

Роль вітаміну D у функціонуванні кісткових клітин

Н.В. Дєдх, Н.В. Григор'єва

ДУ «Інститут геронтології імені Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», Київ;
e-mail: dedukh_ninel@ukr.net

У огляді узагальнено сучасні літературні дані щодо значення вітаміну D у функціонуванні кісткових клітин. Проведено аналітичний пошук у базах даних PubMed, MEDLINE, Embase, Scopus та Web of Science з 1.01.2018 до 01.06.2023. У регуляції мінерального гомеостазу та метаболізму кісток важливу роль відіграє метаболіт вітаміну D – $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Він чинить катаболічну та анаболічну дію на остеобласти, остеоцити та зрілі остеокласти. Нині підтверджено наявність прямих та опосередкованих ефектів $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ на функцію мезенхімальних стромальних клітин (МСК), остеобластів, остеоцитів та остеокластів. Серед мішеней дії вітаміну D у кісткових клітинах розглядають його рецептор (VDR) і цитохром P450 сімейства 27 субсімейства В член 1 (CYP27B1). У остеобластах та МСК з нокаутом CYP27B1 порушується проліферація та диференціювання клітин, в остеокластах підвищується резорбційна активність та тривалість життя клітин. Відзначено важливість VDR у кісткових клітинах на моделях здорових та VDR-нокаутних тварин. У статті проаналізовано взаємозв'язок передачі сигналу $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ –VDR кістковими клітинами залежно від вмісту кальцію. В остеоцитах, як і в остеобластах $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ регулює експресію RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand), додатково в остеоцитах – FGF-23. У контролі біологічної активності $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ на кісткові клітини доведено взаємодію багатьох інших факторів. Таким чином, дія вітаміну D на кісткові клітини знаходиться у фазі активних досліджень, потребує поглибленого вивчення щодо особливостей його аутокринних та паракринних ефектів. Визначення молекулярних ланок механізму впливу $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ на метаболізм кісток забезпечить фундаментальну основу для підходів лікування захворювань, пов'язаних з дефіцитом вітаміну D.
Ключові слова: вітамін D; $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; рецептор вітаміну D (VDR); CYP27B1; CYP24A1; мезенхімальна стромальна клітина; остеобласт; остеоцит; остеокласт.

ВСТУП

Кісткова тканина – унікальна система організму, здатна до самооновлення, зазнає низки важливих трансформацій залежно від періоду життя людини. Вона забезпечує формування скелета й підтримку процесу його життєдіяльності: ріст і розвиток через ремоделювання залежно від дії різних факторів (навантаження, негативні зовнішні та внутрішні чинники тощо), фізіологічну й репаративну регенерацію, яка є унікальною для кістки та завершується відновленням вихідної кісткової структури [1]. Усі ці процеси тісно пов'язані з клітинами кісткової тканини, а саме, остеобластами, які її формують, остеоцитами – що підтримують кісткову

структуру й метаболізм, і остеокластами – які руйнують (резорбують) кісткову тканину. Синхронна функціональна діяльність цих клітин є важливим компонентом у забезпеченні міцності скелета.

Серед факторів, що впливають на структурно-функціональний стан клітин кісткової тканини, виділяють генетичні чинники. RUNX2 впливає на активність генів, пов'язаних з остеобластами, таких як α -1 ланцюг колагену I типу (Col1A1), лужна фосфатаза, кістковий сіалопротейн, остеокальцин, остеопонтин тощо [2]. Крім того, процес ремоделювання кісткової тканини суворо контролюється взаємодією системних (ендокринних, гуморальних та ін.) та локальних (паракринних і аутокринних) факторів,

