mineral metabolism during pregnancy, lactation, and fetal/neonatal development clinical reviews in bone and mineral metabolism. – 2014. - September; V. 12, Issue 3. – P. 142–164.
80. Kovacs C.S., Lanske B., Hunzelman J.L. et al. Parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) regulates fetal-placental calcium transport through a receptor distinct from the PTH/PTHrP receptor // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. - 1996. - Vol. 93, N 26. - 15233-15238.
81. Kozhemyakina E., Cohen T., Yao T.P., Lassar A.B. Parathyroid hormone-related peptide represses chondrocyte hypertrophy through a protein phosphatase 2A/histone deacetylase 4/MEF2 pathway // *Mol Cell Biol*. – 2009. - 29:5751–5762.
82. Koziel L., Wuelling M., Schneider S., Vortkamp A. Gli3 acts as a repressor downstream of Ihh in regulating two distinct steps of chondrocyte differentiation // *Development*. – 2005. - 132:5249–5260.
83. Kronenberg H.M. PTHrP and skeletal development // *Ann. N. Y. Acad. Sci*. – 2006. - 1068: 1–13.
84. Kuo P.L., Liao S.H., Hung J.Y. et al. MicroRNA-33a functions as a bone metastasis suppressor in lung cancer by targeting parathyroid hormone related protein // *Biochim Biophys Acta*. – 2013. – 1830 (6):3756-66.
85. Langley R.R., Fidler I.J. The seed and soil hypothesis revisited – the role of tumor–stroma interactions in metastasis to different organs // *J. Cancer*. – 2011. – 128 (11):2527–2535.

86. Lanske B., Amling M., Neff L. et al. Ablation of the PTHrP gene or the PTH/PTHrP receptor gene leads to distinct abnormalities in bone development // *J Clin Invest.* – 1999. - 104:399–407.
87. Leder B.Z., O’Dea L.S., Zanchetta J.R. et al. Effects of abaloparatide, a human parathyroid hormone-related peptide analog, on bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2015. - 100:697–706.
88. Li J., Karaplis A.C., Huang D.C. et al. PTHrP drives breast tumor initiation, progression, and metastasis in mice and is a potential therapy target // *J. Clin. Invest.* – 2011. – 121 (12):4655–4669.
89. Li X., Loberg R., Liao J. et al. A destructive cascade mediated by CCL2 facilitates prostate cancer growth in bone // *Cancer Res.* – 2009. – 69 (4):1685–1692.
90. Liao J., Li X., Koh A.J. et al. Tumor expressed PTHrP facilitates prostate cancer-induced osteoblastic lesions // *J. Cancer.* – 2008. – 123 (10):2267–2278.
91. Lindsay R., Cosman F., Zhou H. et al. A novel tetracycline labeling schedule for longitudinal evaluation of the short-term effects of anabolic therapy with a single iliac crest bone biopsy: early actions of teriparatide // *J Bone Miner Res.* – 2006. – 21 (3):366–73.
92. Loberg R.D., Gayed B.A., Olson K.B., Pienta K.J. A paradigm for the treatment of prostate cancer bone metastases based on an understanding of tumor cell–microenvironment interactions // *J. Cell. Biochem.* – 2005. – 96 (3):439–446.
93. López-Herradón A., Portal-Núñez S., García-Martín et al. Inhibition of the canonical Wnt pathway by high glucose can be reversed by parathyroid hormone-related protein in osteoblastic cells // *J. Cell. Biochem.* – 2013. - 114: 1908–1916.
94. Lozano D., de Castro L.F., Dapía S. et al. Role of parathyroid hormone-related protein in the decreased osteoblast function in diabetes-related osteopenia // *Endocrinology.* – 2009. - 150: 2027–2035.
95. Lozano D., de-Castro L.F., Portal-Núñez S. et al. The C-terminal fragment of parathyroid hormone-related peptide promotes bone formation in diabetic mice with low-turnover osteopaenia // *Br J Pharmacol.* – 2011. - 162:1424–1438.
