

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

СОВРЕМЕННЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА НАРУШЕНИЯ КОНСОЛИДАЦИИ ПЕРЕЛОМОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Мироманов А.М.,
Гусев К.А.,
Старосельников А.Н.,
Миронова О.Б.,
Мироманова Н.А.

ФГБОУ ВО «Читинская государственная
медицинская академия»
Минздрава России (672000, г. Чита,
ул. Горького, 39а, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Мироманов
Александр Михайлович,
e-mail: miromanov_a@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель данной статьи – провести анализ генетических и иммунологических механизмов развития нарушений консолидации переломов на современном научном этапе.

Материалы и методы. Поиск литературных источников проводился в открытых электронных базах данных научной литературы PubMed и eLIBRARY. Глубина поиска – 10 лет.

Результаты. В обзоре проведён анализ данных литературы о современном состоянии вопросов изучения молекулярно-генетических механизмов репаративной регенерации костной ткани, в том числе и в развитии нарушений консолидации переломов. Рассмотрены механизмы наиболее важных звеньев патогенеза, которые чаще всего приводят к различным нарушениям процессов репарации костной ткани на сегодняшний день.

Заключение. Процесс репарации костной ткани многогранен, и в его осуществлении принимает участие множество факторов, однако хотелось бы отметить, что ведущую роль в течении репаративной регенерации играет персонифицированный генетически запрограммированный ответ на данное патологическое состояние. Тем не менее, несмотря на неоспоримый прогресс современной медицины в изучении процессов восстановления кости после перелома, до настоящего момента остаётся множество «белых» пятен в данном вопросе, что диктует необходимость его дальнейшего всестороннего изучения с целью эффективного лечения пациентов с нарушением консолидации.

Ключевые слова: костная ткань, перелом, репаративная регенерация, генетика, иммунитет, ремоделирование, остеогенез

Статья поступила: 06.12.2021
Статья принята: 28.03.2022
Статья опубликована: 20.05.2022

Для цитирования: Мироманов А.М., Гусев К.А., Старосельников А.Н., Миронова О.Б., Мироманова Н.А. Современные генетические и иммунологические аспекты патогенеза нарушения консолидации переломов (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(2): 49-64. doi: 10.29413/ABS.2022-7.2.6

MODERN GENETIC AND IMMUNOLOGICAL ASPECTS OF THE PATHOGENESIS OF IMPAIRED CONSOLIDATION OF FRACTURES (LITERATURE REVIEW)

**Miromanov A.M.,
Gusev K.A.,
Staroselnikov A.N.,
Mironova O.B.,
Miromanova N.A.**

Chita State Medical Academy
(Gorkogo str. 39A, Chita 672000,
Russian Federation)

Corresponding author:
Alexander M. Miromanov,
e-mail: miromanov_a@mail.ru

ABSTRACT

The aim of this article is to analyze the genetic and immunological mechanisms of the development of fracture consolidation disorders at the present scientific stage.

Materials and methods. The search for literary sources was carried out in the open electronic databases of scientific literature PubMed and eLIBRARY. Search depth – 10 years.

Results. The review analyzes the literature data on the current state of the study of the molecular genetic mechanisms of reparative regeneration including the development of fracture consolidation disorders. The mechanisms of the most important links of pathogenesis which most often lead to various violations of the processes of bone tissue repair are considered.

Conclusion. The process of bone tissue repair is multifaceted, and many factors are involved in its implementation, however, we would like to note that the leading role in the course of reparative regeneration is played by a personalized genetically programmed response to this pathological condition. Nevertheless, despite the undeniable progress of modern medicine in studying the processes of bone recovery after a fracture, there are still many “white” spots in this issue, which dictates the need for further comprehensive study in order to effectively treat patients with impaired consolidation.

Key words: bone tissue, fracture, reparative regeneration, genetics, immunity, remodeling, osteogenesis

Received: 06.12.2021
Accepted: 28.03.2022
Published: 20.05.2022

For citation: Miromanov A.M., Gusev K.A., Staroselnikov A.N., Mironova O.B., Miromanova N.A. Modern genetic and immunological aspects of the pathogenesis of impaired consolidation of fractures (literature review). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(2): 49-64. doi: 10.29413/ABS.2022-7.2.6

Нарушение процессов регенерации костной ткани при переломах остаётся одной из актуальных проблем современной травматологии и ортопедии [1].

Пусковым механизмом для процесса репаративной регенерации является нарушение целостности костной ткани, а её продолжительность определяется множеством условий, в том числе особенностями кровоснабжения, иннервации, состоянием клеточного дифферона и др. [2].

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НАРУШЕНИЯ КОНСОЛИДАЦИИ

С клинической точки зрения остаётся непонятным, почему некоторые пациенты без системных или местных факторов риска имеют предрасположенность к развитию нарушения консолидации, однако на сегодняшний день есть множество доказательств того, что определённые генетические варианты и аномальная экспрессия генов являются неотъемлемыми причинами многих заболеваний, в том числе и нарушения консолидации переломов. Так, к настоящему времени установлены некоторые патогенетические механизмы развития нарушений консолидации, которые всецело зависят от иммуногенетики человека (рис. 1) [3, 4].

Показано, что носительство того или иного генотипа влияет на синтез кодируемого белка, который в свою очередь регулирует репаративные процессы тканей. Так, показано, что носительство мутантной гомозиготы SNP гена *TGFβ1* (Arg25Pro) и/или мутантной гомозиготы SNP гена *EGFR* (A2073T) способствует более низкой экспрессии синтезируемых факторов роста и приводит к замедленной консолидации переломов [5, 6]. Группа генов «Нох-гены» регулирует мезенхимные стволовые клетки костного мозга (МСККК) [7]. Выявленными факторами риска нарушения процессов консолидации на сегодняшний день являются: носительство мутантной гомозиготы SNP гена *NOGGIN* (G/G rs1372857), гена *SMAD6* (T/T rs2053423) – ассоциировано с развитием атрофического ложного сустава; гаплотип А тромбоцитарного фактора роста (PDGF) (rs1800814, rs62433334, rs13309625; CCG) – ассоциирован с несращением диафиза бедренной и большеберцовой костей; аллели Т и С/Т кодона 10 гена трансформирующего фактора роста-β (TGF-β) и мутантного гена *TLR4 W/1* – идентифицированы как возможные факторы риска нарушения распознавания и уничтожения бактерий, что повышало предрасположенность пациента с переломом кости к развитию септического варианта нарушения консолидации; генотип С/Т или Т/Т гена *IL1β* (rs2853550); генотип Т/Г гена *CYR61* (rs3753793), играющего роль в качестве сигнальной молекулы во многих путях, – может способствовать развитию несращения; генотип С/Т или Т/Т гена *NOS2* (rs2297514) и генотип А/Г или G/G гена *NOS2* (rs2248814); генотип Т/Г гена *CYR61* (rs3753793); гаплотип А гена *BMP4* (rs2761884, rs17563, rs2071047, rs762642; GTAA); С-аллель гена *FGFR1* (rs13317) [3].

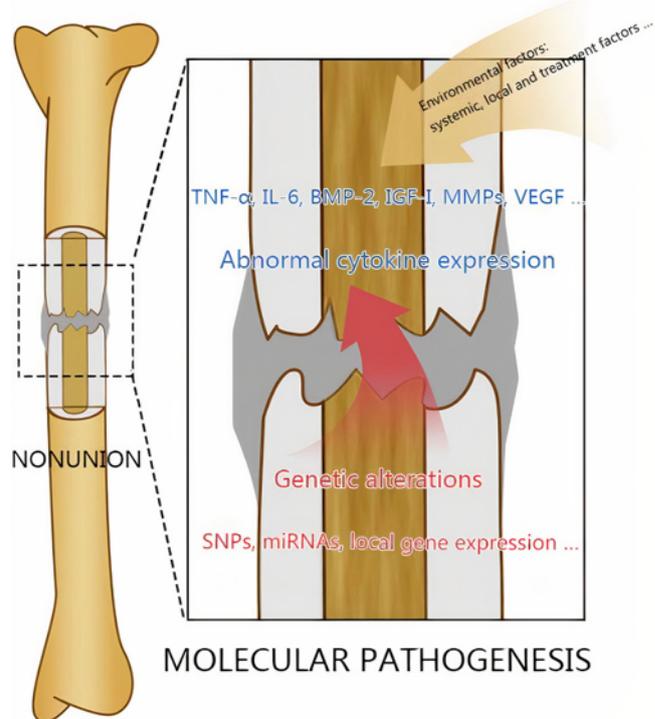


РИС. 1.

Патогенез нарушения консолидации на молекулярном уровне. Факторы риска окружающей среды и генетические факторы приводят к аномальной экспрессии цитокинов, что является ключевым моментом для развития нарушения консолидации: *TNF-α* – фактор некроза опухоли альфа; *IL-6* – интерлейкин-6; *BMP-2* – костный морфогенетический белок 2; *IGF-1* – инсулиноподобный фактор роста 1; *MMPs* – матриксная металлопротеиназа; *VEGF* – фактор роста эндотелия сосудов; *SNPs* – однонуклеотидный полиморфизм; *miRNAs* – микроРНК [3]

FIG. 1.

Pathogenesis of impaired consolidation at the molecular level. Environmental risk factors and genetic factors lead to abnormal expression of cytokines, which is a key moment for the development of consolidation disorder: *TNF-α* – tumor necrosis factor α; *IL-6* – interleukin 6; *BMP-2* – bone morphogenetic protein 2; *IGF-1* – insulin-like growth factor 1; *MMPs* – matrix metalloproteinase; *VEGF* – vascular endothelial growth factor; *SNPs* – single nucleotide polymorphism; *miRNAs* – microRNA [3]

Есть данные анализа локальной экспрессии генов в месте перелома и исследования различных паттернов экспрессии генов у пациентов с нормальной консолидацией перелома и её нарушением. Экспрессия восьми генов из области нарушения консолидации была значительно увеличена по сравнению с образцом из молодой костной мозоли. Среди этих генов – *CDO1*, *COMP*, *FMOD* и *FN1* необходимы для формирования и стабилизации внеклеточного матрикса, *CLU* и *TCS22* индуцируют дифференцировку и пролиферацию клеток, а продукты генов *ACTA2* и *PDE4DIP*, такие как актин, участвуют в организации и поддержании цитоскелета. Избыточная экспрессия этих генов в ткани перелома может нарушать структуру и функцию клеток, связанных с заживлением костей, что в конечном итоге приводит к несращению [8].

МикроРНК (miRNA) регулируют экспрессию генов, связанную со многими биологическими процессами, такими как пролиферация, дифференцировка и развитие органов. Показано, что miRNAs играют ключевую роль и в заживлении переломов и развитии несращения, регулируя формирование, резорбцию и ремоделирование костей. В эксперименте на мышах отмечено, что пять различных miRNA (miR-31a-3p, miR-31a-5p, miR-146a-5p, miR-146b-5p и miR-223-3p) высоко экспрессируются в тканях с нарушением репарации [9].

Другими авторами установлено, что miR-125b экспрессируется на низком уровне во время остеогенной дифференцировки hBMSCs. Биоинформатические подходы с использованием алгоритмов прогнозирования мишеней miRNA показали, что рецептор костного морфогенетического белка типа Ib (BMPRIb) является потенциальной мишенью miR-125b. Ингибируя экспрессию miR-125b, hBMSCs показали лучшую способность к восстановлению костных дефектов [10]. Предполагается, что miRNAs могут вносить вклад в развитие нарушения консолидации на молекулярном уровне – идентифицировано 11 miRNAs, нарушающих заживление переломов в эксперименте на животных (мыши) [11].

Наряду с этим выделены и так называемые защитные (протективные) факторы: генотип G/G гена *MMP13* (rs3819089); генотип G/G гена *BMP6* (rs270393); генотипы G/T и G/G гена *FAM5C* (rs1342913) ассоциированы с нормальным заживлением перелома кости [12].

Однако следует отметить, что вышеперечисленные данные требуют не только дополнительных исследований с гораздо большим количеством пациентов, но и более строгие критерии исключения в отношении сопутствующей патологии.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НАРУШЕНИЯ КОНСОЛИДАЦИИ

Гемопоэтические клетки возникают из мезодермы во время эмбрионального развития и располагаются во многих местах в организме человека. Наряду с селезённой костный мозг также служит главным источником кроветворных клеток в зрелом возрасте: именно из него дифференцируются все клетки кроветворной линии. Большинство этих клеток остаются в спокойном мультипотентном состоянии и активируются при стимулировании. Повреждение кости приводит к повреждению местной сосудистой сети и служит пусковым механизмом для привлечения и активации этих клеток. Состояние красного костного мозга в целом и недостаточное количество полипотентных клеток-предшественников остеогенеза определяют уровень репаративной потенции кости [13].

