

УДК 611.081.4

## КЛЕТОЧНО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ ВОСПАЛЕНИЯ, АНГИОГЕНЕЗА И ОСТЕОГЕНЕЗА. КРАТКИЙ ОБЗОР

© 2020 г. К. А. Юрова<sup>1</sup>, О. Г. Хазиахматова<sup>1</sup>, В. В. Малашенко<sup>1</sup>, И. К. Норкин<sup>1</sup>, П. А. Иванов<sup>1</sup>, И. А. Хлусов<sup>1, 2, 3</sup>, Е. О. Шунькин<sup>1</sup>, Н. М. Тодосенко<sup>1</sup>, Е. С. Мелашенко<sup>1</sup>, Л. С. Литвинова<sup>1</sup>, \*

<sup>1</sup>Центр иммунологии и клеточных биотехнологий Балтийского федерального университета им. И. Канта, Калининград, 236041 Россия

<sup>2</sup>Кафедра морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета, Томск, 634050 Россия

<sup>3</sup>Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий Томского политехнического университета, Томск, 634050 Россия

\*E-mail: larisalitinova@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.02.2020 г.

После доработки 17.02.2020 г.

Принята к публикации 18.02.2020 г.

В обзоре обсуждается сложная, достаточно противоречивая кооперация иммунокомпетентных, костных и стволовых клеток в реализации процессов воспаления, ангиогенеза и остеогенеза. Представлено общее значение посттравматической гематомы и воспаления в репаративной регенерации костной ткани, связь воспаления и ангиогенеза при заживлении травм костной ткани, роль иммунных клеток (в основном, Т-лимфоцитов и макрофагов) и гуморальных факторов (преимущественно, цитокинов и хемокинов) в неоангиогенезе и регенерации костной ткани, которые во многом определяют успешный, отсроченный или неудачный исход костного ремоделирования.

**Ключевые слова:** костная ткань, микроциркуляторное русло, повреждение, гематома, иммунокомпетентные клетки, цитокины и хемокины, регенерация

DOI: 10.31857/S0041377120050090

Костная ткань, благодаря клеточному составу, обладает значительной способностью к регенерации (физиологической, репаративной) посредством сложной интеграции резидентных и мигрирующих клеток мезенхимного происхождения, факторов роста и внеклеточного матрикса. Это позволяет поддерживать костную ткань в рабочем состоянии при помощи двух процессов: моделирования и ремоделирования (Lieberman, Friedlaender, 2005; Wang, Yeung, 2017). В процессе моделирования новая кость формируется без предварительной фазы резорбции, тогда как в процессе ремоделирования формирование новой костной ткани следует за резорбцией старого костного матрикса (Merolli, Santin, 2009). Процесс моделирования кости наблюдается, в основном, в период активного роста организма и сопровождается изменением формы, размера и пропорций кости. В зрелом возрасте этот процесс позволяет адаптироваться к функциональным нагрузкам (Wang, Yeung, 2017). Примерно 25% губчатой кости и 3% кортикальной кости подвергаются физиологической регенерации каждый год (Wang, Yeung, 2017).

Физиологическое ремоделирование костной ткани протекает на основе динамического равновесия процессов остеогенеза (остеолизиса), что эффективно предотвращает переломы кости, за исключением экстремальной нагрузки (травмы), превышающей биомеханические свойства органа, или постепенно накапливающихся повреждений (усталостных переломов) при циклической нагрузке (Doblare et al., 2004; Wang, Yeung, 2017). В цикле физиологического ремоделирования кости Парфитт (Parfitt, 1988) выделяет следующие периоды: активация—резорбция—реверсия—формирование—покой.

Посттравматическое заживление кости (репаративная регенерация) является онтологическим повторением событий, происходящих во время эмбрионального развития скелета, что во многих случаях позволяет поврежденному органу полностью восстановить свой состав, структуру и функцию (Einhorn, Gerstenfeld, 2015; Wang, Yeung, 2017). При репаративной регенерации фазе ремоделирования кости предшествует период посттравматического воспаления (Kalfas, 2001; Gerstenfeld et al., 2003).

В месте травмы повреждаются кровеносные сосуды, что приводит к кровоизлиянию и формированию гематомы (Mizuno et al., 1990; Hoff et al., 2016),

**Принятые сокращения:** МЦР — микроциркуляторное русло; МСК — мезенхимные стволовые клетки; Трег — Т-регуляторные клетки.

клетки и биомолекулы которой играют важную роль в развитии и процессов воспаления, и последующей регенерации кровеносного русла и кости (Loi et al., 2016; Schell et al., 2017).

В отличие от репаративных процессов, протекающих в различных внутренних органах, которые завершаются, как правило, формированием рубца, воспаление и регенерация в кости приводит к образованию новой костной ткани (Hoff et al., 2016). В связи с этим в последние годы сформировалась новая концепция, получившая название “остеоиммунология” (Agron, Choi, 2000; Greenblatt, Shim, 2013), наблюдается возросшая публикационная активность в области исследования клеточно-молекулярных механизмов воспаления в костной ткани, в том числе индуцированных имплантируемыми биоматериалами (Murr, 2019; Humbert et al., 2019).

В настоящем обзоре рассмотрены основные аспекты взаимодействия иммунокомпетентных, костных и стволовых клеток в реализации процессов воспаления, ангиогенеза и остеогенеза.

#### ОБЩЕЕ ЗНАЧЕНИЕ ВОСПАЛЕНИЯ В РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

При переломе кости разрушается локальное микроциркуляторное русло (МЦР) в самой костной ткани, на эндостальной и периостальной поверхностях, в костном мозге и в окружающих мягких тканях. Это приводит к кровоизлиянию с образованием гематомы из-за каскадной активации тромбоцитов и ферментных систем свертывания крови (Loi et al., 2016). При переломе свернувшаяся кровь заполняет пространство между костными отломками и таким образом становится связанной с костным мозгом, эндостом, кортикальной костью, периостом и мышечной тканью. Как следствие, формируется уникальная среда, которая впоследствии играет важную роль в процессе регенерации кости (Schmidt-Bleek et al., 2015).

Начальная (острая) фаза воспаления при заживлении перелома характеризуется выходом из кровяного русла тромбоцитов, нейтрофилов, моноцитов, лимфоцитов, стволовых клеток в гематому, которая в условиях нарушения микроциркуляции является одним из главных источников провоспалительных цитокинов и хемокинов в месте повреждения (Kolar et al., 2010). При этом выраженность и длительность воспалительной реакции важна для процессов ангиогенеза и остеогенеза. Считается, что подавление воспалительной реакции имеет решающее значение для своевременного начала ангиогенеза (Schmidt-Bleek et al., 2014, 2015). С другой стороны, продолжительность воспалительного ответа играет важную роль для оптимального заживления переломов костей (Clark et al., 2017). Так, на животных показано, что длительное воспаление приводит к замедленному хондрогенезу

и меньшему размеру костной мозоли, формирующейся в месте перелома (Dishowitz et al., 2013).

Помимо клеток крови, миграция в поврежденный участок, пролиферация и дифференцировка мезенхимных стволовых клеток (МСК) также являются ключевыми событиями, которые совместно с реваскуляризацией и ремоделированием внеклеточного матрикса инициируют успешный регенеративный процесс (Schmidt-Bleek et al., 2015). При этом низкое локальное напряжение кислорода из-за разрушения микроциркуляторного русла определяет хондрогенную дифференцировку МСК, особенно в центрально расположенных областях травмы (Thompson et al., 2002; Gerstenfeld et al., 2003; Tsiridis et al., 2007; Claes et al., 2012; Loi et al., 2016).

МСК и их производные (остеобласты, хондробласты, фибробласты) также секретируют воспалительные цитокины, как в течение первых 3–7 сут после травмы, так и на последующих этапах заживления перелома (Kon et al., 2001; Loi et al., 2016). Например, интерлейкин-6 (IL-6) продуцируется МСК и остеобластами в ответ на секрецию макрофагами IL-1 и фактора некроза опухоли TNF- $\alpha$  (Mountziaris, Mikos, 2008). Секреция провоспалительных цитокинов костными клетками может объяснить, почему регенерация костей не всегда нарушается при отсутствии выраженной гематомы.