96. Lozano D., Manzano M., Doadrio J.C. et al. Osteostatin-loaded bioceramics stimulate osteoblastic growth and differentiation // *Acta Biomater.* – 2010. - 6:797–803.
97. Lozano D., Sánchez-Salcedo S., Portal-Núñez S. et al. Parathyroidhormone-relatedprotein (107-111) improvestheboneregenerationpotentialofgelatin-glutaraldehydebiopolymer-coatedhydroxyapatite // *ActaBiomater.* – 2014. - Jul; 10 (7):3307-16. doi: 10. 1016/j. actbio. 2014. 03. 025. Epub 2014 Apr 2.

98. Lozano D., Feito M.J., Portal-Núñez S. et al. Osteostatin improves the osteogenic activity of fibroblast growth factor-2 immobilized in Si-doped hydroxyapatite in osteoblastic cells // *ActaBiomater.* – 2012. - Jul; 8 (7):2770-7.
99. Lynch C.C., Hikosaka A., Acuff H.B. et al. MMP-7 promotes prostate cancer-induced osteolysis via the solubilization of RANKL // *Cancer Cell.* – 2005. – 7 (5):485–496.
100. Ma Y.L., Zeng Q., Donley D.W. et al. Teriparatide increases bone formation in modeling and remodeling osteons and enhances IGF-II immunoreactivity in postmenopausal women with osteoporosis // *J Bone Miner Res.* – 2006. – 21 (6):855–64.
101. Macica C., Liang G., Nasiri A. et al. Genetic evidence of the regulatory role of parathyroid hormone-related protein in articular chondrocyte maintenance in an experimental mouse model // *ArthritisRheum.* – 2011. - 63:3333–3343.
102. Mak I.W., Turcotte R.E., Ghert M. Parathyroidhormone-relatedprotein (PTHrP) modulatesadhesion, migrationandinvasioninbonetumorcells // *Bone.* – 2013. - 55(1):198-207.
103. Makino A., Takagi H., Sugiyama H. et al. Effects of Abaloparatide on the Expression of Bone Resorption- and Formation-related Factors in Osteoblastic Cells; a Comparison with Teriparatide. [Accessed December 15, 2015] // *J Bone Miner Res.* – 30 (Suppl 1) Available at <http://www.asbmr.org/education/AbstractDe-tail?aid=e8d72266-6e35-427b-b39e-1e1cd6529e06>
104. Mamillapalli R., VanHouten J., Zawalich W., Wysolmerski J. Switching of G-protein usage by the calcium-sensing receptor reverses its effect on parathyroid hormone-related protein secretion in normal versus malignant breast cells // *J Biol Chem.* – 2008. - 283 : 24435–24447.
105. Manring M.M., Calhoun J.H. Biographical sketch: Fuller Albright, MD 1900–1969 // *Clin. Orthop. Relat. Res.* – 2011. – 469 (8):2092–2095.
106. Marino R. Growth plate biology: new insights // *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* - 2011. - 18 : 9–13.
107. Martin T.J. Parathyroid Hormone-Related Protein, Its Regulation of Cartilage and Bone Development, and Role in Treating Bone Diseases // *Physiological Reviews.* - May 2016. - Vol. 96. - 3, 831-871.
108. Martin T.J., Seeman E. Abaloparatide Is an Anabolic, but Does It Spare Resorption? // *J Bone Miner Res.* – 2017. - Jan; 32(1):11-16.
109. Martínez M.E., García-Ocaña A., Sánchez et al. C-Terminal Parathyroid Hormone-Related Protein Inhibits Proliferation and Differentiation of Human Osteoblast-like Cells // *J Bone Miner Res.* – 1997. - 12: 778–785.
110. Maycas M., McAndrews K.A., Sato A.Y. et al. PTHrP-Derived Peptides Restore Bone Mass and Strength in Diabetic Mice: Additive Effect of Mechanical Loading // *J Bone Miner Res.* - 2017. - 32: 486–497.

111. McCauley L.K., Martin T.J. Twenty-five years of PTHrP progress from cancer hormone to multi-functional cytokine // *J. Bone Miner. Res.* – 2012. – 27 (6):1231–1239.
