

<https://doi.org/10.36425/rehab64333>

Регенеративная реабилитация при повреждениях костной ткани

А.С. Голота¹, С.В. Макаренко^{1, 2}, С.Г. Щербак^{1, 2}, Т.А. Камилова¹

¹ Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская больница № 40», Санкт-Петербург, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Статья посвящена анализу современного состояния регенеративно-реабилитационного лечения в ортопедии, возможностям восстановления костной ткани, утраченной в результате травм или болезней. Дан обзор основных методов и подходов, позволяющих проводить эффективные регенеративно-реабилитационные мероприятия. Изучение молекулярно-генетических основ механотрансдукции и механотерапии позволит идентифицировать гены и молекулы, уровни экспрессии которых могут служить биомаркерами эффективности регенеративно-реабилитационных мероприятий. Эти механизмы представляют собой потенциальные терапевтические мишени для стимуляции регенерации кости. Особый раздел посвящен исследованию особенностей клеточных технологий в терапии дефектов и болезней этих тканей. Основное внимание в статье обращается на выбор индивидуального подхода как при проведении фундаментальных научных исследований, так и при разработке программ реабилитации. Все это позволит значительно улучшить результаты лечения пациентов.

Ключевые слова: кость; реабилитация; регенерация; физиотерапия; механотрансдукция; механотерапия; молекулярно-генетический механизм.

Для цитирования: Голота А.С., Макаренко С.В., Щербак С.Г., Камилова Т.А. Регенеративная реабилитация при повреждениях костной ткани. *Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация*. 2021;3(1):48–62. DOI: <https://doi.org/10.36425/rehab64333>

Поступила: 07.03.2021 Принята: 15.03.2021 Опубликовано: 04.04.2021

Regenerative Rehabilitation for Bone Tissue Damage

A.S. Golota¹, S.V. Makarenko^{1, 2}, S.G. Scherbak^{1, 2}, T.A. Kamilova¹

¹ Saint Petersburg City Hospital No 40, Saint Petersburg, Russian Federation

² Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russian Federation

The article is devoted to the analysis of the current state of regenerative and rehabilitative treatments in orthopedics, the possibilities of restoring of bone lost due to injuries or diseases. An overview of the main methods and approaches to enable effective regenerative and rehabilitation measures is given. The study of the molecular genetic basis of mechanotransduction and mechanotherapy will allow the identification of genes and molecules, the expression levels of which can serve as biomarkers of the effectiveness of regenerative-rehabilitation measures. These mechanisms are potential therapeutic targets for stimulating of regeneration of bones. A special section is devoted to the study of the characteristics of cellular technologies in the treatment of injuries and diseases of these tissues. The focus of the article is on the choice of an individual approach, both when conducting basic scientific research and developing rehabilitation programs. All this will significantly improve patient outcomes.

Keywords: bone; rehabilitation; regeneration; physiotherapy; mechanotransduction; mechanotherapy; molecular genetic mechanism.

For citation: Golota AS, Makarenko SV, Scherbak SG, Kamilova TA. Regenerative Rehabilitation for Bone Tissue Damage. *Physical and rehabilitation medicine, medical rehabilitation*. 2021;3(1):48–62. DOI: <https://doi.org/10.36425/rehab64333>

Received: 07.03.2021 Accepted: 15.03.2021 Published: 04.04.2021

Обоснование

Регенеративная реабилитация является новой областью исследований, которая стремится объединить регенеративную медицину с реабилитационной медициной. Она основана на осознании того, что объединение этих двух областей медицины на ранней стадии лечения приведет к лучшему клиническому результату, чем традиционный линейный подход, заключающийся в том, что сначала вводят элементы регенерации с последующей, после паузы, реабилитацией. Механическая чувствительность кости известна давно, но молекулярные механизмы, ответственные за эти явления, изучены недостаточно, что привело к ограниченному клиническому применению.

Завершение проекта «Геном человека» в 2003 г. ознаменовало рождение персонализированной терапии во всех областях медицины, в том числе физиотерапии. Реакции пациентов на реабилитационные вмешательства, как известно, неодинаковы, несмотря на сходство нарушений. Одна из самых больших проблем для любого терапевта — решить, какое вмешательство лучше подходит для отдельного пациента. Знание генетических вариаций поможет физиотерапевтам лучше понять индивидуальные различия, влияющие на проявление нарушений, реакции на лечение и общее самочувствие пациентов. Обеспечение терапевтов этим инструментом для стратификации пациентов усилит эффект терапии.

Механотерапия. Механотрансдукция

Ткань, в которой находится клетка, и расположение клетки в этой ткани влияют на силы, воздействию которых подвергается клетка; но точная природа сил не всегда очевидна. Например, механочувствительные клетки в кости подвергаются преимущественно сжатию, исходя из функции тканей, в которых они находятся. Тем не менее длинные кости (например, большеберцовая и бедренная) изгибаются при нагрузке в осевом направлении для создания сжимающих сил внутри ткани на той стороне, к которой сгибается кость, и растягивающих напряжений на противоположной стороне. Таким образом, клетки кости могут подвергаться воздействию либо сжимающих, либо растягивающих сил. Понимая силы, на которые реагируют клетки, можно разработать новые способы введения этих сил, чтобы вызвать желаемый клеточный ответ и адаптацию ткани. В частности, можно стимулировать привлечение и линейное коммитирование эндогенных стволовых клеток и клеток-предшественников для усиления регенеративного потенциала. Путем ве-

Список сокращений

БМК — безжировая масса конечностей
 ВКМ — внеклеточный матрикс
 ВМПК — волюметрическая минеральная плотность кости
 КТ — компьютерная томография
 МПК — минеральная плотность кости
 МСК — мезенхимальные стромальные клетки
 BMP (bone morphogenetic protein) — костный морфогенетический белок
 FNIH (Foundation for the National Institutes of Health) — ассоциация национальных институтов здравоохранения США
 GSI (gamma-secretase inhibitor) — ингибитор гамма-секретазы
 LIPUS (low-intensity pulsed ultrasound) — ультразвуковой импульс низкой (≤ 100 мВт/см²) интенсивности
 SNP (single nucleotide polymorphisms) — однонуклеотидные полиморфизмы

дения определенных сил в определенное время резидентные регенеративные клетки могут быть коммитированы к дифференцировке в специфические линии и созданию определенного типа ткани [1].

Биохимические и физические свойства внеклеточного матрикса (ВКМ), окружающего клетки, одинаково важны для клеточных реакций. Повышенная жесткость ВКМ направляет дифференцировку стволовых клеток в механически компетентные ткани, включая кость. Стволовые клетки, вынужденные прикрепляться к небольшим островкам фибронектина, приобретают округлую форму, тогда как клетки, прикрепленные к более крупным островкам, — удлиненную морфологию с повышенной активностью сигнальных белков RhoA (Ras homolog gene family member A) и ROCK (Rho-associated protein kinase), что усиливает остеогенное коммитирование. RhoA/ROCK-сигналинг увеличивает образование актиновых волокон, поэтому расстояние от субстрата, к которому прикрепляются клетки, определяет физическую структуру клеток и, следовательно, их дифференцировочный потенциал. Эти знания имеют значение при разработке биоинженерных субстратов для регенерации тканей, которые должны включать в себя биоактивные анаболические молекулы и учитывать пространственные и физические свойства ВКМ [2].

Многие типы клеток реагируют на механические раздражители: остециты, хондроциты, фибробласты, кератиноциты, стволовые клетки и другие. Механизмы клеточной чувствительности и реагирования на механические нагрузки — это взаимодействия типа клетка–клетка, клетка–матрикс и клетка–просвет посредством рецепторов клеточной поверхности, интегринов, адгезионных комплексов и активируемых растяжением ионных каналов [3]. Механотрансдукция как преобразование механических стимулов в клеточный и молекулярный ответ представляет собой основной компонент адаптивной способности тканей в ответ на механические раздражители и подразумевает наличие в клетке механизма для восприятия сигнала. Клетки могут подвергаться воздействию различных микромеханических раздражителей, причем точная природа раздражителя зависит как от свойств самих клеток, так и от взаимодействия между поступающим механическим сигналом и ВКМ. К механическим стимулам относятся напряжение, сжатие и сдвиг, гидростатическое давление, вибрация и движение жидкости параллельно клеточной мембране [1].

