

DOI: 10.26693/jmbs05.03.089  
УДК 611.018.4.71:616.71-007.234

Рябенко Т. В.

## СУЧАСНІ АСПЕКТИ РЕПАРАТИВНОЇ РЕГЕНЕРАЦІЇ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ТА АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ КІСТКОВОГО МЕТАБОЛІЗМУ

Сумський державний університет, Україна

tanjasumy80@gmail.com

Відповідно проведеного аналізу сучасних літературних джерел щодо вивчення аспектів репаративної регенерації кісткової тканини були систематизовані дані про його стадійність, досліджені клітинно-молекулярні механізми репаративної регенерації кісткової тканини, проаналізовані показники кісткового метаболізму. Встановлено, що регенерація кісткової тканини безпосередньо залежить від функціональної активності остеогенних клітин. На початковій стадії репаративного остеогенезу остеокласти забезпечують резорбцію в зоні дефекту некротизованих фрагментів кістки та приймають участь у ремоделюванні кісткових фрагментів. Остеобласти утворюють первинні кісткові балки, які побудовані з колагенових фібрил. Вони синтезують кістковий матрикс, забезпечують його мінералізацію, продукують неколагенові білки. Остеоцити забезпечують передачу механічного і хімічного сигналів остеобластам та через покривні клітини остеобластам, що запускає процеси ремоделювання у кістках. Важлива роль у процесах локальної регуляції остеогенезу належить таким сигнальним шляхам як системі RANK/RANKL/OPG, кістковим морфогенетичним білкам, Wnt-сигналізації. Остеобласто- і остеокластогенез характеризують біохімічні маркери кісткового ремоделювання. Для оцінки формування кісткової тканини найбільш інформативним є визначення рівня остеокальцину, С- та N-термінального пропептидів проколагену I типу, а оцінки резорбції-концентрації С-термінального телопептида колагену I типу, тартрат-резистентної кислої фосфатази плазми крові і рівня дезоксипиридиноліна у сечі. Застосовуючи маркери кісткового ремоделювання можна дослідити швидкість обмінних процесів у кістковій тканині, виявити пацієнтів із ризиком зниження кісткової маси, провести ранню оцінку ефективності призначеного лікування, прогнозувати ризик виникнення ускладнень та діагностувати на ранніх термінах появу кісткових метастазів.

**Ключові слова:** репаративна регенерація, остеобласти, остеоцити, остеокласти, маркери кісткового ремоделювання.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана у рамках НДР кафедри морфології Сумського державного університету «Морфофункціональні аспекти порушення гомеостазу організму», № державної реєстрації 0118U006611.

**Вступ.** Проблема лікування хворих із переломами кісток займає провідне місце у структурі загального травматизму. Переломи кісток, зокрема довгих трубчастих, є однією із причин тривалої тимчасової втрати працездатності і первинної інвалідності у пацієнтів [1]. Вивчення механізмів репаративної регенерації кісток являється теоретичним фундаментом лікування переломів.

**Мета роботи** – провести аналіз сучасних літературних джерел щодо клітинно-молекулярних механізмів репаративної регенерації кісткової тканини та вивчення показників кісткового ремоделювання.

**Основна частина.** Репаративна регенерація являє собою відновлення тканини та органів після пошкодження. Кісткова тканина є унікальною, адже вона здатна повністю відновлювати навіть великі за довжиною дефекти на відміну від усіх інших тканин, в яких регенерація завершується утворенням сполучнотканинного рубця чи гіпертрофією органа [2].

Існує безліч думок щодо визначення терміну "репаративна регенерація".

Так Д. С. Саркісов вважав, що репаративна регенерація – це фізіологічна регенерація, яка відбувається в умовах екстремальних впливів на організм, але відрізняється від неї більшою інтенсивністю проявів [3].

На думку С. С. Ткаченко та В. В. Руцького, репаративна регенерація – це складний процес, який викликаний руйнуванням кісткових структур, що кількісно перевищує допустимі межі фізіологічної регенерації і направлений на відновлення анатомічної цілісності та забезпечення функції кістки [2].

Згідно тверджень О. О. Корж та Н. В. Дєдуч, процеси регенерації кістки представляють собою

складне переплетення загальних впливів на системному рівні та місцевих змін тканинного метаболізму, включаючи зміни на молекулярному рівні [4].

Репаративна регенерація являє собою багато-стадійний процес, в основі якого лежать диференціювання клітин, їх проліферація, резорбція пошкодженої тканини та новоутворення кістки в ході ремоделювання, формування органічного позаклітинного матриксу з наступною його мінералізацією. Ці стадії розвиваються паралельно, але на різних стадіях переважають певні процеси.

На сьогодні є багато класифікацій щодо стадій репаративної регенерації.

Корж О. О. та співавтори виділяють чотири стадії репаративної регенерації [1]:

1. Катаболізм тканинних структур, диференціація та проліферація клітинних елементів.
2. Утворення та диференціація тканинних структур.
3. Утворення ангіогенної кісткової структури.
4. Перебудова первинного регенерату.

Виноградова Т. П., Лаврищева Г. Н., Стецула В. І. виділяють три види репаративної регенерації кісткової тканини:

1. По типу первинного зрощення: діастаз до 50–100мкм, повне знерухомлення.
2. Первинно-затриманого: повна відсутність щілини, повне знерухомлення – зрощення проходить тільки по Гаверсових каналцях.
3. Вторинного зрощення кістки: зміщення відламків, рухливість – кісткова мозоль проходить десмальну і енхондральну стадії.

Зайченко І. Л. у репаративному процесі виділяє шість стадій [5]:

1. Дестабілізація клітинних елементів.
2. Клітинна проліферація.
3. Диференціація різного виду тканин (хондробластична, фібробластична, остеобластична, недиференційована сполучна і фібрилярна тканини).
4. Епігенез остеогенної тканини: шляхом прямої метаплазії і атипової енхондральної осифікації всі види тканин переходять в остеїдну тканину.
5. Спонгізація остеїдної тканини і утворення остеонів.
6. Створення пластинчастої кістки.