зокрема, синтезом цитокінів, хемокінів, факторів росту тощо [3]. Нині до цих чинників відносять і вітамін D, який реалізує свою дію в організмі людини у вигляді активного метаболіту – $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (кальцитріол) [4–6]. До «класичних», скелетних ефектів вітаміну D відносять підтримку кальцій-фосфатного гомеостазу через вплив на абсорбцію та екскрецію вищезазначених мінеральних елементів у шлунково-кишковому тракці, нирках та регуляцію функціонування прищитоподібних залоз. Крім регуляції кальцієвого та фосфатного гомеостазу вітамін D впливає на клітинну проліферацію та диференціацію, детоксикацію ксенобіотиків, має нейропротекторні функції та важливі ефекти для серцево-судинної, м'язової систем, сприяє зниженню оксидативного стресу, чинить антимікробну, протизапальну та протиракову дію, бере участь в імунорегуляції тощо [6–9]. Вітамін D стимулює регенерацію кістки та остеоінтеграцію імплантатів [10–12].

Ще в минулому столітті були виявлені рецептори (VDR) до активного метаболіту вітаміну D у клітинах кісткової тканини, що підтверджує прямий його ефект. Нині доведено, що вітамін D через VDR безпосередньо впливає на епігеном і транскриптом клітин [13]. Проведені останніми десятиліттями дослідження дають змогу детальніше зрозуміти роль вітаміну D у життєдіяльності клітин кісткової тканини [3,4,14], узагальнення цих відомостей обмежені, що і стало підставою для нашого аналізу.

Мета нашої роботи – на основі ретельного систематичного аналізу сучасних літературних джерел проаналізувати й узагальнити дані щодо ролі вітаміну D у функціонуванні кісткової тканини.

Задля виявлення існуючих потенційно важливих досліджень нами проведено систематичний аналітичний пошук у базах даних PubMed, MEDLINE, Embase, Scopus та Web of Science з 1.01.2018 до 01.06.2023. Пошук здійснювали за ключовими словами: «вітамін

D», « $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ », «рецептор вітаміну D (VDR)», «CYP27B1», «CYP24A1», «мезенхімальна стромальна клітина», «остеобласт», «остеоцит», «остеокласт». В аналіз включали статті та англomовні резюме, опубліковані на момент завершення літературного пошуку. Зі списку літератури не виключали праці, які містили значущі для аналізу публікації, проте були опубліковані до початку літературного пошуку.

Згідно з існуючими сучасними уявленнями, цикл кісткового ремоделювання полягає у зміні його основних фаз: після резорбції кістки остеокластами, за допомогою остеобластів формується остеоїд, який надалі мінералізується й утворюється нова кісткова тканина. Цей процес жорстко контролюється ендокринними факторами, серед яких активний метаболіт вітаміну D_3 – $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – важливий для життєдіяльності та мінералізації кісткової тканини, може діяти опосередковано або прямо. Непряма дія на клітини кісткової тканини відбувається через вплив на кальцій-фосфорний гомеостаз, а саме контроль всмоктування кальцію в кишечнику після активації VDR та реабсорбції кальцію в нирках, а також контролю біосинтезу паратгормону (ПТГ) [6]. Відзначено, що преостеобласти, остеобласти, остеоцити та остеокласти експресують VDR [14].

Біологічна дія $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ реалізується в кісткових клітинах геномними та негеномними шляхами [15,16]. У геномному шляху $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -VDR утворює гетеродимерний комплекс із ретиноїд-Х-рецептором (RXR), який транслокується в ядро, де зв'язується з елементами відповіді на вітамін D (VDRE) і ініціює транскрипцію мішеней, таких як CDKN1A, C-MYC, CDH1 і Cytochrome P450 Family 24 Subfamily A Member 1 (CYP24A1) тощо, котрі впливають на відповідь клітин [15]. Класично, вітамін D у синергізмі з ПТГ і фактором росту фібробластів 23 (FGF23), який експресують остеоцити, регулює кальцій-фосфатний гомеостаз, від балансу якого залежить функціонування кісткових клітин.