Экспрессия генов является механизмом динамического контроля физиологических процессов. Физиологические адаптации к стрессовым стимулам тренировочных упражнений отражают молекулярные изменения, отчасти объясняемые изменениями в экспрессии генов. Дифференциальная регуляция различных типов клеток генерирует молекулярную сигнатуру специфических транскриптов. Уточнение биологической роли геномных маркеров тренировок помогает проследить связь с физиологическими изменениями и описать фенотип тренированности [4].

Преобразованный в биохимический сигнал механический стимул либо передается в ядро, либо распространяется в эффекторные клетки. Интегринопосредованная трансмиссия мембранного натяжения активирует сигнальные протеинкиназы в точках прикрепления клетки к ВКМ. Это приводит к изменению контроля генной транскрипции, увеличению жесткости клеток и снижению образования жировой ткани. Другим примером является силовая регуляция поступления кальция внутрь клетки. Фармакологическое ингибирование механочувствительных кальциевых каналов приводит к снижению анаболических реакций в кости. Чувствительные к электрическому напряжению субъединицы кальциевых каналов, соединенные с клеточной мембраной, способны прикрепляться к ВКМ при механической активации остецитов [5].

Интеграция знаний о механотрансдукции в регенеративную реабилитацию

Механотрансдукция лежит в основе механотерапии, а механотерапия — одна из самых больших групп вмешательств в физиотерапии. Понимая механические раздражители, на которые лучше всего реагируют клетки костной ткани, и механизмы, которые эти клетки используют для преобразования механических сигналов в молекулярные реакции, физиотерапевты могут усиливать реакцию клеток на механические раздражители. Конечным результатом может быть аддитивное или синергическое ускорение регенерации тканей и восстановление функций у пациентов, получающих регенеративную терапию. Остециты, окруженные костным матриксом, являются механосенсорами скелетной системы. Физической деформации костного матрикса недостаточно для деформации клеточной мембраны остецитов и инициирования ответа; тем не менее осевое сжатие и изгиб увеличивают интрамедуллярное давление, вызывая поток жидкости из областей высокого давления (сжатие) в область низкого давления (растяжение) внутри лакуно-каналикулярной сети остецитов и их дендритных отростков. Прерывистая механическая нагрузка усиливает поток интерстициальной жидкости и подвергает остециты действию сил, вызванных касательным потоком жидкости. Таким образом, небольшое натяжение ткани усиливает сдвиг на мембране клетки, а также механический стимул, создаваемый клетками [1].

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) костного мозга воспринимают силовое воздействие, в частности прямое напряжение мембраны, в отличие от напряжения сдвига жидкости, испытываемого преимущественно остеócитами [6]. Поскольку МСК костного мозга могут дифференцироваться в различные типы тканей, включая кость, понимание оптимальных для линейного коммитирования параметров нагрузки имеет решающее значение для включения физических стимулов в тканевую инженерию.

Примером экзогенного механического стимула, который может безопасно сочетаться с другими регенеративными методами лечения, является ультразвуковой импульс низкой (≤ 100 мВт/см²) интенсивности (low-intensity pulsed ultrasound, LIPUS). Хотя стандартная клиническая ультразвуковая терапия перестала пользоваться популярностью, LIPUS является официально утвержденным методом лечения травм костей. Интенсивность LIPUS намного ниже, чем у обычных ультразвуковых аппаратов, используемых в физиотерапии, и применяется ежедневно

с длительностью сеансов 20 мин. Эта методика оказывает стимулирующее воздействие на МСК, а также на остеогенез, сокращает время клинического и радиологического заживления переломов большеберцовой, лучевой и лопаточной костей на 30–38% и стимулирует сращение 86% несросшихся переломов. LIPUS безопасно сочетается с другими методами регенеративной терапии для улучшения заживления костей в исследованиях, включающих в себя терапию стволовыми клетками, и способствует приживлению аллотрансплантата [1].

Манипуляции с мишенью для индукции биохимического сигнала могут независимо вызывать клеточный ответ или иметь аддитивные эффекты в сочетании с механотерапией. Молекулярное таргетирование может так сенсibilизировать специфический путь механотрансдукции, что в сочетании с механической нагрузкой приводит к большей реакции, чем только механическая нагрузка или только молекулярное таргетирование. Чтобы вызвать такие синергические эффекты, необходимо согласовать время введения механической нагрузки с пиковой сенсibilизацией механотрансдуктивного пути. Например, паратиреоидный гормон является скелетным анаболиком и стимулирует остеоциты и остеобласты посредством активации рецептора PTH1R (PTH type 1 receptor). PTH1R в этих клетках играет ключевую роль в анаболическом ответе кости на механические раздражители. Поскольку эффекты паратиреоидного гормона и механической нагрузки осуществляются через PTH1R, одновременное использование этих агентов позволяет одной модальности усиливать клеточный ответ на другую. Поэтому механотерапию следует проводить сразу после назначения паратиреоидного гормона с целью оптимизации синергических эффектов между ними [1].

Механотрансдукция и механотерапия костной ткани

Хорошо известно, что кость реагирует на изменения нагрузки и адаптируется к ним. Однако во время регенерации после перелома или критических дефектов кости картина становится более сложной, поскольку необходимо учитывать не только кость, но и нестабильность дефекта, восстановительную ткань, которая устраняет дефект, и васкуляризацию, необходимую для эффективного излечения. Амбулаторные нагрузки способствуют восстановлению перелома [7] и регулируют ангиогенез [8], поэтому если можно отслеживать осевые нагрузки на костные дефекты [9] и связывать их с васкуляризацией и вос-

становлением, это позволит разработать стратегии фиксации, которые переносят нагрузки [10], способствующие регенерации и ускоряющие полное выздоровление пациента. Стабильность фиксации перелома напрямую влияет на то, достигается ли восстановление перелома путем эндохондральной оссификации или прямого внутримембранозного заживления (оссификации в соединительнотканной мембране), и может модулироваться нагрузками, прикладываемыми в течение периода реабилитации [11].

Благодаря жесткому ВКМ кортикальной кости остеоциты защищены от компрессионных нагрузок и реагируют на напряжение сдвига жидкости, индуцированное компрессией через лакуно-каналикулярную сеть. Поток интерстициальной жидкости индуцирует в остеоцитах транскрипцию и трансляцию белков, ответственных за целостность кости, в то время как слабый поток жидкости ассоциирован с остеопорозом. Остеоциты ответственны за гомеостаз костного матрикса и управляют избирательным рекрутированием либо остеобластов в ситуациях высокой нагрузки, либо остеокластов в условиях низкой нагрузки, регулируя ремоделирование кости для восстановления устойчивого состояния. Дистракционный остеогенез — это метод, который использует растягивающие силы для роста новой кости при заживлении перелома [12]. В остеобластах, подвергнутых растяжению, активируется экспрессия остеопонтина и некоторых морфогенных белков кости. Кроме того, МСК костного мозга — предшественники остеобластов и адипоцитов — могут реагировать на высокочастотные низкоинтенсивные нагрузочные упражнения, дифференцируясь в направлении остеогенеза, изменяя баланс между накоплением жира и ростом кости [3].

До 10% костных переломов приводят к осложнениям заживления и несращению, в то время как большинство переломов восстанавливаются с соответствующей стабилизацией и без фармакологического вмешательства. Во время восстановления перелома резидентные МСК/клетки-предшественники МСК дифференцируются, образуя новый хрящ и кость. Потеря активности гамма-секретазы и Notch-сигналинга ускоряет образование кости и хряща из предшественников МСК во время развития скелета, что приводит к патологическому росту кости и истощению МСК костного мозга. Рентгенографические, компьютерно-микротомографические, гистологические и молекулярные данные показывают, что однократное и прерывистое лечение ингибитором гамма-секретазы (GSI) значитель-

но усиливает образование хряща и костной мозоли посредством стимуляции дифференцировки МСК, что лишь незначительно уменьшает количество резидентных МСК. Биомеханическое тестирование также показывает, что переломы, обработанные GSI, проявляют превосходную прочность на ранних этапах процесса заживления, при этом переломы, обработанные однократной дозой GSI, демонстрируют прочность кости, приближающуюся к прочности здоровой большеберцовой кости без переломов. Временное ингибирование активности гамма-секретазы и сигналов рецептора Notch временно увеличивает остеокластогенез и ускоряет ремоделирование кости, что в сочетании с эффектами на МСК, вероятно, объясняет ускоренное и усиленное заживление перелома. Предполагается, что сигнальный путь Notch станет терапевтической мишенью во время заживления скелетных переломов [13].