Имунокомпетентные клетки крови играют центральную роль в восстановлении костей. В то же время, исследования *in vivo* показали, что не все клетки воспаления абсолютно необходимы для восстановления тканей, и их отсутствие может даже ускорить регенерацию. Например, на системно-нейтропенических крысах, полученных путем инъекции антинейтрофильной овечьей сыворотки, показано улучшенное восстановление перелома по сравнению с крысами, которым вводили нормальную овечью сыворотку (Loi et al., 2016). Мыши, у которых отсутствуют Т- и В-клетки, продемонстрировали ускоренную минерализацию и ремоделирование бедренной кости при одновременном снижении экспрессии воспалительного TNF- $\alpha$  и усиленной экспрессии противовоспалительного IL-10 (Toben et al., 2011). Кроме того, нулевые мыши PU.1, у которых отсутствуют макрофаги и нейтрофилы, способны восстанавливать кожные раны, подобно мышам дикого типа (Martin et al., 2003; Loi et al., 2016).

После начальной провоспалительной катаболической фазы воспаления должны инициироваться последующие фазы заживления, связанные с анаболическими процессами (Fröhlich et al., 2008; Clark et al., 2017). При этом успешная санация очага повреждения и продукция репаративных цитокинов для устранения воспалительной среды и восстановления гомеостаза тканей (Serhan, Savill, 2005; Loi et al., 2016) способствуют (нео)ангиогенезу.

## СВЯЗЬ ВОСПАЛЕНИЯ И АНГИОГЕНЕЗА ПРИ ЗАЖИВЛЕНИИ ТРАВМ КОСТНОЙ ТКАНИ

Для достижения успешного сращения места перелома требуется своевременное начало, завершение и баланс воспаления и ангиогенеза. Согласно данным авторов, регенерация запускается уже через 60 ч после травмы кости (Schmidt-Bleek et al., 2015). Это может иметь значение для клинического лечения переломов. Во время хирургической операции часто удаляется гематома, а вместе с ней клетки и факторы, которые уже инициировали каскад регенераторных реакций. Даже если во время операции возникает повторная гематома, первоначальный потенциал заживления может быть снижен. Кроме того, процессы в новой гематоме находятся в десинхронозе по сравнению с окружающими тканями, баланс между клетками и сигналами нарушается (Schmidt-Bleek et al., 2015).

Тем не менее, при затяжном воспалительном процессе ангиогенные процессы задерживаются. Разные группы авторов (Lienau et al., 2009, 2010; Schmidt-Bleek et al., 2014) провели ряд исследований, в которых доказали, что в группе с индуцированным замедленным заживлением вследствие длительной воспалительной реакции экспрессия ангиогенных факторов в области повреждения значительно снижается.

Васкуляризация после травмы признана ключевым процессом для успешного заживления и регенерации. Например, реваскуляризация хряща сопровождается дифференцировкой остеопрогениторных клеток в остеобласты и отложением костной ткани на хрящевом зачатке (Gerstenfeld et al., 2003; Tsiroidis et al., 2007). Эта стадия заживления перелома приводит к образованию твердой костной мозоли (каллуса) (Marsell, Einhorn, 2011; Claes et al., 2012; Loi et al., 2016). Таким образом, твердый каллус развивается в результате энхондрального окостенения с повышенной минерализацией, обусловленной заменой погибающих хондроцитов на остеобласты (Clark et al., 2017). При этом формирование костной ткани зависит от снабжения кислородом, питательными веществами, сигнальными молекулами и клетками через МЦР (Dohle et al., 2014; Kuroda et al., 2014). Однако при травме кровеносные сосуды разрушены, и поступление питательных веществ в очаг повреждения значительно сокращается. Таким образом, аэробные процессы становятся неэффективными (Schmidt-Bleek et al., 2015) до восстановления кровотока.

Исторически исследования ангиогенеза были сосредоточены, преимущественно, на роли эндотелиальных клеток. Однако в случае эндотелиальных клеток и их предшественников низкое содержание кислорода, колебания рН и высокие концентрации электролитов в очаге повреждения считаются проблемными для выживания (Street et al., 2000). Следовательно, первым шагом к регенерации должно быть восстановление кровоснабжения. Иммунные клет-

ки, такие как макрофаги, способны быстро переходить в анаэробный гликолиз и активируются при повреждении (Gaber et al., 2009). Т-клетки также способны противостоять неблагоприятным условиям в гематоме. Поэтому иммунные клетки важны для инициирования и поддержки ангиогенеза (Schmidt-Bleek et al., 2015). Однако зависимостью этого процесса от иммунной системы часто пренебрегают (Schmidt-Bleek et al., 2015), несмотря на нарастающий массив публикаций об участии иммунных клеток и сигналов в инициации и регуляции процессов реваскуляризации тканей.

## РОЛЬ ФАКТОРОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В НЕОАНГИОГЕНЕЗЕ

Активность иммунокомпетентных клеток в очаге воспаления приводит к продукции широкого спектра про- и противовоспалительных цитокинов, которые модулируют ангиогенез (Schmidt-Bleek et al., 2015). Макрофаги в последние годы рассматриваются как ключевые регуляторы остеогенеза, ангиогенеза и ремоделирования кровеносных сосудов (Wang et al., 2018). Считается, что их эффекты опосредованы не менее чем 100 секреторными продуктами (Wang et al., 2018). Они включают фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1), фактор роста тромбоцитов (PDGF), трансформирующий фактор роста (TGF $\alpha/\beta$ ), основной фактор роста фибробластов (bFGF), фактор, индуцируемый гипоксией (HIF), цитокины IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , хемокин CXCL8 (IL-8), а также различные металлопротеиназы (Schmidt-Bleek et al., 2015; Tong et al., 2019).

Проангиогенная активность макрофагов, однако, в значительной степени зависит от того, активированы ли они, а также от их поляризации. Макрофаги имеют подтипы M1 и M2, которые соответствуют Th1- и Th2-иммунным реакциям соответственно. Макрофагам M1, индуцированным классическими сигналами активации, такими как IFN $\gamma$ , липополисахарид (LPS) и TNF $\alpha$ , обычно приписывают провоспалительные эффекты, которые связаны с острой фазой воспаления. Макрофаги M2, индуцированные альтернативными сигналами активации (IL-4, IL-10 и IL-13), в основном, считаются противовоспалительными и связаны с хронической фазой воспаления (Sica, Mantovani, 2012).

Традиционно макрофаги M2 связывают в основном с ангиогенезом и ремоделированием сосудов (Mantovani et al., 2002). Ремоделирование сосудов и васкулогенез зависят от экспансии резидентных макрофагов M2, а также от их селективного рекрутирования (Takeda et al., 2011; Awojoodu et al., 2013). Кроме того, было предложено разделить макрофаги M2 еще на подклассы с различной проангиогенной активностью (Mantovani et al., 2004). Макрофаги могут быть поляризованы по отношению к M2a (при воздействии IL-4 и IL-13) или M2b при воздействии иммунных комплексов и агонистов толл-подобных

рецепторов TLR/IL-1R (Mantovani et al., 2004). Данные макрофаги традиционно менее связаны с ангиогенезом, поскольку они способствуют ответам II типа и иммунорегуляции.

Считается, что макрофаги M2c, индуцированные IL-10, играют более заметную роль в ангиогенезе, поскольку они вызывают иммуносупрессию, способствуют отложению межклеточного матрикса и ремоделированию ткани (Mantovani et al., 2004). Тем не менее, в недавней работе Шпиллера с коллегами (Spiller et al., 2014) предполагается, что макрофаги M1, M2a и M2c могут играть важную, но различную роль в развитии ангиогенеза. Было показано, что макрофаги M1 являются мощными источниками ангиогенных факторов, включая фактор роста эндотелия сосудов VEGF, в то время как макрофаги M2a продуцируют высокие уровни тромбоцитарного фактора роста PDGF-BB, который рекрутирует перититы для стабилизации сосудов. Макрофаги M2c секретируют высокие уровни матриксной металлопротеиназы 9, связанной с ремоделированием МЦР (Schmidt-Bleek et al., 2015).