Використовуючи результати досліджень молекулярної біології, біохімії, морфології, імуноморфології та генетики Корж Н. А. та Дєдх Н. В. виділили п'ять стадій репаративного процесу [3, 6]:

1. Запалення.
2. Диференціювання клітин і формування тканинноспецифічних структур в ділянці травми.
3. Реорганізація тканинних структур і мінералізація.
4. Ремоделювання.
5. Завершення.

Бруско А. Т., Гайко Г. В. при загоєнні переломів виділяють наступні чотири стадії: репаративна реакція, формування зрощень кісткових відломків, зрощення кісткових відломків, функціональна перебудова кісткової мозолі і зрощених відломків з формуванням органної структури кістки [7].

У першій стадії – стадії репаративної реакції – розрізняють чотири фази:

1. Гострі посттравматичні циркуляторні порушення тканинного кровопостачання.
2. Регенерація, некроз клітин та дезорганізація міжклітинних структур.
3. Проліферація мезенхімальних стовбурових клітин, які втратили життєдіяльність.
4. Диференціювання проліферуючих клітин в напрямку утворення кісткового диферону (мезенхімальна стовбура клітина–преостеобласт–остеобласт–остеоцит).

Гострі посттравматичні циркуляторні порушення тканинного кровопостачання в ділянці перелому супроводжуються розривом періосту, ендосту, каналів остеонів, кісткового мозку, судин та нервів, м'язової та сполучної тканин, що оточують кістку [8]. Вони характеризуються крововиливами, набряком, появою макрофагальної інфільтрації та розвитком дифузних ішемічних дегенеративно-некротичних змін у тканинах. Ця фаза триває 6–18 годин з моменту травми. Друга фаза, тривалістю 8–24 години після травми, супроводжується дезорганізацією структур кісткової тканини, ознаками некрозу і макрофагальною клітинною інфільтрацією. У наступній третій фазі, через 24–72 години з моменту перелому, на фоні відновленого кровопостачання спостерігається проліферація мезенхімальних стовбурових клітин, періцитів мікроциркуляторного русла, періоста, ендоста з формуванням остеогенної тканини. В залежності від розташування проліферуючих клітин виділяють періостальне (клітини періоста), ендостальне (клітини кісткового мозку) та інтермедіарне (клітини кісткового мозку і судин центральних каналів на ділянках перелому між компактною кісткою) кістко утворення. Четверта фаза репаративної реакції супроводжується проліферацією та диференціацією остеогенних клітин в преостеобласти та остеобласти. Вони синтезують остеїд, який після мінералізації перетворюється у грубоволокнисту кісткову тканину. Спостерігається активація остеокластів, що резорбують некротизовану кісткову тканину [5, 8].

У другій стадії (формування зрощень кісткових відломків) на 3–5 добу з моменту травми утворюється кістковий регенерат (мозоль), який поступово поширюється в проксимальному та дистальному напрямках і через 2–6 тижнів приводить до злиття і консолідації кісткових відломків [9].

Третя стадія загоєння перелому характеризується утворенням кісткових зрощень, які можуть

бути трьох типів. Первинне кісткове зрощення супроводжується прямим зрощенням відломків на рівні кортикального шару з формуванням нових остеонів. Фіброзно-хрящове зрощення характеризується розвитком в зоні перелому некрозу кісткової та м'яких тканин, в'ялою репаративною реакцією, що розвивається на значній відстані від місця перелому, та переважним розвитком фіброзної, рідше хрящової тканини. Сформоване фіброзно-хрящове зрощення внаслідок тривалої осифікації може заміщатися кістковою тканиною, утворюючи вторинне зрощення кісткових відломків.

У четвертій стадії відбувається функціональна перебудова кісткової мозолі і зрощених відломків з формуванням органної структури кістки.

Процес регенерації відбувається за участі наступних клітин кісткової тканини – остеобластів, остеокластів і остеоцитів.

Остеобласти – кістковоутворюючі клітини, які походять із мезенхімальних стовбурових клітин. Вони округлої форми, розміром 20–30 мкм, з ексцентрично розташованим ядром, знаходяться в остеогенному шарі окістя і в периваскулярному просторі остеонів. Виділяють чотири типи ОБ: 1-й тип – преостеобласт, 2-й тип – проліферуючий функціонально активний остеобласт, 3-й тип – дозріваючий з гіпертрофованою ендоплазматичною мережею остеобластів, 4-й – диференційований малоактивний остеобласт [8, 10]. Основна частина ОБ синтезують кісткову тканину доки не настане зупинка їх функції з послідуочим перетворенням їх у неактивні клітини. Вони вистилають поверхню новоутвореної кісткової тканини і за допомогою системи каналців пов'язані з остеоцитами. Менша частина ОБ інкапсулюються в остеїдний матрикс і диференціюються в остеоцити.

Остеобласти (ОБ) мають добре розвинений апарат Гольджі та мітохондрії, завдяки чому вони синтезують значну кількість міжклітинної речовини, зокрема білки та колагенові волокна, які утворюють органічний кістковий матрикс – остеїд. Він на 95–99% складається з колагену. ОБ синтезують колаген I типу із проколагену, який складається із одної  $\alpha 2$ - та двох  $\alpha 1$ -поліпептидних ланцюгів, що утворюють спіральну структуру [8, 10, 11]. Молекула проколагену містить два кінцевих пептиди: аміно- і карбоксітермінальні пропептиди. Після секреції проколагену остеобластами в екстрацелюлярний простір ці два пропептиди під впливом ензимів відщепляються від проколагену, який перетворюється в тропоколаген. Вільні кінцеві пропептиди із кісткової тканини потрапляють у циркулюючу кров, де можна визначити їх концентрацію імуноферментним методом. Це вказує на кількість синтезованого колагену I типу, причому визначення амінотермі-

нального пропептиду більш точно характеризує його метаболізм.

Також ОБ синтезують неколагенову фракцію білків кісткового матриксу, яким належить провідна роль у його мінералізації. Це остеокальцин, остеопонтин, остеонектин, і кістковий сіалопротеїн [10, 12].