В последних научных работах прослеживается ряд подтверждений тому, что между гемопоэтическими и остеогенными клетками нет гистогенетической связи. Однако, по мнению И.А. Скрипниковой и соавт. (2019), триггером для образования кроветворных клеток является единая стволовая клетка (гемопоэтическая, стромальная). Первоначально происходит формирование

стромальной фракции, а в последующем – гемопоэтической [14]. Напротив, другие исследователи говорят о многокомпонентных регуляторных взаимосвязях между данными фракциями [15].

Так, макрофаги играют незаменимую роль в процессах регенерации организма человека, координируют все процессы посттканевой репарации, способствуют регенерации повреждённого участка путём переключения фенотипов на секретирование факторов роста и регулирования сигнальных путей. Они имеют скользящую шкалу функциональных признаков, зависящих от их «поляризации», которая индуцируется внеклеточными сигналами и считается обратимой *in vivo*. Подвергаясь программированию при воздействии воспалительных цитокинов (IL-1, TNF- α), одни становятся так называемыми «классически» активированными M1-макрофагами. Они дополнительно секретируют IL-1, IL-6, TNF- α , MCP-1 и MIP-1 для поддержания процесса привлечения моноцитов; выполняют фагоцитоз для удаления некротических клеток, а также фибринового тромба [16]. Другие становятся функциональными после воздействия IL-4 – это «альтернативно» активированные M2-макрофаги. Они инициируют противовоспалительный ответ на более поздних стадиях фазы воспаления, поскольку секретируют цитокины и факторы роста для восстановления тканей (IL-10, TGF- β , BMP-2 и VEGF), привлекают мезенхимальные прогениторные клетки, индуцируют остеохондральную дифференцировку и ускоряют ангиогенез [17]. Популяция M2 достаточно большая и имеет подклассы: M2a (противовоспалительное действие), M2b (иммунорегулирующее действие) и M2c (ремоделирование). В ранние фазы заживления, в фазу воспаления заметно преобладание фенотипа M1, а при ослаблении воспалительной фазы фенотип макрофагов изменяется в сторону M2-фенотипа, обуславливая переход во вторую стадию репаративной регенерации [18]. Таким образом, баланс макрофагов и правильная поляризация, создающая переход от острого воспаления в запуск репарации, крайне важна, однако, находясь в неблагоприятных условиях чрезмерного воспалительного ответа или в условиях выраженной гипоксии, макрофаги оказывают отрицательный эффект на регенерацию тканей [4].

Ключевым атрибутом макрофагов является их способность поляризоваться в соответствии с различными фенотипами, которые выражают уникальные биомаркеры и отдельные молекулы (рис. 2) [19].

В физиологических условиях (рис. 2, левая панель) резидентные тканевые макрофаги происходят из циркулирующих моноцитов Ly6Clow/-, которые однажды подвергаются специфической адаптации в своей резидентной ткани (пан-макрофагальный маркер F4/80). В ответ на воспаление эти резидентные тканевые макрофаги могут активироваться. В условиях перелома кости можно идентифицировать популяцию клеток F4/80+Mac-2dim, которые отличаются от их воспалительных родственников F4/80+Mac-2+. В условиях воспаления, вызванного травмой (рис. 2, правая панель), воспалительные макрофаги рекрутируются из циркулирующих моноцитов Ly6Chi. Эти воспалительные мо-

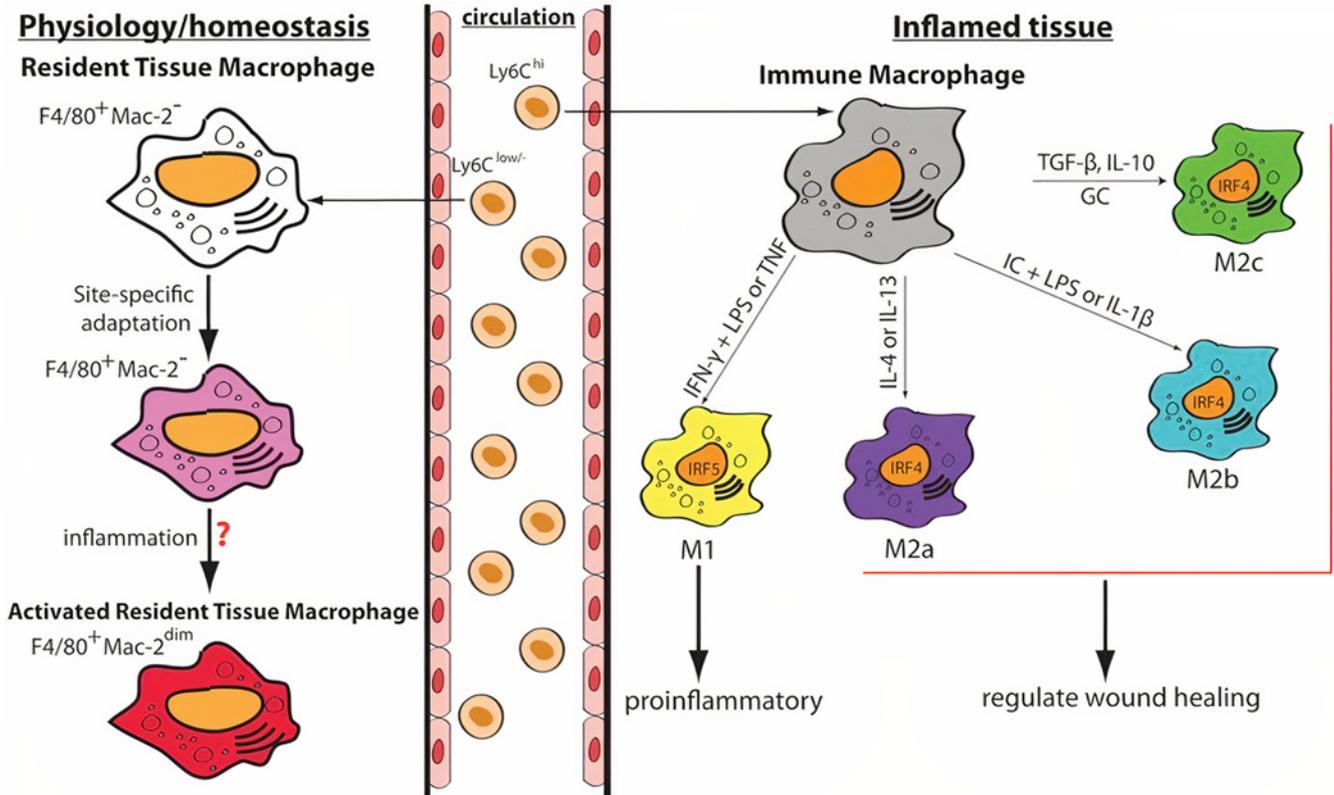


Рис. 2. Схема поляризации макрофагов (пояснения в тексте) [19]

FIG. 2. Scheme of the polarization of macrophages [19]

ноциты приобретают либо классически (M1), либо альтернативно (M2) активированный фенотип в зависимости от встречающихся стимулов. Фенотип M1 обычно индуцируется интерфероном-γ (IFN-γ), микробными стимулами, такими как липополисахариды (LPS), и/или цитокинами, включая TNF. Фенотип M2 подразделяется на M2a, M2b и M2c – подмножества со своими функциями и характеристиками. Так, экспрессирующим фактором для M2a-макрофага являются IL-4 и IL-13. Стимул M2b – иммунные комплексы с IL-1β или LPS, а для M2c – TGF-β, IL-10 или глюкокортикоиды. Макрофаги M1 экспрессируют фактор IRF-5 (фактор регуляции интерферона ядерного фактора транскрипции), а клетки M2 экспрессируют IRF-4. Клетки M1 вызывают цитотоксические, провоспалительные реакции стимуляции иммунного ответа Th1. Напротив, клетки M2 связаны с противовоспалительными процессами, иммунными ответами Th2-типа и/или способствуют регенерации ран и ангиогенезу [19].

Поляризация макрофагов может осуществляться и на более раннем этапе регулирования мезенхимальных стволовых клеток (МСК) (рис. 3) [20].

Добавление различных комбинаций воспалительных цитокинов к культуре клеток (прекондиционирование) резко влияет на секреторный профиль и остеогенную способность МСК. Предкондиционированные IL-17A МСК увеличивают выработку IL-6 и регуляторных Т-клеток и ингибируют секрецию цитокинов Th1 (TNF-α, IFN-γ, IL-2 и IL-10) [20, 21]. Показано, что при формировании модели дефекта свода черепа на мышах, прямое применение

IL-17A ингибирует клетки-предшественники остеобластов и регенерацию кости [22]. Прекондиционированные IFN-γ МСК активируют индоламин-2,3-диоксигеназу (IDO) и секрецию иммуномодулирующих молекул, таких как PGE2, фактор роста гепатоцитов (HGF), TGFβ и CCL2 [23]. Прекондиционированные IFN-γ МСК также подавляют пролиферацию CD4+ и CD8+ Т-клеток и NK-клеток и поляризуют макрофаги до фенотипа M2 [20, 24, 25].

МСК, preconditionированные TNF-α, способствуют секреции иммунорегуляторных медиаторов (PGE2, IDO и HGF), подавляют пролиферацию Т-клеток. Прекондиционированные TNFα МСК из жировой ткани человека (AT-MSK) и их экзосомы способствуют пролиферации и остеогенной дифференцировке первичных остеобластических клеток человека [20, 26].

Прекодиционированные гипоксией МСК способствуют секреции PGE2, IDO, VEGF и bFGF, подавляют пролиферацию Т-клеток и поляризуют макрофаги до фенотипа M2 [20]. Степень гипоксии, в которой так или иначе находятся МСК в стадии воспаления, играет большую роль в нарушении регенерации и напрямую может влиять на процесс дальнейшей дифференцировки. Описано, что МСК, культивируемые в условиях тяжелой гипоксии (< 2% O₂) при длительном воздействии, увеличивают скорость их пролиферации и ингибируют остеогенную дифференцировку, тогда как МСК, культивируемые в условиях умеренной гипоксии (2–5% O₂) при кратковременном или циклическом воздействии, ускоряли остеогенную дифференцировку и подавляли функцию остеокластов *in vitro* [27].

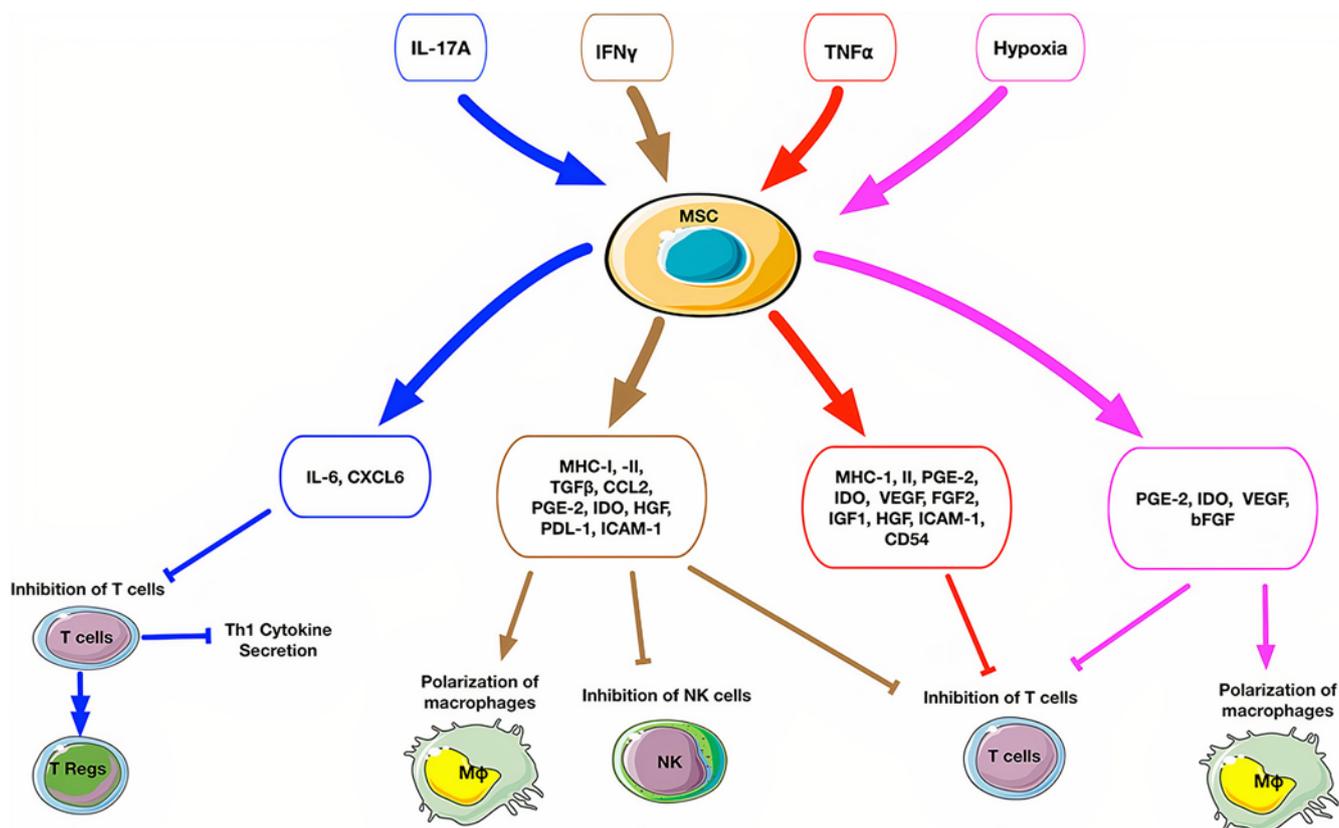


РИС. 3.
Схематичное изображение клеточных и молекулярных эффектов после preconditionирования МСК (пояснения в тексте). Стимулирующие факторы и их соответственно запускаемые выходы связаны соответствующими цветными стрелками и прямоугольниками [20]