Ефекти та механізми дії вітаміну D на

кісткові клітини передбачають також аутокринну та паракринну регуляцію [17]. Прояви дії вітаміну D залежать від кількох факторів: наявності VDR, білків-коактиваторів/репресорів, які регулюють транскрипцію та експресії генів CYP27B1 (Cytochrome P450 Family 27 Subfamily B Member 1) і CYP24A1, здатності метаболізувати й синтезувати клітинами активну форму $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [7,18].

Відомо, що системний дефіцит $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ або VDR, або мутації у рецепторі, призводять до прискорення темпів обміну кісткової тканини й можуть бути пов'язані з дефектами кісток, такими як рахіт й остеомалаяція, що супроводжується зниженням мінеральної щільності кістки, підвищеним ризиком падінь та переломів [14]. Мутація гена CYP27B1 призводить до зниження активності ферменту 1α -гідроксилази та порушення метаболізму вітаміну D, що сприяє розвитку автосомно-рецесивного захворювання – рахіту типу 1A.

Наслідки передачі сигналу $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ –VDR кістковими клітинами значною мірою пов'язані з кальцієм [19]. При позитивному балансі $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ стимулює всмоктування кальцію в кишечнику, що опосередковано впливає на його надходження до кісток. Однак за наявності негативного балансу кальцію в сироватці крові у разі обмеження надходження його з їжею та кишкової активності VDR, порушення передачі сигналів комплексу $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ –VDR, що відповідає за біологічні дії вітаміну D, посилює резорбцію кісткової тканини та погіршує мінералізацію остеоїду.

Плейотропна дія вітаміну D на проліферацію та диференціювання остеобластів і остеоцитів, а також клітин позаскелетного походження – остеокластів, які тісно пов'язані з життєдіяльністю кісткової тканини та іншими кістковими клітинами, потребує дослідження та обґрунтування.

Вплив вітаміну D на остеобласти

Найбільш дослідженою клітиною кісткової тканини, на яку впливає вітамін D, є остео-

бласт. Їх попередники знаходяться на періостальній поверхні, кісткових трабекулах та в кістковому мозку. Від мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) кісткового мозку, після їхньої проліферації та диференціювання в остеогенному напрямку, формуються преостеобласти, які далі диференціюються в остеобласти, а після оточення мінералізованим кістковим матриксом стають остеоцитами.

Вітамін D безпосередньо впливає на МСК. Нині продемонстровано, що стовбурові клітини, отримані з букального жирового тіла (BFPPSC) і вирощені на каркасах з включенням 0,5 та 2% вітаміну D, підтримували клітинну адгезію та біосинтез лужної фосфатази, впливаючи на їхню остеоіндуктивність [20].

Ключовими сигнальними молекулами, залученими до диференціації МСК у остеобласти, є фактор транскрипції RUNX2, який регулює такі гени, як Col1A1, лужної фосфатази, кісткового сіалопротеїну та остеокальцину, а також інші транскрипційні фактори, включаючи Ihh (Indian Hedgehog), кісткові морфогенетичні білки (BMP), інсуліноподібний фактор росту (IGF), сигнальний шлях WNT(Wingless)/ β -катенін тощо [1, 2, 21].

Значний вплив на диференціювання МСК у остеобласти та різні функціональні особливості остеобластів, а саме: як диференціація, проліферація та експресія специфічних білків і факторів росту, чинить вітамін D і його метаболіти [20, 22, 23]. Активна форма вітаміну D $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ після зв'язування з VDR підвищує експресію генів маркерів остеобластогенезу: колагену I типу, лужної фосфатази, матричного білка Gla, остеопонтину, кісткового сіалопротеїну та остеокальцину [24].

В експериментальних умовах у культурах МСК людини та остеобластах проведено порівняльний аналіз дії вітаміну D (холекальциферол, $25(\text{OH})\text{D}_3$) і його активного метаболіту ($1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$). Встановлено, що під їхньою дією експресія гена RUNX2, плюрипотентних маркерів NANOG, SOX2

і Oost4 посилюється в МСК людини, що свідчить про диференціювання цих клітин в остеогенному напрямку та відзначається накопиченням кальцію в позаклітинному матриксі [25, 26]. Доведено зміну морфології МСК людини у бік остеобластичного фенотипу та підвищення продукції маркерів остеобластів – лужної фосфатази, остеопонтину та остеокальцину. Також висловлено припущення, що контроль енергетичного метаболізму може бути мішенню вітаміну D у формуванні кісткової тканини та її мінералізації [26].