112. Miao D., He B., Jiang Y. et al. Osteoblast-derived PTHrP is a potent endogenous bone anabolic agent that modifies the therapeutic efficacy of administered PTH 1-34 // *J Clin Invest.* – 2005. - 115:2402–2411.
113. Miao D., He B., Karaplis A.C. Parathyroid hormone is essential for normal fetal bone formation // *J. Clin. Invest.* - 2002. - 109:1173–1182.
114. Miao D., Li J., Xue Y. et al. Parathyroid hormone-related peptide is required for increased trabecular bone volume in parathyroid hormone-null mice // *Endocrinology.* – 2004. - 145:3554–3562.
115. Miller P.D., Hattersley G., Riis B.J. et al. Effect of abaloparatide vs placebo on new vertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: a randomized clinical trial // *JAMA.* – 2016. - Aug 16; 316 (7):722-733.
116. Miller P.D., Leder B.Z., Hattersley G. et al. Effects of Abaloparatide on Vertebral and Non-Vertebral Fracture Incidence in Postmenopausal Women with Osteoporosis - Results of the Phase 3 Active Trial // *Endocrine Reviews.* - 2015; 36(2) <http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/endo-meetings.2015.BCHVD.9.LB-OR01-3#sthash.PUdLI19z.dpuf>.
117. Moreira C., Fitzpatrick L., Wang Y., Recker R. Effects of abaloparatide-SC (BA058) on bone histology and histomorphometry: the ACTIVE phase 3 trial // *Bone. Epub.* – 2016. - Nov 5. DOI:10.1016/j.bone.2016.11.004
118. Morris M.J., Scher H.I. Clinical Approaches to Osseous Metastases in Prostate Cancer // *The Oncologist.* – 2003. - April, V. 8. - P. 161-173.
119. Moseley J.M., Kubota M., Diefenbach-Jagger H. et al. Parathyroid hormone-related protein purified from a human lung cancer cell line // *PNAS.* - 1987. - 84 - 5048–5052.
120. Mundy G.R. Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities // *Nat Rev Cancer.* – 2002. - 2:584–593.
121. Nakashima T., Hayashi M., Fukunaga T. et al. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression // *Nat. Med.* – 2011. – 17 (10):1231–1234.
122. Nguyen D.X., Bos P.D., Massague J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization // *Nat. Rev. Cancer.* – 2009. – 9 (4):274–284.
123. Nissenson R.A. Parathyroid hormone (PTH)/PTHrP receptor mutations in human chondrodysplasia // *Endocrinology.* – 1998. - 139 : 4753–4755.
124. Ohba S., Chung U. PTHrP Action on Skeletal Development: A Key for the Controlled Growth of Endochondral Bones // *Clinic Rev Bone Miner Metab.* – 2014. - 12: 130.

125. Okazaki M., Ferrandon S., Vilardaga J.P. et al. Prolonged signaling at the parathyroid hormone receptor by peptide ligands targeted to a specific receptor conformation // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2008. - 105:16525–16530.
126. Ongkeko W.M., Burton D., Kiang A. et al. Parathyroid Hormone Related-Protein Promotes Epithelial-to-Mesenchymal Transition in Prostate Cancer // *PLoS ONE*. – 2014. – 9 (1): e85803.
127. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889 // *Cancer Metastasis Rev.* – 1889. – 8 (2):98–101.
128. Pettway G.J., McCauley L.K. Ossicle and vossicle implant model systems // *Methods Mol Biol.* – 2008. - 455:101–110.
129. Philbrick W.M., Wysolmersli J.J., Galbraith S. et al. Defining the roles of the parathyroid hormone-related protein in normal physiology // *Physiological Reviews*. – 1996. - 76, 127–173.
130. Philbrick W.M., Dreyer B.E., Nakchbandi I.A. et al. Parathyroid hormone-related protein is required for tooth eruption // *PNAS*. – 1998. - 95, 11846–11851.