Важным аспектом ремоделирования кровеносного русла и костной ткани представляется активное взаимодействие субпопуляций макрофагов с МСК (Иванюк и др., 2018), как предшественников остеобластов и, возможно, мультитипотентных эндотелий-подобных клеток, экспрессирующих маркеры МСК CD105, CD73 и CD90 (Picón-Ruiz et al., 2014).

Другие иммунные клетки, такие как дендритные клетки, тучные клетки, нейтрофилы, Т-клетки и природные клетки-киллеры, также могут играть важную роль в регуляции ангиогенеза и ремоделировании сосудов (Schmidt-Bleek et al., 2015).

Обычные дендритные клетки секретируют высокие уровни VEGF и низкие уровни FGF2 (фактора роста фибробластов-2), когда они альтернативно активируются в присутствии противовоспалительных молекул (кальцитрол, простагландин E<sub>2</sub>) (Sozzani et al., 2007). Тучные клетки являются мощными источниками проангиогенных молекул, в том числе факторов роста сосудов VEGF, тромбоцитов PDGF, фибробластов (bFGF), а также хемоаттрактанта моноцитов белка 1 (MCP-1, известного еще как CCL2) и колониестимулирующего фактора гранулоцитов-макрофагов (GM-CSF) (Meisner, Price, 2010).

Проникновение нейтрофилов в ишемическую зону способствует экспрессии металлопротеиназы 9 (Justicia et al., 2003), которая усиливает эффекты VEGF-индуцированного ангиогенеза (Hao et al., 2007). Эти клетки секретируют VEGF в ишемической ткани при стимуляции такими факторами, как гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF) (Ohki et al., 2005). Кроме того, секретируя воспалительные и хемотаксические медиаторы (такие, как IL-6 и CCL2 (MCP-1)), нейтрофилы рекрутируют вторую волну эмиграции воспалительных клеток в место перелома, а именно моноцитов (мак-

рофагов) (Hurst et al., 2001; Xing et al., 2010) и лимфоцитов.

Т-клетки играют важную роль в восстановлении ишемизированных участков ткани. При этом некоторые авторы (Yuan et al., 2019) считают, что CD8<sup>+</sup>-Т-клетки могут быть главными “дирижерами” процессов воспаления, ангиогенеза и остеогенеза, поскольку инфильтрируют очаг повреждения до миграции моноцитов (макрофагов). VEGF-опосредованную неоваскуляризацию инициируют, главным образом, CD4<sup>+</sup>-Т-клетки (Stabile et al., 2003), тогда как CD8<sup>+</sup>-Т-клетки индуцируют рекрутирование CD4<sup>+</sup>-Т-клеток с помощью IL-16 (Stabile et al., 2006). Было показано, что VEGF индуцирует *in vitro* Th1-поляризацию Т-клеток (Mor et al., 2004). Стоит также отметить, что Т-клетки играют важную роль в поляризации моноцитов в проангиогенный фенотип посредством межклеточного контакта и паракринных механизмов передачи сигналов (van Veem et al., 2008; Hellingman et al., 2011).

#### УЧАСТИЕ ИММУННЫХ КЛЕТОК И ГУМОРАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ В РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

Выше было отмечено, что исходная гематома в зоне перелома (Park et al., 2002; Kolar et al., 2010) и последующая острая воспалительная реакция (Gerstenfeld et al., 2003; Yang et al., 2007; Glass et al., 2011) имеют решающее значение для костной регенерации. В целом, провоспалительная реакция после травмы (Opal, 2000) является важным триггером процесса заживления переломов костей. Выраженный или длительный воспалительный процесс (вследствие дисбаланса противовоспалительной фазы) отрицательно влияет на костное ремоделирование (Lienau et al., 2009; Schmidt-Bleek et al., 2009).

Помимо мигрирующих из крови моноцитов, недавно была описана популяция специфических для костей резидентных макрофагов (osteomacs), которые находятся в пери- и эндосте и участвуют в регуляции заживления переломов (Pettit et al., 2008; Alexander et al., 2011; Raggatt et al., 2014; Loi et al., 2016).

Макрофаги удаляют временный фибриновый матрикс и некротизированные клетки посредством фагоцитоза. Макрофаги секретируют спектр медиаторов воспаления и хемотаксиса, таких как TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 и CCL2. Их экспрессия достигает пика в течение первых 24 ч, а затем быстро снижается до следовых уровней в течение 3-х сут после повреждения (Kon et al., 2001; Cho et al., 2002). Эволюционно провоспалительные цитокины, включая TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-11 и IL-17, способствуют резорбции кости за счет усиления дифференцировки и активности остеокластов и (или) ингибирования дифференцировки остеобластов (Loi et al., 2016), поскольку остеокластогенез стимулируется для удаления минерализо-

ванного хряща при росте костей путем энхондрального окостенения (Ai-Aql et al., 2008).

TNF- $\alpha$  и IL-1 синергично активируют остеокластогенез прямо и опосредованно, через стимуляцию экспрессии RANKL (который является лигандом рецептора-активатор ядерного фактора каппа-В (NF- $\kappa$ B) и ключевым фактором дифференцировки остеокластов) и подавление экспрессии (секреции) остеопротегерина (OPG) остеобластами и фибробластами. Кроме того, TNF- $\alpha$  привлекает остеокласты, вызывая апоптоз остеоцитов (Tan et al., 2006). Фактор TNF- $\alpha$  индуцирует апоптоз хондроцитов во время энхондрального окостенения. Отсутствие цитокина задерживает резорбцию минерализованного хряща и, следовательно, тормозит образование новой кости (Ai-Aql et al., 2008). В связи с этим, в зависимости от концентрации, типа клеток и времени воздействия, TNF- $\alpha$  может или подавлять или способствовать остеогенезу (Osta et al., 2014).

Интерлейкин IL-1 стимулирует выработку IL-6 остеобластами и участвует в заживлении переломов, способствуя образованию первичной хрящевой костной мозоли и ангиогенезу в поврежденном участке (Kon et al., 2001). Контролируемая экспрессия IL-6, которая способствует продукции факторов ангиогенеза, в частности VEGF, и дифференцировке остеобластов и остеокластов, является критической для нормальной регенерации кости (Yang et al., 2007; Mountziaris et al., 2011; Osta et al., 2014). Интерлейкин IL-6 необходим для ранних стадий заживления переломов; отсутствие IL-6 задерживает минерализацию и ремоделирование костной мозоли (Yang et al., 2007; Mountziaris, Mikos, 2008). С другой стороны, аберрантно повышенные уровни IL-6 в сыворотке крови после перелома кости коррелируют с уменьшением функции нижней конечности у пациентов (Miller et al., 2006).

Цитокины TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 и CCL2 запускают системную реакцию организма на повреждение, усиливают миграцию иммунокомпетентных клеток из крови в очаг повреждения, инициируют миграцию воспалительных клеток, фибробластов, МСК и остеопрогениторных клеток из их локальных ниш (Kon et al., 2001; Bielby et al., 2007; Wu et al., 2013), в том числе из костного мозга, надкостницы и капиллярных стенок (перицитов). Они стимулируют неоваскуляризацию и опосредуют ремоделирование кости (Porter et al., 2009; Mountziaris et al., 2011; Hoch et al., 2012). Активность макрофагов регулируется при стимуляции Т-клеток, которые экспрессируют и секретируют хемокин RANTES (С-С мотив, лиганд 5, известный также как CCL5в), экспрессируемый и секретируемый Т-клетками при активации (Kon et al., 2001; Anton et al., 2012).