Остеокальцин – основний неколагеновий білок кістки, що бере участь у зв'язуванні кальцію і гідроксіапатитів. Він має хемотаксичний вплив на остеокласти і приймає участь у резорбції кістки. Остеонектин зв'язує колаген I типу і гідроксіапатит, приймає участь в утворенні початкового кристала (нуклеації) у мінералізації кістки. Остеопонтин також зв'язує кісткові клітини з гідроксіапатитом позаклітинного простору, але дослідження останніх років вказують на участь цього білка в метастазуванні пухлин шляхом полегшення адгезії онкоклітин в процесі інвазії

Кістковий сіалопротеїн містить сіалові кислоти. Він є кальційзв'язуючим глікопротеїном кістки, який забезпечує мінералізацію та стабілізацію структури колагену.

Остеоцити (ОЦ) – «зірчасті клітини», мають велику кількість довгих та тонких відростків. Вони поділяються на три типи. ОЦ I типу – молоді або «продукуючі», синтезують компоненти кісткового матриксу, розташовані в остеомах навколо стінок широких каналів. ОЦ II типу – зрілі або «резорбуючі», беруть участь у процесі остеолізу, розташовані в остеомах з вузькими каналами і на периферії широких каналів остенів. ОЦ III типу – «дегенеруючі», знаходяться на периферії остенів [8, 12]. Внаслідок їх деструкції вивільняється велика кількість лізосомних ферментів і відбувається остеоліз кісткової тканини. ОЦ мають рецептор до паратгормону, синтезують остеокальцин, матриксні протеїни і склеротин, який є інгібітором Wnt-сигналу в ОБ. Основною їх функцією є передача механічного та хімічного сигналів ОБ, покровним клітинам і через них – ОК. Це потрібно для запуску процесів ремоделювання кісткової тканини як у фізіологічних, так і в патологічних умовах. Завдяки своїм відросткам, що розташовані в каналцях усієї кісткової тканини, ОЦ уловлюють інформацію про механічні пошкодження, передають сигнал ОБ і покровним клітинам, а через них ОК [13].

Остеокласти (ОК) – багатоядерні гігантські клітини, які забезпечують резорбцію компонентів кісткового матриксу. Вони розташовані на поверхні кістки в невеликих заглибленнях (ерозійні лакуни або лакуни Хаушипа). У містах контакту з ділянками резорбції кістки цитоплазма остеобластів утворює вирости у вигляді «гофрованої облямівки», що збільшує площу контакту з кісткою та полегшує

надходження в зону резорбції клітинних продуктів [8, 10]. Також ОК секретують в зону резорбції іони водню і протеолітичні ферменти (катепсин К, цистеїнпротеаза, матриксні металопротеїнази) та видаляють через базолатеральну мембрану продукти розпаду в оточуючий простір. Для здійснення такого транспорту необхідна присутність тартрат-резистентної кислоти фосфатази (ТРКФ). Існує 5 видів кислих фосфатаз, які виробляються кістковою тканиною, селезінкою, еритроцитами, тромбоцитами і макрофагами. Всі види кислих фосфатаз інгібуються тартратом, крім 5-ої ізоформи, яка називається ТРКФ-5 [10].

Розрізняють наступні типи ОК: молоді, зрілі, функціонально активні та неактивні, а також ті, що гинуть. Джерелом походження ОК є макрофагально-моноцитарні клітини кісткового мозку.

Важлива роль у остеокластогенезі належить системі RANK/RANKL/OPG, яка була відкрита у 1997р. RANKL, експресований на поверхні остеобластів, зв'язується з RANK-рецептором, що розташований на мембранах клітин-попередників остеокластів. Це запускає диференціацію та активацію остеокластів. Взаємодія RANKL і RANK відбувається в присутності макрофагального колонієстимулюючого фактора (M-CSF), який через високоафінний трансмембранний рецептор (c-fms) активує внутрішньоклітинну тирозинкіназу і стимулює таким чином проліферацію і диференціацію попередників остеокластів – мононуклеарів [14, 15]. Встановлено, що активність M-CSF значно підвищується при дії на остеобласти паратиреоїдного гормону, вітаміна D3, фактора некрозу пухлин (TNF), та знижується при дії OPG і естрогенів.

Остеопротегерин синтезується остеобластами, клітинами строми ендотелію судин та В-лімфоцитами. Це розчинний рецептор-уловлювач для RANKL, який перешкоджає взаємодії RANKL і RANK, що порушує остеокластогенез і знижує резорбцію кісткової тканини [16, 17, 18].

Разом із тим, інтерлейкіни (ІЛ)-1,3,6,11, фактор некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор (GM-CSF) і простагландин E2 (PG2) через рецептор EP4 здатні посилювати продукцію RANKL клітинами строми кісткового оточення, зокрема остеобластами, що стимулює остеокластогенез [19, 20].

Також досліджено, що продукцію ОК стимулює паратиреоїдний гормон. Він синтезується прищитоподібними залозами. Паратгормон підтримує гомеостаз кальцію шляхом вимивання кальцію з кістки в позаклітинну рідину та посилення реабсорбції кальцію в каналцях нирок. Паратгормон активує синтез кислоти фосфатази, лактату і цитрату, і пригнічує синтез колагену та лужної фосфатази [21,

22]. При різкому підвищенні його рівня в крові спостерігається активація зрілих остеокитів і резорбція ними кісткової тканини (остеоцитарний остеоліз). При тривалій гіперсекреції паратгормону посилюється остеокластогенез та знижується активність остеобластів, що пригнічує також синтез колагену. Досліджено, що тривале введення малих доз паратгормону викликає анаболічний ефект, а це, навпаки, сприяє дозріванню хряща. Також він сприяє синтезу у нирках 1,25(OH)2D3 під впливом циклічного АМФ з 25(OH)D3 [23].