Заживление перелома представляет собой многоступенчатый процесс, который включает в себя сложную интеграцию многочисленных типов клеток, факторов роста и ВКМ, что в конечном итоге приводит к восстановлению функции без образования фиброзного рубца. Длинные кости, такие как большеберцовая кость, заживают в основном за счет эндохондрального окостенения, при котором образование кости происходит через стадию хряща. Альтернативно в биомеханически жесткой и стабильной среде кость формируется непосредственно из дифференцированных остеобластов в процессе, называемом оссификацией в соединительнотканной мембране. Несколько сигнальных путей, включая костный морфогенетический белок (bone morphogenetic protein, BMP), трансформирующий фактор роста бета (Transforming growth factor beta, TGF β) и канонический сигнальный путь WNT/ β -катенин, регулируют заживление переломов, предоставляя потенциальные мишени фармакотерапии. Сигнальный путь рецептора Notch идентифицирован как важнейший генетический регулятор не только дифференцировки скелетных клеток-предшественников, пролиферации и созревания остеобластов во время развития хряща и костей и поддержания гомеостаза здоровой кости [14], но и развития хряща и кости в процессе заживления перелома [13]. Notch-сигналинг инициируется, когда один из лигандов рецептора Notch (JAG1-2; DLL1,3,4; DLK1-2; MAGP1-2; DNER; NB2) активирует рецептор Notch на клеточной поверхности, приводя к расщеплению рецептора протеазами ADAM (a disintegrin and metalloprotease) и белками гамма-секретазного комплекса. Расщепление рецептора приводит к вы-

свобождению и транслокации в ядро внутриклеточного домена Notch (NICD), создавая транскрипционно активный комплекс, который управляет экспрессией генов-мишеней Notch-сигналинга, кодирующих транскрипционные факторы. Активация Notch в МСК и бипотентных хондроостеопредшественниках ингибирует их дифференцировку, тогда как потеря сигналов Notch в МСК усиливает хондрогенез и остеогенез. Специфичный для хряща Notch-сигналинг способствует созреванию хондроцитов, в то же время подавляя их пролиферацию в процессе развития хряща. Notch-сигналинг также координирует остеобластогенез и дифференцировку остеобластов из МСК. Усиление функции Notch (гиперэкспрессия NICD) в ранних предшественниках остеобластов уменьшает костную массу или приводит к тяжелой остеопении из-за уменьшения количества зрелых остеобластов. Таким образом, Notch выполняет контекстно-зависимую функцию в разных типах клеток и в разные моменты времени, по-разному влияя на развитие эндохондральной кости. Временное ингибирование Notch-сигналинга может способствовать дифференцировке МСК и образованию кости во время заживления перелома. Внутривенное введение ингибитора гамма-секретазы DAPT (24-diamino-5-phenylthiazole) для лечения переломов большеберцовой кости у мышей привело к системному ингибированию Notch, увеличению размера костной мозоли, ускоренному ремоделированию кости, более ранней и повышенной экспрессии специфичных для хондроцитов и остеобластов генов и улучшило биомеханические свойства (прочность, жесткость и ударная вязкость) кости. МСК костного мозга из обработанных DAPT переломов быстрее дифференцировались без истощения резидентных МСК. Notch-сигналинг регулирует хондрогенную, остеогенную и адипогенную дифференцировку клеток-предшественников. Временное ингибирование активности гамма-секретазы и сигналов Notch в МСК позволяет клеткам реагировать на сигналы дифференцировки во время заживления перелома, тем самым приводя к формированию более прочной хрящевой и костной мозолей в месте перелома [13].

Системное и длительное подавление сигналов Notch нарушило несколько фаз процесса заживления перелома. Эти данные свидетельствуют о том, что время и продолжительность ингибирования Notch имеют решающее значение для надлежащего заживления переломов костей. Учитывая тот факт, что привлечению МСК способствуют провоспалительные цитокины, секретируемые в месте повреж-

дения, которые достигают максимального уровня через 24 ч после перелома, применять GSI следует в течение очень короткого срока после перелома, в конце фазы острого воспаления [13].

В контексте заживления перелома фаза острого воспаления необходима для иницирования каскада заживления путем стимуляции миграции МСК в место перелома и может опосредовать временную активацию Notch. Действительно, компоненты Notch-NF-κB-сигнального пути активируются на ранних стадиях восстановления перелома. DAPT ингибирует опосредованную воспалением активацию Notch, таким образом освобождая МСК, привлеченные к месту перелома, для дифференцировки в хондроциты и остеобласты, что в конечном итоге приводит к ускоренному и усиленному заживлению перелома. Обработка DAPT не вызывает каких-либо анаболических эффектов на трабекулярную кость контралатеральных конечностей, в которых не было локальной воспалительной реакции. Благодаря раннему и стойкому увеличению биомеханической прочности костей в результате однодневного лечения DAPT можно сократить время заживления перелома кости на четверть [14].

Минеральная плотность кости (МПК) является наиболее генетически изученным костным фенотипом. Более 50% вариаций МПК обусловлены генетическими факторами, и риск переломов также наследуется. Полногеномные исследования ассоциаций (genome wide association studies, GWAS) идентифицировали как распространенные, так и редкие генетические варианты этого фенотипа. МПК обратно пропорциональна риску перелома и широко используется для диагностики заболевания. Разнообразные неколлагеновые белки ВКМ, которые составляют до 15% от общего белка кости, подразделяются на три основных класса: сывороточные белки, протеогликаны и гликозилированные белки. Многие из этих белков играют важную роль в механической целостности кости и, возможно, в устойчивости к перелому. Остеонектин — наиболее распространенный из неколлагеновых белков кости, его дефицит приводит к тяжелой остеопении. При старении неферментативное гликозилирование коллагена приводит к накоплению конечных продуктов прогрессирующего гликозилирования (advanced glycation end products). Эти модификации ингибируют резорбцию кости и негативно ассоциированы с механической прочностью кортикальной кости, изменяя жесткость и хрупкость костного матрикса [15].

Кость постоянно подвергается противоположно направленным действиям двух разных типов клеток.

Остеобласт, мезенхимальный по происхождению, образует ВКМ кости и минерализует его. Остеокласт, который имеет миелоидное происхождение, ответственен за резорбцию. Скоординированные действия остеобластов и остеокластов регулируют обмен кости или ее так называемое ремоделирование. Когда ремоделирование сбалансировано, количество костной ткани остается неизменным, а несбалансированность приводит к увеличению или потере костной массы. Остеоцит, третий основной тип клеток кости, — это значительно уменьшенный и встроенный в костный матрикс остеобласт. Остеоцитами становятся <40% остеобластов, но эти клетки являются наиболее распространенными в кости из-за их долгой жизни. Продолжительность жизни остеоцитов глубоко в кортикальной кости составляет до 50 лет, в отличие от остеокластов, которые живут до 25 дней, и остеобластов, которые живут до 200 дней. Остеоциты связаны друг с другом и с клетками верхнего слоя кости с помощью каналов. Считается, что эти механочувствительные клетки служат датчиками нагрузки в кости и являются источником факторов, которые регулируют процессы формирования и резорбции кости. Потеря остеоцитов при старении совпадает со снижением прочности кости в результате изменения ремоделирующих сигналов, которые сопровождают потерю [15].

Во внутреннем пространстве костного мозга, окруженном кортикальной костью, находится трабекулярная или губчатая кость, которая выполняет двойную роль структурного элемента скелета и важной метаболической ткани. Трабекулярная кость обеспечивает дополнительную прочность концов несущих вес костей. В отличие от кортикальной кости, потеря трабекулярной кости начинается в раннем взрослом возрасте, независимо от пола. Как и в кортикальной кости, изменения массы и структуры губчатой кости ассоциированы с переломом. Эти изменения могут происходить независимо от диагностического измерения МПК. Объемная доля трабекулярной кости, количество трабекулярной кости внутри кортикальной оболочки является наследуемым фенотипом. Потеря губчатой кости является причиной спонтанных переломов при остеопорозе. Генетические локусы, контролирующие относительный объем трабекулярного компартмента в теле позвонка, не перекрываются с локусами, контролирующими объем метафизов трабекулярной кости. Существуют уникальные локусы для фенотипов, определяющих трабекулярный компартмент по сравнению с МПК всей кости [15].