Помимо провоспалительных цитокинов и хемокинов, члены семейства трансформирующего фактора TGF- $\beta$ , в частности TGF- $\beta$ 1, - $\beta$ 2, - $\beta$ 3 и костные морфогенетические белки (BMPs), а также сосуди-

стый фактор VEGF, тромбоцитарный фактор PDGF) и фактор роста фибробластов FGF-2, являются ключевыми медиаторами в регуляции ремоделирования костной ткани (Gerstenfeld et al., 2003; Tsiroidis et al., 2007). В результате их секреции начальный период образования гематомы и последующей острой воспалительной реакции в течение от нескольких суток до 1 нед. и после перелома сменяется формированием грануляционной ткани, богатой пролиферирующими МСК и вновь образованными капиллярами, встроенными в формируемый коллагеновый матрикс (Schindeler et al., 2008; Harwood et al., 2010; Marsell et al., 2011; Claes et al., 2012; Loi et al., 2016).

Об основе синергетического взаимодействия между костными и иммунными клетками до сих пор известно мало (Lorenzo et al., 2011; Schmidt-Bleek et al., 2015), и она активно изучается. Тем не менее, тесная взаимосвязь между иммунной и скелетной системами была впервые подчеркнута открытием, что RANKL, который усиливает рост Т-клеток, активирует функцию дендритных клеток и является одновременно фактором дифференцировки остеокластов (ODF).

RANKL (или TNFSF11 – член суперсемейства лигандов фактора некроза опухоли II) и остеопротегерин – это гликопротеины суперсемейства рецепторов фактора TNF $\alpha$ , продуцируемые клетками остеобластической линии и активированными Т-лимфоцитами. Остеопротегерин был выделен двумя независимыми лабораториями и обозначался как фактор, ингибирующий остеокластогенез (OCIF). Вскоре был открыт его родственный лиганд (OPG-L), а также ODF (Аганов и др., 2014).

RANKL – это цитокин клеточной поверхности суперсемейства TNF, который обычно экспрессируется остеобластами и остеоцитами и активированными лимфоцитами (Takayanagi, 2005; Arboleya, Castañeda, 2013). Экспрессия RANKL стимулируется остеокластогенными факторами, включая 1,25-дигидроксивитамин D<sub>3</sub>, паратиреоидный гормон (ПТГ), простагландин E<sub>2</sub> и провоспалительные цитокины TNF- $\alpha$ , IL-1 и IL-6 (Takayanagi, 2007).

RANKL связывается с RANK, присутствующим на предшественниках остеокластов и дендритных клетках (Loi et al., 2016). RANK-активация способствует выживанию остеокластов и индуцирует созревание и активацию посредством TRAF2, 5 и 6 (факторов, ассоциированных с рецептором к TNF), которые передают сигналы для активации путей NF- $\kappa$ B и c-Jun N-терминальной киназы JNK (Arboleya, Castañeda, 2013). Передача сигналов RANKL индуцирует экспрессию ядерного фактора активированных Т-лимфоцитов 1 (NFATc1), главного регулятора дифференцировки и активации остеокластов (Takayanagi, 2009; Arboleya, Castañeda, 2013). Остеопротегерин (OPG), растворимый рецептор-ловушка, продуцируемый В-клетками, дендритными клетками, МСК и остеобластами, может блокировать эти эффекты по-

средством конкурентного связывания с RANKL (Khosla, 2001), тем самым предотвращает активацию RANK. Следовательно, нарушается остеокластогенез, начинают преобладать процессы минерализации и оссификации. Дисбаланс системы RANKL/RANK/OPG приводит к серьезным нарушениям процессов ремоделирования костной ткани (Дзгоева и др., 2017). Таким образом, отношение RANKL/OPG является важным фактором, определяющим активность остеокластов (Criscitiello et al., 2015).

Интерферон IFN- $\gamma$ , секретируемый макрофагами и активированными Т-клетками, может ингибировать остеокластогенез через последующую быструю деградацию TRAF6 (фактора 6, ассоциированного с рецептором фактора TNF- $\alpha$ ) (Schmidt-Bleek et al., 2015). Напротив, некоторые авторы (Cornish et al., 2003; Lorenzo et al., 2008) считают провоспалительный IFN- $\gamma$  и провоспалительный IL-1 ингибиторами генеза и дифференцировки остеобластов. Таким образом, благодаря секреции TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 и IFN- $\gamma$  макрофаги модулируют (стимулируют или подавляют) активность остеокластов (Schmidt-Bleek et al., 2015).

С другой стороны, растет число публикаций об анаболическом влиянии макрофагов на остеогенез. Моноциты и макрофаги поддерживают дифференцировку и пролиферацию остеобластов посредством высвобождения морфогенетических белков BMP-2, BMP-4 и трансформирующего фактора роста TGF- $\beta$ 1 (Champagne et al., 2002; Blom et al., 2004). Макрофаги *osteomacs* образуют структуру купола над остеобластами на диафизарных поверхностях эндоста у молодых растущих мышей; истощение этих макрофагов у трансгенных мышей, вызванное быстрым апоптозом, полностью подавляет моделирование кости (Chang et al., 2008). На модели перелома большеберцовой кости показано, что истощение макрофагов приводит к уменьшенному образованию костной мозоли, отложению кости и большему количеству фиброзной ткани (Vi et al., 2015). Макрофаги M1 способствуют заживлению и минерализации костного дефекта за счет продукции онкостатина M (Nicolaidou et al., 2012; Guihard et al., 2015). M2-подобные макрофаги мыши, стимулируемые  $\beta$ -трикальцийфосфатом, также активируют остеогенную дифференцировку МСК, что усиливает минерализацию костной ткани (Chen et al., 2014; Loi et al., 2016).

На остеокластогенез положительно влияют активированные Т-клетки, экспрессирующие RANKL. Th17-клетки способствуют развитию остеокластов посредством экспрессии IL-17 (Takayanagi et al., 2007). В то же время цитокины, экспрессируемые Т-клетками, также могут влиять на RANKL, препятствуя остеокластогенезу. Это относится, например, к IFN- $\gamma$  — цитокину, преимущественно экспрессируемому клетками Th1, а также к IL-4 — типичному цитокину Th2-дифференцировки (Schmidt-Bleek et al., 2015).

Противовоспалительные интерлейкины IL-4 и IL-13 усиливают ответ M2/Th2-клеток, тем самым способствуя иммунному ответу, вызванному повреждением ткани под регуляторным, а не провоспалительным фенотипом M1/Th1. Применение интерлейкинов IL-4 и IL-13 во время начальной фазы заживления кости может улучшить формирование кости (Schlundt et al., 2018; Wendler et al., 2019).

Недавно было показано, что субпопуляции иммунокомпетентных клеток способны негативно влиять на формирование кости. CD8<sup>+</sup>-Т-клетки эффорной памяти являются продуцентами TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$ , провоспалительных цитокинов, которые, по мнению некоторых авторов (Reinke et al., 2013), сдерживают остеогенную дифференцировку МСК. Согласно данным других авторов, остеобластическая пролиферация происходит при заживлении кости на ранней стадии, если присутствуют провоспалительные цитокины TNF $\alpha$  и IL-1 в высоких концентрациях (Gerstenfeld et al., 2003; Watanabe et al., 2009).

Т-регуляторные клетки (Трег) также участвуют в регенерации тканей, модулируя воспаление, контролируя как врожденный, так и адаптивный иммунный ответ. Они могут оказывать ингибирующий эффект посредством межклеточных взаимодействий или экспрессии противовоспалительных цитокинов TGF- $\beta$  (трансформирующий фактор роста  $\beta$ ), IL-4 и IL-10 (Zaiss et al., 2007; Schmidt-Bleek et al., 2015). В начале фазы воспаления Трег способны нейтрализовать секрецию воспалительных цитокинов (например, IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ ) путем опосредованного IL-10 ингибирования инвазии нейтрофилов в ткани. Кроме того, клетки Трег стимулируют апоптоз нейтрофилов и их фагоцитоз макрофагами. Одновременно Трег ингибируют активность и выживание моноцитов, стимулируют поляризацию макрофагов в направлении их противовоспалительного фенотипа M2 через высвобождение противовоспалительных цитокинов IL-4, IL-10 и IL-13. Далее, Трег обладают естественной способностью подавлять опосредованное CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-Т-клеточное воспаление (посредством IL-10, TGF- $\beta$  и IL-35). Таким образом, Трег-опосредованные механизмы приводят к ингибированию нейтрофилов, воспалительных макрофагов, а также CD4 и CD8 Т-клеток, что способствует инициации фазы регенерации тканей (Li et al., 2018).