FIG. 3.
Schematic representation of cellular and molecular effects after MSC preconditioning (see text for explanations). Incentives and their respectively triggered outputs are linked by their respective colored arrows and boxes [20]

Недавние исследования выяснили пути передачи сигналов иммунных клеток, которые регулируют активацию остеокластов. Т. Оно и соавт. (2020) показали, что лиганд-рецепторная система (RANK/RANKL/OPG) – важнейшее звено, регулирующее костный метаболизм [28].

Одним из основных составляющих этого звена является RANKL и его антагонист – остеопротегерин (OPG) [28, 29]. Путь перекрёстной регуляции между клетками костной и иммунной систем в некоторых случаях является источником патогенных состояний, связанных с потерей костной ткани. Объединяющей характеристикой многих клеточных взаимодействий является взаимодействие между источниками RANKL- и RANK-экспрессирующими клетками (рис. 4) [30]. Также существуют факторы, секретируемые или обеспечиваемые посредством клеточного контакта, которые способствуют экспрессии RANKL и/или RANK. «Чистый» эффект остеоиммунных взаимодействий в значительной степени определяется увеличением (или регулированием) потери костной массы из-за усиленной дифференцировки RANKL-опосредованных остеокластов (ОС) от преостеокластов (pre-ОС). В дополнение к обычным источникам RANKL, доступным для pre-ОС из костно-ассоциированных клеток, включая костные стромальные клетки, остеобласты (ОБ) и остеоциты, воспаление обеспечивает дополни-

тельные источники. В-клетки, активируемые лигандами TLR, такими как LPS, помогают индуцировать экспрессию RANKL. Т-клетки, которые активируются дендритными клетками (DC) посредством взаимодействий MHC/Antigen (Ag) – TCR, также могут экспрессировать RANKL, который может действовать как на pre-ОС, так и на DC, чтобы способствовать их выживанию и продлению T – DC взаимодействия. Взаимодействия DC с хелперными Т-клетками влияют на их дифференцировку на подклассы, такие как Th1, Th2 и Th17. Выработка IFN-γ и IL-4 клетками Th1 и Th2 соответственно оказывает модулирующее действие на RANK-опосредованный остеокластогенез. Однако IL-17, продуцируемый клетками Th17, может индуцировать RANKL, особенно фибробластами при условии воспаления. Макрофаги могут также усиливать экспрессию RANKL фибробластами за счёт секреции воспалительных цитокинов, таких как IL-1, IL-6 и TNF-α. В то же время смягчение потенциально отрицательных эффектов остеоиммунных взаимодействий может быть обеспечено секрецией OPG, который ослабляет эффективность RANKL (рис. 4) [28, 30].

Во время заживления переломов моноциты подходят к месту повреждения и дифференцируются в остеокласты. Остеокласты, которые находятся на минерализованных костных поверхностях, в основном активиру-

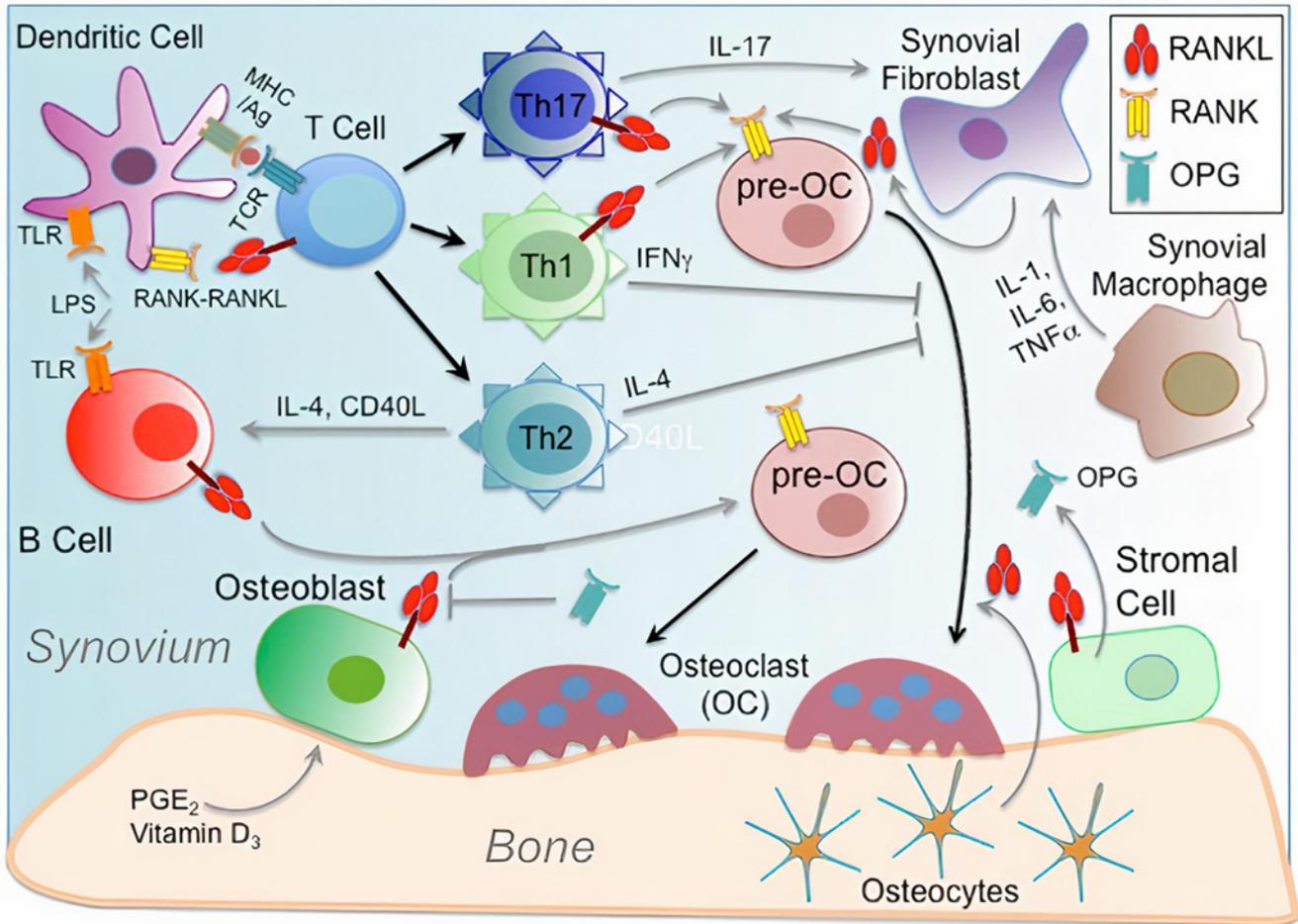


РИС. 4.
Схема сигнального пути RANKL – RANK – OPG (пояснения в тексте) [31]

FIG. 4.
Scheme of the signaling pathway RANKL – RANK – OPG [31]

ются лигандом рецептора-активатора ядерного фактора карра-В (RANKL) с рецептором RANK на поверхности клеток остеокласта. Остеобласты, по-видимому, являются источником RANKL как при физиологической регенерации, так и при заживлении переломов; однако NK-клетки и активированные Т-клетки также способны продуцировать RANKL во время заживления переломов. И наоборот, OPG является рецептором приманки, который связывается с RANK и ингибирует связывание RANKL, тем самым предотвращая активацию остеокласта. OPG секретируется остеобластами как при физиологической регенерации, так и при заживлении переломов, и В-клетками во время репаративной регенерации. Такая передача сигналов, связанная с воспалением, аналогична с передачей сигналов на основе резорбции, которая регулирует ремоделирование кости. Когда остеокласты рассасывают костный матрикс, белки, такие как костный сиалопротеин и остеопонтин, которые интеркалируются в минерализованном матриксе и связываются с коллагеном и гидроксиапатитом, освобождаются и способны давать сигнал местным остеобластам (рис. 4) [28, 31].

Доказано что у пациентов с переломами костей и нормальной консолидацией уровни OPG значительно повышались как в гематоме, так и в плазме крови сразу после

травмы, достигая пика через 24 часа и 7 суток, и сохранялись повышенными в течение всего срока консолидации. Уровни sRANKL в плазме также демонстрировали повышение, однако очень незначительное, что, вероятно, связано с процессом резорбции на раннем этапе, и достигали пика к 12-й неделе, что также может говорить о дальнейшем этапе резорбции костной мозоли. При нарушении консолидации уровни OPG, и sRANKL находились на одном низком уровне, как у контрольной группы без переломов костей, или демонстрировали значительную вариабельность, в отличие от группы с нормальной консолидацией. Хотя последнее утверждение в силу низкого числа возникших осложнений в исследуемых группах требует дополнительного подтверждения [32]. Также существуют данные о снижении мРНК OPG в исследовании женщин с постменопаузальным остеопорозом и переломом шейки бедра, в котором отмечается снижение мРНК OPG при биопсии как области перелома, так и материала, забранного из гребня подвздошной кости [33]. Тем самым OPG может быть важным паракринным медиатором метаболизма кости во время консолидации переломов.

Вторым основным путём регуляции остеогенеза как в условиях эмбриогенеза, так и при физиологической и репаративной регенерации костной ткани является

ся путь Wnt. Поскольку путь передачи сигналов Wnt является фундаментальным во время эмбриологического развития, экспрессия белков и антагонистов Wnt происходит при строгой временной и пространственной регуляции [34] и имеет три основных пути – β-катенин-зависимый путь (также называемый «каноническим путём Wnt»), путь планарной полярности клеток (PCP) и путь Wnt/Ca²⁺ [35].

Канонический путь передачи сигналов Wnt лучше всего описан и наиболее сильно задействован в регенерации и репарации скелетных тканей и считается ключевым регулятором остеобластогенеза [36].

Канонический каскад передачи сигналов Wnt зависит от β-катенина, который служит внутриклеточной сигнальной молекулой (рис. 5) [37]. В случае, если Wnt не связывается с рецепторами Fz, β-катенин изолируется в комплекс разрушения, состоящий из Axin, CK1α, APC и GSK3β, фосфорилированный, убиквитинилированный и впоследствии разрушаемый протеасомой. После связывания Wnt с рецепторами Fz и корецепторами LRP5/6, DSH рекрутирует комплекс разрушения на клеточную мембрану, взаимодействуя с рецепторным комплексом. Это позволяет вновь синтезированному β-катенину накапливаться в цитоплазме и перемещаться в ядро. Заменяя корепрессор транскрипции Groucho из факторов транскрипции TCF, ядерный β-катенин может активировать программу транскрипции гена, тогда как антагонисты связывания Wnt (sFRPs/WIF) и антагонисты рецептора Wnt (Dkk/SOST) ингибируют канонический каскад (рис. 5а) [37]. Таким образом, Wnt реализует свой потенциал с помощью рецепторов Fz и корецепторов LRP-5 и его гомолога LRP-6 [38].