В ядрі остеобластів існує класичний VDR, також остеобласти експресують рецептор, локалізований на мембрані [17, 26, 27]. Зв'язок $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ з VDR забезпечує пряму регуляторну дію на остеобласти, а ферменти 1α -гідроксилази (CYP27B1) і 24-гідроксилази (CYP24A1) сприяють внутрішньоклітинному перетворенню вітаміну D у $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ і $24\text{R},25(\text{OH})_2\text{D}_3$, залежно від дози. Наявність 25-гідроксилази, 1α -гідроксилази і 24-гідроксилази доведено також у МСК, що диференціюються в остеобластичному напрямку [26, 28]. Їх вважають важливими для проліферації та остеогенної диференціації МСК у остеобласти [22, 25].

Диференціюванню остеобластів з МСК також додатково сприяє IGF-I, підсилюючи експресію гена CYP27B1, що стимулює внутрішньоклітинний синтез $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Експресія іншого ферменту – CYP24A1 – в остеобластах збільшується після зв'язування $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ із VDR. Вміст останнього тісно пов'язаний з індукцією експресії гена CYP24A1 та активністю 24-гідроксилази та, як наслідок, розпадом $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

Таким чином, дія вітаміну D поширюється від ендокринної регуляції гомеостазу кальцію та фосфату до ауто- та паракринної регуляції метаболізму в кістці [17]. Експресія в остеобластах VDR та CYP27B1 регулюється не тільки $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, а й іншими факторами, зокрема ПТГ, глюкокортикоїдами, трансформуючим фактором росту β та епі-

дермальним фактором росту [17].

Для порівняння дії фрагмента ПТГ (PTH1-34, 100 нмоль) і $25(\text{OH})\text{D}_3$ (100 нмоль) на МСК, отриманих від людини літнього віку, в експерименті *in vitro* відзначено, що диференціювання остеобластів було підвищено на 170% при використанні PTH1-34 і на 280% – $25(\text{OH})\text{D}_3$, але при їхньому поєднанні цей показник підвищувався до 650%. Синергічний ефект автори пов'язують з активацією гена CYP27B1, але, крім того, ПТГ підсилював експресію VDR, а $25(\text{OH})\text{D}_3$ – рецептор паратгормону 1 (parathyroid hormone receptor 1, PTHR1) [29].

Доведено, що токсична доза $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (5 мкг/кг маси тіла за добу протягом 4 діб) по-різному впливає на метаболізм. Через дію на VDR остеобластів підвищувалися концентрації кальцію, FGF-23 та C-кінцевого телопептиду колагену I типу (CTX-1) у сироватці крові, кількість остеокластів та темпи резорбції кісткової тканини [30]. Однак у мишей з остеобластами, нокаутними за VDR, не виявлено $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -індукованого збільшення цих параметрів, й зроблено висновок, що прорезорбтивна роль $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ реалізується через VDR у клітинах лінії остеобластів *in vitro* та *in vivo*. У культурах остеобластів було показано, що $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ може чинити анаболічну або катаболічну дії, котрі, ймовірно, є функцією як концентрації циркулюючого $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, а також залежать від стадії диференціювання остеобластів [31]. Проявами його анаболічної дії є збільшення експресії мікроРНК остеокальцину та кісткового сіалопротеїну-1, які беруть участь у диференціюванні остеобластів та мінералізації кісткового матриксу [32].