131. Pinheiro P.L.C., Cardoso J.C.R., Gomes A.S. et al. Gene structure, transcripts and calcitropic effects of the PTH family of peptides in *Xenopus* and chicken // *BMCEvol Biol.* – 2010. - 10:373-379.
132. Pioszak A.A., Parker N.R., Gardella T.J., Xu H.E. Structural basis for parathyroid hormone-related protein binding to the parathyroid hormone receptor and design of conformation-selective peptides // *J Biol Chem.* – 2009. - 284:28382–28391.
133. Plotkin H., Gundberg C., Mitnick M., Stewart A.F. Dissociation of bone formation from resorption during 2-week treatment with human parathyroid hormone-related peptide-(1-36) in humans: potential as an anabolic therapy for osteoporosis // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1998. - Aug; 83 (8):2786-91.
134. Polyzos S.A., Makras P., Efstathiadou Z., Anastasilakis A.D. Investigational parathyroid hormone receptor analogs for the treatment of osteoporosis // *Expert OpinInvestig Drugs.* – 2015. - 24:145–157.
135. Preston D.M., Torrén J.I., Harding P. et al. Androgen deprivation in men with prostate cancer is associated with an increased rate of bone loss // *Prostate Cancer and Prostatic Diseases.* – 2002. - 5, 304-310.
136. Quinlan E., Thompson E.M., Matsiko A. et al. Functionalization of a Collagen–Hydroxyapatite Scaffold with Osteostatin to Facilitate Enhanced Bone Regeneration // *AdvHealthcMater.* – 2015. - Dec 9; 4 (17):2649-56.
137. Rabbani S.A., Gladu J., Harakidas P. et al. Over-production of parathyroid hormone-related peptide results in increased osteolytic skeletal metastasis by prostate cancer cells in vivo // *Int J Cancer.* – 1999. - 80: 257–264.

138. Rahim F., Hajizamani S., Mortaz E. et al. Molecular Regulation of Bone Marrow Metastasis in Prostate and Breast Cancer // *Bone Marrow Research*. - Volume 2014; Article ID 405920, 12 pages [http://dx. doi. org/10. 1155/2014/405920](http://dx.doi.org/10.1155/2014/405920)
139. Richard V., Luchin A., Brena R.M. et al. Quantitative evaluation of alternative promoter usage and 3splice variants for parathyroid hormone-related protein by real-time reverse transcription-PCR assay // *Clin Chem*. – 2003. - 49:1398–1402.
140. Rodda C.P., Kubota M., Heath J.A. et al. Evidence for a novel parathyroid hormone-related protein in fetal lamb parathyroid glands and sheep placenta: comparisons with a similar protein implicated in humoral hypercalcemia of malignancy // *J. Endocrinol*. – 1998. - 117:261–271.
141. Roodman G.D. Mechanisms of bone metastasis // *N Engl J Med*. – 2004. - 350:1655–1664.
142. Ryser M.D., Qu Y., Komarova S.V. Osteoprotegerin in bone metastases: mathematical solution to the puzzle // *PLoS Comput Biol*. – 2012. – 8 (10):e1002703.
143. Sanders J.L., Chattopadhyay N., Kifor O. et al. Extracellular calcium-sensing receptor expression and its potential role in regulating parathyroid hormone-related peptide secretion in human breast cancer cell lines // *Endocrinology*. – 2000. - 141:4357–4364.
144. Sato K., Fujii Y., Kasono K. et al. Parathyroid hormone-related protein and interleukin-1 alpha synergistically stimulate bone resorption in vitro and increase the serum calcium concentration in mice in vivo // *Endocrinology*. – 1989. – 124 (5):2172–2178.
145. Schneider A., Kalikin L.M., Mattos A.C. et al. Bone turnover mediates preferential localization of prostate cancer in the skeleton // *Endocrinology*. – 2005. - 146:1727–1736.
146. Seibel M.J. Clinical use of markers of bone turnover in metastatic bone disease // *Nature Clinical Practice Oncology*. – 2005. - 2, 504-517.