Маркеры костного обмена могут быть важными предикторами заживления перелома кости. Активация специфичного для остеобластов транскрипционного фактора RUNX2 (runt-related transcription factor 2) стимулирует дифференцировку остеобластов через регуляторный каскад AMPK/USF-1/SHP. Повышенная экспрессия RANKL (receptor activator for nuclear factor kappa-B ligand) стимулирует остеокластогенез и подавляет остеобластогенез [16].

В контексте осложнений заживления переломов и ортопедической реабилитации, сосудистые (микроангиопатия) и нервные (нейропатия) расстройства заслуживают особого внимания. Около 12% пациентов, поступивших в ортопедические отделения, страдают диабетом. Существует бесспорная связь между диабетом и повышенным риском переломов, плохим заживлением повреждений костей, связок и мышечно-сухожильных пластин. По-видимому, одной из основных причин этого является неферментативное гликозилирование (гликирование) молекул коллагена, наблюдаемое в пожилых и диабетических популяциях, поскольку оно приводит к образованию конечных продуктов прогрессирующего гликирования [16].

Генетическое картирование прочности костей

Позвоночная кость уникальна тем, что ее прочность в значительной степени основана на трабекулярной части, с относительно небольшой площадью кортикального слоя по сравнению с другими несущими участками скелета. Волюметрическая МПК (вМПК), включая трабекулярную и интегральную МПК, ассоциирована с опасными вертебральными переломами. Количественная компьютерная томография (КТ) позвонков позволяет специфически измерять вМПК трабекулярного компартмента, которая более тесно ассоциирована с переломом позвоночника. КТ-измерения позвоночника позволяют исключить остеофитную или внескелетную кальцификацию, характерную для пожилых людей [17].

МПК коррелирует с силой, но не является идеальным предиктором силы. Прочность скелета достигается за счет интеграции костной массы, распределения и состава его ВКМ. Хотя дефицит любого из этих факторов снижает прочность кости, генетическое картирование в первую очередь связывает прочность скелета с костной массой и морфологией. Используя МПК как суррогат силы, GWAS идентифицировали гены, которые регулируют важные аспекты биологии кости. Во всех опубликованных GWAS воспро-

изведены 66 локусов МПК, подтверждая высокополигенную природу МПК: 7 из 66 генов (*LRP5*, *SOST*, *ESR1*, *TNFRSF11B*, *TNFRSF11A*, *TNFSF11*, *PTH*) были известны из исследований по изучению ассоциации единичных генов-кандидатов. Среди 59 новых локусов МПК, о которых не сообщалось в предыдущих исследованиях, некоторые участвуют в ключевых биологических путях, затрагивающих скелет, таких как WNT-сигналинг (*AXIN1*, *LRP5*, *CTNNA1*, *DKK1*, *FOXC2*, *HOXC6*, *LRP4*, *MEF2C*, *PTH1LH*, *RSPO3*, *SFRP4*, *TGFBR3*, *WLS*, *WNT3*, *WNT4*, *WNT5B*, *WNT16*), развитие костей, оссификация (*CLCN7*, *CSF1*, *MEF2C*, *MEPE*, *PKDCC*, *PTH1LH*, *RUNX2*, *SP7*, *SPX6*, *SOX6*) дифференцировка МСК (*FAM3C*, *MEF2C*, *RUNX2*, *SOX4*, *SOX9*, *SP7*), дифференцировка остеокластов (*JAG1*, *RUNX2*) и TGF-сигналинг (*FOX11*, *SPTBN1*, *TGFBR3*) [18].

Однонуклеотидные полиморфизмы (single nucleotide polymorphisms, SNP), ассоциированные с вМПК, исследовали, чтобы определить связи с морфометрическим (рентгенографическим) ($n=21\,701$) и клиническим переломом позвонка ($n=5893$). Идентифицированы значимые ассоциации вМПК с пятью локусами: 1p36.12 (гены *WNT4* и *ZBTB40*); 8q24 (ген *TNFRSF11B*), 13q14 (гены *AKAP11* и *TNFSF11*). Два локуса (5p13 и 1p36.12) ассоциированы с риском рентгенографического и клинического перелома позвонка соответственно. SNP в сайтах rs2468531 (локус 5p13) и rs12742784 (локус 1p36.12) ассоциированы с более высокой вМПК ($p=1,9\times 10^{-8}$ и $p=1,2\times 10^{-10}$ соответственно). Оба SNP локализованы в некодирующих областях и повышают экспрессию мРНК в биоптатах костей человека: rs2468531 — мРНК *SLC1A3* и rs12742784 — мРНК *EPHB2*. Ген *SLC1A3* участвует в передаче сигналов глутамата и остеогенном ответе на механическую нагрузку, ген *EPHB2* кодирует белок из семейства эфринов — трансмембранных тирозинкиназных сигнальных гликопротеинов, участвует в развитии и гомеостазе кости, восстановлении перелома. Оба гена экспрессируются в остеобластах. Это первое исследование, связывающее *SLC1A3* и *EPHB2* с клинически значимыми фенотипами остеопороза позвонков [17].

Пять локусов имеют значимые ($p<5\times 10^{-8}$) ассоциации с трабекулярной вМПК: 1p36.12 (*WNT4*, *ZBTB40*), 1p43 (*GREM2*), 8q24 (*TNFRSF11B*), 13q14 (*TNFSF11*) и 5p13 (*SLC1A3-RANBP3L*). Все гены, кроме *GREM2*, ассоциированы с поясничным отделом позвоночника. Все SNP являются интронными или межгенными. Все SNP, ассоциированные с трабекулярной вМПК, также тесно ассоциирова-

ны с интегральной вМПК. Среди SNP, ассоциированных с трабекулярной или интегральной вМПК (с трабекулярной вМПК: rs12755933 *WNT4*, rs12742784 *ZBTB40*, rs9661787 *FMN2-GREM2*, rs2468531 *SLC1A3-RANBP3L*, rs1485303 *TNFRSF11B*, rs17457561 *AKAP11-TNFSF11*; с интегральной вМПК: rs2941584 *SPTBN1*, rs10872673 *C6ORF97*, rs7301013 *SACNA1C*, rs12813778 *CCDC91-PTHLH*, rs4842697 *ATP2B1*, rs9921222 *AXIN1*), только rs2468531 (5p13, *SLC1A3*) ассоциирован с рентгенографическим и клиническим переломом позвонка. Среди SNP, ассоциированных с трабекулярной вМПК, rs12742784 (*ZBTB40*) ассоциирован с клиническим переломом позвонка. Белки *WNT4*, *TNFRSF11B* и *TNFSF11* — компоненты *WNT*- и *RANK/RANKL/OPG*-сигнальных путей, центральных для метаболизма кости. *WNT4* предотвращает потерю костной массы в пожилом возрасте и одну из ее распространенных причин — воспаление, ингибируя фактор *NF-κB* в макрофагах и предшественниках остеокластов. Ген *ZBTB40* экспрессируется в остеобластах, но его роль в развитии или поддержании кости неизвестна [17].

Интронный SNP rs9661787 в локусе *FMN2/GREM2* ассоциирован с интегральной вМПК поясничного отдела позвоночника и трабекулярной вМПК дистальной части большеберцовой кости. Этот SNP влияет на количество и толщину трабекул и находится в неравновесном сцеплении с rs9287237 (ген *RANKL*), также ассоциированном с трабекулярной и интегральной вМПК и риском переломов. SNP rs9287237 (G/T) сильно ассоциирован с экспрессией гена *GREM2* в остеобластах. Т-аллель rs9287237 снижает экспрессию *GREM2* в остеобластах, повышает МПК и снижает риск переломов. Белок *GREM2* (*gremlin 2*) является внеклеточным антагонистом *BMP*, и потеря этого фактора увеличивает дифференцировку остеобластов. Это говорит о том, что *GREM2* является ингибитором созревания и/или функции остеобластов и что экспрессия его гена должна быть уменьшена, чтобы этот процесс происходил [17].