Наявність складного механізму, котрий чітко регулює гомеостаз іонів кальцію (Ca^{2+}) у сироватці крові та транспорт, ускладнює визначення прямої дії активованого VDR на функціонування остеобластів. Це спонукає до проведення досліджень у різних експериментальних умовах: у культурі

клітин, на нокаутних мишах з селективним блокуванням рецепторів VDR у остеобластах та іншими шляхами [19]. Крім того, взаємодія $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -VDR збільшує експресію білка, пов'язаного з рецептором ліпопротеїну низької щільності (low density lipoprotein receptor-related protein, LRP5), і впливає на регуляцію канонічного шляху Wnt у остеобластах, сприяючи посиленню кісткоутворенню [33].

У культурі клітин відзначено, що не тільки метаболіт вітаміну D – $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, але й $24\text{R},25(\text{OH})_2\text{D}_3$ може прямо чи опосередковано стимулювати диференціювання остеобластів підвищенням вмісту мікроРНК лужної фосфатази, остеокальцину, остеопонтину та CYP27B1 [34]. Також доведено, що $25(\text{OH})\text{D}_3$ (холекальциферол, $25(\text{OH})\text{D}_3$) (100–200 нмоль/л) може індукувати ранню та більш пізню диференціацію остеобластів та біомінералізацію [35, 36]. У спільній культурі остеобластів з остеокластами, яких вирощували на матрицях з гідроксилапатиту, насиченого $25(\text{OH})\text{D}_3$, виявлено, що остеобласти щільно покривали поверхню матриці та мали характерну організацію для здорових клітин порівняно з контрольними культурами клітин без вітаміну D [37].

Важливою функцією остеобластів є мінералізація позаклітинного матриксу, в якому $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ чинить як пряму, так і опосередковану дію. Прямий ефект здійснюється через VDR остеобластів, однак кінцевий результат залежить від наявності інших факторів: зрілості остеобластів, дози та видових відмінностей. Доведено, що $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ стимулює в остеобластах людини та щурів біосинтез молекул, що беруть участь у мінералізації. У культурі остеобластів $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ сприяє формуванню вузликів мінералізації через підвищення вмісту мРНК білків C/EBP β (enhancer binding protein β) і DKK1 (Dickkopf 1; антагоніста сигнального шляху Wnt β -катенін), при цьому блокування DKK1 послаблює утворення вузликів остеобластами, але не активність

лужної фосфатази чи синтез колагену [23]. Таким чином, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ впливає на мінералізацію кісток. В остеобластах він змінює експресію низки різних генів залежно від етапів мінералізації кісткової тканини.

Дослідження в культурі клітин розширюють знання щодо впливу $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ на остеобласти, однак цілком не відображають дію вітаміну D на ці клітини, тоді як в організмі людини або тварин можуть бути й інші фактори, які впливають на цей процес, серед яких відзначають баланс кальцію. У зв'язку з цим, додаткову інформацію отримують у експериментах на нокаутних VDR-тваринах при нормальних значеннях вмісту кальцію в сироватці крові чи при його зниженні.

На моделі трансгенних мишей виявлено, що при позитивному балансі кальцію та фосфору після інактивації VDR у клітинах-попередниках або в зрілих остеобластах зберігається нормальний рівень мінералізації та кістковий гомеостаз, що призводить до збільшення кісткової маси тварин [19]. Аналогічні процеси спостерігаються при підвищеній експресії VDR у зрілих остеобластах.

В іншому дослідженні на нокаутних мишах з інактивацією VDR у клітинах кишечника та зрілих остеобластах вивчали вплив дефіциту кальцію на кістки [38]. Автори встановили, що зниження кишкового всмоктування кальцію в мишей з VDR-нокаутом призвело до зменшення вмісту кальцію в скелеті задля забезпечення нормального його значення в сироватці. Крім того, підвищення вмісту $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у цих умовах призводило до розвитку остеопенії пригніченням мінералізації кісткового матриксу. Ці дані свідчать про важливість вмісту кальцію в сироватці крові, який має певний пріоритет для підтримки цілісності скелета, і що задля мінімізації його накопичення в скелеті, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ не тільки збільшує вивільнення кальцію з кістки, але і пригнічує акумулювання в кістку. Під впливом вітаміну D знижується загальна кількість остеобластів та експресія ними

RANKL. Вищезазначені зміни призводять до пригнічення темпів резорбції кісткової тканини [30].