147. Sekita A., Matsugaki A., Nakano T. Disruption of collagen/apatite alignment impairs bone mechanical function in osteoblastic metastasis induced by prostate cancer // *Bone*. - 2017. - Vol. 97, April. – P. 83–93.
148. Sellers R.S., Luchin A.I., Richard V. et al. Alternative splicing of parathyroid hormone-related protein mRNA: expression and stability // *J Mol Endocrinol*. – 2004. - Aug; 33 (1):227-241.
149. Simmonds C.S., Kovacs C.S. Role of parathyroid hormone (PTH) and PTH-related protein (PTHrP) in regulating mineral homeostasis during fetal development // *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. – 2010. - 20:235–273.
150. Soki F.N., Park S.I., McCauley L.K. The multifaceted actions of PTHrP in skeletal metastasis // *Future Oncol*. – 2012. - Jul; 8 (7): 803–817.
151. Sowers M.F., Hollis B.W., Shapiro B. et al. Zhang Elevated parathyroid hormone-related peptide associated with lactation and bone density loss // *JAMA*. – 1996. - 276 : 549–554.

152. Stewart A.F., Cain R.L., Burr D.B. et al. Six-month daily administration of parathyroid hormone and parathyroid hormone-related protein peptides to adult ovariectomized rats markedly enhances bone mass and biomechanical properties: a comparison of human parathyroid hormone 1-34, parathyroid hormone-related protein 1-36, and SDZ-parathyroid hormone 893 // *J Bone Miner Res.* – 2000. - 15:1517–1525.
153. Stoppel W.L., Ghezzi C.E., McNamara S.L. et al. Clinical applications of naturally derived biopolymer-based scaffolds for regenerative medicine // *Ann Biomed Eng.* – 2015. - Mar; 43 (3):657-80.
154. Strewler G.J. The physiology of parathyroid hormone-related protein // *New Eng J Med.* – 2000. - 342:177-185.
155. Strewler G.J., Stem P.H., Jacobs J.W. et al. Parathyroid hormonelike protein from human renal carcinoma cells structural and functional homology with parathyroid hormone // *J Clin Invest.* - 1987. - 80:1803–1807.
156. Tabatabaei-Malazy O., Salari P., Khashayar P., Larijani B. New horizons in treatment of osteoporosis // *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences.* - 2017;25:2.
157. Takeuchi Y. Development of hPTHrP (1-36) as an anabolic therapeutic agent for osteoporosis // *Clin Calcium.* – 2011. - Jan; 21 (1):28-32.
158. Toribio R.E., Brown H.A., Novince C.M. et al. The midregion, nuclear localization sequence, and C terminus of PTHrP regulate skeletal development, hematopoiesis, and survival in mice // *FASEBJ.* – 2010. - 24:1947–1957.
159. Trejo C.G., Lozano D., Manzano M. et al. The osteoinductive properties of mesoporous silicate-coated with osteostatin in rabbit femur cavity defect model // *Biomaterials.* – 2010. - Nov; 31 (33):8564-73.
160. Uy H.L., Mundy G.R., Boyce B.F. et al. Tumor necrosis factor enhances parathyroid hormone-related protein-induced hypercalcemia and bone resorption without inhibiting bone formation in vivo // *Cancer Res.* – 1997. – 57 (15):3194–3199.
161. Valín A., García-Ocaña A., De Miguel F. et al. Antiproliferative effect of the C-terminal fragments of parathyroid hormone-related protein, PTHrP-(107–111) and (107–139), on osteoblastic osteosarcoma cells // *J. Cell. Physiol.* - 1997. - 170: 209–215.
162. van der Stok J., Lozano D., Chai Y.C. et al. Osteostatin-coated porous titanium can improve early bone regeneration of cortical bone defects in rats // *Tissue Eng Part A.* – 2015. - May; 21 (9-10):1495-506.
163. Van Houten J., Dann P., McGeoch G. et al. The calcium-sensing receptor regulates mammary gland parathyroid hormone-related protein production and calcium transport // *J Clin Invest.* - 2004. - 113 : 598–608.