На відміну від паратгормону, кальцитонін, який секретується в міжфолікулярних клітинах щитоподібної залози, зменшує кількість і активність ОК у кістковій тканині, пригнічує остеолізис і знижує рівень кальцію в крові. Також, кальцитонін стимулює дозрівання хондроцитів в епіфізарному хрящі [24].

Згідно досліджень останніх років, ведуча роль у регуляції остеобластогенезу належить кістковим морфогенетичним білкам (BMP, bone morphogenetic protein). Це група сигнальних факторів росту (цитокіни), які стимулюють формування енхондральної кісткової тканини та регулюють різні клітинні процеси (проліферацію, диференціювання, апоптоз, хемотаксис, ангіогенез і продукцію позаклітинного матриксу в тканинах). BMP запускають процес утворення кісткової тканини за рахунок експресії генів, що регулюють процеси диференціації мезенхімальних стовбурових клітин з послідовним утворенням ОБ. Порушення регуляції сигнальної системи BMP дуже часто виявляються при ракових захворюваннях. Відомі 47 білків підродини BMP, що взаємодіють із специфічними BMP-рецепторами (BMPs). У процесі міжклітинних взаємодій у кістковій тканині особливо важливі наступні: BMP2 (стимулюють диференціювання остеобластів), BMP3(сприяє утворенню кісткової тканини), BMP7 (активує диференціювання остеобластів, стимулює утворення SMAD1), а також BMP8a (приймає участь у розвитку кістки і хряща). В наш час BMP використовують для стимуляції процесів регенерації. Їх вводять у кістковий імплант, звідки вони потрапляють до місця перелому для поліпшення остеогенезу [25].

Кісткові клітини виділяють у міжкістковий матрикс трансформуючий фактор росту  $\beta$ 1 (TGF $\beta$ 1), який активує диференціацію мезенхімальних стовбурових клітин за остеобластичним і хондральним типом, стимулюють процеси репаративної регенерації кісток скелета, посилює проліферацію і синтез колагену [26, 27].

Процеси, пов'язані з морфогенезом клітин, регулює також Wnt-сигналізація. Це білки, відкриті на початку 80-х років як маркери багатьох видів



ракових захворювань. Вони є також ключовими регуляторами процесів ремоделювання та регенерації кісток, диференціювання мезенхімальних стовбурових клітин [28].

В основі канонічного шляху Wnt-сигналізації у кістковій тканині лежить стабілізація білка цитоплазми  $\beta$ -катеніну. При відсутності сигналу він неактивний і швидко руйнується. При активації  $\beta$ -катеніну через Wnt, сам Wnt зв'язується з поверхневими рецепторами клітин, в якості яких виступає трансмембранний білок Фрайзленда. У результаті цього гальмується руйнування  $\beta$ -катеніну, він накопичується в цитоплазмі і після проникання у ядро. Там він взаємодіє з білками TCF/LEF, які вибірково зв'язуються з певними білками-активаторами і послідовностями ДНК. Таким чином відбувається активація певних генів, що відповідають за регенерацію кісткової тканини [29].

Інший, неканонічний ( $\beta$ -катеніннезалежний) шлях Wnt-сигналізації регулює полярність клітин, стимулює метаболізм кальцію та реорганізацію цитоскелета [30].

Передача Wnt-сигналів стимулює продукцію OPG. Досліджено, що у людини в активації Wnt-сигналів залучено 22 Wnt-лігандів, зокрема Wnt1, Wnt2, Wnt2B, Wnt3, Wnt3A, Wnt4, Wnt5A, Wnt5B, Wnt6, Wnt7A, Wnt8A, Wnt8B, Wnt9A, Wnt9B, Wnt10A, Wnt10B, Wnt11, Wnt16. Антагоністами Wnt/ $\beta$ -катенін-сигнального шляху є склеротин-глікопротеїд, який продукується остеоцитами непошкодженої кістки. Він перешкоджає диференціюванню MSC. При виникненні пошкодження у кістковій тканині остеоцити передають сигнал покровним клітинам, які вистилають поверхню кісткової трабекули. Під впливом простагландинів та факторів росту, що при цьому виділяються, покровні клітини відшаровуються від поверхні кістки, утворюючи специфічний навіс. Клітини навісу сполучаються з остеоцитами, з капіляром і утворюють компартмент кісткового ремоделювання [31].

Також нещодавно були відкриті наступні регулятори міжклітинних взаємодій між остеобластами і остеокластами – це семафорини та їх рецептори плексини. Семафорини утворюють родину молекул з 8 основних класів секреторних і трансмембранних білків, які відповідають за передачу сигналів по аксонам [32]. Вони регулюють ріст, розвиток і функціонування клітин нервової, серцево-судинної, імунної, дихальної, а також опорно-рухової систем. Зокрема, Semaphorin 4D (Sema4D), який є похідним остеокластів, діє на мембранний рецептор Plexin-B1, розташований на поверхні остеобластів, пригнічуючи функцію останніх. Внаслідок спостерігається активація резорбції кісткової тканини. Семафорин 3B також сприяє активації остеокластів, а

Семафорин 3A, навпаки, стимулює кісткоутворення.

Виходячи з цього, для зупинки розвитку остеопенії має важливе значення інгібування семафорину 4D та семафорину 3B.

Також секреторним похідним остеокластів є білок SLIT3. Він стимулює проліферацію остеобластів завдяки активації  $\beta$ -катенінового шляху. Аутокринна сигналізація SLIT3 також інгібує резорбцію кістки шляхом пригнічення диференціювання преостеокластів. У експериментальних роботах Koh J. M. показано, що тварини з відсутністю SLIT3 або його рецептора Robo 1 мають низькі показники утворення кісткової тканини та високу її резорбцію [33].

Процеси кісткового ремоделювання можна оцінити завдяки аналізу 2 груп показників кісткового метаболізму, а саме маркерів кісткової резорбції (гідроксіпролін, оксіпролін, кальцій, продукти розпаду колагену I типу, піридинолін (ПІД) і дезоксіпіридинолін (ДПІД), кістковий сіалопротеїн (BSP), тартратрезистентна кислота фосфатаза (TRAP)) та маркерів синтезу кісткової тканини (остеокальцин (ОК), кісткова лужна фосфатаза (КЛФ), аміно- і карбоксикінцеві фрагменти проколагену I типу (АКФ, ККФ) [34, 35, 36].