Ведущая задача Wnt – это накопление и транслокация β-катенина в ядро [39]. Внутриядерное накопление β-катенина активирует факторы транскрипции, которые нацелены на специфические гены, которые и опосредуют клеточное развитие [40]. β-катенин играет разные роли на разных стадиях восстановления кости. На ранних этапах после травмы β-катенин регулирует соотношение остеобластов и хондроцитов, присутствующих в каллусе, который возникает из плюрипотентных МСК [41]. Позже в процессе заживления костей β-катенин вызывает дифференцировку остеобластов и образование остеобластического матрикса [42]. Экспрессия генов LRP5 и β-катенина повышается в клетках, присутствующих в каллусе перелома. β-катенин также экспрессируется в пролиферирующих периостальных остеопрогениторных клетках, хондроцитах, а также в остеобластах, что позволяет предположить, что канонический путь передачи сигналов Wnt активен как в эндохондральной, так и во внутримембранозной оссификации [43].

Нарушение регуляции передачи сигналов β-катенина вовлечено в ряд злокачественных новообразований, подтверждая его важную роль в контроле клеточной пролиферации и/или гибели клеток [44]. Ингибитором канонического пути может выступать семейство Dickkopf (Dkk) – белки, которые связывают LRP-5 или LRP-6 с высокой аффинностью, поэтому могут напрямую противодействовать связыванию Wnt [38]. Введение Dkk1 мышам с переломом кости в эксперименте увеличивало размер резорбции кости, а также изменения BMD и биомеханических свойств. Это доказывает, что нарушение взаимодействия Wnt – LRP5 задерживает восстановление биоме-

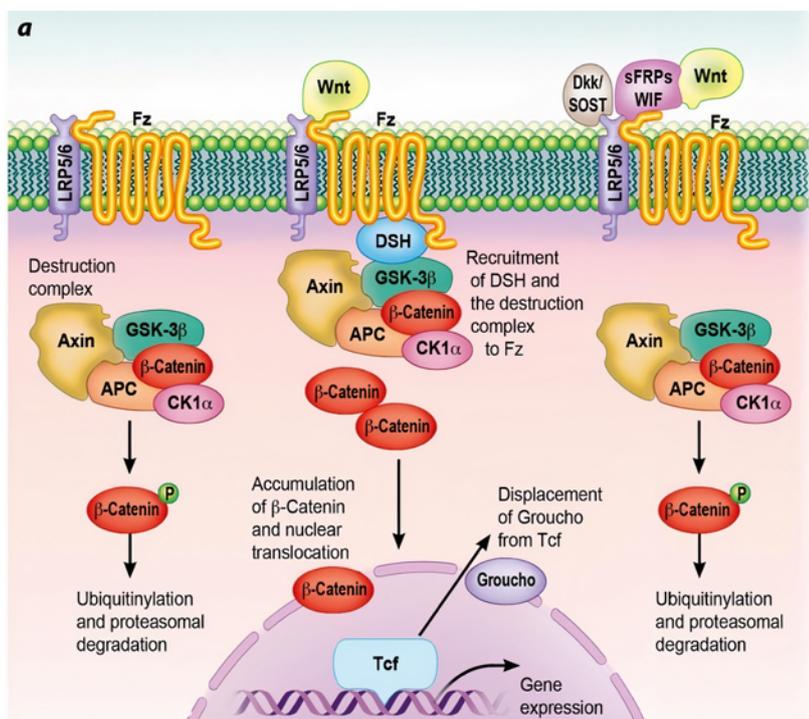


РИС. 5. Схема канонического каскада передачи сигналов Wnt (пояснения в тексте) [38]

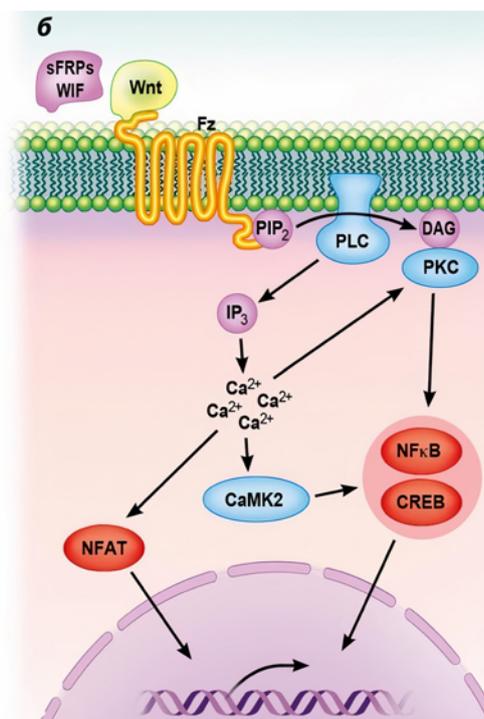


FIG. 5. Schematic diagram of the canonical Wnt signaling cascade [38]

ханической целостности во время репарации кости и что канонический путь Wnt, и особенно корецептор LRP5, являются ключевыми компонентами восстановления перелома [37]. Также было обнаружено, что мутации в сигнальном каскаде Wnt приводят к чрезмерному росту костей или чрезмерной резорбции [45]: мутации, ведущие к потере функции корецептора LRP5, вызывают синдромы, характеризующиеся низкой костной массой и, как следствие, частыми переломами костей [46]; альтернативное усиление функциональных мутаций рецептора LRP5 приводит к повышению костной массы [47]. Эти данные дополнительно подтверждаются ассоциацией SNP гена LRP5 со снижением минеральной плотности кости (BMD) и повышением риска остеопоротических переломов [48].

Активация пути Notch ингибирует индуцированную Wnt/ β -катенином остеогенную дифференцировку [49]. Сверхэкспрессия внутриклеточного домена Notch как *in vivo*, так и *in vitro* связана со снижением передачи сигналов Wnt и нарушением остеобластогенеза [50].

Передача сигналов Wnt также участвует в иммуномодуляторных путях. Следует отметить, что TNF- α способствует активности Dkk-1 и таким образом блокирует дифференцировку остеобластов. В эксперименте доказано что у мышей со сверхэкспрессией TNF- α наблюдается разрушение суставов, подобное ревматоидному артриту [51].

Доказано, что передача сигналов Wnt индуцирует остеогенную дифференцировку посредством изменения MicroRNA (miRNA) [52]. Ряд различных молекул miRNA могут способствовать или ингибировать опосредованную MCK остеогенную дифференцировку [53].

MiRNA взаимодействуют с несколькими факторами роста и факторами транскрипции, такими как Runx2 и Osterix, на различных стадиях остеогенной дифференцировки [54]. Некоторые miRNAs специфически взаимодействуют с лигандами Wnt с последующим эффектом на остеогенез [55]; miR-27 ингибирует каноническую передачу сигналов Wnt и способствует образованию кости, а miR-335-5p подавляет Dkk-1 и таким образом способствует остеогенной дифференцировке [56].

Wnt/ Ca^{2+} -зависимый сигнальный путь (рис. 5б), активируемый белками Wnt, включает цепочку взаимодействий, связанных с освобождением внутриклеточного Ca^{2+} . Распознавание лигандом Wnt рецептора (Fz) приводит к диссоциации гетеротримерного G-белка на две субъединицы. Комплекс $G\beta/\gamma$ (первая субъединица) активирует PLC (фосфолипаза C), которая транслоцируется на мембрану и гидролизует PIP2 (фосфотидилинозитол-бифосфат) до DAG (диацилглицерол). В дальнейшем DAG активирует PKC (протеинкиназа C), в то время как IP3 (инозитолтрифосфат) индуцирует освобождение ионов Ca^{2+} из внутриклеточных депо, что в свою очередь стимулирует Ca^{2+} -зависимые эффекторные молекулы (Ca^{2+} /модулин-зависимая киназа II (CaMK2), ядерный фактор NFAT и кальцинейрин. Основная функция Wnt/ Ca^{2+} -зависимого пути заключается в регуляции клеточной подвижности и организации цитоскелета [37].

В основе функционирования различных систем клетки лежат асимметричная организация её компонентов и полярность. Поляризация клеток может протекать в разных направлениях, например, в апикально-базо-

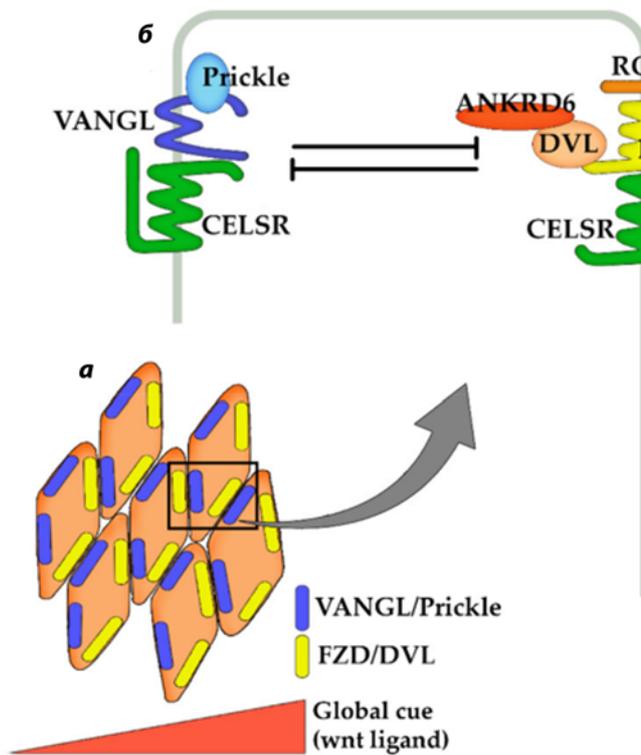


РИС. 6. Путь клеточной поляризации PCP (пояснения в тексте) [57]

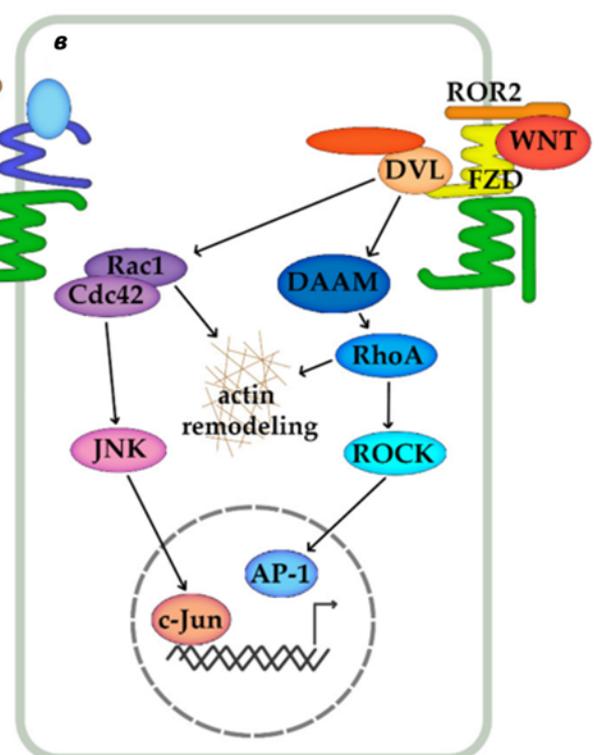


FIG. 6. PCP cell polarization pathway [57]

латеральном, или в плоскости однослойного эпителия – PCP (планарная клеточная полярность). У позвоночных ассоциированный с мембраной основной комплекс PCP состоит из шести белков, которые взаимодействуют друг с другом меж- и внутриклеточно с противоположных сторон клетки (рис. 6) [57].

Межклеточная коммуникация и связь контролируются тремя трансмембранными компонентами комплекса: рецептор Fzd (особенно Fzd3 и Fzd6), белок плоской клеточной полярности Вангла (VANGL2) и рецептор G-типа кадгерина EGF LAG (CELSR), – в то время как внутриклеточные сигналы передаются через цитоплазматические компоненты Disheveled (DVL), Prickle (PRICKLE) и анкириновый домен 6 (ANKRD6) или Inversin (INVS). Посредством взаимного ингибирования два комплекса – Celsr-Vangl2-Prickle и Fzd-Celsr-DVL-Ankrd6 – устанавливаются на противоположных участках клетки [58]. Комплекс может также включать дополнительные компоненты, такие как рецепторы Ryk и ROR2, которые помогают передавать сигнал Wnt5a на Vangl2 [59]. Внутриклеточно эти два комплекса стабилизируют друг друга и обеспечивают межклеточные коммуникации, необходимые для установления однородного PCP в ткани [60]. В костной ткани путь передачи сигналов PCP и поляризация ткани связаны с эмбриональным образованием костей и суставов, которое включает миграцию клеток, удлинение и дифференцировку [61]. Путь PCP также активен постнатально, где он опосредует ориентацию клеточного деления при пролиферации остеобластов, хотя сама пролиферация опосредуется канонической передачей сигналов Wnt. В эксперименте на мышах показано, что мыши с мутацией Vangl2 демонстрируют изменённую архитектуру кости и дезорганизацию поверхностного слоя кости. Также установлено, что сигнальный путь PCP участвует в миграции и дифференцировке предшественников остеобластов [62].