Механическая среда и заживление крупных костных дефектов

Лечение потери костной массы и нарушений заживления является сложной клинической проблемой, которая требует инновационных решений. Механическая среда вокруг места перелома является критически важной для успеха заживления. Взаимодействия между биологическим и механическим влиянием на заживление кости в контексте

восстановительной реабилитации еще не полностью изучены. Сама механическая среда определяется жесткостью имплантата, используемого для стабилизации перелома и поддержания весовой нагрузки; если фиксация является слишком гибкой или слишком жесткой, это может привести к несращению. Локальный клеточный ответ на механическую нагрузку сильно зависит от величины межфрагментарного движения, условий нагрузки и стадии дифференцировки клеток-предшественников, совместно определяющих размер и качество образующейся костной мозоли. Соответственно, жесткая фиксация, которая минимизирует межфрагментарное движение, приведет к ограниченному образованию каллуса, в то время как гибкая фиксация, которая увеличивает межфрагментарное движение, приведет к образованию большего каллуса. Более того, сдвиговая нагрузка вредна для заживления перелома, тогда как такая же по величине осевая нагрузка полезна. На основании этих наблюдений многие авторы предположили, что отсроченное введение контролируемого движения («динамизация») может привести к более быстрому созреванию кости, но эта процедура остается спорной и не сильно повлияла на клиническую практику. Как именно механическая среда влияет на популяцию костных клеток при реагировании на механические сигналы для регенерации и ремоделирования успешной костной структуры, до сих пор неизвестно. Понимание природы этих механических сигналов и биологических реакций на них на разных уровнях очень важно, так как они определяют скорость заживления, а также качество и природу новообразованной ткани [19].

Понимание того, что кости заживают эндохондральным процессом, привело к гипотезе о том, что механическая среда может быть улучшена путем увеличения межфрагментарного движения во время первой фазы заживления, чтобы стимулировать хондрогенез путем стабилизации дефекта в условиях низкой осевой жесткости. Поскольку чрезмерное межфрагментарное движение препятствует ангиогенезу, необходимому для эндохондральной осификации, необходимо повысить осевую жесткость фиксации на этапе, когда хрящ должен быть заменен костью. Способ исправления костных дефектов при низкой начальной жесткости, за которым следует увеличение жесткости, как только начинается эндохондральная фаза заживления, авторы называют «обратной динамизацией» [20]. Исследования в области механобиологии заживления кости показывают, что модулирование механической среды эксперимен-

тального костного поражения с помощью процесса «обратной динамизации» вскоре после травмы значительно улучшает заживление. Для успешного заживления крупных сегментарных дефектов при применении обратной динамизации может быть использован рекомбинантный белок rhBMP2 (recombinant human bone morphogenetic protein-2) [21].

Наблюдения, сделанные на модели дефекта бедра крысы, показали, что модуляция жесткости наиболее эффективна на ранних стадиях заживления. Анализ генной экспрессии демонстрирует дифференциальную экспрессию генов при гибкой и жесткой фиксации на воспалительной стадии заживления (на стадии мягкого каллуса, через 3 дня после операции) и на стадии твердого каллуса (через 7 дней после операции). Через 3 дня экспрессия 102 генов была повышена и у 21 гена понижена, в основном у генов, контролирующих воспалительные пути. Напротив, на 7-й день экспрессия только 27 генов (в основном связанных с эндохондральным путем окостенения) была значительно повышена и более чем у 90 генов, связанных с воспалительными путями, — снижена. При сравнении гибкой и жесткой фиксации через 14 дней дифференциальная экспрессия генов не обнаружена. Это означает, что критическое время для модуляции заживления кости путем изменения осевой жесткости фиксации в данной модели приходится на ранние фазы воспаления и формирования хряща, то есть именно тогда, когда осуществляется обратная динамизация. Эти результаты предлагают новый способ улучшения заживления крупных сегментарных дефектов при одновременном снижении потребности в экзогенном BMP2 (т.е. затрат и потенциальных побочных эффектов) [19].

Механическая среда и заживление дефектов субкритических размеров

Для того чтобы изучить, оказывает ли обратная динамизация тот же стимулирующий эффект на заживление дефектов докритического размера, которые обычно заживают спонтанно, N. Bartnikowski и соавт. [22] создали срединные диафизарные остеотомии размером 1 мм в бедренной кости крысы. Все дефекты были изначально фиксированы с низкой осевой жесткостью, и обратная динамизация (повышение жесткости) применялась в разное время от 3 дней до 3 нед. Оптимальное время для повышения жесткости фиксации наступило через 7 дней после операции. И наоборот, прямая динамизация через 7 дней была пагубной для заживления кости по сравнению с другими протестированными группами. Че-

рез 3 нед. эффект обратной динамизации утрачивается, и результат эквивалентен тому, что происходит при стандартной прямой динамизации. Скромный результат прямой динамизации неудивителен, учитывая, что любое улучшение, отмеченное при прямой динамизации на более поздних этапах заживления, является, скорее, следствием адаптации костей, чем динамикой фиксатора как таковой. В совокупности эти доклинические исследования подтверждают, что на ранних этапах после образования костного дефекта существует окно возможностей для улучшения заживления путем модуляции механической среды.

Остеосаркопения. Термин «остеосаркопения» предложен для определения прогностически неблагоприятного одновременного присутствия саркопении и остеопороза [23, 24]. Связь между этими двумя состояниями основана на общих факторах риска, включая низкий уровень физической активности, дефицит белков в рационе, катаболизм в результате хронического воспаления и липотоксичности, дефицит витамина D, эндокринные расстройства и генетическую предрасположенность [25, 26]. Важную роль играет эндокринная и паракринная двунаправленная связь между костью и мышцей: две ткани взаимно влияют друг на друга, потеря костной массы может способствовать потере мышечной массы, и наоборот [27, 28]. Остеопороз и саркопения, так называемый «опасный дуэт», повышают риск переломов, сокращают продолжительность жизни, ограничивают физическую активность и снижают качество жизни [29–31].

У пациентов с нарушением обоих тканевых компонентов костно-мышечного аппарата, поступивших в реабилитационный центр с переломом бедра, диагностирована низкая МПК, которая положительно коррелирует с низкой безжировой массой конечностей (БМК). Как и ожидалось, у пациентов с переломом бедра распространены как саркопения, так и остеопороз [32–34]. В 2014 г. Ассоциация национальных институтов здравоохранения США (Foundation for the National Institutes of Health, FNIH) опубликовала новые пороговые значения клинически значимой низкой массы нежировых тканей [35]. У мужчин порог низкой БМК определяется отношением БМК к индексу массы тела (ИМТ) $<0,789$ (или БМК $<19,75$ кг). Следует отметить, что оптимальная дефиниция низкой БМК должна охватывать людей с низкой МПК, помимо низкой мышечной массы, для облегчения выбора вмешательства на костно-мышечном аппарате, так как саркопения ассоциирована с остеопорозом только в случае определения

порога низкой БМК по критерию FNIN. Установление связи между повреждением обоих компонентов костно-мышечного аппарата имеет важные последствия как на прогностическом, так и на терапевтическом уровне. Пациенты с одновременным присутствием низкой костной массы и низкой мышечной массы имеют наибольший риск неблагоприятных результатов лечения переломов. Показана значимая ассоциация между остеосаркопенией и снижением физической работоспособности у лиц с признаками наступающей старческой астении [36, 37]. Саркопения увеличила прогностическую значимость МПК в предсказании новых переломов [38]. Примечательно, что отсутствие прогностического значения низкой мышечной массы наблюдается именно после перелома бедра. Порог FNIN для БМК (но не порог FNIN для БМК/ИМТ и не порог $<7,26 \text{ кг/м}^2$ для БМК/рост²) отличает мужчин с успешным функциональным восстановлением [39]. J. I. Yoo и соавт. [40] показали значимую связь между остеосаркопенией и смертностью мужчин с переломом бедра. Наблюдается снижение мобильности и более высокий риск инвалидизации или смерти пациентов в течение года наблюдения [41], а также снижение функциональной независимости в повседневной жизни пациентов [42]. Что касается терапии, первый вариант лечения — это физические упражнения, особенно силовые. Выполнение упражнений в течение 20–30 мин не менее 3 раз/нед значительно увеличивает мышечную и костную массу, мышечную силу и уменьшает или замедляет функциональные ограничения. Второй вариант лечения состоит из диеты, в частности оптимизации потребления белка, которая может оказывать анаболические эффекты как непосредственно, так и за счет усиления синтеза инсулиноподобного фактора роста IGF-I [43, 44], введения метаболита лейцина β -гидрокси- β -метилбутирата (который стимулирует синтез и уменьшает деградацию мышечных белков, улучшает функциональное восстановление после перелома бедра) [45] и лечения дефицита витамина D, который способствует здоровью как костей, так и мышц и снижает риск падения у пожилых людей [31]. Продолжается разработка фармакологических агентов, которые воздействуют как на костную, так и на мышечную ткани [27], но в настоящее время нет утвержденных лекарств, действующих на оба компонента мышечно-костного блока [31].