Маркери синтезу кісткової тканини характеризують опосередковано активність остеобластів. Ці клітини приймають участь у формуванні кісткової тканини, продукують колаген I типу та інші компоненти остеоїду, беруть участь у мінералізації остеоїду гідроксиапатитом.

Першим біохімічним маркером кісткового ремоделювання є фермент лужна фосфатаза. У 1929 році він був введений у клінічну практику і в на сьогодні найширше в ній застосовується. Існує 4 ізоформи цього ферменту: кісткова, печінкова, кишкова і плацентарна. Показником активності остеобластів є кісткова лужна фосфатаза (КЛФ). Це є глікопротеїн, який приймає участь у мінералізації кісткового матриксу. Одночасне підвищення КЛФ і паратгормону вказує на розвиток остеодистрофії з високим рівнем кісткового ремоделювання, а зниження цих показників говорить про адинамічну кістку [37].

Найінформативнішим маркером формування кістки є остеокальцин. Це неколагеновий білок кісткового матриксу, що містить гідроксиапатит, є специфічним для кісткової тканини і дентину. Він синтезується переважно остеобластами і формує позаклітинний матрикс кістки. Фракція новосинтезованого ОК вивільняється в кровоток, тому саме цей маркер вказує на швидкість ремоделювання кісткової тканини. Високий рівень паратгормону в крові пригнічує активність остеобластів, які продукують

ОК, і знижує концентрацію ОК у крові та кістковій тканині [38].

У процесі синтезу колагену I типу остеобластами із проколагену I типу від нього в результаті дії специфічних ферментів відділяються аміно- та карбоксикінцеві фрагменти (АКФ, ККФ). Співвідношення між кількістю зрілого колагену, що відкладається у кістковий матрикс, та кількістю кінцевих молекул, які надходять у кровоносне русло, дорівнює одиниці. Завдяки цьому по показникам АКФ, ККФ у сироватці крові можна робити висновки про синтетичну активність остеобластів щодо синтезу ними колагену I типу [39].

Наступна група показників кісткового ремоделювання – це маркери резорбції кісткової тканини. Слід зазначити, що вони на протязі доби змінюють свій рівень, тому визначати їх необхідно в один і той самий період дня, найкраще зранку.

До маркерів резорбції кісткової тканини належать ферменти, які приймають участь у руйнуванні кісткового матриксу під впливом остеобластів, і продукти руйнування колагену I типу. Це тартрат-резистентна кисла фосфатаза (TRAP)-металовмісний ензим, один із 6 ізоферментів кислої фосфатази. Він секретується остеобластами у позаклітинне середовище під час резорбції. Існує дві форми TRAP-5a і 5b, але саме TRAP-5b виробляється остеобластами, а TRAP-5a має макрофагальне походження. Активність TRAP-5b у плазмі крові є показником процесів резорбції кістки [40].

Гідроксіпролін є основною амінокислотою у складі колагену. Він не є сутоспецифічним маркером кісткової тканини, адже лише 50% цієї амінокислоти знаходиться у кістках, а решта 50% є компонентом інших білків, зокрема еластину, ацетилхолінестерази та фактора комплементу с1q. Більша частина його після руйнування колагену окислюється у печінці і лише 15% виводиться з сечею. Рівень гідроксіпроліну залежить від дієти, віку людини, наявності пухлини з розпадом і має циркадний ритм з піком між 0.00 та 8.00 ранку [41].

14% амінокислотного складу колагену складає оксіпролін. Він продукується остеобластами і також є маркером кісткової резорбції.

У наш час використовують більш специфічні маркери кісткової резорбції, такі як продукти розпа-

ду колагену I типу. До них належать піридинолін (ПІД) і дезокіпіридинолін (ДПІД). Вони знаходяться у тканинах, які містять колаген I, II, III типу. ПІД є найбільшою хімічною сполукою, але ДПІД зустрічається лише у колагені кістки, тому його оцінюють як селективний кістковий маркер [42].

Також широко застосовують у практиці визначення показників телепептидів колагену I типу – peptide-bound crosslinks N-telopeptide (NTX) та peptide-bound crosslinks C-telopeptide (CTX). Унікальність цих показників полягає у швидкому зростанні їх рівня при захворюваннях, що супроводжуються високою резорбцією кісткової тканини (наприклад, при остеопорозі, метастазах у кістках), а також швидкому зниженню (протягом кількох тижнів) на фоні антирезорбтивної терапії.

Наступний маркер резорбції кісткової тканини – це кістковий сіалопротеїн (BSP). В процесі остеолізу (фізіологічного чи патологічного) відбувається руйнування кісткового матриксу ферментами остеобластів з виділенням у кров сіалопротеїну [43, 44]. Це зумовлює зростання показників BSP. Кістковий сіалопротеїн присутній лише в зрілих остеобластах і не виявлений у їх попередниках, тому BSP є маркером пізнього диференціювання клітин кісток [45, 46].

**Заключення.** Процес загоєння переломів кісток пов'язаний з діяльністю остеогенних клітин. В основі локальної регуляції репаративної регенерації лежать декілька сигнальних шляхів: система RANK/RANKL/OPG, кісткові морфогенетичні білки, Wnt-сигналізація. Остеобласто- і остеокластогенез характеризують біохімічні маркери кісткового ремоделювання, визначення яких дозволяє встановити швидкість обмінних процесів у кістковій тканині, виявляти пацієнтів із ризиком зниження кісткової маси проводити ранню оцінку ефективності призначеного лікування, прогнозувати ризик виникнення ускладнень, та діагностувати на ранніх термінах появу кісткових метастазів.

**Перспективи подальших досліджень.** В подальшому планується дослідити метаболізм кісткової тканини в нормі та в умовах застосування протипухлинних хіміопрепаратів в експерименті на тваринах (щурах) з використанням маркерів синтезу і резорбції кісткової тканини.