Таким образом, установление полярности клеток и тканей в основном участвует в организации, росте и удлинении тканей. Однако установлено, что организация цитоскелета и последующая активность RhoA и ROCK, как и передача JNK, также являются определяющим фактором дифференцировки MSC по пути остеогенеза или адипогенеза [63]. Сходным образом каноническая и неканоническая передача сигналов Wnt3a ингибирует дифференцировку хондроцитов и созревание хондрального матрикса посредством активации пути передачи сигналов JNK и факторов транскрипции c-Jun и AP-1 [64]. Wnt5a, секретлируемый остеобластами, также может усиливать остеокластогенез за счёт передачи сигналов Wnt5a/ROR2, что увеличивает экспрессию RANK в клетках-предшественниках остеокластов за счёт активации JNK/c-Jun/Sp1 [19] и способствует резорбции костной активности остеокластов посредством DAAM2/Rho-протеинкиназы N3 (PKN3)/c-Src пути [65].

Таким образом, две наиболее важные сигнальные системы – OPG – RANKL – RANK и Wnt – взаимодействуют в регуляции баланса резорбции и ремоделирования кости. RunX2 – фактор дифференцировки, являющийся обязательным для образования кости, – связывает эти две сигнальные системы. Так, в эксперименте доказа-

но, что сверхэкспрессия RunX2 стимулирует RANKL, ведёт к снижению OPG и β -катенина вместе с уменьшением костной массы и объёма кости [66].

T-лимфоциты и B-лимфоциты (также известные как T-клетки и B-клетки) являются кровяными клетками лимфоидной линии. Они составляют два типа клеток адаптивного иммунитета. Популяция T-клеток достаточно разнородна, вероятно, плеiotропна и взаимозаменяема. В исследованиях на животных установлено, что T- и B-лимфоциты накапливаются в месте перелома в первые три дня после травмы, а затем их количество постепенно уменьшается, когда начинается образование хряща [67]. T-лимфоциты характеризуются наличием T-клеточного рецептора (TCRs), в данном контексте разделяясь на $\alpha\beta$ T-клетки и $\gamma\delta$ T-клетки. $\alpha\beta$ T-клетки проходят селекцию в тимусе, созревая и приобретая TCRs, превращаясь в CD4+ T-хелперы (Th), CD8+ T-цитотоксические T-лимфоциты (CTLs), CD4+ регуляторные T-клетки (Tregs) [66]. В отношении заживления кости нужно отметить, что часть T-клеток поддерживают процесс регенерации, а часть оказывают отрицательный эффект. Так, в эксперименте доказано что, CD4+ T-клетки усиливают дифференцировку мезенхимальных клеток предшественников, в то время как у CD8+ T-клеток такой эффект отсутствует [68]. В экспериментах на мышах показано что регуляторные T-клетки поддерживают дифференцировку остеобластов и оказывают негативное влияние на дифференцировку и функцию остеокластов. Мыши с более высоким процентом регуляторных T-клеток демонстрировали более высокую костную массу и снижение резорбции кости [69]. $\gamma\delta$ T-клетки происходят из того же предшественника, что и $\alpha\beta$ T-клетки, но за счёт видоизменённого рецептора не распознают антиген-специфические молекулы. Они распознают как микробные, так и собственные компоненты тканевого стресса, способствуя выработке цитокинов и/или цитотоксичности. Кроме того, $\gamma\delta$ T-клетки классифицируются на подклассы в соответствии с экспрессией TCR-V γ , отличаясь характерным собственным распределением в тканях и паттерном продукции цитокинов. В то время как $\alpha\beta$ T-клетки реализуют про- и противовоспалительные функции, которые имеют решающее значение для антиген-специфических иммунных реакций, $\gamma\delta$ T-клетки в основном распределяются по эпителиальным тканям, играя роль в защите и восстановлении тканей на периферии [70]. Установлено что $\gamma\delta$ T-клетки участвуют в процессе формирования сращения кости за счёт увеличения числа после перелома и продукции IL-17A который усиливает образование кости [71].

Активно изучается процесс прямого воздействия T-клеток и клеток, формирующих кость и клетки-предшественники, на мезенхимальные стромальные стволовые клетки [72, 73]. Отрицательное действие на регенерацию кости оказывает подсемейство T-клеток CD8+ TEMRA за счёт высокой секреции ими TNF- α и IFN- γ . Отмечено повышение этих клеток в гематоме у пациентов с замедленным сращением переломов [66]. Истощение T-клеток и/или B-клеток приводит к ухудшению качества кости и замедлению заживления переломов [67, 74]. B-лимфоциты являются гемопоэтическими клетками лим-

фоидной линии и, как и Т-клетки, играют центральную роль в гуморальном иммунитете [75]. Снижение числа В-клеток приводит к ухудшению качества кости и заживления переломов, как и при дефиците Т-клеток [19, 76].

В-лимфоциты и Т-лимфоциты играют клеточно-сигнальную роль в конце фазы воспаления и во время фазы минерализации. На более поздних стадиях воспалительной фазы, в то время как Т-клетки продуцируют рецепторный активатор ядерного фактора карра-В лиганд (RANKL) для рекрутирования, дифференцировки и активации остеокластов, вероятно, в попытке удалить фибриновый тромб при приготовлении хрящевого каллюса, В-клетки участвуют в подавлении провоспалительных сигналов IFN- γ , TNF- α и IL-2 [76]. В то же время В-клетки также продуцирует остеопротегерин (OPG), регулируя в этом пути остеокластическую дифференцировку и активность [77]. Ранее считалось, что В-лимфоциты не играют значительной роли в заживлении переломов костей. Однако известно, что во время заживления перелома количество В-лимфоцитов увеличивается в месте повреждения и в периферической крови, а также – что низкая выработка IL-10 В-клетками коррелирует с замедленным сращением перелома [75, 78, 79, 80].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процесс репарации костной ткани многогранен, и в его осуществлении принимает участие множество факторов, однако хотелось бы отметить, что ведущую роль в течении репаративной регенерации играет персонифицированный генетически запрограммированный ответ на данное патологическое состояние. Тем не менее, несмотря на неоспоримый прогресс современной медицины в изучении процессов восстановления кости после перелома, до настоящего момента остаётся множество «белых» пятен в данном вопросе, что диктует необходимость его дальнейшего всестороннего изучения с целью эффективного лечения пациентов с нарушением консолидации.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Емельянов В.Ю., Преображенская Е.В., Николаев Н.С. Сравнительная оценка эффективности биофизических методов стимуляции остеогенеза: обзор литературы. *Травматология и ортопедия России*. 2021; 27(1): 86-96. doi: 10.21823/2311-2905-2021-27-1-86-96
2. Zaiss MM, Frey B, Hess A, Zwerina J, Luther J, Nimmerjahn F, et al. Regulatory T cells protect from local and systemic bone destruction in arthritis. *J Immunol*. 2010; 184(12): 7238-7246. doi: 10.4049/jimmunol.0903841
3. Ding Z-C, Lin Y-K, Gan Y-K, Tang T-T. Molecular pathogenesis of fracture nonunion. *J Orthop Translat*. 2018; 14: 45-56. doi: 10.1016/j.jot.2018.05.002

4. Zhang J, Yang Y, Yang Z, Li T, Chen F. Snapshot: Targeting macrophages as a candidate for tissue regeneration. *Curr Issues Mol Biol*. 2018; 29: 37-48. doi: 10.21775/cimb.029.037

5. Мироманов А.М., Гусев К.А., Мироманова Н.А. Влияние полиморфизма гена *TGF β 1-25Arg>Pro* на экспрессию ростового фактора TGF β 1 у больных с нарушением консолидации переломов в Забайкальском крае. *Фундаментальные исследования*. 2015; 1(5): 1008-1012.

6. Гусев К.А., Мироманов А.М., Мироманова Н.А., Витковский Ю.А. Полиморфизм гена *EGFR-2073A>T* и экспрессия ростового фактора EGF у больных с нарушением консолидации переломов длинных костей конечностей. *Забайкальский медицинский вестник*. 2016; 3: 25-29. URL: <http://zabmedvestnik.ru/arhiv-nomerov/nomer-3-za-2016-god/polimorfizm-gena-egfr-2073a-t-i-jekspressija-rostovogo-faktora-egf-u-bolnyh-s-narusheniem-konsolidacii-perelomov-dlinnyh-kostej-konechnostej/588/5.pdf> [дата доступа: 01.12.2021].

7. Новикова Е.Л., Бакаленко Н.И., Нестеренко А.Ю., Кулакова М.А. НОХ-гены и регенерация у животных. *Онтогенез*. 2016; 47(4): 209-218. doi: 10.7868/S0475145016040078

8. Zimmermann G, Schmeckenbecher KH, Boeuf S, Weiss S, Bock R, Moghaddam A, et al. Differential gene expression analysis in fracture callus of patients with regular and failed bone healing. *Injury*. 2012; 43(3): 347-356. doi: 10.1016/j.injury.2011.10.031

9. Waki T, Lee SY, Niikura T, Iwakura T, Dogaki Y, Okumachi E, et al. Profiling microRNA expression in fracture nonunions: Potential role of microRNAs in nonunion formation studied in a rat model. *Bone Joint J*. 2015; 97-B(8): 1144-1151. doi: 10.1302/0301-620X.97B8.34966

10. Wang H, Xie Z, Hou T, Li Z, Huang K, Gong J, et al. MiR-125b regulates the osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells by targeting BMP1b. *Cell Physiol Biochem*. 2017; 41(2): 530-542. doi: 10.1159/000457013

11. He B, Zhang ZK, Liu J, He YX, Tang T, Li J, et al. Bioinformatics and microarray analysis of miRNAs in aged female mice model implied new molecular mechanisms for impaired fracture healing. *Int J Mol Sci*. 2016; 17(8): 1260. doi: 10.3390/ijms17081260

12. Guimarães JM, Guimarães IC do V, Duarte MEL, Vieira T, Vianna VF, Fernandes MBC, et al. Polymorphisms in *BMP4* and *FGFR1* genes are associated with fracture non-union. *J Orthop Res*. 2013; 31(12): 1971-1979. doi: 10.1002/jor.22455

13. Movchan OS, Olifirenko OI. Autotransplantation native marrow at defective fracture consolidation. *Trauma*. 2016; 17(2): 69-72. doi: 10.22141/1608-1706.2.17.2016.74658

14. Скрипникова И.А., Алиханова Н.А., Колчина М.А., Мягкова М.А., Косматова О.В. Атеросклероз и остеопороз. Общие мишени для влияния сердечно-сосудистых и антиостеопорозных препаратов (Часть I). Влияние сердечно-сосудистых препаратов на прочность костной ткани. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2019; 15(1): 69-76. doi: 10.20996/1819-6446-2019-15-1-69-76

15. Парахонский А.П. Механизмы регенерации тканей. *Заметки ученого*. 2018; 6(31): 10-18.