164. Van Houten J.N., Dann P., Stewart A.F. et al. Mammary-specific deletion of parathyroid hormone-related protein preserves bone mass during lactation // *J Clin Invest.* - 2003. - 112 : 1429–1436.
165. Van Houten J.N., Wysolmerski J.J. Low estrogen and high parathyroid hormone-related peptide levels contribute to accelerated bone resorption and bone loss in lactating mice // *Endocrinology.* - 2003. - 144 : 5521–5529.
166. Varela A., Chouinard L., Lesage E. et al. One Year of Abaloparatide, a Selective Activator of the PTH1 Receptor, Increased Bone Formation and Bone Mass in Osteopenic Ovariectomized Rats Without Increasing Bone Resorption // *J Bone Miner Res.* - 2017. - 32: 24–33.
167. Vickery B.H., Avnur Z., Cheng Y. et al. RS-66271, a C-terminally substituted analog of human parathyroid hormone-related protein (1-34), increases trabecular and cortical bone in ovariectomized, osteopenic rats // *J Bone Miner Res.* – 1996. - Dec; 11 (12):1943-51.
168. Vilardaga J.P., Romero G., Friedman P.A., Gardella T.J. Molecular basis of parathyroid hormone receptor signaling and trafficking: a family B GPCR paradigm // *Cell Mol Life Sci.* – 2011. - 68 : 1–13.
169. Wang Y., Lei R., Zhuang X. et al. DLC1-dependent parathyroid hormone-like hormone inhibition suppresses breast cancer bone metastasis // *J Clin Invest.* – 2014. - Apr; 124 (4):1646-59.
170. Weilbaecher K.N., Guise T.A., McCauley L.K. Cancer to bone: a fatal attraction // *Nat. Rev. Cancer.* – 2011. – 11 (6):411–425.
171. Weiss S., Hennig T., Bock R. et al. Impact of growth factors and PTHrP on early and late chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells // *J. Cell Physiol.* - 2010. - 223: 84–93.
172. Whitfield J.F. Parathyroid hormone-related protein (PTHrP): an ancient string of cytokines with many known and still unknown functions // *Novel Aspects of PTHrP Physiopathology / Luparello C., Ed.* - Nova Science Publishers : New York, NY, USA, 2007. - P. 1-25.
173. Wright L.E., Guise T.A. The Role of PTHrP in Skeletal Metastases and Hypercalcemia of Malignancy // *Clinic Rev Bone Miner Metab.* – 2014. - 12: 119.
174. Wu T.L., Vasavada R.C., Yang K. et al. Structural and physiologic characterization of the midregion secretory species of parathyroid hormone-related protein // *J Biol Chem.* – 1996. - 271:24371–24378.
175. Wysolmerski J.J. Parathyroid hormone-related protein: An update // *Clin. Endocrinol. Metab.* – 2012. – 97 (9), 2947–2956.
176. Xiong J., Onal M., Jilka R.L. et al. Matrix-embedded cells control osteoclast formation // *Nat. Med.* – 2011. – 17 (10):1235–1241.

177. Xu J., Rong H., Ji H. et al. Effects of different dosages of parathyroid hormone-related protein 1–34 on the bone metabolism of the ovariectomized rat model of osteoporosis // *Calcif Tissue Int.* – 2013. - 93:276–287.
178. Yan Z., Jin S., Wei Z. et al. Discoidin domain receptor 2 facilitates prostate cancer bone metastasis via regulating parathyroid hormone-related protein // *Biochim Biophys Acta.* – 2014. – 1842 (9):1350-63.
179. Zafeirakis A. Collagenous and non-collagenous biochemical markers of bone metastases from prostate cancer // *HIPPOKRATIA.* – 2010. - 14, 3: 164-169.
180. Zuscik M.J., O'Keefe R.J., Gunter T.E. et al. Parathyroid hormone-related peptide regulation of chick tibial growth plate chondrocyte maturation requires protein kinase A // *J. Orthop. Res.* – 2002. - 20 (5): 1079-1090.