Вітамін D та остеоцити

Остеобласти після оточення мінералізованим матриксом перетворюються в остеоцити, які є найчисленнішими клітинами кісткової тканини. Вони розташовуються в лакунах, мають розгалужені відростки, котрі проходять через каналці. Канальцево-лакунарна мережа заповнена рідиною, через яку остеоцити забезпечуються киснем, поживними та регуляторними (вітамін D, паратгормон тощо) речовинами. Розвинуті відростки остеоцитів зв'язують клітини між собою, з остеобластами на поверхні кісткових трабекул, а також з судинною сіткою. Вони особливо чутливі до тиску рідини, тому їх розглядають як систему, що реагує на навантаження та координує ремоделювання кістки. Але крім того, вони виконують ендокринну функцію, як частина регуляторної мережі гомеостазу кальцію та фосфатів [39]. Їх відносять до основних регуляторів гомеостазу та ремоделювання кістки різними шляхами – через регуляцію склеростину (продукту гена SOST), потужного інгібітора сигнального шляху Wnt і BMP2, продукції цитокіну RANKL, який необхідний для остеокластогенезу та активації сигнального шляху RANKL–RANK [40]. Ці клітини секретують також інші фактори, що спричинюють інгібування активності остеокластів – оксид азоту та остеопротегерину (OPG).

Остеоцити є головним джерелом експресії фактора росту фібробластів-23 (FGF-23), котрий контролює гомеостаз фосфату і продукція якого значно підвищується при рахіті та хронічній нирковій недостатності. Одним із найважливіших ендокринних регуляторів продукції FGF-23 є $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Між FGF-23 і вітаміном D існує контррегуляція: $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ індукує кістковий синтез і сприяє вивільненню

FGF-23, який може пригнічувати синтез $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ впливаючи на інгібування синтезу 1α -гідроксилази [41].

Доведено, що на дію $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ остеоцити відповідають підсиленням індукції FGF-23, який кодує фосфатрегулюючий гормон і дентиновий матричний білок 1 (DMP-1) [42, 43]. Ці молекули діють як інгібітори мінералізації. Вітамін D знижує вміст PHEX (фосфатрегулюючу нейтральну X-зв'язану ендопептидазу), яка пригнічує транскрипцію FGF-23. Це підкреслює важливу роль передачі сигналів вітаміну D в остеоцитах [42].

Формування кісток також частково регулюється остеоцитами під контролем $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, який пригнічує або посилює мінералізацію залежно від умов [44]. Доведено, що $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ діє безпосередньо на остеоцити, регулюючи перилакунарне ремоделювання та канальцеву організацію. Досліджували вплив $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ на канальцево-лакунарну систему остеоцитів мишей, у яких був відсутній VDR. В цих умовах $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ сприяв збільшенню лакун остеоцитів та підвищував вміст катепсину K – важливого маркера резорбції кісткової тканини [45]. Також встановлено зміни вмісту РНК, виділеної з кісток мишей, які свідчили про посилену експресію остеокластами генів резорбції кістки (Ctsk, Acp5, Atp6v0d2, Nhedc2). Обробка остеоцитів $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ пригнічувала експресію цих генів [45].

Порівнювали особливості показників кальцієвого гомеостазу в кишково- та остеоцитспецифічних VDR-нокаутних мишах [46]. Було підтверджено, що стимуляція $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ кишкового транспорту кальцію в умовах нормального споживання важлива, однак при його порушенні фізіологічний вміст $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ негативно впливає на кістки. У мишей з відсутністю VDR (видалені за допомогою абляції), які отримували дієту, збагачену кальцієм, фосфором і лактозою, не виявлено змін мінеральної щільності кісткової тканини в різні вікові періоди

життя. Це вказує на складний механізм дії вітаміну D у різних умовах балансу вмісту фосфатів і кальцію.