## References

1. Sherehii AA. Novi metody likuvannia diafizarnykh perelomiv [New methods of treatment of diaphyseal fractures]. *Uzhgorod University Scientific Bulletin*. 2010; 39: 238-41. [Ukrainian]
2. Kyrylova YA. Kostnaia tkan kak osnova osteoplastycheskykh materialov dlia vosstanovleniya kostnoi struktury [Bone tissue as a basis of osteoplastic materials for restoration of bone structure]. *Spine Surgery*. 2011; 1: 68-74. [Russian]
3. Bumeister VI, Pohorielov MV. Suchasnyi pohliad na reparatyvnyi osteohenez [A modern look at reparative osteogenesis]. *The world of medicine and biology*. 2008; 4: 104-10. [Ukrainian]

4. Korzh AA, Dedukh NV. Reparatyvnaia reheneratsiia kosty: sovremennyi vzghliad na problemu. Stadyi reheneratsii (soobshchene 1) [A modern look at reparative osteogenesis]. *The world of medicine and biology*. 2008; 4: 104-10. [Ukrainian]
5. Shteinle AV. Posttravmatycheskaia reheneratsiia kostnoi tkany [Post-traumatic bone regeneration]. *Siberian Medical Journal*. 2009; 4: 101-6. [Russian]
6. Korzh NA, Dedukh NV. Yspolzovanye osseyin-gidroksyapatytnoho kompleksa v lecheny osteoporoza y perelomov [Use of ossein-hydroxyapatite complex in the treatment of osteoporosis and fractures]. *Orthopedics, Traumatology and Prosthetics*. 2016; 2: 120-9. [Ukrainian]
7. Brusko AT, Haiko HV. Sovremennye predstavleniia o stadiakh reparaivnoi reheneratsii kostnoi tkany pry perelomakh [Modern ideas about the stages of reparative regeneration of bone tissue in fractures]. *News of orthopedics, traumatology and prosthetics*. 2014; 2: 5-8. [Ukrainian]
8. Humynskiy YuY, Korenkov OV. Suchasni aspekty ekomorfologii reparaivnoho osteoheneza [Modern aspects of ecomorphology of reparative osteogenesis]. *Bulletin of Sumy State University*. 2009; 1 (2): 17-23. [Ukrainian]
9. Kaminska MO. Porushennia reparaivnoi reheneratsii pry perelomakh kistok u ditei [Disorders of reparative regeneration in bone fractures in children]. *Medical perspectives*. 2009; XIV (1); 21-6. [Ukrainian]
10. Smyrnov AV, Rumiantsev AS. Stroenye y funktsii kostnoi tkany v norme y pry patolohii. Soobshchene I [Structure and function of bone tissue in normal and pathology. Message I]. *Nephrology*. 2014; 18(6): 9-25. [Russian]
11. Yakymuk DY, Kryvetskyi VV, Banul BYu, Kryvetskyi IV. Sovremennye predstavleniia o roste, razvytyi y formoobrazovanyi kostnoho skeleta cheloveka [Modern ideas about the growth, development and shaping of the human skeleton]. *Bukovinsky medical newsletter*. 2013; 2(66): 181-5. [Ukrainian]
12. Avrunyn AS, Tykhylov AS. Osteotsytarnoe remodelirovaniye kostnoi tkany: ystoriya voprosa, morfologicheskiye marker [Osteocyte bone remodeling: a history of the issue, morphological markers]. *Morphology*. 2011; 139(1): 86-95. [Russian]
13. Chen H, Senda T, Kubo KY. The osteocyte plays multiple roles in bone remodeling and mineral homeostasis. *Med Mol Morphol*. 2015; 48(2): 61-8. doi: 10.1007/s00795-015-0099-y
14. Ahanov DS, Tyrenko VV, Tsyhan EN, Toporkov MM, Bolohov SH. Rol tsytokynovoi systemy RANK/RANKL/OPG v rehuliatcii myneralnogo obmena kostnoi tkany [The role of the cytokine system RANK/RANKL/OPG in the regulation of bone mineral metabolism]. *Genes & Cells*. 2014; IX (4): 50-2. [Russian]
15. Sagalovsky S, Schonert M. RANKL-RANK-OPG system and bone remodeling: a new approach on the treatment of osteoporosis. *Clin Expt Pathol*. 2011; 10(2): 146-153. [Russian]
16. Onopryenko HA, Voloshyn VP. Sovremennye kontseptsii protsessov fizyologicheskoho y reparaivnoho osteoheneza [Modern concepts of processes of physiological and reparative osteogenesis]. *Almanac of Clinical Medicine*. 2017; 45(2): 79-93. [Russian]
17. Smyrnov AV, Rumiantsev AS. Stroenye y funktsii kostnoi tkany v norme y pry patolohii. Soobshchene II. [Structure and function of bone tissue in normal and pathology. Message II]. *Nephrology*. 2015; 19(1): 8-17. [Russian]
18. Sahalovsky S, Kuntse P, Shenert M. Rol tsytokynovoi systemy RANK-RANKL-OPG y katepsyna K v patoheneze osteoporoza: dostizheniia y perspektivy v lecheny zabolovaniya [The role of the cytokine system RANK-RANKL-OPG and cathepsin K in the pathogenesis of osteoporosis: achievements and prospects in the treatment of the disease]. *Clinician*. 2012; 2: 9-16. [Russian]
19. Hershtein ES, Tymofeev YuS, Korotkova EA, Zuev AA, Bondarev AV, Kuznetsov YN, i dr. Retseptor-aktivator yadernoho transkripsionnoho faktora NF- $\kappa$ B (RANK), eho lyhand (RANKL) y pryrodnyi ynhybytor osteoproteheryn (OPG) v syvorotke krovy bolnykh opukholiamai kostei [Receptor-activator of nuclear transcription factor NF- $\kappa$ B (RANK), its ligand (RANKL) and natural osteoprotegerin inhibitor (OPG) in the serum of patients with bone tumors]. *Issues in Biological, Medical, and Pharmaceutical Chemistry*. 2015; 10: 43-8. [Russian]
20. Kukita A, Kukita T. Multifunctional properties of RANKL/RANK in cell differentiation, proliferation and metastasis. *Future Oncol*. 2013; 11(9): 1609-22.
21. Ardura JA, Portal-Nunes S, Castelbon-Calvo I, Martínez de Toda I, De la Fuente M, Esbrit P. Parathyroid hormone-related protein protects osteoblastic cells from oxidative stress by activation of MKP1 phosphatase. *J Cell Physiol*. 2017; 232(4): 785-96.
22. Esbrit P, Herrera S, Portal-Núñez S, Nogués X, Díez-Pérez A. Parathyroid Hormone-Related Protein analogs as Osteoporosis Therapies. *Calcified Tissue international*. 2016; 98(4): 359-69.
23. Augustine M, Horwits MJ. Parathyroid hormone and parathyroid hormone-related protein analogs as therapies for osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep*. 2013; 11: 400-6.
24. Povorzniuk VV. Vliyaniye kaltsytonyna na reparaivnuiu reheneratsiiu kostnoi tkany [Effect of calcitonin on reparative bone tissue regeneration]. *Trauma*. 2015; 15(4): 30-4. [Ukrainian]
25. Nurullyna HM, Akhmadullyna HA. Kostnoe remodelirovaniye v norme y pry pervychnom osteoporoze: znachenye markerov kostnoho remodelirovaniya [Bone remodeling is normal and in primary osteoporosis: the significance of bone remodeling markers]. *The Russian Archive of Internal Medicine*. 2018; 2: 100-10. [Russian]
26. Korshunova EYu, Dmytryeva LA, Lebedev VF. Tsytokynovaia rehuliatciiia metabolizma kostnoi tkany [Cytokine renal bone metabolism]. *Polytrauma*. 2012; 3: 82-6. [Russian]