В то время как CD3<sup>+</sup>-Т-клетки поддерживают дифференцировку моноцитов периферической крови в остеокласты *in vitro*, Трег ингибируют этот процесс посредством паракринной передачи сигналов TGF- $\beta$  и IL-4 (Kim et al., 2007). Кроме того, количество Трег в периферической крови отрицательно коррелирует с сывороточным маркером остеокластогенеза у нормальных людей и пациентов с ревматоидным артритом. Трег может непосредственно способствовать дифференцировке остеобластов из клеток-предшественников или МСК путем ингиби-

рования CD4<sup>+</sup>-Т-клеток, которые секретируют IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  (Liu et al., 2011; Liu et al., 2015; Li et al., 2018). Интересно, что МСК может индуцировать Трег из наивных Т-клеток и стимулировать пролиферацию Трег через гемоксигеназу 1 (НО-1) – фермент, катализирующий деградацию гема (Mougiakos et al., 2011).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая все приведенные данные, можно заключить, что уже с момента повреждения костной ткани включается сложная каскадная, достаточно противоречивая, кооперация иммунокомпетентных, костных и стволовых клеток в реализации процессов воспаления, ангиогенеза и репаративного остеогенеза. Посттравматическая гематома и состояние микроциркуляторного русла являются критическими детерминантами для оптимального протекания фаз воспалительного процесса, локальной васкуляризации и костного ремоделирования, требующих своевременной смены популяций иммунокомпетентных клеток, хоминга МСК, доставки кислорода, регуляторных молекул и питательных веществ, во многом определяющих успешный, отсроченный или неудачный исход регенерации кости.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда: Соглашение № 18-75-00071 (подготовка 2-ого и 3-его разделов обзора: связь воспаления и ангиогенеза, факторы иммунной системы в неопангенезе); Соглашение № 16-15-10031, а также государственной поддержке ведущих научных школ Российской Федерации НШ-2495.2020.7.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Экспериментов с участием животных или людей авторы не проводили.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аганов Д.С., Тыренко В.В., Цыган Е.Н., Топорков М.М., Бологов С.Г. 2014. Роль цитокиновой системы RANKL/RANK/OPG в регуляции минерального обмена костной ткани. *Гены и Клетки*. Т. 9. № 4. С. 50. (Aganov D.S., Tyrenko V.V., Tsygan E.N., Toporkov M.M., Bologov S.G. 2014. The role of cytokine system RANKL/RANK/OPG in the regulation of bone metabolism. *Genes and cells*. V. 9. P. 50.)
- Дзгоева Ф.У., Сопоев М.Ю., Саламова Э.Э., Тедеты И.В., Кцоева С.А., Короев Т.З., Брциева З.С., Хутиева Л.М. 2017. Остеопротегерин и RANKL: роль в развитии сердечно-сосудистых осложнений у больных с терминальной стадией почечной недостаточности, получающих гемодиализ. *Нефрология*. Т. 21. № 5. С. 28. (Dzgoeva F.U., Sopoiev M.Yu., Salamatova E.E., Tedety I.V., Ktsioeva S.A., Koroev T.Z., Brtsieva Z.S., Hutieva L.M. 2017. Osteoprotegerin and RANKL: a role in the development of cardiovascular complications in patients with terminal stage of renal failure receiving hemodialysis. *Nephrology*. V. 21. P. 28.)
- Иванюк Е.Э., Надеждин С.В., Покровская Л.А., Шуплецова В.В., Хазиахматова О.Г., Юрова К.А., Малащенко В.В., Литвинова Л.С., Хлусов И.А. 2018. Субпопуляции макрофагов и мезенхимные стволовые клетки в регуляции ремоделирования костной ткани. *Цитология*. Т. 60. № 4. С. 252. (Ivanyuk E.E., Nadezhdin S.V., Pokrovskaya L.A., Shupletsova V.V., Khaziakhmatova O.G., Yurova K.A., Malashchenko V.V., Litvinova L.S., Khlusov I.A. 2018. Macrophage subsets and mesenchymal stem cells in regulation of bone tissue remodeling. *Cell and Tissue Biology*. V. 60. P. 252.)
- Ai-Aql Z.S., Alagl A.S., Graves D.T., Gerstenfeld L.C., Einhorn T.A. 2008. Molecular mechanisms controlling bone formation during fracture healing and distraction osteogenesis. *J. Dent. Res*. V. 87. P. 107.
- Alexander K.A., Chang M.K., Maylin E.R., Kohler T., Muller R., Wu A.C., Van Rooijen N., Sweet M.J., Hume D.A., Raggatt L.J., Pettit A.R. 2011. Osteal macrophages promote in vivo intramembranous bone healing in a mouse tibial injury model. *J. Bone Miner. Res*. V. 26. P. 1517.
- Anton K., Banerjee D., Glod J. 2012. Macrophage-associated mesenchymal stem cells assume an activated, migratory, pro-inflammatory phenotype with increased IL-6 and CXCL10 secretion. *PLoS One*. V. 7. e35036. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035036>
- Arbolea L., Castañeda S. 2013. Osteoimmunology: The study of the relationship between the immune system and bone tissue. *Reumatol. Clin*. V. 9. P. 303.
- Arron J.R., Choi Y. 2000. Bone versus immune system. *Nature*. V. 408. P. 535.
- Awojoodu A.O., Ogle M.E., Sefcik L.S., Bowers D.T., Martin K., Brayman K.L., Lynch K.R., Peirce-Cottler S.M., and Botchwey E. 2013. Sphingosine 1-phosphate receptor 3 regulates recruitment of anti-inflammatory monocytes to microvessels during implant arteriogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 110. P. 13785.
- Bielby R., Jones E., McGonagle D. 2007. The role of mesenchymal stem cells in maintenance and repair of bone. *Injury*. V. 38. (Suppl 1). P. S26.
- Blom A.B., van Lent P.L., Holthuysen A.E., van der Kraan P.M., Roth J., van Rooijen N., van den Berg W.B. 2004. Synovial lining macrophages mediate osteophyte formation during experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. V. 12. P. 627.
- Champagne C.M., Takebe J., Offenbacher S., Cooper L.F. 2002. Macrophage cell lines produce osteoinductive signals that include bone morphogenetic protein-2. *Bone*. V. 30. P. 26.
- Chang M.K., Raggatt L.J., Alexander K.A., Kuliwaba J.S., Fazlali N.L., Schroder K., Maylin E.R., Ripoll V.M., Hume D.A., Pettit A.R. 2008. Osteal tissue macrophages are intercalated throughout human and mouse bone lining tissues and regulate osteoblast function in vitro and in vivo. *J. Immunol*. V. 181. P. 1232.