Распространенность низкой БМК у пациентов с переломами бедра согласуется с ассоциацией между низкой мышечной массой и остеопоротическими

переломами. Использование индексов БМК/рост² или БМК/ИМТ приводит к потере значимых ассоциаций с остеопорозом, несмотря на связь между БМК и МПК. Отношение БМК, но не МПК, к размеру тела может маскировать связь между мышечной и костной массой. Это важный момент, так как различные определения низкой БМК включают в себя индексирование по размеру тела, в то время как текущее определение низкой МПК — нет. Использование БМК в качестве меры мышечной массы позволяет избежать расхождений из-за индексации к размеру тела. Таким образом, ассоциация между низкой БМК и низкой МПК существенно зависит от принятого определения низкого уровня БМК при переломе бедра. Порог FNIN для БМК ($<19,75 \text{ кг}$) становится полезным инструментом при повреждении обоих тканевых компонентов костно-мышечного аппарата [31].

Клеточные технологии в терапии костных дефектов

Большие сегментарные дефекты в костях плохо заживают и остаются насущной клинической проблемой. Многие исследования посвящены решению этой проблемы с помощью подходов, основанных на механобиологии, тканевой инженерии, регенеративной медицине и генной терапии. У большинства костно-мышечных тканей взрослых отсутствует способность к регенерации, поэтому повреждение восстанавливается за счет фиброзной соединительной ткани, образующей рубец с низкими механическими, физиологическими и функциональными свойствами. Регенеративная медицина открыла возможность полного заживления поврежденных или дегенерировавших костно-мышечных тканей у пациентов с ограниченным потенциалом восстановления при таких состояниях, как (1) травмы, при которых для заживления используются растяжение мышц, растяжение связок, разрыв сухожилий; (2) нарушенное заживление травм, таких как остеохондральные дефекты и несросшиеся переломы костей; (3) травмы, которые имеют мало шансов на заживление, такие как объемная потеря мышечной ткани и сегментарные дефекты кости; (4) саркопения, остеопороз и остеоартрит.

К регенеративным методам лечения, которые в настоящее время используются или разрабатываются для этих состояний, относят введение стволовых клеток, клеток-предшественников или биологически активных молекул и имплантацию биоинженерных скаффолдов или тканей. После регенеративной терапии пациентам требуется реабилитация, чтобы

наилучшим образом использовать свою восстановленную анатомию и вновь обретенные способности. Одной из основных схем лечения, которую физиотерапевты используют для стимулирования заживления тканей, является механотерапия, которая в сочетании с регенеративной терапией дает аддитивные или даже синергические эффекты. В регенеративной реабилитации механотерапия активирует специфические биологические реакции в костно-мышечных тканях, усиливающие интеграцию, заживление и reparative способность имплантированных клеток, биоинженерных скаффолдов и тканей [1].

Поскольку мышца содержит остеогенные клетки-предшественники, способные к образованию кости, R. E. de la Vega и соавт. [46] изучили возможность ее использования для лечения крупных костных дефектов на модели дефекта оссификации у крысы. Заживление достигается путем введения аутологичных мышечных фрагментов, трансдуцированных аденовирусом, кодирующим человеческий остеогенный фактор BMP2 (Ad.BMP2). Однако неизвестно, способствуют ли остеопрогениторные клетки генетически модифицированной мышцы заживлению дефектов или просто служат локальным источником BMP2. Чтобы ответить на этот вопрос, в костные дефекты крыс имплантировали фрагменты мышц крыс, трансдуцированные аденовирусом Ad.BMP2. Имплантированные клетки сохранялись в пределах дефектов в течение всего эксперимента (8 нед.). В отсутствие костеобразования эти клетки представлены в виде фибробластов. Когда образовалась кость, клетки Ad.BMP2+ присутствовали в виде остеобластов и остеоцитов, а также среди эндотелиальных клеток новых кровеносных сосудов. Генетически модифицированная мышечная ткань, таким образом, вносит вклад в заживление дефекта, что имеет большое значение при проблемных переломах с обширным повреждением мягких тканей и дефиците эндогенных предшественников. Через 4 нед. после трансдукции выявлена повышенная экспрессия транскриптов, кодирующих щелочную фосфатазу, остеокальцин и ассоциированные с остеогенезом остеопонтин и транскрипционный фактор RUNX2, необходимый для дифференцировки остеобластов и хондроцитов [47]. Количество транскриптов, кодирующих человеческий BMP2, также было сильно увеличено, в то время как количество крысиной изоформы уменьшено [46].

Заживление контролировали с помощью еженедельной рентгенографии и оценивали как полное заполнение, если костный каллус заполнил весь

дефект, частичное заполнение, когда каллус присутствовал, но не заполнил дефект, или отсутствие заполнения, если через 8 нед. не было заметного каллуса. Полное заполнение наблюдалось у всех крыс, получавших рекомбинантный человеческий rhBMP2, что является надежным положительным контролем для этой модели. Гистологическое исследование подтвердило, что при частичном заполнении участки новой кости перемежались с фиброзной тканью, а дефекты, которые не смогли зарости, были заполнены фиброзной соединительной тканью. Замечены отдельные участки образования хрящевой ткани. В связанных мостиками островках вновь образовавшейся костной ткани наблюдалось восстановление компактного вещества и элементов костного мозга. Ни в одном из образцов не наблюдали признаков тяжелой воспалительной реакции [46].

В дефектах, которые не смогли сформировать новую кость, клетки идентифицированы как фибробластные клетки в неминерализованном матриксе соединительной ткани. В частично и полностью заполненных дефектах сформированная кость содержала смесь клеток донора и хозяина. Некоторые частично закрытые дефекты также содержали участки хряща с хондроцитами как хозяина, так и донора. Хондрогенезу эндогенных предшественников, возможно, способствовали нестабильные механические условия этих дефектов. Были видны области эндохондрального окостенения. Донорское происхождение имели 64% клеток в новой кости частично заполненных дефектов и 76% клеток в новой кости полностью заполненных дефектов. Идентичность клеток-предшественников в скелетных мышцах, которые образовали новую ткань в этом эксперименте, не исследована; это могли быть сателлитные клетки, МСК, стволовые клетки мышечного происхождения и эндотелиальные клетки кровеносных сосудов мышц [46].

Основная цель исследования R. E. De La Vega и соавт. [46] состояла в том, чтобы определить, новая кость в дефекте критического размера образовалась из клеток хозяина или донорских клеток и вносят ли экзогенные клетки-предшественники вклад в регенерацию ткани, формируя новую ткань посредством дифференцировки и интеграции, или же они служат временным источником паракринных факторов и затем исчезают. Последняя интерпретация стала более популярной. Однако полученные данные подтверждают, что донорские клетки, присутствующие в месте дефекта хозяина после имплантации генетически модифицированных мышечных дисков,

экспрессирующих BMP2, сохраняются независимо от того, образуют они кость или нет. В отсутствие достаточного остеогенного стимула имплантированные клетки сохранялись в виде фибробластов в фиброзной соединительной ткани. Когда образовалась кость, донорские клетки, по-видимому, дифференцировались в несколько различных типов клеток, включая остециты, остеобласты, хондроциты и эндотелиальные клетки, выстилающие новые кровеносные сосуды. Способность имплантированной ткани обеспечивать клетки-предшественники, которые дифференцируются в клетки репаративной ткани, является значительным преимуществом при заживлении дефектов, когда местные предшественники повреждены в результате травмы или, в случае резекции опухоли, — облучения [46]. Один из механизмов, посредством которого имплантаты генетически модифицированных мышц образуют костную ткань в месте костного дефекта, — эндохондральное окостенение. В некоторых случаях гипертрофические хондроциты дифференцируются в остеобласты, часть которых со временем становится остеоцитами [48]. R. E. de la Vega и соавт. решительно поддерживают этот постулат [46]. Описанная технология является перспективным способом восстановления костных дефектов, при которых истощается запас эндогенных остеогенных предшественников.