27. Crane JL, Cao X. Bone marrow mesenchymal stem cells and TGF- $\beta$  signaling in bone remodeling. *J Clin Invest*. 2014; 124(2): 466-72.
28. Hoffmeyer K, Raggioli A, Rudloff S, Anton R, Hierholzer A, Del Valle I, et al. Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling Regulates Telomerase in Stem Cells and Cancer Cells. *Science*. 2012; 336(6088): 1549-54.
29. Janda CY, Waghray D, Levin AM, Thomas C, Garcia KC. Structural basis of Wnt recognition by Frizzled. *Science*. 2012; 337(6090): 59-64.
30. Li VS, Nig SS, Boersema PJ, Low TY, Karthaus WR, Gerlach JP, et al. Wnt signaling through inhibition of  $\beta$ -catenin degradation in an intact Axin1 complex. *Cell*. 2012; 149(6): 1245-56.
31. Hrebennykova TA, Belaia ZhE, Rozhynskaia LYa, Melnychenko HA, Dedov YY. Epyhenetycheskye aspekty osteoporoz [Epigenetic aspects of osteoporosis]. *Journal of RAMP*. 2015; 70 (5): 541-8. [Russian]
32. Slobodian OM, Lavriv LP, Lopushniak LYa, Bambuliak AV, Boichuk OM. Suchasnyi pohliad na molekuliarno-henetychni mekhanizmy mizhklityvnoi vzaємodii u protsesi kistkovoho remodeliuvannya [A modern look at the molecular-genetic mechanisms of intercellular interaction in the process of bone remodeling]. *Clinical anatomy and surgical surgery*. 2018; 17(3): 88-97. [Ukrainian]
33. Koh JM. Osteoclast-derived SLIT3 is a coupling factor linking bone resorption to bone formation. *BMB Rep*. 2018; 51 (6): 263-4.
34. Liubymova NV, Kushlynskyi NE. Byokhymycheskye markery yetastazyrovannya v kosty [Biochemical markers of bone metastasis]. *Advances in Molecular Oncology*. 2015; 1: 61-75. [Russian]
35. Kuzniak NB, Boitsaniuk SI, Sukhovolets IO. Vykorystannya kistkovykh markeriv kistkovoho metabolizmu v stomatolohii [Use of bone markers of bone metabolism in dentistry]. *Clinical dentistry*. 2015; 1: 99-104. [Ukrainian]
36. Masheiko YV. Byokhymycheskye markery v otsenke protsesov remodelirovannya kostnoi tkany pry osteopenyy i osteoporozе [Biochemical markers in the evaluation of bone remodeling processes in osteopenia and osteoporosis]. *Journal of the Grodno State Medical University*. 2017; 2: 149-53. [Ukrainian]
37. Sykora VZ, Pohorelov MV, Tkach HF, Bumeister VY. Nekollahenovyе belky kostnoho matryksа kak markery remodelirovannya kosty [Bone matrix collagen proteins as markers of bone remodeling]. *Ukrainian morphological almanakh*. 2011; 9(3): 28-35. [Ukrainian]
38. Zakharov YS, Kolpynskyi HY, Ushakova HA, Vavyn HV. Byokhymycheskye yarkeri v dyahnostyke narushenyi remodelirovannya kostnoi tkany pry osteoporozе [Biochemical markers in the diagnosis of disorders of bone remodeling in osteoporosis]. *Avicenna Herald*. 2013; 4: 120-2. [Russian]
39. Kabalyk MA. Byomarkery y uchastnyky remodelirovannya subkhondralnoi kosty pry osteoartroze [Biomarkers and participants in subchondral bone remodeling in osteoarthritis]. *Pacific Medical Journal*. 2017; 1: 36-41. [Russian]
40. Laryna VN, Mykhailusova MP, Raspopova TN. Prymenenye byokhymycheskykh markerov kostnoho obmena v povsednevnoi deiatelnosti vracha [The use of biochemical markers of bone metabolism in the daily activity of a physician]. *Medical Affairs*. 2015; 2: 10-4. [Russian]
41. Streich NA, Zimmermann D, Schmitt H, Bode G. Biochemical markers in the diagnosis of chondral defects following anterior cruciate ligament insufficiency. *Int Orthop*. 2011; 35(11): 1633-7.
42. Richette P, Roux C. Impact of treatments for osteoporosis on cartilage biomarkers in humans. *Osteoporos Int*. 2012; 23(8): 877-80.
43. Romero Barco CM, Manrique Arijia S, Rodriguez M. Biochemical Markers in Osteoporosis: usefulness in Clinical Practice. *Reumatol Clin*. 2012; 8(3): 149-52.
44. Ehudyna ED, Holovach YYu. Laboratornye aspekty i klynycheskaia znachymost markerov kostnoho remodelirovannya [Laboratory aspects and clinical relevance of bone remodeling markers]. *Annals of Mechnikov Institute*. 2019; 3: 7-18. [Ukrainian]
45. Tomniuk ND, Spyrydonov AV, Munyn AM, Danylyna EP. Osteoporoz-bolezni skeleta liudei pozhyloho y starcheskoho vozrasta [Osteoporosis is a skeleton disease of the elderly and senile]. *International Journal of Applied and Basic Research*. 2020; 1: 47-51. [Russian]
46. Tsyskarashvyly AV, Rodyonova SS, Myronov SP, Bukhtyn KM, Horbatiuk DS, Taraskyn AYu. Metabolicheskye narusheniya kostnoi tkany u patsyentov s perelomamy dlynykh kostei, oslozhnennykh khronycheskym osteomyelytom [Metabolic bone disorders in patients with long bone fractures complicated by chronic osteomyelitis]. *The genius of Orthopedics*. 2019; 25 (2): 149-55. [Russian]