- Chen Z., Wu C., Gu W., Klein T., Crawford R., Xiao Y. 2014. Osteogenic differentiation of bone marrow MSCs by beta-tricalcium phosphate stimulating macrophages via BMP2 signalling pathway. *Biomaterials*. V. 35. P. 1507.
- Cho T.J., Gerstenfeld L.C., Einhorn T.A. 2002. Differential temporal expression of members of the transforming growth factor beta superfamily during murine fracture healing. *J. Bone Miner. Res.* V. 17. P. 513.
- Claes L., Recknagel S., Ignatius A. 2012. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. *Nat. Rev. Rheumatol.* V. 8. P. 133.
- Clark D., Nakamura M., Miclau T., Marcucio R. 2017. Effects of Aging on Fracture Healing. *Curr. Osteoporos Rep.* V. 15. P. 601.
- Cornish J., Gillespie M.T., Callon K.E., Horwood N.J., Moseley J.M., and Reid I.R. 2003. Interleukin-18 is a novel mitogen of osteogenic and chondrogenic cells. *Endocrinology*. V. 144. P. 1194.
- Dishowitz M.I., Mutyaba P.L., Takacs J.D., Barr A.M., Engiles J.B., Ahn J., Hankenson K.D. 2013. Systemic inhibition of canonical notch signaling results in sustained callus inflammation and alters multiple phases of fracture healing. *PLoS One*. V. 8. e68726. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068726>
- Doblaré M., García J.M., Gómez M.J. 2004. Modelling bone tissue fracture and healing: a review. *Eng. Fract. Mech.* V. 71. P. 1809.
- Dohle E., Bischoff I., Bose T., Marsano A., Banfi A., Unger R.E., Kirkpatrick C.J. 2014. Macrophage-mediated angiogenic activation of outgrowth endothelial cells in co-culture with primary osteoblasts. *Eur. Cell. Mater.* V. 27. P. 149.
- Einhorn T.A., Gerstenfeld L.C. 2015. Fracture healing: mechanisms and interventions. *Nat. Rev. Rheumatol.* V. 11. P. 45.
- Fröhlich M., Grayson W.L., Wan L.Q., Marolt D., Drobnic M., Vunjak-Novakovic G. 2008. Tissue engineered bone grafts: biological requirements, tissue culture and clinical relevance. *Curr. Stem Cell Res. Ther.* V. 3. P. 254.
- Gaber T., Haupl T., Sandig G., Tykwinska K., Fangradt M., Tschirschmann M., Hahne M., Dziurla R., Ereku K., Lautenbach M., Kolar P., Burmester G.R., Buttgerit F. 2009. Adaptation of human CD4+ T cells to pathophysiological hypoxia: a transcriptome analysis. *J. Rheumatol.* V. 36. P. 2655.
- Gerstenfeld L.C., Cullinane D.M., Barnes G.L., Graves D.T., Einhorn T.A. 2003. Fracture healing as a post-natal developmental process: molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation. *J. Cell. Biochem.* V. 88. P. 873.
- Glass G.E., Chan J.K., Freidin A., Feldmann M., Horwood N.J., Nanchahal J. 2011. TNF-alpha promotes fracture repair by augmenting the recruitment and differentiation of muscle-derived stromal cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 108. P. 1585.
- Greenblatt M.B., Shim J.H. 2013. Osteoimmunology: a brief introduction. *Immune Netw.* V. 13. P. 111.
- Guihard P., Boutet M.A., Brounais-Le Royer B., Gamblin A.L., Amiaud J., Renaud A., Berreux M., Redini F., Heymann D., Layrolle P., Blanchard F. 2015. Oncostatin m, an inflammatory cytokine produced by macrophages, supports intramembranous bone healing in a mouse model of tibia injury. *Am. J. Pathol.* V. 185. P. 765.
- Hao Q., Chen Y., Zhu Y., Fan Y., Palmer D., Su H., Young W.L., Yang G.Y. 2007. Neutrophil depletion decreases VEGF-induced focal angiogenesis in the mature mouse brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* V. 27. P. 1853.
- Harwood P.J., Newman J.B., Michael A.L.R. 2010. An update on fracture healing and non-union. *J. Orthop. Trauma*. V. 24. P. 9.
- Hellingman A.A., Zwaginga J.J., van Beem R.T., Hamming J.F., Fibbe W.E., Quax P.H., Geutskens S.B. 2011. T-cell-prestimulated monocytes promote neovascularisation in a murine hind limb ischaemia model. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* V. 41. P. 418.
- Hoch A.I., Binder B.Y., Genetos D.C., Leach J.K. 2012. Differentiation-dependent secretion of proangiogenic factors by mesenchymal stem cells. *PLoS One*. V. 7. e35579. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035579>
- Hoff P., Gaber T., Strehl C., Schmidt-Bleek K., Lang A., Huscher D., Burmester G.R., Schmidmaier G., Perka C., Duda G., Buttgerit F. 2016. Immunological characterization of the early human fracture hematoma. *Immunol. Res.* V. 64. P. 1195.
- Humbert P., Brennan M.Á., Davison N., Rosset P., Trichet V., Blanchard F., Layrolle P. 2019. Immune modulation by transplanted calcium phosphate biomaterials and human mesenchymal stromal cells in bone regeneration. *Front. Immunol.* V. 10. P. 663.
- Hurst S.M., Wilkinson T.S., McLoughlin R.M., Jones S., Horiuchi S., Yamamoto N., Rose-John S., Fuller G.M., Topley N., Jones S.A. 2001. Il-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation. *Immunity*. V. 14. P. 705.
- Justicia C., Panes J., Sole S., Cervera A., Deulofeu R., Chamorro A., Planas A.M. 2003. Neutrophil infiltration increases matrix metalloproteinase-9 in the ischemic brain after occlusion/reperfusion of the middle cerebral artery in rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* V. 23. P. 1430.
- Kalfas I.H. 2001. Principles of bone healing. *Neurosurg. Focus*. V. 10. P. 7.
- Khosla S. 2001. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinol.* V. 142. P. 5050.
- Kim Y.G., Lee C.K., Nah S.S., Mun S.H., Yoo B., Moon H.B. 2007. Human CD4 + CD25 + regulatory T cells inhibit the differentiation of osteoclasts from peripheral blood mononuclear cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* V. 357. № 4. P. 1046.
- Kolar P., Schmidt-Bleek K., Schell H., Gaber T., Toben D., Schmidmaier G., Perka C., Buttgerit F., Duda G.N. 2010. The early fracture hematoma and its potential role in fracture healing. *Tiss. Eng. Part B Rev.* V. 16. P. 427.
- Kon T., Cho T.J., Aizawa T., Yamazaki M., Nooh N., Graves D., Gerstenfeld L.C., Einhorn T.A. 2001. Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF-kappaB ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. *J. Bone Miner. Res.* V. 16. P. 1004.
- Kuroda R., Matsumoto T., Kawakami Y., Fukui T., Mifune Y., Kurosaka M. 2014. Clinical impact of circulating CD34-positive cells on bone regeneration and healing. *Tissue Eng. Part B Rev.* V. 20. P. 190.
- Li J., Tan J., Martino M.M., Lui K.O. 2018. Regulatory T-Cells: potential regulator of tissue repair and regeneration. *Front. Immunol.* V. 9. P. 585.
- Lieberman J.R., Friedlaender G.E. 2005. Bone regeneration and repair: biology and clinical application. Totowa, NJ: Humana Press. 450 p.