16. Матчин А.А., Стадников А.А., Носов Е.В., Кириакиди С.Х. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика процессов заживления экспериментальных переломов нижней челюсти. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2019; 8(1): 44-48. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-1-44-48

17. Juban G, Chazaud B. Metabolic regulation of macrophages during tissue repair: Insights from skeletal muscle regen-

- eration. *FEBS Lett.* 2017; 591(19): 3007-3021. doi: 10.1002/1873-3468.12703
18. Schlundt C, Khassawna TEL, Serra A, Dienelt A, Wendler S, Schell H, et al. Macrophages in bone fracture healing: Their essential role in endochondral ossification. *Bone.* 2018; 106: 78-89. doi: 10.1016/j.bone.2015.10.019
 19. Wu AC, Raggatt LJ, Alexander KA, Pettit AR. Unraveling macrophage contributions to bone repair. *Bonekey Rep.* 2013; 2: 373. doi: 10.1038/bonekey.2013.107
 20. Maruyama M, Rhee C, Utsunomiya T, Zhang N, Ueno M, Yao Z, et al. Modulation of the inflammatory response and bone healing. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020; 11: 386. doi: 10.3389/fendo.2020.00386
 21. Sivanathan KN, Rojas-Canales DM, Hope CM, Krishnan R, Carroll RP, Gronthos S, et al. Interleukin-17A-induced human mesenchymal stem cells are superior modulators of immunological function. *Stem Cells.* 2015; 33(9): 2850-2863. doi: 10.1002/stem.2075
 22. Kim Y-G, Park J-W, Lee J-M, Suh J-Y, Lee J-K, Chang B-S, et al. IL-17 inhibits osteoblast differentiation and bone regeneration in rat. *Arch Oral Biol.* 2014; 59(9): 897-905. doi: 10.1016/j.archoralbio.2014.05.009
 23. Noronha N de C, Mizukami A, Caliar-Oliveira C, Cominal JG, Rocha JLM, Covas DT, et al. Priming approaches to improve the efficacy of mesenchymal stromal cell-based therapies. *Stem Cell Res Ther.* 2019; 10(1): 131. doi: 10.1186/s13287-019-1224-y
 24. Lin T, Pajarinen J, Nabeshima A, Lu L, Nathan K, Jansen E, et al. Preconditioning of murine mesenchymal stem cells synergistically enhanced immunomodulation and osteogenesis. *Stem Cell Res Ther.* 2017; 8(1): 277. doi: 10.1186/s13287-017-0730-z
 25. Philipp D, Suhr L, Wahlers T, Choi YH, Paunel-Gorgulu A. Preconditioning of bone marrow-derived mesenchymal stem cells highly strengthens their potential to promote IL-6-dependent M2b polarization. *Stem Cell Res Ther.* 2018; 9(1): 286. doi: 10.1186/s13287-018-1039-2
 26. Lu Z, Chen Y, Dunstan C, Roohani-Esfahani S, Zreiqat H. Priming adipose stem cells with tumor necrosis factor-alpha preconditioning potentiates their exosome efficacy for bone regeneration. *Tissue Eng A.* 2017; 23(21-22): 1212-1220. doi: 10.1089/ten.tea.2016.0548
 27. Camacho-Cardenosa M, Camacho-Cardenosa A, Timon R, Olcina G, Tomas-Carus P, Brazo-Sayavera J. Can hypoxic conditioning improve bone metabolism? A systematic review. *Int J Environ Res Public Health.* 2019; 16(10): 1799. doi: 10.3390/ijerph16101799
 28. Ono T, Hayashi M, Sasaki F, Nakashima T. RANKL biology: Bone metabolism, the immune system, and beyond. *Inflamm Regen.* 2020; 40: 2. doi: 10.1186/s41232-019-0111-3
 29. Герштейн Е.С., Тимофеев Ю.С., Зуев А.А., Кушлинский Н.Е. Лиганд-рецепторная система RANK/RANKL/OPG и ее роль при первичных новообразованиях костей (анализ литературы и собственные результаты). *Успехи молекулярной онкологии.* 2015; 2(3): 51-59. doi: 10.17650/2313-805X-2015-2-3-51-59
 30. Walsh MC, Choi Y. Biology of the RANKL-RANK-OPG system in immunity, bone, and beyond. *Front Immunol.* 2014; 5: 511. doi: 10.3389/fimmu.2014.00511
 31. Baht GS, O'Young J, Borovina A, Chen H, Tye CE, Karttunen M, et al. Phosphorylation of Ser136 is critical for potent bone sialoprotein-mediated nucleation of hydroxyapatite crystals. *Biochem J.* 2010; 428(3): 385-395. doi: 10.1042/BJ20091864
 32. Köttstorfer J, Thomas A, Gregori M, Kecht M, Kaiser G, Eipeldauer S, et al. Are OPG and RANKL involved in human fracture healing? *J Orthop Res.* 2014; 32(12): 1557-1561. doi: 10.1002/jor.22723
 33. Abdallah BM, Stilgren LS, Nissen N, Kassem M, Jorgensen HRI, Abrahamsen B. Increased RANKL/OPG mRNA ratio in iliac bone biopsies from women with hip fractures. *Calcif Tissue Int.* 2015; 76(2): 90-97. doi: 10.1007/s00223-004-0074-4
 34. Komiya Y, Habas R. Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis.* 2008; 4(2): 68-75. doi: 10.4161/org.4.2.5851
 35. Houschyar KS, Momeni A, Pyles MN, Maan ZN, Whittam AJ, Siemers F. Wnt signaling induces epithelial differentiation during cutaneous wound healing. *Organogenesis.* 2015; 11(3): 95-104. doi: 10.1080/15476278.2015.1086052
 36. Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell.* 2006; 127(3): 469-480. doi: 10.1016/j.cell.2006.10.018
 37. Houschyar KS, Tapking C, Borrelli MR, Popp D, Duscher D, Maan ZN, et al. Wnt pathway in bone repair and regeneration – What do we know so far. *Front Cell Dev Biol.* 2019; 6: 170. doi: 10.3389/fcell.2018.00170
 38. MacDonald BT, He X. Frizzled and LRP5/6 receptors for Wnt/beta-catenin signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012; 4(12): a007880. doi: 10.1101/cshperspect.a007880
 39. Enzo MV, Rastrelli M, Rossi CR, Hladnik U, Segat D. The Wnt/beta-catenin pathway in human fibrotic-like diseases and its eligibility as a therapeutic target. *Mol Cell Ther.* 2015; 3: 1. doi: 10.1186/s40591-015-0038-2
 40. Cadigan KM, Waterman ML. TCF/LEFs and Wnt signaling in the nucleus. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012; 4(11): a007906. doi: 10.1101/cshperspect.a007906
 41. Bao Q, Chen S, Qin H, Feng J, Liu H, Liu D et al. An appropriate Wnt/beta-catenin expression level during the remodeling phase is required for improved bone fracture healing in mice. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 2695. doi: 10.1038/s41598-017-02705-0
 42. Wang T, Zhang X, Bikle DD. Osteogenic differentiation of periosteal cells during fracture healing. *J Cell Physiol.* 2017; 232(5): 913-921. doi: 10.1002/jcp.25641
 43. Regard JB, Zhong Z, Williams BO, Yang Y. Wnt signaling in bone development and disease: Making stronger bone with Wnts. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012; 4(12): a007997. doi: 10.1101/cshperspect.a007997
 44. Tarapore RS, Siddiqui IA, Mukhtar H. Modulation of Wnt/beta-catenin signaling pathway by bioactive food components. *Carcinogenesis.* 2012; 33(3): 483-491. doi: 10.1093/carcin/bgr305
 45. Yavropoulou MP, Yovos JG. The role of the Wnt signaling pathway in osteoblast commitment and differentiation. *Hormones.* 2007; 6(4): 279-294. doi: 10.14310/horm.2002.1111024
 46. Pinzone JJ, Hall BM, Thudi NK, Vonau M, Qiang YW, Rosol TJ, et al. The role of Dickkopf-1 in bone development, homeostasis, and disease. *Blood.* 2009; 113(3): 517-525. doi: 10.1182/blood-2008-03-145169
 47. Balemans W, Hul WV. The genetics of low-density lipoprotein receptor-related protein 5 in bone: A story of extremes. *Endocrinology.* 2007; 148(6): 2622-2629. doi: 10.1210/en.2006-1352
 48. Schulze J, Seitz S, Saito H, Schneebauer M, Marshall RP, Baranowsky A, et al. Negative regulation of bone formation by the transmembrane Wnt antagonist Kremen-2. *PLoS One.* 2010; 5(4): e10309. doi: 10.1371/journal.pone.0010309
 49. Cao J, Wei Y, Lian J, Yang L, Zhang X, Xie J, et al. Notch signaling pathway promotes osteogenic differentiation of mesen-

chymal stem cells by enhancing BMP9/Smad signaling. *Int J Mol Med.* 2017; 40(2): 378-388. doi: 10.3892/ijmm.2017.3037

50. Lin GL, Hankenson KD. Integration of BMP, Wnt, and notch signaling pathways in osteoblast differentiation. *J Cell Biochem.* 2011; 112(12): 3491-3501. doi: 10.1002/jcb.23287

51. Baum R, Gravalles EM. Impact of inflammation on the osteoblast in rheumatic diseases. *Curr Osteoporos Rep.* 2014; 12(1): 9-16. doi: 10.1007/s11914-013-0183-y

52. Kureel J, John AA, Prakash R, Singh D. MiR 376c inhibits osteoblastogenesis by targeting Wnt3 and ARF-GEF-1-facilitated augmentation of beta-catenin transactivation. *J Cell Biochem.* 2018; 119(4): 3293-3303. doi: 10.1002/jcb.26490

53. Kang H, Hata A. The role of microRNAs in cell fate determination of mesenchymal stem cells: Balancing adipogenesis and osteogenesis. *BMB Rep.* 2015; 48(6): 319-323. doi: 10.5483/BMBRep.2015.48.6.206

54. Vimalraj S, Selvamurugan N. MicroRNAs: Synthesis, gene regulation and osteoblast differentiation. *Curr Issues Mol Biol.* 2013; 15: 7-18.

55. Peng S, Gao D, Gao C, Wei P, Niu M, Shuai C. MicroRNAs regulate signaling pathways in osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells (Review). *Mol Med Rep.* 2016; 14(1): 623-629. doi: 10.3892/mmr.2016.5335

56. Zhang L, Tang Y, Zhu X, Tu T, Sui L, Han Q, et al. Overexpression of MiR-335-5p promotes bone formation and regeneration in mice. *J Bone Miner Res.* 2017; 32(12): 2466-2475. doi: 10.1002/jbmr.3230

57. Lojk J, Marc J. Roles of non-canonical Wnt signalling pathways in bone biology. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(19): 10840. doi: 10.3390/ijms221910840

58. Butler MT, Wallingford JB. Planar cell polarity in development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2017; 18(6): 375-388. doi: 10.1038/nrm.2017.11

59. Gao B, Song H, Bishop K, Elliot G, Garrett L, English M, et al. Wnt signaling gradients establish planar cell polarity by inducing Vangl2 phosphorylation through Ror2. *Dev Cell.* 2011; 20(2): 163-176. doi: 10.1016/j.devcel.2011.01.001

60. Struhl G, Casal J, Lawrence PA. Dissecting the molecular bridges that mediate the function of Frizzled in planar cell polarity. *Development.* 2012; 139(19): 3665-3674. doi: 10.1242/dev.083550

61. Gao B. Wnt regulation of planar cell polarity (PCP). *Curr Top Dev Biol.* 2012; 101: 263-295. doi: 10.1016/B978-0-12-394592-1.00008-9

62. Wan Y, Lantz B, Cusack BJ, Szabo-Rogers HL. Prickle1 regulates differentiation of frontal bone osteoblasts. *Sci Rep.* 2018; 8(1): 18021. doi: 10.1038/s41598-018-36742-0

63. Qiu W, Chen L, Kassem M. Activation of non-canonical Wnt/JNK pathway by Wnt3a is associated with differentiation fate determination of human bone marrow stromal (mesenchymal) stem cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011; 413(1): 98-104. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.08.061

64. Hwang S-G, Yu S-S, Lee S-W, Chun J-S. Wnt-3a regulates chondrocyte differentiation via c-Jun/AP-1 pathway. *FEBS Lett.* 2005; 579(21): 4837-4842. doi: 10.1016/j.febslet.2005.07.067

65. Uehara S, Udagawa N, Mukai H, Ishihara A, Maeda K, Yamashita T, et al. Protein kinase N3 promotes bone resorption by osteoclasts in response to Wnt5a-Ror2 signaling. *Sci Signal.* 2017; 10(494): eaan0023. doi: 10.1126/scisignal.aan0023

66. Kovács B, Vajda E, Nagy EE. Regulatory effects and interactions of the Wnt and OPG-RANKL-RANK signaling at the bone-

cartilage interface in osteoarthritis. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(18): 4653. doi: 10.3390/ijms20184653

67. Nam D, Mau E, Wang Y, Wright D, Silkstone D, Whetstone H, et al. T-lymphocytes enable osteoblast maturation via IL-17F during the early phase of fracture repair. *PLoS One.* 2012; 7(6): e40044. doi: 10.1371/journal.pone.0040044

68. Grassi F, Cattini L, Gambari L, Manferdini C, Piacentini A, Gabusi E, et al. T cell subsets differently regulate osteogenic differentiation of human mesenchymal stromal cells in vitro. *J Tissue Eng Regen Med.* 2016; 10(4): 305-314. doi: 10.1002/term.1727

69. Pacifici R. Osteoimmunology and its implications for transplantation. *Am J Transplant.* 2013; 13(9): 2245-2254. doi: 10.1111/ajt.12380

70. Ono T, Takayanagi H. Osteoimmunology in bone fracture healing. *Curr Osteoporos Rep.* 2017; 15(4): 367-375. doi: 10.1007/s11914-017-0381-0

71. Ono T, Okamoto K, Nakashima T, Nitta T, Hori S, Iwakura Y, et al. IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells enhance bone regeneration. *Nat Commun.* 2016; 7: 10928. doi: 10.1038/ncomms10928

72. Glenn JD, Whartenby KA. Mesenchymal stem cells: emerging mechanisms of immunomodulation and therapy. *World J Stem Cells.* 2014; 6(5): 526-539. doi: 10.4252/wjsc.v6.i5.526

73. Lei H, Schmidt-Bleek K, Dienelt A, Reinke P, Volk H-D. Regulatory T cell-mediated anti-inflammatory effects promote successful tissue repair in both indirect and direct manners. *Front Pharmacol.* 2015; 6: 184. doi: 10.3389/fphar.2015.00184

74. Reinke S, Geissler S, Taylor WR, Schmidt-Bleek K, Juelke K, Schwachmeyer V, et al. Terminally differentiated CD8+ T cells negatively affect bone regeneration in humans. *Sci Transl Med.* 2013; 5(177): 177ra36. doi: 10.1126/scitranslmed.3004754

75. Toben D, Schroeder I, El Khassawna T, Mehta M, Hoffmann J-E, Frisch J-T, et al. Fracture healing is accelerated in the absence of the adaptive immune system. *J Bone Miner Res.* 2011; 26(1): 113-124. doi: 10.1002/jbmr.185

76. Baht GS, Silkstone D, Vi L, Nadesan P, Amani Y, Whetstone H, et al. Erratum: Exposure to a youthful circulation rejuvenates bone repair through modulation of b-catenin. *Nat Commun.* 2015; 6: 7761. doi: 10.1038/ncomms8761

77. Sun G, Wang Y, Ti Y, Wang J, Zhao J, Qian H. Regulatory B cell is critical in bone union process through suppressing proinflammatory cytokines and stimulating Foxp3 in Treg cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2017; 44(4): 455-462. doi: 10.1111/1440-1681.12719

78. Takayanagi H. Osteoimmunology and the effects of the immune system on bone. *Nat Rev Rheumatol.* 2009; 5(12): 667-676. doi: 10.1038/nrrheum.2009.217

79. Könnecke I, Serra A, El Khassawna T, Schlundt C, Schell H, Hauser A, et al. T and B cells participate in bone repair by infiltrating the fracture callus in a two-wave fashion. *Bone.* 2014; 64: 155-165. doi: 10.1016/j.bone.2014.03.052

80. Yang S, Ding W, Feng D, Gong H, Zhu D, Chen B, et al. Loss of B cell regulatory function is associated with delayed healing in patients with tibia fracture. *APMIS.* 2015; 123(11): 975-985. doi: 10.1111/apm.12439

REFERENCES

1. Emelianov VY, Preobrazhenskaia EV, Nikolaev NS. Evaluating the effectiveness of biophysical methods of osteogenesis

- stimulation: review. *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2021; 27(1): 86-96. (In Russ.). doi: 10.21823/2311-2905-2021-27-1-86-96
2. Zaiss MM, Frey B, Hess A, Zwerina J, Luther J, Nimmerjahn F, et al. Regulatory T cells protect from local and systemic bone destruction in arthritis. *J Immunol*. 2010; 184(12): 7238-7246. doi: 10.4049/jimmunol.0903841
 3. Ding Z-C, Lin Y-K, Gan Y-K, Tang T-T. Molecular pathogenesis of fracture nonunion. *J Orthop Translat*. 2018; 14: 45-56. doi: 10.1016/j.jot.2018.05.002
 4. Zhang J, Yang Y, Yang Z, Li T, Chen F. Snapshot: Targeting macrophages as a candidate for tissue regeneration. *Curr Issues Mol Biol*. 2018; 29: 37-48. doi: 10.21775/cimb.029.037
 5. Miromanov AM, Gusev KA, Miromanova NA. Influence of polymorphism of gene *TGFβ1-25Arg>Pro* on expression transforming growth factor TGFβ1 at patients with disturbance of consolidation of fractures in Zabaykalsky Krai. *Fundamental Research*. 2015; 1(5): 1008-1012. (In Russ.).
 6. Gusev KA, Miromanov AM, Miromanova NA, Vitkovsky YuA. Influence of polymorphism of gene *EGFR-2073A>T* on expression transforming growth factor EGF at patients with disturbance of consolidation of fractures of long bones of extremities. *The Transbaikalian Medical Bulletin*. 2016; 3: 25-29. (In Russ.). URL: <http://zabmedvestnik.ru/arhiv-nomerov/nomer-3-za-2016-god/poli-morfizm-gena-egfr-2073a-t-i-jekspressija-rostovogo-faktora-egf-u-bolnyh-s-narusheniem-konsolidacii-perelomov-dlinnyh-kostej-konechnostej/588/5.pdf> [date of access: 01.12.2021].
 7. Novikova EL, Bakalenko NI, Nesterenko AY, Kulakova MA. Hox genes and animal regeneration. *Онтогенез*. 2016; 47(4): 209-218. (In Russ.). doi: 10.7868/S0475145016040078
 8. Zimmermann G, Schmeckenbecher KHK, Boeuf S, Weiss S, Bock R, Moghaddam A, et al. Differential gene expression analysis in fracture callus of patients with regular and failed bone healing. *Injury*. 2012; 43(3): 347-356. doi: 10.1016/j.injury.2011.10.031
 9. Waki T, Lee SY, Niikura T, Iwakura T, Dogaki Y, Okumachi E, et al. Profiling microRNA expression in fracture nonunions: Potential role of microRNAs in nonunion formation studied in a rat model. *Bone Joint J*. 2015; 97-B(8): 1144-1151. doi: 10.1302/0301-620X.97B8.34966
 10. Wang H, Xie Z, Hou T, Li Z, Huang K, Gong J, et al. MiR-125b regulates the osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells by targeting BMPR1b. *Cell Physiol Biochem*. 2017; 41(2): 530-542. doi: 10.1159/000457013
 11. He B, Zhang ZK, Liu J, He YX, Tang T, Li J, et al. Bioinformatics and microarray analysis of miRNAs in aged female mice model implied new molecular mechanisms for impaired fracture healing. *Int J Mol Sci*. 2016; 17(8): 1260. doi: 10.3390/ijms17081260
 12. Guimarães JM, Guimarães IC do V, Duarte MEL, Vieira T, Vianna VF, Fernandes MBC, et al. Polymorphisms in *BMP4* and *FGFR1* genes are associated with fracture non-union. *J Orthop Res*. 2013; 31(12): 1971-1979. doi: 10.1002/jor.22455
 13. Movchan OS, Olifirenko OI. Autotransplantation native marrow at defective fracture consolidation. *Trauma*. 2016; 17(2): 69-72. doi: 10.22141/1608-1706.2.17.2016.74658
 14. Skripnikova IA, Alikhanova NA, Kolchina MA, Myagkova MA, Kosmatova OV. Atherosclerosis and osteoporosis. Common targets for the effects of cardiovascular and anti-osteoporotic drugs (Part I). The effect of cardiovascular drugs on bone strength. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2019; 15(1): 69-76. (In Russ.). doi: 10.20996/1819-6446-2019-15-1-69-76
 15. Parakhonskiy AP. The mechanisms of tissue regeneration. *Zametki uchenogo*. 2018; 6(31): 10-18.
 16. Matchin AA, Stadnikov AA, Nosov EV, Kiriakidi SK. Morphological and immunohistochemical characteristics of experimental mandibular fractures healing process. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2019; 8(1): 44-48. (In Russ.). doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-1-44-48
 17. Juban G, Chazaud B. Metabolic regulation of macrophages during tissue repair: Insights from skeletal muscle regeneration. *FEBS Lett*. 2017; 591(19): 3007-3021. doi: 10.1002/1873-3468.12703
 18. Schlundt C, Khassawna TEI, Serra A, Dienelt A, Wendler S, Schell H, et al. Macrophages in bone fracture healing: Their essential role in endochondral ossification. *Bone*. 2018; 106: 78-89. doi: 10.1016/j.bone.2015.10.019
 19. Wu AC, Raggatt LJ, Alexander KA, Pettit AR. Unraveling macrophage contributions to bone repair. *Bonekey Rep*. 2013; 2: 373. doi: 10.1038/bonekey.2013.107
 20. Maruyama M, Rhee C, Utsunomiya T, Zhang N, Ueno M, Yao Z, et al. Modulation of the inflammatory response and bone healing. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020; 11: 386. doi: 10.3389/fendo.2020.00386
 21. Sivanathan KN, Rojas-Canales DM, Hope CM, Krishnan R, Carroll RP, Gronthos S, et al. Interleukin-17A-induced human mesenchymal stem cells are superior modulators of immunological function. *Stem Cells*. 2015; 33(9): 2850-2863. doi: 10.1002/stem.2075
 22. Kim Y-G, Park J-W, Lee J-M, Suh J-Y, Lee J-K, Chang B-S, et al. IL-17 inhibits osteoblast differentiation and bone regeneration in rat. *Arch Oral Biol*. 2014; 59(9): 897-905. doi: 10.1016/j.archoralbio.2014.05.009
 23. Noronha N de C, Mizukami A, Caliar-Oliveira C, Cominal JG, Rocha JLM, Covas DT, et al. Priming approaches to improve the efficacy of mesenchymal stromal cell-based therapies. *Stem Cell Res Ther*. 2019; 10(1): 131. doi: 10.1186/s13287-019-1224-y
 24. Lin T, Pajarinen J, Nabeshima A, Lu L, Nathan K, Jansen E, et al. Preconditioning of murine mesenchymal stem cells synergistically enhanced immunomodulation and osteogenesis. *Stem Cell Res Ther*. 2017; 8(1): 277. doi: 10.1186/s13287-017-0730-z
 25. Philipp D, Suhr L, Wahlers T, Choi YH, Paunel-Gorgulu A. Preconditioning of bone marrow-derived mesenchymal stem cells highly strengthens their potential to promote IL-6-dependent M2b polarization. *Stem Cell Res Ther*. 2018; 9(1): 286. doi: 10.1186/s13287-018-1039-2
 26. Lu Z, Chen Y, Dunstan C, Roohani-Esfahani S, Zreiqat H. Priming adipose stem cells with tumor necrosis factor-alpha preconditioning potentiates their exosome efficacy for bone regeneration. *Tissue Eng A*. 2017; 23(21-22): 1212-1220. doi: 10.1089/ten.tea.2016.0548
 27. Camacho-Cardenosa M, Camacho-Cardenosa A, Timon R, Olcina G, Tomas-Carus P, Brazo-Sayavera J. Can hypoxic conditioning improve bone metabolism? A systematic review. *Int J Environ Res Public Health*. 2019; 16(10): 1799. doi: 10.3390/ijerph16101799
 28. Ono T, Hayashi M, Sasaki F, Nakashima T. RANKL biology: Bone metabolism, the immune system, and beyond. *Inflamm Regen*. 2020; 40: 2. doi: 10.1186/s41232-019-0111-3
 29. Gershtein ES, Timofeev YuS, Zuev AA, Kushlinskii NE. RANK/RANKL/OPG ligand-receptor system and its role in primary bone neoplasms (literature analysis and own data). *Advances in Molecular Oncology*. 2015; 2(3): 51-59. (In Russ.). doi: 10.17650/2313-805X-2015-2-3-51-59

30. Walsh MC, Choi Y. Biology of the RANKL–RANK–OPG system in immunity, bone, and beyond. *Front. Immunol.* 2014; 5: 511. doi: 10.3389/fimmu.2014.00511
31. Baht GS, O'Young J, Borovina A, Chen H, Tye CE, Karttunen M, et al. Phosphorylation of Ser136 is critical for potent bone sialoprotein-mediated nucleation of hydroxyapatite crystals. *Biochem J.* 2010; 428(3): 385-395. doi: 10.1042/BJ20091864
32. Köttstorfer J, Thomas A, Gregori M, Kecht M, Kaiser G, Eipeldauer S, et al. Are OPG and RANKL involved in human fracture healing? *J Orthop Res.* 2014; 32(12): 1557-1561. doi: 10.1002/jor.22723
33. Abdallah BM, Stilgren LS, Nissen N, Kassem M, Jorgensen HRI, Abrahamsen B. Increased RANKL/OPG mRNA ratio in iliac bone biopsies from women with hip fractures. *Calcif Tissue Int.* 2015; 76(2): 90-97. doi: 10.1007/s00223-004-0074-4
34. Komiya Y, Habas R. Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis.* 2008; 4(2): 68-75. doi: 10.4161/org.4.2.5851
35. Houschyar KS, Momeni A, Pyles MN, Maan ZN, Whittam AJ, Siemers F. Wnt signaling induces epithelial differentiation during cutaneous wound healing. *Organogenesis.* 2015; 11(3): 95-104. doi: 10.1080/15476278.2015.1086052
36. Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell.* 2006; 127(3): 469-480. doi: 10.1016/j.cell.2006.10.018
37. Houschyar KS, Tapking C, Borrelli MR, Popp D, Duscher D, Maan ZN, et al. Wnt pathway in bone repair and regeneration – What do we know so far. *Front Cell Dev Biol.* 2019; 6: 170. doi: 10.3389/fcell.2018.00170
38. MacDonald BT, He X. Frizzled and LRP5/6 receptors for Wnt/beta-catenin signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012; 4(12): a007880. doi: 10.1101/cshperspect.a007880
39. Enzo MV, Rastrelli M, Rossi CR, Hladnik U, Segat D. The Wnt/beta-catenin pathway in human fibrotic-like diseases and its eligibility as a therapeutic target. *Mol Cell Ther.* 2015; 3: 1. doi: 10.1186/s40591-015-0038-2
40. Cadigan KM, Waterman ML. TCF/LEFs and Wnt signaling in the nucleus. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012; 4(11): a007906. doi: 10.1101/cshperspect.a007906
41. Bao Q, Chen S, Qin H, Feng J, Liu H, Liu D et al. An appropriate Wnt/beta-catenin expression level during the remodeling phase is required for improved bone fracture healing in mice. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 2695. doi: 10.1038/s41598-017-02705-0
42. Wang T, Zhang X, Bikle DD. Osteogenic differentiation of periosteal cells during fracture healing. *J Cell Physiol.* 2017; 232(5): 913-921. doi: 10.1002/jcp.25641
43. Regard JB, Zhong Z, Williams BO, Yang Y. Wnt signaling in bone development and disease: Making stronger bone with Wnts. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012; 4(12): a007997. doi: 10.1101/cshperspect.a007997
44. Tarapore RS, Siddiqui IA, Mukhtar H. Modulation of Wnt/beta-catenin signaling pathway by bioactive food components. *Carcinogenesis.* 2012; 33(3): 483-491. doi: 10.1093/carcin/bgr305
45. Yavropoulou MP, Yovos JG. The role of the Wnt signaling pathway in osteoblast commitment and differentiation. *Hormones.* 2007; 6(4): 279-294. doi: 10.14310/horm.2002.1111024
46. Pinzone JJ, Hall BM, Thudi NK, Vonau M, Qiang YW, Rosol TJ, et al. The role of Dickkopf-1 in bone development, homeostasis, and disease. *Blood.* 2009; 113(3): 517-525. doi: 10.1182/blood-2008-03-145169
47. Balemans W, Hul WV. The genetics of low-density lipoprotein receptor-related protein 5 in bone: A story of extremes. *Endocrinology.* 2007; 148(6): 2622-2629. doi: 10.1210/en.2006-1352
48. Schulze J, Seitz S, Saito H, Schneebauer M, Marshall RP, Baranowsky A, et al. Negative regulation of bone formation by the transmembrane Wnt antagonist Kremen-2. *PLoS One.* 2010; 5(4): e10309. doi: 10.1371/journal.pone.0010309
49. Cao J, Wei Y, Lian J, Yang L, Zhang X, Xie J, et al. Notch signaling pathway promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells by enhancing BMP9/Smad signaling. *Int J Mol Med.* 2017; 40(2): 378-388. doi: 10.3892/ijmm.2017.3037
50. Lin GL, Hankenson KD. Integration of BMP, Wnt, and notch signaling pathways in osteoblast differentiation. *J Cell Biochem.* 2011; 112(12): 3491-3501. doi: 10.1002/jcb.23287
51. Baum R, Gravalles EM. Impact of inflammation on the osteoblast in rheumatic diseases. *Curr Osteoporos Rep.* 2014; 12(1): 9-16. doi: 10.1007/s11914-013-0183-y
52. Kureel J, John AA, Prakash R, Singh D. MiR 376c inhibits osteoblastogenesis by targeting Wnt3 and ARF-GEF-1-facilitated augmentation of beta-catenin transactivation. *J Cell Biochem.* 2018; 119(4): 3293-3303. doi: 10.1002/jcb.26490
53. Kang H, Hata A. The role of microRNAs in cell fate determination of mesenchymal stem cells: Balancing adipogenesis and osteogenesis. *BMB Rep.* 2015; 48(6): 319-323. doi: 10.5483/BMBRep.2015.48.6.206
54. Vimalraj S, Selvamurugan N. MicroRNAs: Synthesis, gene regulation and osteoblast differentiation. *Curr Issues Mol Biol.* 2013; 15: 7-18.
55. Peng S, Gao D, Gao C, Wei P, Niu M, Shuai C. MicroRNAs regulate signaling pathways in osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells (Review). *Mol Med Rep.* 2016; 14(1): 623-629. doi: 10.3892/mmr.2016.5335
56. Zhang L, Tang Y, Zhu X, Tu T, Sui L, Han Q, et al. Overexpression of MiR-335-5p promotes bone formation and regeneration in mice. *J Bone Miner Res.* 2017; 32(12): 2466-2475. doi: 10.1002/jbmr.3230
57. Lojk J, Marc J. Roles of non-canonical Wnt signalling pathways in bone biology. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(19): 10840. doi: 10.3390/ijms221910840
58. Butler MT, Wallingford JB. Planar cell polarity in development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2017; 18(6): 375-388. doi: 10.1038/nrm.2017.11
59. Gao B, Song H, Bishop K, Elliot G, Garrett L, English M, et al. Wnt signaling gradients establish planar cell polarity by inducing Vangl2 phosphorylation through Ror2. *Dev Cell.* 2011; 20(2): 163-176. doi: 10.1016/j.devcel.2011.01.001
60. Struhl G, Casal J, Lawrence PA. Dissecting the molecular bridges that mediate the function of Frizzled in planar cell polarity. *Development.* 2012; 139(19): 3665-3674. doi: 10.1242/dev.083550
61. Gao B. Wnt regulation of planar cell polarity (PCP). *Curr Top Dev Biol.* 2012; 101: 263-295. doi: 10.1016/B978-0-12-394592-1.00008-9
62. Wan Y, Lantz B, Cusack BJ, Szabo-Rogers HL. Prickle1 regulates differentiation of frontal bone osteoblasts. *Sci Rep.* 2018; 8(1): 18021. doi: 10.1038/s41598-018-36742-0
63. Qiu W, Chen L, Kassem M. Activation of non-canonical Wnt/JNK pathway by Wnt3a is associated with differentiation fate determination of human bone marrow stromal (mesenchymal) stem cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011; 413(1): 98-104. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.08.061

64. Hwang S-G, Yu S-S, Lee S-W, Chun J-S. Wnt-3a regulates chondrocyte differentiation via c-Jun/AP-1 pathway. *FEBS Lett.* 2005; 579(21): 4837-4842. doi: 10.1016/j.febslet.2005.07.067
65. Uehara S, Udagawa N, Mukai H, Ishihara A, Maeda K, Yamashita T, et al. Protein kinase N3 promotes bone resorption by osteoclasts in response to Wnt5a-Ror2 signaling. *Sci Signal.* 2017; 10(494): eaan0023. doi: 10.1126/scisignal.aan0023
66. Kovács B, Vajda E, Nagy EE. Regulatory effects and interactions of the Wnt and OPG-RANKL-RANK signaling at the bone-cartilage interface in osteoarthritis. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(18): 4653. doi: 10.3390/ijms20184653
67. Nam D, Mau E, Wang Y, Wright D, Silkstone D, Whetstone H, et al. T-lymphocytes enable osteoblast maturation via IL-17F during the early phase of fracture repair. *PLoS One.* 2012; 7(6): e40044. doi: 10.1371/journal.pone.0040044
68. Grassi F, Cattini L, Gambari L, Manferdini C, Piacentini A, Gabusi E, et al. T cell subsets differently regulate osteogenic differentiation of human mesenchymal stromal cells in vitro. *J Tissue Eng Regen Med.* 2016; 10(4): 305-314. doi: 10.1002/term.1727
69. Pacifici R. Osteoimmunology and its implications for transplantation. *Am J Transplant.* 2013; 13(9): 2245-2254. doi: 10.1111/ajt.12380
70. Ono T, Takayanagi H. Osteoimmunology in bone fracture healing. *Curr Osteoporos Rep.* 2017; 15(4): 367-375. doi: 10.1007/s11914-017-0381-0
71. Ono T, Okamoto K, Nakashima T, Nitta T, Hori S, Iwakura Y, et al. IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells enhance bone regeneration. *Nat Commun.* 2016; 7: 10928. doi: 10.1038/ncomms10928
72. Glenn JD, Whartenby KA. Mesenchymal stem cells: emerging mechanisms of immunomodulation and therapy. *World J Stem Cells.* 2014; 6(5): 526-539. doi: 10.4252/wjsc.v6.i5.526
73. Lei H, Schmidt-Bleek K, Dienelt A, Reinke P, Volk H-D. Regulatory T cell-mediated anti-inflammatory effects promote successful tissue repair in both indirect and direct manners. *Front Pharmacol.* 2015; 6: 184. doi: 10.3389/fphar.2015.00184
74. Reinke S, Geissler S, Taylor WR, Schmidt-Bleek K, Juelke K, Schwachmeyer V, et al. Terminally differentiated CD8+ T cells negatively affect bone regeneration in humans. *Sci Transl Med.* 2013; 5(177): 177ra36. doi: 10.1126/scitranslmed.3004754
75. Toben D, Schroeder I, El Khassawna T, Mehta M, Hoffmann J-E, Frisch J-T, et al. Fracture healing is accelerated in the absence of the adaptive immune system. *J Bone Miner Res.* 2011; 26(1): 113-124. doi: 10.1002/jbmr.185
76. Baht GS, Silkstone D, Vi L, Nadesan P, Amani Y, Whetstone H, et al. Erratum: Exposure to a youthful circulation rejuvenates bone repair through modulation of b-catenin. *Nat Commun.* 2015; 6: 7761. doi: 10.1038/ncomms8761
77. Sun G, Wang Y, Ti Y, Wang J, Zhao J, Qian H. Regulatory B cell is critical in bone union process through suppressing proinflammatory cytokines and stimulating Foxp3 in Treg cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2017; 44(4): 455-462. doi: 10.1111/1440-1681.12719
78. Takayanagi H. Osteoimmunology and the effects of the immune system on bone. *Nat Rev Rheumatol.* 2009; 5(12): 667-676. doi: 10.1038/nrrheum.2009.217
79. Könnecke I, Serra A, El Khassawna T, Schlundt C, Schell H, Hauser A, et al. T and B cells participate in bone repair by infiltrating the fracture callus in a two-wave fashion. *Bone.* 2014; 64: 155-165. doi: 10.1016/j.bone.2014.03.052
80. Yang S, Ding W, Feng D, Gong H, Zhu D, Chen B, et al. Loss of B cell regulatory function is associated with delayed healing in patients with tibia fracture. *APMIS.* 2015; 123(11): 975-985. doi: 10.1111/apm.12439

Сведения об авторах

Миromanov Александр Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: miromanov_a@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1432-1844>

Гусев Кирилл Аркадьевич – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: kirill.gusev.86@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3375-9956>

Старосельников Артём Николаевич – ассистент кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: dagger795@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4400-0750>

Миронова Ольга Борисовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: omironova4@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1684-6249>

Миронова Наталья Анатольевна – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой детских инфекций, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: detinf-chita@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2109-4643>

Information about the authors

Alexander M. Miromanov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Traumatology and Orthopedics, Chita State Medical Academy, e-mail: miromanov_a@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1432-1844>

Kirill A. Gusev – Cand. Sc. (Med.), Teaching Assistant at the Department of Traumatology and Orthopedics, Chita State Medical Academy, e-mail: kirill.gusev.86@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3375-9956>

Artem N. Staroselnikov – Teaching Assistant at the Department of Traumatology and Orthopedics, Chita State Medical Academy, e-mail: dagger795@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4400-0750>

Olga B. Mironova – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Traumatology and Orthopedics, Chita State Medical Academy, e-mail: omironova4@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1684-6249>

Natalya A. Miromanova – Dr. Sc. (Med.), Docent, Head of the Department of Children's Infections, Chita State Medical Academy, e-mail: detinf-chita@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2109-4643>