УДК 611.018.4.71:616.71-007.234

## СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ И АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА

**Рябенко Т. В.**

**Резюме.** Согласно проведенного анализа современных литературных источников по изучению аспектов репаративной регенерации костной ткани были систематизированы данные о его стадийности, исследованы клеточно-молекулярные механизмы репаративной регенерации костной ткани, проанализированы



показатели костного метаболизма. Доказано, что регенерация костной ткани напрямую зависит от функциональной активности остеогенных клеток. На начальной стадии репаративного остеогенеза остеокласты обеспечивают резорбцию в зоне дефекта некротизированных фрагментов кости и принимают участие в ремоделировании костных фрагментов. Остеобласты образуют первичные костные балки, которые построены из коллагеновых фибрилл. Они синтезируют костный матрикс, обеспечивают его минерализацию, производят неколлагеновые белки. Остеоциты обеспечивают передачу механического и химического сигналов остеобласты и через покровного клетки остеокластов, что запускает процессы ремоделирования в костях. Важная роль в процессах локальной регуляции остеогенеза принадлежит таким сигнальным путям как системе RANK / RANKL / OPG, костным морфогенетическим белкам, Wnt-сигнализации. Остеобласто- и остеокластогенез характеризуют биохимические маркеры костного ремоделирования. Для оценки формирования костной ткани наиболее информативным является определение уровня остеокальцина, С и N-терминального пропептида проколлагена I типа, а оценки резорбции – концентрации С-терминального телопептида коллагена I типа, тартрат-резистентной кислот фосфатазы плазмы крови и уровня дезоксипиридинолина в моче. Применяя маркеры костного ремоделирования можно исследовать скорость обменных процессов в костной ткани, выявить пациентов с риском снижения костной массы, провести раннюю оценку эффективности назначенного лечения, прогнозировать риск возникновения осложнений, и диагностировать на ранних сроках появление костных метастазов.

**Ключевые слова:** репаративная регенерация, остеобласты, остеоциты, остеокласты, маркеры костного ремоделирования.

UDC 611.018.4.71:616.71-007.234

### **Modern Aspects of Bone Tissue Reparative Regeneration and Analysis of Bone Metabolism Indices**

*Ryabenko T. V.*

**Abstract.** According to the analysis of modern literary sources on the study of aspects of bone tissue reparative regeneration of, data on its staging were systematized, cellular and molecular mechanisms of reparative regeneration of bone tissue were studied, and bone metabolism indices were analyzed. It is necessary that the regeneration of bone tissue seamlessly lay down the functional activities of osteogenic clits. In the initial stage of reparative osteogenesis, osteoclasts provide resorption in the area of defect of necrotized bone fragments and participate in the remodeling of bone fragments. Osteoblasts form primary bone beams, which are made of collagen fibrils. They synthesize the bone matrix, ensure its mineralization, produce collagen proteins. Osteocytes provide the transmission of mechanical and chemical signals to osteoblasts and through the integument cells to osteoclasts, which initiates bone remodeling processes. An important role in the processes of local regulation of osteogenesis is to establish such signaling paths as the RANK / RANKL / OPG system, fast morphogenetic cells, Wnt signalization.

Osteoclast activity and degree of bone resorption depend on the balance between RANKL and OPG. RANKL, which is located on the surface of osteoblasts, binds to the RANK receptor on the membranes of osteoclast precursor cells. This triggers osteoclastogenesis, which enhances bone resorption. Bone morphogenetic proteins stimulate osteoblast differentiation, promote bone and cartilage formation. Wnt proteins are regulators of the processes of bone regeneration and remodeling, differentiation of stem cells. Osteoblastic and osteoclastogenesis are characterized by biochemical markers of bone remodeling. For the evaluation of bone formation, the most informative is the determination of the level of osteocalcin, C and N-terminal propeptide of type I procollagen, and the assessment of the resorption-concentration of C-terminal telopeptide of collagen I type, tartrate-resistant acid phosphatase in blood plasma and the level of plasma dezinoin. Using markers of bone remodeling, one can investigate the rate of bone metabolic processes, identify patients at risk for bone loss, conduct an early evaluation of the effectiveness of the prescribed treatment, predict the risk of complications, and diagnose the occurrence of bone metastases at an early date.

**Keywords:** reparative regeneration, osteoblasts, osteocytes, osteoclasts, markers of bone remodeling.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 20.01.2020 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування