

© 2024 by the author(s).

This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 International License  
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



**How to cite / Як цитувати статтю:** Sukhonos O, Korenkov O, Sukhodub L. A modern view on reparative osteogenesis: main stages and their patterns. *East Ukr Med J.* 2024;12(3):476-491

**DOI:** [https://doi.org/10.21272/eumj.2024;12\(3\):476-491](https://doi.org/10.21272/eumj.2024;12(3):476-491)

## ABSTRACT

Olha Sukhonos

<https://orcid.org/0009-0000-8714-2324>

Department of Morphology, Sumy State University, Sumy, Ukraine

Oleksii Korenkov

<https://orcid.org/0000-0002-1314-5642>

Department of Surgery, Traumatology, Orthopedics and Phthisiology, Sumy State University, Sumy, Ukraine

Leonid Sukhodub

<https://orcid.org/0000-0002-1559-0475>

Department of Biophysics, Biochemistry, Pharmacology and Bimolecular Engineering, Sumy State University, Sumy, Ukraine

## A MODERN VIEW ON REPARATIVE OSTEOGENESIS: MAIN STAGES AND THEIR PATTERNS

**Introduction.** Reparative osteogenesis is a staged mechanism that ensures the restoration of damaged bone tissue. The study and summarization of current data about bone defect regeneration is the basis for the search and development of methods to improve this process. The aim of the study is to analyze and systematize the current data about reparative osteogenesis, describe the main stages and their patterns.

**Materials and methods.** Searching the relevant sources using online scientific databases and keywords. Selection of publications for review. Further analysis and synthesis of information.

**The results.** Despite different interpretations of the stages of reparative osteogenesis by researchers, they all describe the same coordinated process. The following key stages have been identified: haematoma formation, inflammation, MSC involvement and angiogenesis, cartilage, connective and bone tissue formation, their subsequent reorganisation, ossification and remodelling. Each of these stages involves specific cellular elements, local and general regulatory factors. The development of osteogenic cells and mechanisms of intercellular interaction, as well as the main signalling pathways and molecules (Wnt, RANK/RANKL/OPG, BMPs, HIF, etc.) that regulate osteo- and angiogenesis are described. The role of hypoxia in the process of bone regeneration and angiogenesis is highlighted. The H-type vessels and their participation in the regulation of osteogenesis are considered. Attention is paid to the phenomenon of ‘chondrocyte transdifferentiation’, which is one of the sources of osteoblasts during endochondral ossification. In the context of remodelling, the law of bone biomechanics and piezoelectric adaptive remodelling, as well as bone multicellular units as microsystems that ensure the restructuring of coarse fibrous bone tissue into lamellar bone tissue, are described.

**Conclusions.** Reparative osteogenesis is a complicated and coordinated process at both the cellular and molecular levels. The regeneration process depends on numerous local and systemic factors and the optimization search is carried out at each stage.

**Keywords:** reparative osteogenesis, stages, haematoma, inflammation, endochondral ossification, remodeling.

**Corresponding author:** *Olha Sukhonos, Department of Morphology, Sumy State University, Sumy, Ukraine*  
e-mail: [suhonosolga97@gmail.com](mailto:suhonosolga97@gmail.com)

## РЕЗЮМЕ

Ольга Сухонос

<https://orcid.org/0009-0000-8714-2324>

Кафедра морфології, Сумський державний університет, м. Суми, Україна

Олексій Кореньков

<https://orcid.org/0000-0002-1314-5642>

Кафедра хірургії, травматології, ортопедії та фізіотрії, Сумський державний університет, м. Суми, Україна

Леонід Суходуб

<https://orcid.org/0000-0002-1559-0475>

Кафедра біофізики, біохімії, фармакології та біомолекулярної інженерії, Сумський державний університет, м. Суми, Україна

## СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА РЕПАРАТИВНИЙ ОСТЕОГЕНЕЗ: ОСНОВНІ СТАДІЇ ТА ЇХ ЗАКОНОМІРНОСТІ

**Вступ.** Репаративний остеогенез є стадійним механізмом, що забезпечує відновлення ушкодженої кісткової тканини. Вивчення та узагальнення актуальних даних щодо регенерації кісткового дефекту є основою для пошуку та розробки методів для покращення цього процесу. Метою дослідження є аналіз та систематизація актуальних даних про репаративний остеогенез, опис основних стадій та їх закономірностей.

**Методи.** Пошук актуальних джерел, використовуючи наукові онлайн-бази даних та ключові слова. Відбір публікацій для огляду. Подальший аналіз та узагальнення інформації.

**Результати.** Не дивлячись на різну інтерпретацію стадій репаративного остеогенезу дослідниками, всі вони описують один і той самий скоординований процес. Виділено наступні ключові етапи: утворення гематоми, запалення, залучення МСК та ангіогенез, формування хрящової, сполучної, кісткової тканини, їх подальша реорганізація, осифікація та ремоделювання. На кожному з етапів наявні специфічні клітинні елементи, місцеві та загальні фактори регуляції. Описано розвиток остеогенних клітин та механізми міжклітинної взаємодії, а також основні сигнальні шляхи та молекули (Wnt, RANK/RANKL/OPG, BMPs, HIF та ін.), що регулюють остео- та ангіогенез. Висвітлено роль гіпоксії в процесі регенерації кісткової тканини та ангіогенезу. Розглянуто судини Н-типу та їх участь у регуляції остеогенезу. Приділена увага феномену «трансдиференціації хондроцитів», що є одним із джерел остеобластів під час ендохондральної осифікації. В контексті ремоделювання описано закон біомеханіки кістки та п'єзоелектричне адаптивне ремоделювання, а також кісткові мультицелюлярні одиниці як мікросистеми, що забезпечують перебудову грубоволокнистої кісткової тканини у пластинчасту.

**Висновки.** Репаративний остеогенез є складним та координуваним процесом, як на клітинному, так і молекулярному рівнях. Процес регенерації залежить від численних локальних та системних факторів, а пошук шляхів оптимізації здійснюється на кожному з етапів.

**Ключові слова:** репаративний остеогенез, стадії, гематома, запалення, ендохондральна осифікація, ремоделювання.

**Автор, відповідальний за листування:** *Ольга Сухонос, кафедра морфології, Сумський державний університет, м. Суми, Україна*  
e-mail: [suhonosolga97@gmail.com](mailto:suhonosolga97@gmail.com)

**СКРОЧЕННЯ**

MCK – мезенхімальні стовбурові клітини;  
 BMPs – група кісткових морфогенетичних білків;  
 BMU – кісткова мультицелюлярна одиниця;  
 BRC – кістковий ремодулюючий компартмент.  
 CDF-1 – фактор стромальних клітин 1;  
 Col24a1 – колаген 24a1;  
 CTHRC1 – потрійний спіральний повтор, що містить колаген 1;  
 CXCL – C-X-C-мотивні хемокінові ліганди;  
 CXCR4 – рецептор до CXС-хемокінів 4 типу;  
 DKK1 – білок Dickkopf 1;  
 DLX-5 – білок, що кодується дистальним геном гомеобоксу 5;  
 DMP-1 – матриксний протеїн дентину-1;  
 EFNB – ефрин В;  
 FGF-23 – фактор росту фібробластів-23;  
 G-CSF – гранулоцитарний колоніестимулюючий фактор;  
 GSK-3 $\beta$  - глікогенсинтаза кінази 3-бета;  
 HIF-1 $\alpha$  – гіпоксія-індукований фактор 1 $\alpha$ ;  
 IFN- $\gamma$  – гамма інтерферон;  
 IGFs – інсуліноподібні фактори росту;  
 IL – інтерлейкіни;  
 iNOS – індукована NO-синтаза;  
 M-CSF1 – макрофагальний колоніестимулювальний фактор;  
 MCP-1 – фактор хемотаксису моноцитів 1;  
 MDK – білок Midkine;  
 MEPE – матричний позаклітинний фосфоглікопротеїн;  
 MIP-1 – макрофагальний білок запалення 1;  
 NANOG – транскрипційний фактор, що бере участь у самооновленні недиференційованих ембріональних стовбурових клітин;  
 NRP1 – нейропілін-1;

OCT4 – фактор транскрипції, що зв'язує октамер 4;  
 OPG – остеопротегрин;  
 OSM – онкостатин М;  
 PDGF (PDGF-BB) – тромбоцитарний фактор росту;  
 PHEX – Х-зв'язаний гомолог фосфат-регулюючої ендопептидази;  
 PLGF – плацентарний фактор росту;  
 PTHrP - пептид, пов'язаний з паратгормоном;  
 RANK – рецептор активатора ядерного фактору каппа В;  
 RANKL – ліганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа В;  
 rhBMP-2 – рекомбінантний людський кістковий морфогенетичний білок 2;  
 RUNX2 – фактор транскрипції 2, пов'язаний із Runt;  
 SCL – склеростин;  
 SEMA3A – семафорин 3А;  
 sFRP – білки, пов'язані з Frizzled-рецепторами;  
 SOX2 – бокс 2 ділянки, що визначає стать, хромосоми Y;  
 SOX9 – бокс 9 ділянки, що визначає стать, хромосоми Y;  
 STAT3 – сигнальний білок та активатор транскрипції 3;  
 TGF- $\beta$  – трансформуючий фактор росту  $\beta$ ;  
 TNF- $\alpha$  – фактор некрозу пухлин  $\alpha$ ;  
 VEGF – фактор росту ендотелію судин;  
 ЛПС – ліпополісахарид, ендотоксин;  
 M-CSF1 – макрофагальний колоніестимулювальний фактор 1;  
 MMP-14 – матриксна металопротеїназа-14;  
 CXС –  $\alpha$ -хемокіни;  
 CC –  $\beta$ -хемокіни

**INTRODUCTION / ВСТУП**

Кісткова тканина є динамічною та адаптивною структурою завдяки розвиненому та скоординованому регенераторному потенціалу, а тому завжди привертала увагу морфологів та клініцистів. У свою чергу, репаративний остеогенез є складним стадійним процесом у відповідь на травмуючі чинники [2, 3, 4, 5, 6]. За останні десятиліття наукові здобутки щодо цієї властивості кісткової тканини значно розширилися та поглибилися. Вивчення та систематизація даних про процес регенерації кісткової тканини є важливим теоретичним підґрунтям для пошуку новітніх шляхів його оптимізації.

**Матеріали та методи**

Проведений огляд наукових джерел за темою репаративного остеогенезу. Пошук здійснювався за допомогою баз даних PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), ScienceDirect (<https://sciencedirect.com/>), ResearchGate (<https://www.researchgate.net/>), Google Scholar (<https://scholar.google.com/>) та пошукової системи Google (<https://www.google.com/>).

**Результати дослідження та їх обговорення**

Регенерація кістки після впливу травмуючого чинника може відбуватися двома способами: прямим або непрямим. Для прямого (первинного) загоєння кісткового дефекту є необхідними ідеальна стабільна анатомічна репозиція та фіксація кісткових уламків, а також відсутність розриву між

ними. Існує два види первинного загоєння: контактне («contact healing») та щільне («gap healing»). Контактна регенерація відбувається, якщо відстань між кістковими уламками складає менше 0,01 мм та міжфрагментарна деформація не перевищує 2%. На кінцях остеонів, найближчих до місця перелому, утворюються так звані «ріжучі конуси», що складаються з остеокластів, які рухаються зі швидкістю 50-100 мкм за добу, перетинаючи лінію перелому та утворюючи поздовжні канали, які в подальшому заповнюються остеобластами. Вищевказане призводить до одночасного зрощення уламків та формування Гаверсових каналів вздовж осі кістки з подальшим ангиогенезом без утворення кісткової мозолі. У випадку щільного загоєння, відстань між уламками складає від 800 мкм до 1 мм, місце перелому заповнюється остеобластами, а потім пластинчастою кісткою, орієнтованою перпендикулярно до осі кістки. У подальшому мають місце процеси, типові для контактного загоєння [1, 2]. Непряме (вторинне) загоєння кісткового дефекту є найбільш поширеним та включає в себе декілька послідовних стадій. Sheen J.R. та співавт. виділяють чотири стадії: утворення гематоми в місці травми, формування грануляційної тканини, утворення кісткової мозолі та ремоделювання [3]. Клініцисти Einhorn T.A. та Gerstenfeld L.C. описували фази запалення, ендохондральної осифікації та ремоделювання, що протікають паралельно анаболічній та катаболічній стадіям [4]. В огляді Bahney C.S. та співавт. висвітлено наступні етапи: безпосередньо травми, формування гематоми, запалення, фіброваскулярну стадію, формування кісткової тканини та подальше ремоделювання [5]. Вітчизняні дослідники Корж М.О. та Дедух Н.В. виділяли наступні стадії репаративного процесу: запалення, диференціювання клітин і формування тканинспецифічних структур, реорганізація тканинних структур та їх мінералізація, ремоделювання та завершення [6]. Marsell R. та Einhorn T.A. в огляді характеризували етапи гострої запальної реакції, залучення мезенхімальних стовбурових клітин, утворення хрящової та періостальної кісткової мозолі, реваскуляризації та неоангіогенезу, мінералізацію та резорбцію хрящової мозолі, ремоделювання кістки [2]. Варто зауважити, що процес регенерації залежить також від виду кістки та місця травми. Особливістю регенерації плоских кісток (наприклад, кісток склепіння черепа) є інтрамембранозна осифікація, на противагу ендохондральній. Окрім цього, процес загоєння кісткової тканини трубчастої кістки

протікає швидше, ніж у плоскій [7]. Також існує різниця між процесом загоєння кісткової тканини в ділянці діяфізу та метафізу. Для метафізарних переломів не є характерним утворення хрящової мозолі, на відміну від загоєння переломів діяфізу [8]. Отже, існує прямий та непрямий репаративний остеогенез, що залежить від виду перелому кістки та позиції кісткових уламків. Окрім цього, процес загоєння також залежить від виду кістки та місця травми. Надалі розглянутий непрямий репаративний остеогенез як стадійний та закономірний процес, що включає послідовні етапи.

Внаслідок травми значною мірою порушується архітектура кістки, що неминуче призводить до розриву кровеносних судин, результатом чого є формування гематоми, яка створює необхідне мікрооточення для розвитку запального процесу та подальшої регенерації кістки [9]. Так, в огляді літератури Walters G. та співавт. проаналізували основні фактори під час формування гематоми, що є передумовою для формування запального процесу. Такими були локальне зниження рН, рівня кисню, підвищення рівня кальцію, фосфору, лужної фосфатази, лактату, температури та рівня тиску, що створюється у місці формування гематоми [10]. Клітинними елементами гематоми є тромбоцити, еритроцити, лейкоцити, моноцити, макрофаги, мезенхімальні стовбурові клітини (МСК), прогеніторні клітини ендотелію судин. До молекулярних компонентів належать трансформуючий фактор росту  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), інсуліноподібні фактори росту (IGFs), фактор росту ендотелію судин (VEGF) [11]. Згідно з дослідженням Popsuishapka O.K. та співавт., утворений фібриновий згусток завдяки концентрації факторів росту, зокрема VEGF, сприяє неоангіогенезу, а також остеогенній диференціації клітин. Окрім цього, кісткові трабекули, що формуються на 3 тижні після перелому, повторюють орієнтацію фібринових волокон. Було зроблено висновок, що фібриновий згусток є біологічно активним «каркасом», а його утворення слід вважати початковим етапом процесу регенерації [12]. За думкою Wang X. та співавт., кров'яний згусток, що утворюється після перелому, є найкращим природним скафолдом для подальшого загоєння кісткової тканини, що слугує передумовою для розробки біоматеріалів на основі фібрину [13]. Також було висунуто гіпотезу про те, що якість загоєння кісткової тканини залежить від типу фібринових волокон у кров'яному згустку. Так, локальні фактори в місці перелому (рН, рівень кальцію, концентрація фібриногену, тромбіну і т.д.) можуть мати вплив на інтеракцію між ланцюгами



фібриногену, утворюючи два «фенотипи гематоми»: пористу, не щільно сплетену, що складається з товстих волокон фібрину та щільну, з дрібними порами, утворену з більш тонких волокон. У першому випадку пориста структура фібрину забезпечує сприятливі умови для подальшої клітинної інфільтрації та безперервного вивільнення факторів росту з фібринової матриці, а також своєчасно руйнується плазміном, що, в цілому, забезпечує нормальне загоєння кісткового дефекту [14]. Glatt V. та Tetsworth K. розробили біоміметичну гематому («biomimetic hematoma») *ex vivo*, яка є аналогом гематоми, що виникає під час перелому. Цей аутологічний «носіє» здатний доставляти rhBMP-2 (рекомбінантний людський кістковий морфогенетичний білок 2, індуктор остеогенезу), з метою покращення загоєння складних переломів [15]. На противагу системі гемостазу, фібриноліз також відіграє важливу роль у адекватній регенерації кісткової тканини. Так, дефіцит плазміногену призводить до накопичення залишків фібрину в місці перелому, що погіршує ендохондральну васкуляризацію та остеогенез, результатом чого є затримка регенерації або незрощення кісткового дефекту [16]. Підсумовуючи, можна зробити висновок, що гематома є своєрідною основою для подальшого процесу запалення та містить у собі регенераторний потенціал.

Початкова гостра запальна фаза загоєння перелому характеризується залученням нейтрофілів, макрофагів, лімфоцитів та інших клітин імунної системи, що призводить до вивільнення різноманітних цитокінів, хемокінів та факторів росту та триває до 5-ти днів. Першочергово, тромбоцити виділяють запальні цитокіни: інтерлейкіни (IL) -1, 6, TNF- $\alpha$  (фактор некрозу пухлин  $\alpha$ ); та фактори росту: PDGF (тромбоцитарний фактор росту), TGF- $\beta$  для залучення імунних (нейтрофіли та моноцити) і МСК [4, 17]. Нейтрофіли очищають місце травми від патогенних мікроорганізмів, клітинних залишків та ініціюють гостру запальну відповідь. На ранніх стадіях запалення ці клітини сприяють утворенню фібринового тромбу завдяки депонуванню фібронектину, що створює позаклітинний матрикс для подальшого його заселення МСК [18]. Окрім цього, ЛПС (ендотоксин) бактерій стимулює синтез нейтрофілами ліганда рецептора-активатора ядерного фактора каппа В (RANKL), який активує остеокластогенез та резорбційну активність остеокластів [19]. У експерименті Kovtun A. та співавт. систематичне введення експериментальним тваринам упродовж 24 годин перед травмою антитіл Lu-6G, з метою зменшення кількості нейтрофілів,

призвело до порушення репаративного остеогенезу, що виявилось у зменшенні кісткової тканини регенерату та погіршенні її механічних властивостей [20]. Також нейтрофіли секретують ряд цитокінів, таких як IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , MCP-1 (фактор хемотаксису моноцитів 1), CXCL-1 $\alpha$  (С-Х-С мотивний хемокіновий ліганд 1 $\alpha$ ), MIP-1 (макрофагальний білок запалення 1) для подальшого залучення моноцитів, які диференціюються в макрофаги [17]. Макрофаги є необхідними для адекватного процесу загоєння кісткової тканини. Так, у дослідженні *in vivo* зменшення кількості макрофагів у експериментальних тварин шляхом введення клодронату призводило до затримки загоєння перелому, що полягало у порушенні формування твердого кісткового мозоля [21]. До 7 днів після травми перевагу мають М1 макрофаги («прозапальні макрофаги»), які залучають клітини імунної системи шляхом виділення ряду цитокінів: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, MCP-1, G-CSF (гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор), IL-12, IL-23, TNF- $\alpha$  та iNOS (індукована NO-синтаза) тим самим ініціюючи каскад запальної реакції. На противагу цьому, М2 макрофаги («альтернативно активовані макрофаги»), класифіковані на субпопуляції (М2a-М2d), є активними наприкінці фази запалення та секретують цитокіни (аргіназа-1, IL-4, IL-10 та TGF- $\beta$ ), що сприяють ангиогенезу та остеогенезу [22]. Водночас важливим є співвідношення рівнів М1 та М2 субпопуляцій макрофагів під час регенерації кісткової тканини. Наприклад, надмірний рівень макрофагів фенотипу М1 на початковій стадії запалення та недостатній рівень М2 макрофагів на стадії завершення запального процесу призводить до хронічного запального процесу та затримки регенерації кісткової тканини. На даний час вивчено, що існує взаємодія між макрофагами та стовбуровими клітинами кісткового мозку, що реалізується шляхом прямих клітинних контактів, утворення екзосом макрофагами або паракриною секрецією. В основному, макрофаги модулюють залучення та остеогенну диференціацію МСК кісткового мозку завдяки секреції ряду медіаторів запалення, таких як IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , групи СС (CCL 2, CCL3, CCL4, CCL5) та CXCL (CXCL2, CXCL10, CXCL16) хемокінів, OSM (онкостатин М), BMP-2 та ін. чи шляхом утворення екзосом. Вищевказане дало поштовх для вивчення можливості сприяти процесу регенерації кісткової тканини шляхом модуляції поляризації макрофагів від фенотипу М1 до М2 використовуючи остеоімуномодулючі біоматеріали, локальну трансплантацію попередників макрофагів та використання екзосом для доставки сигнальних

молекул [22, 23]. Важливими для репаративного остеогенезу є також Т- та В-лімфоцити. За відсутності цих імунних клітин порушується диференціація остеобластів, відкладення колагену, і як наслідок, кісткова тканина стає крихкою та схильна до переломів [24]. Наприкінці стадії запалення Т-лімфоцити продукують RANKL, що сприяє активації та залученню остеокластів задля видалення фібринового матриксу. Паралельно В-лімфоцити продукують OPG (остеопротегрин), інгібуючи таким чином активність остеокластів. У свою чергу, НК-клітини беруть участь у залученні клітин імунної системи та остеокластів завдяки продукції TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  (гамма інтерферон) та RANKL, а також МСК завдяки секреції CXCL7 [17]. Отже, клітини імунної системи на стадії запалення під час репаративного остеогенезу є не тільки ініціаторами каскаду запальних реакцій. Завдяки виділенню різноманітних факторів вони сприяють залученню, диференціації та проліферації МСК, регулюють активність клітин кісткової тканини, а також контролюють ангиогенез.

Активне залучення МСК для подальшого хондро- та остеобластогенезу, а також васкуляризація, дало підстави деяким дослідникам виділити фіброваскулярну стадію. Джерелом МСК є періост та кістковий мозок, а залученню сприяє також хемокін CDF-1 (фактор стромальних клітин 1, також відомий як CXCL12). У свою чергу, стовбурові клітини експресують рецептор до CDF-1, CXCR4 [5]. Варто зазначити, що у випадку регенерації кісток склепіння черепа, джерелом остеопрогеніторних клітин є також тверда мозкова оболонка [7]. Гіпоксія сприяє збільшенню секреції HIF-1 $\alpha$  (гіпоксія-індукований фактор), що впливаючи на рівень експресії CDF-1, посилює міграцію МСК [25]. Тканинна гіпоксія також є важливим фактором, що забезпечує ангиогенез. Так, гіпоксія-індукований фактор HIF-1 $\alpha$  регулює VEGF-залежну інвазію судин у зону хряща та впливає на вивільнення ангиокринних сигналів від судин, що сприяє залученню та подальшій активності клітин остеопрогеніторного ряду. Особливе значення для контролю активності HIF мають кисень-залежні ферменти гідроксилази, які дестабілізують HIF за нормального рівня кисню. В умовах гіпоксії активність ферментів пригнічується, що призводить до ядерного транспортування HIF- $\alpha$  та утворення активного транскрипційного комплексу. З метою покращення регенерації кісткової тканини активно розробляються методики впливу на вищевказаний шлях [26]. Було виявлено, що за умов гіпоксії пригнічується проліферація МСК, однак має місце їх посилення остеогенна диференціація. Водночас,

гіпоксія призводить до посилення фосфорилування сигнального білка та фактора транскрипції STAT3 (сигнальний білок та активатор транскрипції 3) та експресії VEGF у стовбурових клітинах [27]. Прекондиціонування гіпоксією є ефективним і перспективним методом оптимізації дії екзосом (Нуро-Exos), отриманих з МСК, з метою регенерації кісткової тканини [28]. Zhang T. та співат. замінили передню хрестоподібну зв'язку колінного суглоба щура аутотрансплантатом довгого згинача пальців та досліджували дію екзосом, отриманих з МСК кісткового мозку, що були культивовані в умовах гіпоксії. Дія цих екзосом (Нуро-Exos) при введенні в адгезивному гідрогелі, виявлялась у ангиогенному ефекті в ділянці навколо трансплантата. За думкою авторів, це може призвести до покращення формування кісткової тканини та оптимізації процесу ремоделювання [29]. В іншому експерименті було висвітлено позитивний вплив інтермітуючої гіпобаричної гіпоксії на процес регенерації дефекту стегнової кістки щурів. Тварини, які після хірургічного втручання щодня упродовж 6-ти годин перебували у гіпобаричній камері, мали кращі результати, у порівнянні з контрольною групою, що виявлялось у збільшенні об'єму утвореної кісткової тканини, кращих показниках міцності та жорсткості, ендохондральної осифікації та ангиогенезу. Окрім цього, застосування інтермітуючої гіпобаричної гіпоксії сприяє остеобластогенезу, що виявилось у посиленій експресії RUNX2 (фактор транскрипції 2, пов'язаний із Runt), Osterix та синтезі колагену I типу [30]. Загалом, гіпоксія стимулює ангиогенез, посилює міграцію МСК до місця кісткового дефекту та подальшу їх диференціацію у остеогенні клітини, тим самим «поєднуючи» процеси остеогенезу та ангиогенезу у кістковому регенераті що виявляється в утворенні грануляційної тканини

Надалі має місце формування хрящової тканини в місці дефекту, що надає перелому стабільної структури. Варто зазначити, що на подальший хондро- та остеогенез впливають фактори транскрипції SOX9 (бокс 9 ділянки, що визначає статеві хромосоми Y) та RUNX2. Так, баланс у активації вищевказаних факторів необхідний для розвитку остеопрогеніторних клітин як у хондроцити, так і у остеобласти [31]. Клітини остеохондропрогеніторного ряду диференціюються в хондроцити, які, проліферуючи, утворюють ранній м'який мозоль. В межах утвореного мозолю хондроцити дозрівають, гіпертрофуються та експресують ангиогенні фактори, такі як VEGF (фактор росту ендотелію судин), PDGF (тромбоцитарний фактор росту), PLGF

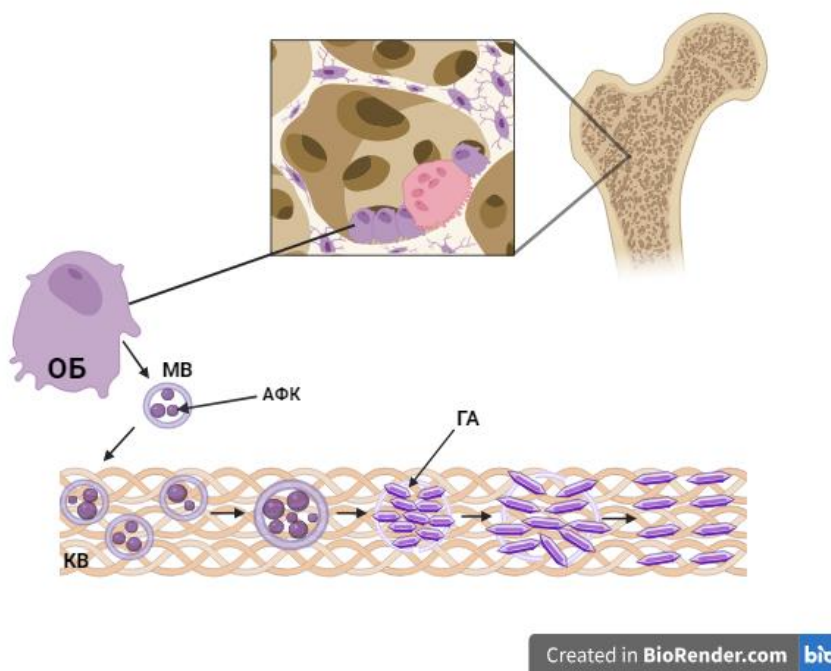
(плацентарний фактор росту) та специфічні маркери кісткової тканини (лужну фосфатазу, остерикс, остеопонтин та остеокальцин), що призводить, відповідно, до судинної інвазії та подальшої мінералізації хрящової тканини. Деякі з гіпертрофованих хондроцитів піддаються апоптозу, ймовірно, задля полегшення процесу подальшого кісткового ремоделювання та створення кісткомозкового простору. Інші ж хондроцити відновлюють властивості плюрипотентних клітин, експресують фактори транскрипції OCT4, SOX2 і NANOG, що регулюють самовідновлення стовбурових клітин, знову вступають у клітинний цикл, діляться, а потім трансформуються в остеобласти [5, 32]. Це явище має назву «трансдиференціація хондроцитів». Згідно з Aghajanian P. та Mohan S., вищевказана модель має назву «диференціація – редиференціація хондроцитів». Під час цього процесу гіпертрофовані хондроцити або піддаються апоптозу, або дедиференціюються в клітині остеохондрогеніторного ряду, а потім редиференціюються в преостеобласти та, в подальшому, в остеобласти. Ця модель має місце як під час ембріонального розвитку кісткової системи і постнатального остеогенезу, так і під час регенерації кісткової тканини [33]. Отже, джерелом остеобластів під час фази ендохондральної осифікації можуть бути як МСК, так і трансдиференційовані хондроцити. На процес диференціації МСК в остеобласти впливають фактори транскрипції RUNX2, Osterix та DLX-5 (білок, що кодується дистальним геном гомеобоксу 5) [34]. Під дією вищевказаних факторів клітина набуває остеогенних властивостей, стає преостеобластом та надалі проходить три стадії розвитку, на кожній з яких відбувається утворення специфічних маркерів остеогенезу. На першій стадії клітини у процесі проліферації виділяють фібронектин, проколаген I типу, остеопонтин та експресують рецептор до TGF- $\beta$ . На другому етапі, у процесі диференціації, клітини починають виділяти у міжклітинну речовину колаген I типу та лужну фосфатазу. На третій, завершальній стадії, зрілий остеобласт активно виділяє остеокальцин та кістковий сіалопротеїн II [35]. Окрім цього, на етапі диференціації та мінералізації остеобласти синтезують протеоглікан люмікан, що бере участь у формуванні колагенових фібрил. Також було виявлено, що люмікан пригнічує остеокластогенез, і відповідно, резорбцію кісткової тканини [36]. Остеобластами періосту секретується остеокальцин, пептид, що регулює ріст пластинки росту кістки шляхом активації С-натрійуретично залежної

проліферації та дозрівання хондроцитів [37]. Ряд цитокінів має позитивний вплив на процес диференціації остеобластів, а саме TGF- $\beta$ , група кісткових морфогенетичних білків («BMP»), а саме BMP-2, BMP-4 та BMP-7 та ін. На клітинному рівні BMP існують як ліганди до мембранних рецепторів остеобластів, остеокластів, мезенхімальних стовбурових клітин, активація яких індукує проліферацію та диференціацію. В огляді Zhu L. та співавт. висвітлена важлива роль білків BMP 2, 4, 5, 6, 7, 9 в хондрогенезі, утворенні та регенерації кісткової тканини. Окрім цього, визначені перспективи в розробці імплантаційних матеріалів з вмістом BMP з метою використання в галузі ортопедії та травматології [38]. Канонічний шлях Wnt ( $\beta$ -катенін-залежний) також регулює остеобластогенез. Зв'язування Wnt з Frizzled (Fz) – рецептором та ко-рецепторами на поверхні клітини зумовлює каскад реакцій, що в підсумку дозволяє  $\beta$ -катеніну накопичуватися в цитоплазмі та транслокуватися до ядра і надалі активувати експресію RUNX2 [39]. У свою чергу, антагоністами сигнального шляху Wnt є білки Dickkopf 1 («DKK1»), Midkine («MDK»), склеростин («SCL»), Frizzled-related proteins («sFRP»), GSK-3 $\beta$  (глікогенсинтаза кінази 3-бета) та ін. [40]. Вищевказане дало передумови для модифікації цього сигнального шляху з метою оптимізації регенерації кісткової тканини. Так, описано позитивний доклінічний досвід застосування антитіл проти SCL, DKK1 та MDK, що в майбутньому може бути використаним для оптимізації лікування переломів кісток [41]. В огляді Nelson A.L. та співавт. розглянули перспективні шляхи активації Wnt-шляху задля покращення регенерації кісткової тканини. Такими є розробка штучних Wnt-лігандів, застосування скафолдів на основі гідроксилапатиту чи кальцію фосфату з вмістом іонів фтору та стронцію, використання літію хлориду, гідрогелів з вмістом гіалуронової кислоти, ліпосом з Wnt-лігандами та методів генної інженерії [42].

Наступна мінералізація опосередкована діяльністю остеобластів та гіпертрофованих хондроцитів. Цей процес досягається завдяки утворенню матриксних везикул з апікальної поверхні клітин, які містять іони кальцію ( $\text{Ca}^{2+}$ ) та ортофосфат-іони ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). Перенасичення іонами кальцію та ортофосфат-іонами матриксних везикул призводить до утворення кристалів гідроксилапатиту, які розташовуються радіально відносно поверхні матриксної везикули і, насамкінець, виходять назовні, утворюючи так звані «голчасті» кристали, які «вбудовуються» в фібрили

колагену та розташовуються між ними. Виділяють наступні стадії мінералізації кісткового матриксу: первинну, під час якої матриксні везикули розміром менше 40 нм з аморфним фосфатом кальцію «вбудовуються» в проміжки між колагеновими волокнами та вторинну фазу, яка включає активне утворення кристалів гідроксилапатиту, які виходять за межі везикул, руйнуючи їх, та з'єднуються з волокнами колагену. В кінцевому результаті формується впорядкований комплекс кристалів апатиту з фібрилами колагену (Рис. 1) [43]. Варто зауважити, що процес мінералізації є важливим фактором, від якого залежить жорсткість та міцність кістки, і який також залежить від дії екзогенних факторів. Так, наприклад, застосування протипухлинних хіміопрепаратів в процесі репаративного остеогенезу спричиняє порушення фосфорно-кальцієвого обміну, що виявляється у зниженні процесу мінералізації [44]. Загалом, фаза ендохондральної осифікації триває, в середньому, до 21 доби [4]. Shapiro F. та Wu J.Y. виділяли дві функціонально різнонаправлені види остеобластів, що забезпечують осифікацію під час репаративного остеогенезу: «мезенхімальні» та «поверхневі».

«Мезенхімальні» остеобласти утворюють ретикулофіброзну кісткову тканину, синтезуючи колагенові волокна у довільному порядку. У подальшому, на стадії ремоделювання ця тканина заміщується пластинчастою завдяки діяльності «поверхневих» остеобластів, що розташовуються на поверхні ретикулофіброзної тканини та синтезують впорядковано розміщені колагенові волокна, тим самим формуючи пластинчасту кістку [45]. За іншою класифікацією, існує два види активних остеобластів: первинні та вторинні. Первинні остеобласти утворюють ретикулофіброзну кісткову тканину, а надалі «замуровуються» в утворені первинні кісткові балки та перетворюються в первинні остецити, які мають пласку форму та короткі відростки, що не дозволяє їм контактувати між собою. Подальший процес мінералізації перешкоджає доступу поживних речовин, що призводить до дегенерації та загибелі цих клітин. В результаті процес утворення первинної ретикулофіброзної тканини припиняється [46]. Згідно з Корж Н.А. та Дедух Н.В. цей процес має назву «реорганізація тканинних структур та мінералізація» [6].



**Рисунок 1 – Процес мінералізації кісткової тканини. ОБ – остеобласт, МВ – матриксна везикула, АФК – аморфний фосфат кальцію, ГА – гідроксилапатит, КВ – колагенові волокна**

Варто зауважити, що регуляторну роль в регенерації кісткової тканини мають також кровоносні судини. Останнім часом увага дослідників прикута до судин Н-типу, які розташовуються поблизу пластинки росту метафіза

та субперіостально, а також щільно розташовуються відносно остеопрогеніторних клітин, що експресують RUNX2 та Osterix. Цей підтип судин кісткового мозку характеризуються високою експресією CD31 та ендомуцину ендотеліоцитами, а також продукцією



факторів, що стимулюють проліферацію та диференціювання остеопрогеніторних клітин [47]. В огляді Peng Y. та співавт. відображено зв'язок ангиогенезу Н-судин із остеогенезом, який можливий завдяки наявності молекулярних зв'язків між клітинами ендотелію та остеобластами. Так, гіпертрофовані хондроцити, клітини лінії остеобластів, ендотеліальні клітини синтезують VEGF, зрілі остеобласти та остеокласти секретують SLIT3, преостеокласти секретують PDGF-BB, що сприяє ангиогенезу Н-судин. У свою чергу, ендотеліоцити Н-судин здатні до експресії RANKL, що через сигнальний механізм RANKL-RANK активує остеокласти для подальшої резорбції хряща. В умовах гіпоксії в ендотеліоцитах Н-судин відбувається посилена експресія HIF-1 $\alpha$ , що запускає процес ангиогенезу. Окрім цього, в умовах посиленого кровотоку в ендотеліоцитах Н-судин активується сигнальний шлях Notch, що призводить до посиленої продукції білка Noggin та стимулює диференціацію периваскулярних остеопрогеніторних клітин, розвиток гіпертрофованих хондроцитів та проліферацію клітин ендотелію [48]. В огляді Liu X. та співавт. проаналізовано залежність між Н-судинами та поширеними хворобами кісткової системи. Наприклад, зменшення чисельності Н-судин веде за собою втрату кісткової маси та підвищений ризик переломів, а також має місце при остеопорозі. Подальші дослідження судин цього типу та їх взаємодії з клітинами кісткового мозку можуть відкрити нові перспективи для лікування патологій кісткової системи [49].

Наступна стадія ремоделювання передбачає повне відновлення форми та цілісності кістки. На цьому етапі відбувається резорбція утвореної кісткової ретикулофіброзної тканини та заміщення її пластинчастою кістковою тканиною. На місці первинної ретикулофіброзної тканини з'являються вторинні остеобласти, результатом життєдіяльності яких є пластинчаста кісткова тканина. В подальшому, вторинні остеобласти перетворюються у вторинні остеоцити, що «замуровуються» в кістковий матрикс. Процес резорбції первинної кісткової тканини забезпечується остеокластами [46]. Остеокласти – багатоядерні спеціалізовані клітини кісткової тканини, що утворюються з гемопоетичної лінії моноцитів/макрофагів, а саме з клітин мієлоїдного паростку. Клітини-попередники остеокластів розвиваються з премоноцитів, надалі потрапляють до кровообігу, під впливом сфінгозин-1-фосфату та фактору 1, отриманого зі стромальних клітин («SDF-1») набувають подальшої диференціації. Завершальний етап розвитку клітин проходить під впливом RANKL та M-CSF1

(макрофагальний колонієстимулювальний фактор 1). CSF1 (або M-CSF), що секретується остеобластами та остеопрогеніторними клітинами мезенхіми, зв'язуючись з рецепторами на поверхні клітин-попередників остеокластів, стимулює проліферацію та інгібує апоптоз останніх. Надалі відбувається злиття декількох клітин-попередників в багатоядерний зрілий остеокласт [50]. Система RANK/RANKL/OPG активно функціонує під час остеокластогенезу, формування та ремоделювання кісткової тканини. Компонентами цієї системи є рецептор активатора ядерного фактору каппа В (RANK), його ліганд (RANKL) та остеопротегрин (OPG). RANK знаходиться на поверхні остеокластів та їх попередників. Білок RANKL, що в основному продукується остеоцитами, преостеобластами та остеобластами, після зв'язування з RANK стимулює диференціацію та активацію остеокластів. Остеопротегрин (OPG), що продукується остеобластами, є «приманкою» для RANKL, інгібує взаємодію RANKL-RANK, тим самим контролюючи активацію остеокластів та резорбцію кісткової тканини [51]. Нещодавно було показано, що RANK та RANKL можуть бути компонентами екзосом остеокластів та остеобластів, що дозволяє системі RANK-RANKL діяти на відстані від клітин. RANK в екзосомах остеокластів може стимулювати зворотній сигнальний шлях RANK-RANKL в остеобластах та індукувати утворення кісткової тканини [52]. Дисбаланс у вищевказаній системі може мати негативний вплив на процес ремоделювання [53].

Ремоделювання кісткової тканини регулюється численними зв'язками між остеокластами та остеобластами, що реалізуються клітинними контактами та секрецією сигнальних молекул. Взаємодія мембранних білків остеобластів та остеокластів призводить до зміни функціональних властивостей клітин. Наприклад, пряма взаємодія молекули Ефрину В2 («EFNB2») на поверхні остеокласту з Ефрином В4 («EFNB4») остеобластів призводить до посиленого остеобластогенезу та пригнічення апоптозу остеобластів, а зворотній сигнальний шлях (остеобласт-остеокласт), може як активувати так і пригнічувати остеокластогенез. Активація сигнальної системи FAS-FASL індукує апоптоз остеокластів, а зв'язування семафорину (SEMA3A) остеобластів з молекулою нейропіліну-1 (NRP1) призводить до пригнічення остеокластогенезу [50]. Окрім цього, остеобластами секретується низка факторів, що впливають на проліферацію та активність остеокластів. Як було вказано вище, M-CSF1 стимулює проліферацію остеокластів, а RANKL – один з ключових факторів

активації та диференціювання остеокластів. Ліганд Wnt5a, синтезований клітинами лінії остеобластів, посилює RANKL-індукований остеокластогенез. У свою чергу, сфінгозин-1-фосфат, що продукується остеокластами, сприяє міграції остеобластів, а білок CTNRC1 (потрійний спіральний повтор, що містить колаген 1) сприяє залученню мезенхімальних клітин та диференціації остеобластів. Позитивний вплив на остеобластогенез має білок системи комплементу C3, синтезований остеокластами, зокрема його фрагмент C3a, а також ліганд Wnt10b [54]. Отже, роль остеокластів обмежується не лише резорбцією; завдяки продукції численних вищевказаних факторів, ці клітини є регуляторами анаболізму кісткової тканини. А остеобласти, у свою чергу, контролюють їх активність. Центральну регуляторну роль у взаємодії цих двох функціонально різнонаправлених клітин займає остеоцит. Остеоцити, що складають 90-95% від всіх клітин кісткової системи, є термінальною стадією диференціації остеобластів; вони розташовуються в лакунах кісткового матриксу, мають зірчасту форму та цитоплазматичні відростки. Завдяки клітинним відросткам, що контактують з іншими остеоцитами, остеобластами, покривними клітинами, остеокластами, стовбуровими клітинами кісткового мозку, кровеносними судинами та з мінералізованим кістковим матриксом, утворюють розвинену лакуноканальцеву систему [55]. Близько 10-20 % остеобластів диференціюються в остеоцити під час процесу трансформації, що згідно з класифікацією Franz-Odenaal T.A. та співавт. включає стадію остеобласта, преостеоцита I типу (або остеобластного остеоцита), преостеоцита II типу (або «остеоїд-остеоцита»), преостеоцита III типу (клітини, що частково оточена мінералізованим матриксом), молодого та зрілого остеоцита [56]. На стадії зрілого остеоцита клітини починають продукцію специфічних маркерів таких як матриксний протеїн дентину-1 («DMP-1»), склеростин, матриксна металопротеїназа-14 («MMP-14»), CD44, фактор росту фібробластів-23 («FGF-23»), DKK-1 (антагоніст канонічного шляху Wnt), білків PHEX, MEPE та ін. Матриксна металопротеїназа-14 (MMP-14) бере участь у формуванні каналцевої системи, шляхом періостеоцитарного розщеплення колагену, а DMP-1, FGF-23, PHEX, MEPE є важливими регуляторами гомеостазу фосфатів у плазмі крові. Склеростин та DKK-1, будучи антагоністами канонічного шляху Wnt, регулюють утворення кісткової тканини. Спільно з остеобластами, остеоцити секретують RANKL та OPG, тим самим контролюючи резорбцію кісткової тканини остеокластами. Окрім цього, остеоцити є механочутливими клітинами [55, 57].

Описуючи стадію ремоделювання, варто згадати закон біомеханіки кістки, розроблений німецьким анатомом і хірургом Юліусом Вольфом ще у 19 ст. (закон Вольфа). Цей закон стверджує, що кісткова тканина адаптується до навантажень, яких зазнає [58]. В контексті репаративного остеогенезу, цей закон свідчить про те, що кістковий регенерат, що піддається механічним навантаженням буде ефективніше відновлювати структуру, а у випадку відсутності навантажень – атрофуватися. У свою чергу, перебудова кісткової тканини при цьому відбувається завдяки явищу механотрансдукції, а клітинними елементами, що виступають у ролі механотрансдуктора є остеоцити [59]. Окрім цього, у відповідь на механічне навантаження та деформацію кісткової тканини виникає генерація електричних зарядів. Це так званий п'єзоелектричний ефект кісткової тканини, відкритий Eiichi Fukada у 1957 році [60]. Даний ефект можливий завдяки наявності у кістковій тканині великої кількості колагенових волокон, що генерують фізіологічний п'єзоелектричний потенціал у відповідь на деформацію. У зонах стиснення кістки виникає негативний електричний заряд, а позитивний – у ділянці розтягнення, а клітинна мембрана остеоцитів, відповідно, гіперполяризується та депольаризується. Гіперполяризація індукує остеобластогенез та синтез кісткового матриксу. У свою чергу, депольаризація сприяє остеокластогенезу (рис. 2) [61]. Вищевказане зробило поштовх у пошуку та розробці п'єзоелектричних матеріалів для покращення репарації кісткової тканини [62].

Для повноцінного функціонування процесу ремоделювання необхідна координована діяльність остеоцитів, остеобластів, остеокластів, які в процесі репарації кісткової тканини утворюють так звані кісткові мультицелюлярні одиниці («bone multicellular units», BMU). Це поняття було введено Harold Frost у 1960-х роках. Кожна BMU «працює» у замкнутому просторі та утворює кістковий ремодулюючий компартмент («bone remodeling compartment», BRC) [63]. Неактивні остеобласти (або покривні клітини, «bone lining cells») також є учасниками BMU. Ці клітини виконують функцію захисту утвореного кісткового матриксу від передчасної резорбції остеокластами. Активність покривних клітин залежить від фізіологічного стану кістки, зокрема в процесі ремоделювання, внаслідок механічних пошкоджень, вони набувають секреторних властивостей. Доведено, що покривні клітини впливають на диференціацію остеокластів, виділяючи остеопротегерин RANKL, а також M-CSF1 [31, 64]. Робота остеокластів в BMU

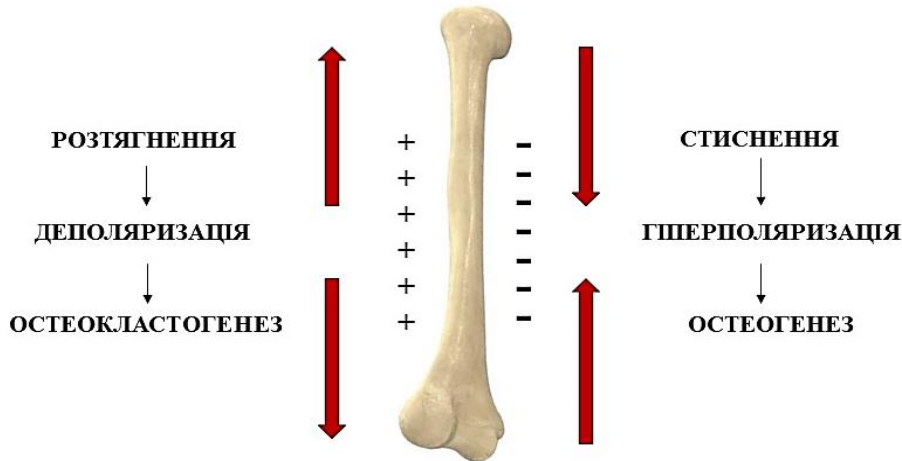
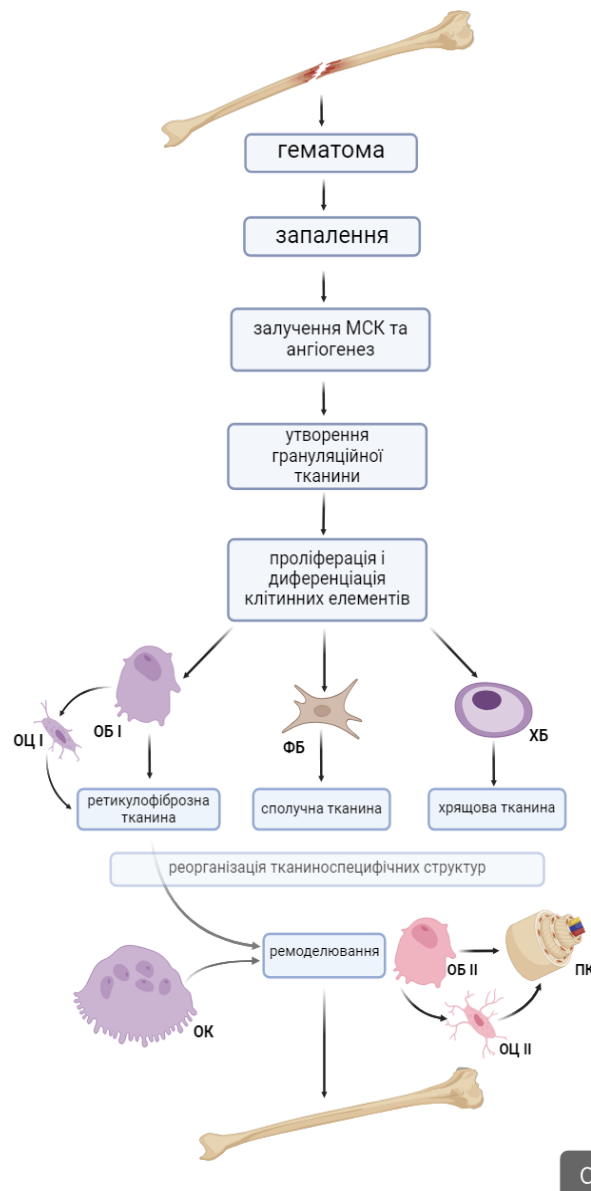


Рисунок 2 – П'єзоелектричний ефект кісткової тканини

спрямована на резорбцію сформованої грубоволокнистої кісткової тканини. Цей процес супроводжується вивільненням численних факторів росту, наприклад, трансформуючого фактора росту  $\beta$  («TGF- $\beta$ »), тромбоцитарного фактора росту («PDGF»), інсуліноподібних факторів росту I та II («IGF-I», «IGF-II») [65]. В губчастій кістці під час резорбції остеокласти утворюють лакуни глибиною близько 60 мкм, а потім рухаються вздовж волокон колагену. Для резорбції неорганічного матриксу остеокласти виділяють соляну кислоту, а органічний матрикс розщеплюється металопротеїназами, катепсинами та тартратрезистентною кислотою фосфатазою [66]. Надалі в очищених остеокластами ділянках кістки з'являються групи клітин, що беруть участь у підготовці кісткової поверхні для заселення остеобластами. Це так звані «реверсивні» клітини («reversal cells»), гетерогенні клітини лінії остеобластів, що очищують поверхню кістки після резорбції від залишків матриксу та клітин остеокластів; здатні до ендоцитозу та розщеплення колагену [67]. Важливу роль на етапі ремоделювання має «навіс» над функціонуючим кістково-мультицелюлярним комплексом (у випадку ремоделювання губчастої кістки), що утворений остеопрогеніторними та покривними клітинами. Цей утвір відмежує кістково-мультицелюлярний компартмент від кісткового мозку, а також пронизаний судинами, що сприяє

швидкій доставці різноманітних регуляторних факторів, крім того, є «резервуаром» клітин остеопрогеніторного ряду [65]. Надалі відбувається відкладання органічного матриксу остеобластами та подальша його мінералізація. Утворюється пластинчаста кісткова тканина замість грубоволокнистої. Насамкінець, зрілий остеобласт «замуровується» в кістковий матрикс та диференціюється в остеоцит, однак також може піддаватися апоптозу або переходити у неактивний стан, утворюючи систему покривних клітин [45, 68]. Кістковий мультицелюлярний компартмент оточується утвореним кістковим матриксом. Остеоцит утворює відростки, які контактують з відростками оточуючих остеоцитів, тим самим створюючи розвинену лакуноканальцеву мережу. Окрім цього, остеоцит регулює завершення процесу ремоделювання кісткової тканини, виділяючи склеростин [65, 69]. Кісткові мультицелюлярні одиниці під час ремоделювання у губчастій кістці розташовані на поверхні лакун Хаушипа, а у компактній кістковій тканині утворюють «тунелі» [70]. Процес ремоделювання кісткової тканини під час репаративного остеогенезу починається на 3-4 тижні та триває роками і завершується повним відновленням кістки як органа [6].

Узагальнена схема перебігу репаративного остеогенезу на основі проаналізованих літературних даних наведена на Рис. 3.



Created in BioRender.com

**Рисунок 3 – Схема репаративного остеогенезу. ОБ I – остеобласт першого типу, ОЦ I – остеоцит першого типу, ФБ – фібробласт, ХБ – хондробласт, ОК – остеокласт, ОБ II – остеобласт другого типу, ОЦ II – остеоцит II типу, ПК – пластинчаста кістка**

### CONCLUSIONS / ВИСНОВКИ

Репаративний остеогенез є багатограним та координованим механізмом, який підпорядковується локальним за системним

факторам, результатом якого є повне відновлення кістки як органа. Розуміння регенерації кісткової тканини є важливою основою для пошуку нових шляхів та методів оптимізації цього процесу.

### PROSPECTS FOR FUTURE RESEARCH / ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Надалі планується дослідити морфологію репаративного остеогенезу в умовах імплантації наноструктурованих апатит-біополімерних матеріалів з відрегульованою пористістю.

### AUTHOR CONTRIBUTIONS / ВКЛАД АВТОРІВ

Усі автори зробили істотний внесок у розробку початкової та доопрацьованої версії цієї статті. Вони несуть повну відповідальність за всі аспекти роботи і вирішення питань, пов'язаних з точністю або цілісністю наведеної інформації.



**FUNDING / ДЖЕРЕЛА ФІНАНСУВАННЯ**

Відсутні.

**CONFLICT OF INTEREST / КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ**

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**ACKNOWLEDGEMENTS / ПОДЯКА**

Робота виконана за підтримки гранту Національного фонду фундаментальних досліджень України 0122U001154.

**REFERENCES/СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

- ElHawary H, Baradaran A, Abi-Rafeh J, Vorstenbosch J, Xu L, Efanov JI. Bone Healing and Inflammation: Principles of Fracture and Repair. *Semin Plast Surg.* 2021;35(3):198-203. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1732334>
- Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury.* 2011;42(6):551-555. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2011.03.031>
- Sheen JR, Mabrouk A, Garla VV. Fracture Healing Overview. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; April 8, 2023.
- Einhorn TA, Gerstenfeld LC. Fracture healing: mechanisms and interventions. *Nat Rev Rheumatol.* 2015;11(1):45-54. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2014.164>
- Bahney CS, Zondervan RL, Allison P, et al. Cellular biology of fracture healing. *J Orthop Res.* 2019;37(1):35-50. <https://doi.org/10.1002/jor.24170>
- Корж НА, Дедух НВ. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации. *Ортопедия, травматология и протезирование.* 2006;1:77-84.
- Wang D, Gilbert JR, Zhang X, Zhao B, Ker DFE, Cooper GM. Calvarial Versus Long Bone: Implications for Tailoring Skeletal Tissue Engineering. *Tissue Eng Part B Rev.* 2020;26(1):46-63. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2018.0353>
- Inoue S, Takito J, Nakamura M. Site-Specific Fracture Healing: Comparison between Diaphysis and Metaphysis in the Mouse Long Bone. *Int J Mol Sci.* 2021;22(17):9299. Published 2021 Aug 27. <https://doi.org/10.3390/ijms22179299>
- Schell H, Duda GN, Peters A, Tsitsilonis S, Johnson KA, Schmidt-Bleek K. The haematoma and its role in bone healing. *J Exp Orthop.* 2017;4(1):5. <https://doi.org/10.1186/s40634-017-0079-3>
- Walters G, Pountos I, Giannoudis PV. The cytokines and micro-environment of fracture haematoma: Current evidence. *J Tissue Eng Regen Med.* 2018;12(3):e1662-e1677. <https://doi.org/10.1002/term.2593>
- Shiu HT, Leung PC, Ko CH. The roles of cellular and molecular components of a hematoma at early stage of bone healing. *J Tissue Eng Regen Med.* 2018;12(4):e1911-e1925. <https://doi.org/10.1002/term.2593>
- Popsuishapka OK, Ashukina NO, Litvishko VO, Grigorjev VV, Pidgaiska OO, Popsuishapka KO. Fibrin-blood clot as an initial stage of formation of bone regeneration after a bone fracture. *Regul. Mech. Biosyst.* [Internet]. 2018 Jul 11 [cited 2024 Feb 2];9(3):322-8. Available from: <https://medicine.dp.ua/index.php/med/article/view/448> <https://doi.org/10.15421/021847>
- Wang X, Friis T, Glatt V, Crawford R, Xiao Y. Structural properties of fracture haematoma: current status and future clinical implications. *J Tissue Eng Regen Med.* 2017;11(10):2864-2875. <https://doi.org/10.1002/term.2190>
- Wang X, Zhang Y, Ji W, Ao J. Categorising bone defect hematomas - Enhance early bone healing. *Med Hypotheses.* 2018;113:77-80. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2018.02.029>
- Glatt V, Tetsworth K. Biomimetic Hematoma as a Novel Delivery Vehicle for rhBMP-2 to Potentiate the Healing of Nonunions and Bone Defects. *J Orthop Trauma.* 2023;37(11S):S33-S39. <https://doi.org/10.1097/BOT.0000000000002692>
- Yuasa M, Mignemi NA, Nyman JS, et al. Fibrinolysis is essential for fracture repair and prevention of heterotopic ossification [published correction appears in *J Clin Invest.* 2015 Sep;125(9):3723]. *J Clin Invest.* 2015;125(8):3117-3131. <https://doi.org/10.1172/JCI80313>
- Baht GS, Vi L, Alman BA. The Role of the Immune Cells in Fracture Healing. *Curr Osteoporos Rep.* 2018;16(2):138-145. <https://doi.org/10.1007/s11914-018-0423-2>
- Bastian OW, Koenderman L, Alblas J, Leenen LP, Blokhuis TJ. Neutrophils contribute to fracture healing by synthesizing fibronectin+ extracellular matrix rapidly after injury. *Clin Immunol.* 2016;164:78-84. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2016.02.001>
- Yang N, Liu Y. The Role of the Immune Microenvironment in Bone Regeneration. *Int J Med Sci.* 2021;18(16):3697-3707. Published 2021 Sep 21. <https://doi.org/10.7150/ijms.61080>
- Kovtun A, Bergdolt S, Wiegner R, Radermacher P, Huber-Lang M, Ignatius A. The crucial role of neutrophil granulocytes in bone fracture healing. *Eur Cell Mater.* 2016;32:152-162. Published 2016 Jul 25. <https://doi.org/10.22203/ecm.v032a10>

21. Schlundt C, El Khassawna T, Serra A, et al. Macrophages in bone fracture healing: Their essential role in endochondral ossification. *Bone*. 2018;106:78-89. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2015.10.019>
22. Frade BB, Dias RB, Gemini Piperni S, Bonfim DC. The role of macrophages in fracture healing: a narrative review of the recent updates and therapeutic perspectives. *Stem Cell Investig*. 2023;10:4. Published 2023 Feb 8. <https://doi.org/10.21037/sci-2022-038>
23. Fan S, Sun X, Su C, Xue Y, Song X, Deng R. Macrophages-bone marrow mesenchymal stem cells crosstalk in bone healing. *Front Cell Dev Biol*. 2023;11:1193765. Published 2023 Jun 23. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1193765>
24. El Khassawna T, Serra A, Bucher CH, et al. T Lymphocytes Influence the Mineralization Process of Bone. *Front Immunol*. 2017;8:562. Published 2017 May 24. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00562>
25. Xue Y, Li Z, Wang Y, Zhu X, Hu R, Xu W. Role of the HIF-1 $\alpha$ /SDF-1/CXCR4 signaling axis in accelerated fracture healing after craniocerebral injury. *Mol Med Rep*. 2020;22(4):2767-2774. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11361>
26. Drager J, Harvey EJ, Barralet J. Hypoxia signalling manipulation for bone regeneration. *Expert Rev Mol Med*. 2015;17:e6. Published 2015 Apr 22. <https://doi.org/10.1017/erm.2015.4>
27. Yu X, Wan Q, Ye X, Cheng Y, Pathak JL, Li Z. Cellular hypoxia promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and bone defect healing via STAT3 signaling. *Cell Mol Biol Lett*. 2019;24:64. Published 2019 Dec 3. <https://doi.org/10.1186/s11658-019-0191-8>
28. Liu W, Li L, Rong Y, et al. Hypoxic mesenchymal stem cell-derived exosomes promote bone fracture healing by the transfer of miR-126. *Acta Biomater*. 2020;103:196-212. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.12.020>
29. Zhang T, Yan S, Song Y, et al. Exosomes secreted by hypoxia-stimulated bone-marrow mesenchymal stem cells promote grafted tendon-bone tunnel healing in rat anterior cruciate ligament reconstruction model. *J Orthop Translat*. 2022;36:152-163. Published 2022 Oct 6. <https://doi.org/10.1016/j.jot.2022.08.001>
30. Zhang L, Jin L, Guo J, et al. Chronic Intermittent Hypobaric Hypoxia Enhances Bone Fracture Healing. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;11:582670. Published 2021 Feb 16. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.582670>
31. Florencio-Silva R, Sasso GR, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *Biomed Res Int*. 2015;2015:421746. <https://doi.org/10.1155/2015/421746>
32. Hu DP, Ferro F, Yang F, et al. Cartilage to bone transformation during fracture healing is coordinated by the invading vasculature and induction of the core pluripotency genes. *Development*. 2017;144(2):221-234. <https://doi.org/10.1242/dev.130807>
33. Aghajanian P, Mohan S. The art of building bone: emerging role of chondrocyte-to-osteoblast transdifferentiation in endochondral ossification. *Bone Res* 2018; 6: 19. <https://doi.org/10.1038/s41413-018-0021-z>
34. Ponzetti M, Rucci N. Osteoblast Differentiation and Signaling: Established Concepts and Emerging Topics. *Int J Mol Sci*. 2021;22(13):6651. Published 2021 Jun 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22136651>
35. Rutkovskiy A, Stensløkken KO, Vaage IJ. Osteoblast Differentiation at a Glance. *Med Sci Monit Basic Res*. 2016;22:95-106. Published 2016 Sep 26. <https://doi.org/10.12659/msmbr.901142>
36. Lee JY, Kim DA, Kim EY, Chang EJ, Park SJ, Kim BJ. Lumican Inhibits Osteoclastogenesis and Bone Resorption by Suppressing Akt Activity. *Int J Mol Sci*. 2021;22(9):4717. Published 2021 Apr 29. <https://doi.org/10.3390/ijms22094717>
37. Watanabe-Takano H, Ochi H, Chiba A, et al. Mechanical load regulates bone growth via periosteal Osteocrin. *Cell Rep*. 2021;36(2):109380. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109380>
38. Zhu L, Liu Y, Wang A, et al. Application of BMP in Bone Tissue Engineering. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022;10:810880. Published 2022 Mar 31. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.810880>
39. Houshyar KS, Tapking C, Borrelli MR, et al. Wnt Pathway in Bone Repair and Regeneration - What Do We Know So Far. *Front Cell Dev Biol*. 2019;6:170. Published 2019 Jan 7. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00170>
40. Schupbach D, Comeau-Gauthier M, Harvey E, Merle G. Wnt modulation in bone healing. *Bone*. 2020;138:115491. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2020.115491>
41. Haffner-Luntzer M. Experimental agents to improve fracture healing: utilizing the WNT signaling pathway. *Injury*. 2021;52 Suppl 2:S44-S48. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2020.11.051>
42. Nelson AL, Fontana G, Miclau E, et al. Therapeutic approaches to activate the canonical Wnt pathway for bone regeneration. *J Tissue Eng Regen Med*. 2022;16(11):961-976. <https://doi.org/10.1002/term.3349>
43. Hasegawa T, Hongo H, Yamamoto T, et al. Matrix Vesicle-Mediated Mineralization and Osteocytic Regulation of Bone Mineralization. *Int J Mol Sci*. 2022;23(17):9941. Published 2022 Sep 1. <https://doi.org/10.3390/ijms23179941>
44. Riabenko T. Influence of antitumor chemotherapeutics on the structure and phosphorus-calcium metabolism of injured long tubular skeletal bones. *East. Ukr. Med. J*. 2021;9(3):295-307. [https://doi.org/10.21272/eumj.2021-9\(3\):295-307](https://doi.org/10.21272/eumj.2021-9(3):295-307)
45. Shapiro F, Wu JY. Woven bone overview: structural classification based on its integral role in developmental, repair and pathological bone formation throughout vertebrate groups. *Eur Cell Mater*. 2019;38:137-167. Published 2019 Oct 1. <https://doi.org/10.22203/eCM.v038a11>
46. Omelyanenko NP, Slutsky LI, Mironov SP (eds). *Histophysiology, Biochemistry, Molecular Biology Boca Raton*: CRC Press: 2013. ISBN 978-1482203585.

47. Zhang J, Pan J, Jing W. Motivating Role of Type H Vessels in Bone Regeneration. *Cell Prolif.* 2020;53: e12874. <https://doi.org/10.1111/cpr.12874>
48. Peng Y, Wu S, Li Y, Crane JL. Type H blood vessels in bone modeling and remodeling. *Theranostics.* 2020;10(1):426-436. Published 2020 Jan 1. <https://doi.org/10.7150/thno.34126>
49. Liu X, Zhang P, Gu Y, Guo Q, Liu Y. Type H vessels: functions in bone development and diseases. *Front Cell Dev Biol.* 2023;11:1236545. Published 2023 Nov 16. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1236545>
50. Sun Y, Li J, Xie X, et al. Recent Advances in Osteoclast Biological Behavior. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:788680. Published 2021 Dec 8. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.788680>
51. Tobeiha M, Moghadasian MH, Amin N, Jafarnejad S. RANKL/RANK/OPG Pathway: A Mechanism Involved in Exercise-Induced Bone Remodeling. *Biomed Res Int.* 2020;2020:6910312. Published 2020 Feb 19. <https://doi.org/10.1155/2020/6910312>
52. Holliday LS, Patel SS, Rody WJ Jr. RANKL and RANK in extracellular vesicles: surprising new players in bone remodeling. *Extracell Vesicles Circ Nucl Acids.* 2021;2:18-28. <https://doi.org/10.20517/evcna.2020.02>
53. Ponyrko A, Bumeister V, Korenkov O, Dmytruk S, Kiptenko L, Ryabenko T, Teslyk T, Ryabenko D. Structural and functional changes in osteogenic cells and biomarkers of bone remodeling in chronic hyperglycemia. *East. Ukr. Med. J.* 2023;11(4):398-407. [https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11\(4\):398-407](https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11(4):398-407)
54. Kim JM, Lin C, Stavre Z, Greenblatt MB, Shim JH. Osteoblast-Osteoclast Communication and Bone Homeostasis. *Cells.* 2020;9(9):2073. Published 2020 Sep 10. <https://doi.org/10.3390/cells9092073>
55. Tresguerres FGF, Torres J, López-Quiles J, Hernández G, Vega JA, Tresguerres IF. The osteocyte: A multifunctional cell within the bone [published correction appears in *Ann Anat.* 2020 Jul;230:151510]. *Ann Anat.* 2020;227:151422. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2019.151422>
56. Franz-Odenaal TA, Hall BK, Witten PE. Buried alive: how osteoblasts become osteocytes. *Dev Dyn.* 2006;235(1):176-190. <https://doi.org/10.1002/dvdy.20603>
57. Choi JUA, Kijas AW, Lauko J, Rowan AE. The Mechanosensory Role of Osteocytes and Implications for Bone Health and Disease States. *Front Cell Dev Biol.* 2022;9:770143. Published 2022 Feb 21. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.770143>
58. Stock J. Wolff's law (bone functional adaptation). *The International Encyclopedia of Biological Anthropology.* 2018;1-2. <https://doi.org/10.1002/9781118584538.ieba0521>
59. Li MCM, Chow SKH, Wong RMY, Qin L, Cheung WH. The role of osteocytes-specific molecular mechanism in regulation of mechanotransduction - A systematic review. *J Orthop Translat.* 2021;29:1-9. Published 2021 May 13. <https://doi.org/10.1016/j.jot.2021.04.005>
60. Fukada E, Yasuda I. On the piezoelectric effect of bone. *J Phys Soc Jpn.* 1957; 12: 1158-62.
61. Heng BC, Bai Y, Li X, et al. The bioelectrical properties of bone tissue. *Animal Model Exp Med.* 2023;6(2):120-130. <https://doi.org/10.1002/ame2.12300>
62. Yang C, Ji J, Lv Y, Li Z, Luo D. Application of Piezoelectric Material and Devices in Bone Regeneration. *Nanomaterials (Basel).* 2022;12(24):4386. Published 2022 Dec 9. <https://doi.org/10.3390/nano12244386>
63. Bolamperti S, Villa I, Rubinacci A. Bone remodeling: an operational process ensuring survival and bone mechanical competence. *Bone Res.* 2022;10(1):48. Published 2022 Jul 18. <https://doi.org/10.1038/s41413-022-00219-8>
64. Matic I, Matthews BG, Wang X, et al. Quiescent Bone Lining Cells Are a Major Source of Osteoblasts During Adulthood. *Stem Cells.* 2016;34(12):2930-2942. <https://doi.org/10.1002/stem.2474>
65. Povoroznyuk VV, Dedukh NV, Bystrytska MA, Shapovalov VS. Bone remodeling stages under physiological conditions and glucocorticoid in excess: Focus on cellular and molecular mechanisms. *Regul. Mech. Biosyst.* [Internet]. 2021 May 3 [cited 2024 Feb 2];12(2):212-27 Available from: <https://medicine.dp.ua/index.php/med/article/view/711> <https://doi.org/10.15421/022130>
66. Boyce BF, Li J, Xing L, Yao Z. Bone Remodeling and the Role of TRAF3 in Osteoclastic Bone Resorption. *Front Immunol.* 2018;9:2263. Published 2018 Sep 28. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02263>
67. Abdelgawad ME, Delaisse JM, Hinge M, et al. Early reversal cells in adult human bone remodeling: osteoblastic nature, catabolic functions and interactions with osteoclasts. *Histochem Cell Biol.* 2016;145(6):603-615. <https://doi.org/10.1007/s00418-016-1414-y>
68. Walsh JS. Normal bone physiology, remodelling and its hormonal regulation. *Surgery.* 2017; 36(1):1-6. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2017.10.006>
69. Siddiqui JA, Partridge NC. Physiological Bone Remodeling: Systemic Regulation and Growth Factor Involvement. *Physiology (Bethesda).* 2016;31(3):233-245. <https://doi.org/10.1152/physiol.00061.2014>
70. Kenkre JS, Bassett J. The bone remodelling cycle. *Ann Clin Biochem.* 2018;55(3):308-327. <https://doi.org/10.1177/0004563218759371>

Received 28.03.2024

Accepted 17.06.2024

Одержано 28.03.2024

Затверджено до друку 17.06.2024

**INFORMATION ABOUT THE AUTHORS / ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ**

**Сухонос Ольга Володимирівна**, аспірантка кафедри морфології НН Медичного інституту Сумського державного університету, м. Суми, вул. Санаторна, 31, Україна, 40018; ел. пошта: [suhonosolga97@gmail.com](mailto:suhonosolga97@gmail.com), <https://orcid.org/0009-0000-8714-2324>

**Кореньков Олексій Володимирович**, доцент кафедри хірургії, травматології, ортопедії та фтизіатрії НН Медичного інституту Сумського державного університету, м. Суми, вул. Троїцька, 48, Україна, 40003; ел. пошта: [o.koren'kov@med.sumdu.edu.ua](mailto:o.koren'kov@med.sumdu.edu.ua), <https://orcid.org/0000-0002-1314-5642>

**Суходуб Леонід Федорович**, член-кореспондент НАН України, доктор фізико-математичних наук, професор, завідувач кафедри біофізики, біохімії, фармакології та біомолекулярної інженерії НН Медичного інституту Сумського державного університету, м. Суми, Україна; ел. пошта: [l.sukhodub@med.sumdu.edu.ua](mailto:l.sukhodub@med.sumdu.edu.ua), <https://orcid.org/0000-0002-1559-0475>