- Lienau J., Schmidt-Bleek K., Peters A., Haschke F., Duda G.N., Perka C., Bail H.J., Schutze N., Jakob F., Schell H. 2009. Differential regulation of blood vessel formation between standard and delayed bone healing. *J. Orthop. Res.* V. 27. P. 1133.
- Lienau J., Schmidt-Bleek K., Peters A., Weber H., Bail H.J., Duda G.N., Perka C., Schell H. 2010. Insight into the molecular pathophysiology of delayed bone healing in a sheep model. *Tissue Eng. Part A.* V. 16. P. 191.
- Liu Y., Wang L., Kikui T., Akiyama K., Chen C., Xu X. et al. 2011. Mesenchymal stem cell-based tissue regeneration is governed by recipient T lymphocytes via IFN-gamma and TNF-alpha. *Nat. Med.* V. 17. P. 1594.
- Liu Y., Yang R., Shi S. 2013. Systemic infusion of mesenchymal stem cells improves cell-based bone regeneration via upregulation of regulatory T cells. *Tissue Eng. Part A.* V. 21. 3–4. P. 498–509.
- Loi F., Córdova L.A., Pajarinen J., Lin T.H., Yao Z., Goodman S.B. 2016. Inflammation, fracture and bone repair. *Bone.* V. 86. P. 119.
- Lorenzo J., Choi Y., Horowitz M., Takayanagi H. 2011. Osteoimmunology. First Edition. London: Elsevier. 470 p.
- Lorenzo J., Horowitz M., and Choi Y. 2008. Osteoimmunology: interactions of the bone and immune system. *Endocr Rev.* V. 29. P. 403. Mantovani A., Sica A., Sozzani S., Allavena P., Vecchi A., Locati M. 2004. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol.* V. 25. P. 677.
- Mantovani A., Sozzani S., Locati M., Allavena P., Sica A. 2002. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol.* V. 23. P. 549.
- Marsell R., Einhorn T.A. 2011. The biology of fracture healing. *Injury.* V. 42. P. 551.
- Martin P., D'Souza D., Martin J., Grose R., Cooper L., Maki R., Mc Kercher S.R. 2003. Wound healing in the PU. 1 null mouse—tissue repair is not dependent on inflammatory cells. *Curr. Biol.* V. 13. P. 1122.
- Meisner J.K., Price R.J. 2010. Spatial and temporal coordination of bone marrow-derived cell activity during arteriogenesis: regulation of the endogenous response and therapeutic implications. *Microcirculation.* V. 17. P. 583.
- Merolli A., Santin M. 2009. Role of phosphatidyl-serine in bone repair and its technological exploitation. *Molecules.* V. 14. P. 5367.
- Miller R.R., Cappola A.R., Shardell M.D., Hawkes W.G., Yu-Ya-hiro J.A., Hebel J.R., Magaziner J. 2006. Persistent changes in interleukin-6 and lower extremity function following hip fracture. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* V. 61. P. 1053.
- Mizuno K., Mineo K., Tachibana T., Sumi M., Matsubara T., Hirohata K. 1990. The osteogenic potential of fracture haematoma. Subperiosteal and intramuscular transplantation of the haematoma. *J. Bone Joint. Surg. Br.* V. 72. P. 822.
- Mor F., Quintana F.J., and Cohen I.R. 2004. Angiogenesis-inflammation cross-talk: vascular endothelial growth factor is secreted by activated T cells and induces Th1 polarization. *J. Immunol.* V. 172. P. 4618.
- Mougiakakos D., Jitschin R., Johansson C.C., Okita R., Kiessling R., Le Blanc K. 2011. The impact of inflammatory licensing on heme oxygenase-1-mediated induction of regulatory T cells by human mesenchymal stem cells. *Blood.* V. 117. P. 4826.
- Mountziaris P.M., Mikos A.G. 2008. Modulation of the inflammatory response for enhanced bone tissue regeneration. *Tissue Eng. Part B Rev.* V. 14. P. 179.
- Mountziaris P.M., Spicer P.P., Kasper F.K., Mikos A.G. 2011. Harnessing and modulating inflammation in strategies for bone regeneration. *Tissue Eng. Part B Rev.* V. 17. P. 393.
- Murr L.E. 2019. Strategies for creating living, additively manufactured, open-cellular metal and alloy implants by promoting osseointegration, osteoinduction and vascularization: An overview. *J. Mater. Sci. Technol.* V. 35. P. 231.
- Nicolaidou V., Wong M.M., Redpath A.N., Ersek A., Baban D.F., Williams L.M., Cope A.P., Horwood N.J. 2012. Monocytes induce STAT3 activation in human mesenchymal stem cells to promote osteoblast formation. *PLoS One.* V. 7: e39871. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039871>
- Ohki Y., Heissig B., Sato Y., Akiyama H., Zhu Z., Hicklin D.J., Shimada K., Ogawa H., Daida H., Hattori K., Ohsaka A. 2005. Granulocyte colony-stimulating factor promotes neovascularization by releasing vascular endothelial growth factor from neutrophils. *FASEB J.* V. 19. P. 2005.
- Opal S.M. 2000. Phylogenetic and functional relationships between coagulation and the innate immune response. *Crit. Care Med.* V. 28. (Suppl. 9) P. S77.
- Osta B., Benedetti G., Miossec P. 2014. Classical and paradoxical effects of tnf-a on bone homeostasis. *Front. Immunol.* V. 5. P. 48.
- Parfitt A.M. 1988. Bone remodeling: relationship to the amount and structure of bone, and the pathogenesis and prevention of fractures. In: *Osteoporosis: etiology, diagnosis, and management.* N.Y.: Raven Press, P. 45.
- Park S.H., Silva M., Bahk W.J., McKellop H., Lieberman J.R. 2002. Effect of repeated irrigation and debridement on fracture healing in an animal model. *J. Orthop. Res.* V. 20. P. 1197.
- Petit A.R., Chang M.K., Hume D.A., Raggatt L.J. 2008. Osteal macrophages: a new twist on coupling during bone dynamics. *Bone.* V. 43. P. 976.
- Picón-Ruiz M., Pernagallo S., Díaz-Mochón J.J., Morata C., Perán M., Marchal J.A. 2014. Generation of autologous multipotent endothelial-like cells from lipoaspirates of human adipose-derived stem cells and polymer microarrays technology: potential cardiovascular regeneration. In: *Stem cells and cancer stem cells: Therapeutic applications in disease and injury.* N.Y., London: Springer Dordrecht Heidelberg, V. 12. P. 151.
- Porter J.R., Ruckh T.T., Popat K.C. 2009. Bone tissue engineering: a review in bone biomimetics and drug delivery strategies. *Biotechnol. Prog.* V. 25. P. 1539.
- Raggatt L.J., Wullschleger M.E., Alexander K.A., Wu A.C., Millard S.M., Kaur S., Maughan M.L., Gregory L.S., Steck R., Petit A.R. 2014. Fracture healing via periosteal callus formation requires macrophages for both initiation and progression of early endochondral ossification. *Am. J. Pathol.* V. 184. P. 3192.
- Reinke S., Geissler S., Taylor W.R., Schmidt-Bleek K., Juelke K., Schwachmeyer V., Schwachmeyer V., Dahne M., Hartwig T., Akyüz L., Meisel C., Unterwalder N., Singh N.B., Reinke P., Haas N.P., Volk H.D., Duda G.N. 2013. Terminally differentiated CD8(+) T cells negatively affect bone regeneration in humans. *Sci. Transl. Med.* V. 5. 177ra136. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004754>