С быстрым прогрессом в понимании молекулярного патогенеза заболеваний человека в эпоху наук о геноме и системной биологии ожидается, что все большее количество терапевтических генов или мишеней станет доступным для таргетной терапии. Несмотря на многочисленные неудачи, сохраняется надежда на то, что генная и/или клеточная терапия революционизируют клиническую практику. Успешная инженерия костной ткани требует четырех ключевых компонентов: остеоиндукция, дифференцировка остеобластов, остеокондукция (способность материала играть роль пассивного матрикса для новой кости) и механическая стимуляция. Доклинические разработки в инженерии костной ткани сосредоточены на доставке факторов роста, необходимых для первых трех из этих компонентов. Среди доступных вирусных векторов аденовирус является наиболее эффективной системой доставки генов в широком диапазоне типов клеток и тканей. Аденовирусные векторы (AdV), несущие гены, которые кодируют остеоиндуктивные факторы роста, используются с этой целью главным образом потому, что в инженерии костной ткани транзиторная экспрессия бо-

лее предпочтительна, чем конститутивная. Усилия направлены на индукцию остеогенных факторов дифференцировки, которые облегчают оссификацию и способствуют интеграции с окружающей костной тканью: PDGF (platelet derived growth factor), FGF (fibroblast growth factor), IGF (insulin-like growth factor), EGF (epidermal growth factor), WNT (wingless-type family), ретиноевые кислоты, Notch (Notch receptor) и BMP (bone morphogenetic protein). По меньшей мере 15 BMP идентифицированы у людей и мышей. Остеогенные факторы BMP2, BMP6, BMP7 и BMP9 действуют на наиболее важные этапы в цикле формирования кости от остеобласта до остеоцита. BMP2 и BMP7 использовали в клинических испытаниях по применению в лечении переломов большеберцовой кости и несращения переломов позвоночника. Эта работа привела к одобрению Управлением по контролю качества пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration USA, FDA) рекомбинантного BMP7 для использования при несращении переломов длинных костей и переднем спондилодезе. BMP9 продемонстрировал более выраженную остеоиндукцию, чем другие BMP, в доклинических моделях. AdV-опосредованная экспрессия фактора SOX9 (SRX[sex-determining region Y]-box containing gene 9) значительно улучшает заживление межпозвоночных дегенеративных дисков в модели кролика [49].

Заключение

Изучение молекулярно-генетических основ механотрансдукции и механотерапии позволит идентифицировать гены и молекулы, уровни экспрессии которых могут служить биомаркерами эффективности регенеративно-реабилитационных мероприятий. Эти знания дадут возможность оптимизировать программы терапии, выбрать правильное направление упражнений и других реабилитационных воздействий, чтобы улучшить состояние пациентов, ускорить восстановление дефектов и травм и не нанести вред пациентам. Связь между механическими сигналами, механотрансдукцией и экспрессией генов только недавно стала объектом экспериментальных исследований. Регенеративная реабилитация может многое предложить в области ортопедии. Воздействие механических сил оказывает позитивное влияние на заживление и регенерацию. Для разработки программ реабилитации для конкретных пациентов необходима интеграция фундаментальных научных открытий, что-

бы расширять понимание механотерапии на тканевом, клеточном и молекулярном уровнях, что в конечном итоге приведет к улучшению результатов лечения пациентов. Однако точных данных для механической нагрузки на заживающую ткань с адекватной частотой, продолжительностью, величиной и типами нагрузок недостаточно для получения оптимального результата. Клеточный сигналинг и связь между физической нагрузкой и клеточными реакциями на неё все еще далеки от полной оценки. Знание этих основополагающих механизмов и их интеграция с регенеративной медициной позволит разработать оптимальные протоколы реабилитации для улучшения результатов лечения пациентов.

Источник финансирования

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source

This study was not supported by any external sources of funding.

Список литературы / References

1. Thompson WR, Scott A, Loghmani MT, et al. Understanding mechanobiology: physical therapists as a force in mechanotherapy and musculoskeletal regenerative rehabilitation. *Phys Ther.* 2016;96(4):560–569. doi: 10.2522/ptj.20150224
2. Chandra P, Lee SJ. Synthetic extracellular microenvironment for modulating stem cell behaviors. *Biomark Insights.* 2015;10(Suppl 1):105–116. doi: 10.4137/BMI.S20057
3. Dunn SL, Olmedo ML. Mechanotransduction: relevance to physical therapist practice—understanding our ability to affect genetic expression through mechanical forces. *Phys Ther.* 2016;96(5):712–721. doi: 10.2522/ptj.20150073
4. Dias RG, Silva MS, Duarte NE, et al. PBMCs express a transcriptome signature predictor of oxygen uptake responsiveness to endurance exercise training in men. *Physiol Genomics.* 2015;47(2):13–23. doi: 10.1152/physiolgenomics.00072.2014
5. Srinivasan PP, Parajuli A, Price C, et al. Inhibition of T-type voltage sensitive calcium channel reduces load-induced OA in mice and suppresses the catabolic effect of bone mechanical stress on chondrocytes. *PLoS One.* 2015;10(5):e0127290. doi: 10.1371/journal.pone.0127290
6. Metzger TA, Kreipke TC, Vaughan TJ, et al. The in situ mechanics of trabecular bone marrow: the potential for mechanobiological response. *J Biomech Eng.* 2015;137(1). doi: 10.1115/1.4028985
7. Glatt V, Evans CH, Tetsworth K. A Concert between biology and biomechanics: the influence of the mechanical environment on bone healing. *Front Physiol.* 2017;7:678. doi: 10.3389/fphys.2016.00678
8. Ruehle MA, Krishnan L, LaBelle SA, et al. Decorin-containing collagen hydrogels as dimensionally stable scaffolds to study the effects of compressive mechanical loading on angiogenesis. *MRS Commun.* 2017;7(3):466–471. doi: 10.1557/mrc.2017.54
9. Klosterhoff BS, Ghee Ong K, Krishnan L, et al. Wireless implantable sensor for noninvasive, longitudinal quantification of axial strain across rodent long bone defects. *J Biomech Eng.* 2017;139(11):111004. doi: 10.1115/1.4037937
10. Pobloth AM, Checa S, Razi H, et al. Mechanobiologically optimized 3D titanium-mesh scaffolds enhance bone regeneration in critical segmental defects in sheep. *Sci Transl Med.* 2018;10(423):eaam8828. doi: 10.1126/scitranslmed.aam8828
11. Gottardi R, Stoddart MJ. Regenerative rehabilitation of the musculoskeletal system. *J Am Acad Orthop Surg.* 2018; 26(15):e321–e323. doi: 10.5435/JAAOS-D-18-00220
12. Qin YX, Hu M. Mechanotransduction in musculoskeletal tissue regeneration: effects of fluid flow, loading, and cellarmolecular pathways. *Biomed Res Int.* 2014;2014: 86342. doi: 10.1155/2014/863421
13. Wang C, Shen J, Yukata K, et al. Transient gamma-secretase inhibition accelerates and enhances fracture repair likely via Notch signaling modulation. *Bone.* 2015;73:77–89. doi: 10.1016/j.bone.2014.12.007
14. Muguruma Y, Hozumi K, Warita H, et al. Maintenance of bone homeostasis by DLL1-mediated Notch