- Schell H., Duda G.N., Peters A., Tsitsilonis S., Johnson K.A., Schmidt-Bleek K. 2017. The haematoma and its role in bone healing. *J. Exp. Orthop.* V. 4. P. 5.
- Schindeler A., McDonald M.M., Bokko P., Little D.G. 2008. Bone remodeling during fracture repair: The cellular picture. *Semin. Cell Dev. Biol.* V. 19. P. 459.
- Schlundt C., El Khassawna T., Serra A., Dienelt A., Wendler S., Schell H., Schell H., van Rooijen N., Radbruch A., Lucius R., Hartmann S., Duda G.N., Schmidt-Bleek K. 2018. Macrophages in bone fracture healing: their essential role in endochondral ossification. *Bone.* V. 106. P. 78.
- Schmidt-Bleek K., Kwee B.J., Mooney D.J., Duda G.N. 2015. boon and bane of inflammation in bone tissue regeneration and its link with angiogenesis. *Tissue Eng. Part B Rev.* V. 21. P. 354.
- Schmidt-Bleek K., Schell H., Kolar P., Pfaff M., Perka C., Buttgerit F., Duda G., Lienau J. 2009. Cellular composition of the initial fracture hematoma compared to a muscle hematoma: a study in sheep. *J. Orthop. Res.* V. 27. P. 1147.
- Schmidt-Bleek K., Schell H., Lienau J., Schulz N., Hoff P., Pfaff M., Schmidt G., Martin C., Perka C., Buttgerit F., Volk H.D., Duda G. 2014. Initial immune reaction and angiogenesis in bone healing. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* V. 8. P. 120.
- Serhan C.N., Savill J. 2005. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat. Immunol.* V.6. P. 1191.
- Sica A., Mantovani A. 2012. Macrophage plasticity and polarization: *in vivo* veritas. *J. Clin. Invest.* V. 122. P. 787.
- Sozzani S., Rusnati M., Riboldi E., Mitola S., Presta M. 2007. Dendritic cell-endothelial cell cross-talk in angiogenesis. *Trends Immunol.* V. 28. P. 385.
- Spiller K.L., Anfang R.R., Spiller K.J., Ng J., Nakazawa K.R., Daulton J.W., Vunjak-Novakovic G. 2014. The role of macrophage phenotype in vascularization of tissue engineering scaffolds. *Biomaterials.* V. 35. P. 4477.
- Stabile E., Burnett M.S., Watkins C., Kinnaird T., Bachis A., la Sala A., Miller J.M., Shou M., Epstein S.E., Fuchs S. 2003. Impaired arteriogenic response to acute hindlimb ischemia in CD4-knockout mice. *Circulation.* V. 108. P. 205.
- Stabile E., Kinnaird T., la Sala A., Hanson S.K., Watkins C., Campia U., Shou M., Zbinden S., Fuchs S., Kornfeld H., Epstein S.E., Burnett M.S. 2006. CD8+ T lymphocytes regulate the arteriogenic response to ischemia by infiltrating the site of collateral vessel development and recruiting CD4+ mononuclear cells through the expression of interleukin-16. *Circulation.* V. 113. P. 711.
- Street J., Winter D., Wang J.H., Wakai A., McGuinness A., Redmond H.P. 2000. Is human fracture hematoma inherently angiogenic? *Clin. Orthop. Relat. Res.* V. 378. P. 224.
- Takayanagi H. 2005. Inflammatory bone destruction and osteoimmunology. *J. Periodontal. Res.* V. 40. P. 287.
- Takayanagi H. 2007. Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. *Nat. Rev. Immunol.* V. 7. P. 292.
- Takayanagi H. 2009. Osteoimmunology and the effects of the immune system on bone. *Nat. Rev. Rheumatol.* V. 5. P. 667.
- Takeda Y., Costa S., Delamarre E., Roncal C., Leite de Oliveira R., Squadrito M.L., Finisguerra V., Deschoemaeker S., Bruyere F., Wenes M., Hamm A., Serneels J., Magat J., Bhattacharyya T., Anisimov A., Jordan B.F., Alitalo K., Maxwell P., Gallez B., Zhuang Z.W., Saito Y., Simons M., De Palma M., Mazzone M. 2011. Macrophage skewing by Phd2 haplodeficiency prevents ischaemia by inducing arteriogenesis. *Nature.* V. 479. P. 122.
- Tan S.D., Kuijpers-Jagtman A.M., Semeins C.M., Bronckers A.L., Maltha J.C., Von den Hoff J.W., Everts V., Klein-Nulend J. 2006. Fluid shear stress inhibits TNF $\alpha$ -induced osteocyte apoptosis. *J. Dent. Res.* V. 85. P. 905.
- Thompson Z., Miclau T., Hu D., Helms J.A. 2002. A model for intramembranous ossification during fracture healing. *J. Orthop. Res.* V. 20. P. 1091.
- Toben D., Schroeder I., El Khassawna T., Mehta M., Hoffmann J.E., Frisch J.T., Schell H., Lienau J., Serra A., Radbruch A., Duda G.N. 2011. Fracture healing is accelerated in the absence of the adaptive immune system. *J. Bone Miner. Res.* V. 26. P. 113.
- Tong X., Chen X., Zhang S., Huang M., Shen X., Xu J., Zou J. 2019. The effect of exercise on the prevention of osteoporosis and bone angiogenesis. *Biomed. Res. Int.* V. 2019. Article ID 8171897. <https://doi.org/10.1155/2019/8171897>
- Tsiridis E., Upadhyay N., Giannoudis P. 2007. Molecular aspects of fracture healing: which are the important molecules? *Injury.* V. 38 (Suppl 1). S11.
- van Beem R.T., Noort W.A., Voermans C., Kleijer M., ten Brinke A., van Ham S.M., van der Schoot C.E., Zwaginga J.J. 2008. The presence of activated CD4(+) T cells is essential for the formation of colony-forming unit-endothelial cells by CD14(+) cells. *J. Immunol.* V. 180. P. 5141.
- Vi L., Baht G.S., Whetstone H., Ng A., Wei Q., Poon R., Mylvaganam S., Grynaps M., Alman B.A. 2015. Macrophages promote osteoblastic differentiation in-vivo: implications in fracture repair and bone homeostasis. *J. Bone Miner. Res.* V. 30. P. 1090.
- Wang M., Chen F., Wang J., Chen X., Liang J., Yang X., Zhu X., Fan Y., Zhang X. 2018. Calcium phosphate altered the cytokine secretion of macrophages and influenced the homing of mesenchymal stem cells. *J. Mater. Chem. B.* V. 6. P. 4765.
- Wang W., Yeung K.W.K. 2017. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review. *Bioact. Mat.* V. 2. P. 224.
- Watanabe Y., Namba A., Honda K., Aida Y., Matsumura H., Shimizu O., Suzuki N., Tanabe N., and Maeno M. 2009. IL-1 $\beta$  stimulates the expression of prostaglandin receptor EP4 in human chondrocytes by increasing production of prostaglandin E2. *Connect. Tissue Res.* V. 50. P. 186.
- Wendler S., Schlundt C., Bucher C.H., Birkigt J., Schipp C.J., Volk H.D., Duda G.N., Schmidt-Bleek K. 2019. Immune modulation to enhance bone healing—a new concept to induce bone using prostacyclin to locally modulate immunity. *Front. Immunol.* V. 10. P. 713.
- Wu A.C., Raggatt L.J., Alexander K.A., Pettit A.R. 2013. Unraveling macrophage contributions to bone repair. *Bonekey Rep.* V. 2. P. 373.
- Xing Z., Lu C., Hu D., Yu Y.Y., Wang X., Colnot C., Nakamura M., Wu Y., Miclau T., Marcucio R.S. 2010. Multiple roles for CCR2 during fracture healing. *Dis. Model. Mech.* V. 3. P. 451.

- Yang X., Ricciardi B.F., Hernandez-Soria A., Shi Y., Pleshko Camacho N., Bostrom M.P. 2007. Callus mineralization and maturation are delayed during fracture healing in interleukin-6 knockout mice. *Bone*. V. 41. P. 928.
- Yuan Y., Li H., Liao Y., Feng C. 2019. CD8+ T cells are involved in early inflammation before macrophages in a rat adipose tissue engineering chamber model. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* V. 13. P. 1499.
- Zaiss M.M., Axmann R., Zwerina J., Polzer K., Guckel E., Skapenko A., Schulze-Koops H., Horwood N., Cope A., and Schett G. 2007. Treg cells suppress osteoclast formation: a new link between the immune system and bone. *Arthritis Rheum.* V. 56. P. 4104.

## CELLULAR-MOLECULAR ASPECTS OF INFLAMMATION, ANGIOGENESIS AND OSTEOGENESIS. A SHORT REVIEW

**K. A. Yurova<sup>a</sup>, O. G. Khaziakhmatova<sup>a</sup>, V. V. Malashchenko<sup>a</sup>, E. O. Shunkin<sup>a</sup>, N. M. Todosenko<sup>a</sup>, I. K. Norkin<sup>a</sup>, I.A Ivanov<sup>a</sup>, I. A. Khlusov<sup>a, b, c</sup>, E. S. Melashchenko<sup>a</sup>, and L. S. Litvinova<sup>a, \*</sup>**

<sup>a</sup>Center of Immunology and Cell Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, 236041 Russia

<sup>b</sup>Morphology and General Pathology Department, Siberian State Medical University, Tomsk, 634050 Russia

<sup>c</sup>Research School of Chemistry & Applied Biomedical Sciences at Tomsk Polytechnic University, Tomsk, 634050 Russia

\*e-mail: larisalitinova@yandex.ru

The review discusses the complex, rather controversial cooperation of immunocompetent, bone and stem cells in the implementation of inflammation, angiogenesis and osteogenesis. The general significance of post-traumatic hematoma and inflammation in the reparative regeneration of bone tissue is presented. A relationship has been shown between inflammation and angiogenesis during the healing of bone damage. The role of immune cells (mainly T-lymphocytes and macrophages) and humoral factors (mainly cytokines and chemokines) in neoangiogenesis and bone regeneration, which largely determine the outcome of bone remodeling (successful, delayed or unsuccessful), has been determined.

**Keywords:** bone tissue, microvasculature, damage, hematoma, immunocompetent cells, cytokines and chemokines, regeneration