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution

All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

- signaling. *J Cell Physiol.* 2017;232(9):2569–2580. doi: 10.1002/jcp.25647
15. Adams DJ, Rowe DW, Ackert-Bicknell CL. Genetics of aging bone. *Mamm Genome.* 2016;27(7–8):367–380. doi: 10.1007/s00335-016-9650-y
16. Stolarczyk A, Sarzyńska S, Gondek A, Cudnoch-Jędrzejewska A. Influence of diabetes on tissue healing in orthopaedic injuries. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2018;45(7):619–627. doi: 10.1111/1440-1681.12939
17. Nielson CM, Liu CT, Smith AV et al. Novel genetic variants associated with increased vertebral volumetric BMD, reduced vertebral fracture risk, and increased expression of SLC1A3 and EPHB2. *J Bone Miner Res.* 2016;31(12):2085–2097. doi: 10.1002/jbmr.2913
18. Hsu YH, Kiel DP. Clinical review: Genome-wide association studies of skeletal phenotypes: what we have learned and where we are headed. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(10):E1958–1977. doi: 10.1210/jc.2012-1890
19. Glatt V, Evans CH, Stoddart MJ. Regenerative rehabilitation: The role of mechanotransduction in orthopaedic regenerative medicine. *J Orthop Res.* 2018;37(6):1263–1269. doi: 10.1002/jor.24205
20. Glatt V, Tepic S, Evans C. Reverse dynamization: a novel approach to bone healing. *J Am Acad Orthop Surg.* 2016a;24(7):e60–61. doi: 10.5435/JAAOS-D-16-00239
21. Glatt V, Bartnikowski N, Quirk N, et al. Reverse dynamization: influence of fixator stiffness on the mode and efficiency of large-bone-defect healing at different doses of rhBMP-2. *J Bone Joint Surg Am.* 2016;98(8):677–687. doi: 10.2106/JBJS.15.01027
22. Bartnikowski N, Claes LE, Koval L, et al. Modulation of fixation stiffness from flexible to stiff in a rat model of bone healing. *Acta Orthop.* 2017;88(2):217–222. doi: 10.1080/17453674.2016.1256940
23. Hirschfeld HP, Kinsella R, Duque G. Osteosarcopenia: where bone, muscle, and fat collide. *Osteoporos Int.* 2017;28(10):2781–2790. doi: 10.1007/s00198-017-4151-8
24. Hassan EB, Duque G. Osteosarcopenia: a new geriatric syndrome. *Aust Fam Physician.* 2018;6(11):849–853.
25. Kawao N, Kaji H. Interactions between muscle tissues and bone metabolism. *J Cell Biochem.* 2015;116(5):687–695. doi: 10.1002/jcb.25040
26. Urano T, Inoue S. Recent genetic discoveries in osteoporosis, sarcopenia and obesity. *Endocr J.* 2015;62(6):475–484. doi: 10.1507/endocrj.EJ15-0154
27. Maurel DB, Jahn K, Lara-Castillo N. Muscle-bone crosstalk: emerging opportunities for novel therapeutic approaches to treat musculoskeletal pathologies. *Biomedicines.* 2017;5(4):E62. doi: 10.3390/biomedicines5040062
28. Yoshimura N, Muraki S, Oka H, et al. Is osteoporosis a predictor for future sarcopenia or vice versa? Four-year observations between the second and third ROAD study surveys. *Osteoporos Int.* 2017;28(1):189–199. doi: 10.1007/s00198-016-3823-0
29. Pasco JA, Mohebbi M, Holloway KL, et al. Musculoskeletal decline and mortality: prospective data from the Geelong Osteoporosis Study. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2017;8(3):482–489. doi: 10.1002/jcsm.12177
30. Beaudart C, Biver E, Bruyere O, et al. Quality of life assessment in musculo-skeletal health. *Aging Clin Exp Res.* 2018;30(5):413–418. doi: 10.1007/s40520-017-0794-8
31. Di Monaco M, Castiglioni C, Milano E, Massazza G. Is there a definition of low lean mass that captures the associated low bone mineral density? A cross-sectional study of 80 men with hip fracture. *Aging Clin Exp Res.* 2018;30(12):1429–1435. doi: 10.1007/s40520-018-1058-y
32. Churilov I, Churilov L, MacIsaac RJ, Ekinici EI. Systematic review and meta-analysis of prevalence of sarcopenia in post-acute inpatient rehabilitation. *Osteoporos Int.* 2018;29(4):805–812. doi: 10.1007/s00198-018-4381-4
33. Yoo JI, Ha YC, Kwon HB, et al. High prevalence of sarcopenia in Korean patients after hip fracture: a case-control study. *J Korean Med Sci.* 2016;31(9):1479–1484. doi: 10.3346/jkms.2016.31.9.1479
34. Di Monaco M, Castiglioni C, Di Monaco R, Tappero R. Association between low lean mass and low bone mineral density in 653 women with hip fracture: does the definition of low lean mass matter? *Aging Clin Exp Res.* 2017;29(6):1271–1276. doi: 10.1007/s40520-017-0724-9
35. Studenski SA, Peters KW, Alley DE, et al. The FNIH sarcopenia project: rationale, study description, conference recommendations, and final estimates. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2014;69(5):547–558. doi: 10.1093/gerona/glu010
36. Drey M, Sieber CC, Bertsch T, et al. FiAT intervention group. Osteosarcopenia is more than sarcopenia and osteopenia alone. *Aging Clin Exp Res.* 2016;28(5):895–899. doi: 10.1007/s40520-015-0494-1
37. Wang YJ, Wang Y, Zhan JK, et al. Sarco-osteoporosis: prevalence and association with frailty in Chinese Community-dwelling older adults. *Int J Endocrinol.* 2015;2015:482940. doi: 10.1155/2015/482940
38. Chalhoub D, Cawthon PM, Ensrud KE, et al. Risk of non-spine fractures in older adults with sarcopenia, low bone mass, or both. *J Am Geriatr Soc.* 2015;63(9):1733–1740. doi: 10.1111/jgs.13605
39. Di Monaco M, Castiglioni C, Di Carlo S. Lean mass and functional recovery in men with hip fracture: a short-term prospective pilot study. *Am J Phys Med Rehabil.* 2018;97(6):401–406. doi: 10.1097/PHM.0000000000000875
40. Yoo JI, Kim H, Ha YC, et al. Osteosarcopenia in patients with hip fracture is related with high mortality. *J Korean Med Sci.* 2018;33(4):e27. doi: 10.3346/jkms.2018.33.e27
41. Steihaug OM, Gjesdal CG, Bogen B, et al. Does sarcopenia predict change in mobility after hip fracture? A multicenter observational study with one-year follow-up. *BMC Geriatr.* 2018;18(1):65. doi: 10.1186/s12877-018-0755-x
42. Landi F, Calvani R, Ortolani E, et al. The association between sarcopenia and functional outcomes among older patients with hip fracture undergoing in-hospital rehabilitation. *Osteoporos Int.* 2017;28(5):1569–1576. doi: 10.1007/s00198-017-3929-z
43. Martone AM, Marzetti E, Calvani R, et al. Exercise and protein intake: a synergistic approach against sarcopenia. *Biomed Res Int.* 2017;2017:2672435. doi: 10.1155/2017/2672435

44. Lozano-Montoya I, Correa-Perez A, Abraha I, et al. Non-pharmacological interventions to treat physical frailty and sarcopenia in older patients: a systematic overview — the SENATOR Project ONTOP Series. *Clin Interv Aging*. 2017;12:721–740. doi: 10.2147/CIA.S132496
45. Malafarina V, Uriz-Otano F, Malafarina C, et al. Effectiveness of nutritional supplementation on sarcopenia and recovery in hip fracture patients. A multi-centre randomized trial. *Maturitas*. 2017;101:42–50. doi: 10.1016/j.maturitas.2017.04.010
46. De La Vega RE, De Padilla CL, Trujillo M, et al. Contribution of implanted, genetically modified muscle progenitor cells expressing BMP-2 to new bone formation in a rat osseous defect. *Mol Ther*. 2018;26(1):208–218. doi: 10.1016/j.ymthe.2017.10.001
47. Komori T. Runx2, an inducer of osteoblast and chondrocyte differentiation. *Histochem Cell Biol*. 2018;149(4):313–323. doi: 10.1007/s00418-018-1640-6
48. Hu DP, Ferro F, Yang F, et al. Cartilage to bone transformation during fracture healing is coordinated by the invading vasculature and induction of the core pluripotency genes. *Development*. 2017;144(2):221–234. doi: 10.1242/dev.130807
49. Lee CS, Bishop ES, Zhang R, et al. Adenovirus-mediated gene delivery: potential applications for gene and cell-based therapies in the new era of personalized medicine. *Genes Dis*. 2017;4(2):43–63. doi: 10.1016/j.gendis.2017.04.001

Информация об авторах

Макаренко Станислав Вячеславович [Stanislav V. Makarenko, MD]; адрес: Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9 [address: 7/9 Universitetskaya Embankment, 199034, Saint Petersburg, Russia]; e-mail: st.makarenko@gmail.com; eLibrary SPIN: 8114-3984

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1595-6668>

Голота Александр Сергеевич, к.м.н., доцент [Alexander S. Golota, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor]; e-mail: golotaa@yahoo.com; eLibrary SPIN: 7234-7870

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5632-3963>

Щербак Сергей Григорьевич, д.м.н., профессор [Sergey G. Scherbak, Dr. Sci. (Med.), Professor]; e-mail: b40@zdrav.spb.ru; eLibrary SPIN: 1537-9822

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5047-2792>

Камилова Татьяна Аскарровна, к.б.н. [Tatyana A. Kamilova, Cand. Sci. (Biol.)]; e-mail: kamilovaspb@mail.ru; eLibrary SPIN: 2922-4404

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6360-132X>