Крім того, нині існують дані, що низький вміст вітаміну D або експресії VDR в остеоцитах може призвести до їх загибелі [47]. Це порушує функціональну гармонію клітин кісткової тканини. Остеоцити, як і остеобласти, також продукують CYP27B1, який впливає на функцію $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. З'ясування його ролі у метаболізмі остеоцитів потребує подальших досліджень [48].

Вплив вітаміну D на остеокласти

Остеокласти – багатоядерні гігантські клітини, які утворюються з гемопоетичних стовбурових клітин – моноцитів і макрофагів, або зі зрілих тканинних макрофагів за наявності основних молекулярних факторів: RANKL, цитокінів сімейства фактора некрозу пухлини (TNF) і макрофаг/моноцит колонієстимулюючого фактора (M-CSF).

Важливу роль у формуванні й активації остеокластів відіграють остеобласти та остеоцити, які продукують RANKL, що активує RANK остеобластів, призводить до стимуляції утворення клітин-попередників остеокластів, викликає активацію зрілих остеокластів, а також впливає на темпи мінералізації кісткової тканини. Пригнічує остеокластогенез OPG, діючи як рецептор-пастка для RANKL у сигнальному шляху RANK/RANKL/OPG [49]. Як результат, співвідношення RANKL/OPG є одним з найважливіших у ремоделюванні кісткової тканини [50]. Як і на остеобласти, вітамін D чинить катаболічну та анаболічну дію на остеокласти. В умовах змодельованого дефіциту вітаміну D у щурів на тлі його зниження в сироватці крові відзначено й зниження вмісту RANKL і співвідношення RANKL/OPG [51].

Було вивчено вплив $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ при дії двох цитокінів – RANKL і M-CSF, які індукували мишачі макрофагальні клітини лінії RAW 264.7 до утворення остеокластів

[52]. Через 24 год після введення $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (концентрація 10^{-8} моль/л) підвищувалася експресія гена ядерного фактора активатора T-клітин 1 (nuclear factor-activated T cells c1, NFATc1) і гена c-Fos. Протягом 48 год рівень експресії специфічних для остеокластів білків, необхідних для резорбції кісткової тканини, інтегрину $\alpha\text{v}\beta3$, H^+ -АТФази вакуолярного типу (V-АТФази), карбонової ангідрази II (CAII), катепсину K (CTSK), тартрат-резистентної кислоти фосфатази (TRAP) і матричної металопротеїнази-9 (MMP-9), значно підвищився. Кількість утворених остеокластів та резорбція кісткової тканини посилювалися додаванням $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Таким чином, підтверджено, що $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ може регулювати метаболізм кісткової тканини, доповнюючи дію RANKL та M-CSF безпосереднім посиленням утворення та дозрівання остеокластів.

Продемонстровано наявність ще одного механізму активації диференціювання остеокластів через регулювання гомеостазу Ca^{2+} підвищенням ними експресії білка кальцієвого каналу TRPV5 (Transient receptor potential cation channel subfamily V member 5) [53]. В остеокластах *in vitro* після введення $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (10 нмоль/л) значно знижується експресія цього білка та диференціація. Однак пригнічення TRPV5 вітаміном D відбувається тільки у перші дві доби, тобто на ранній стадії диференціювання остеокластів.

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ здійснює локальний контроль ремоделювання та мінералізації кісткової тканини через стимуляцію або пригнічення експресії остеобластами та остеоцитами RANKL та експресії генів RUNX2 і PHEX (phosphate-regulating endopeptidase homolog X-linked), впливає на остеокластичну резорбцію кістки індукцією FGF-23 і факторів транскрипції SPP1, BGLP, LRP5, ANK1, ENPP1, TNAP [54].

Дію $25(\text{OH})\text{D}_3$ на активність остеокластів продемонстровано в умовах культивування клітин на матриці з гідроксилапатиту. Порівняно з контролем у матриці виявлено незначну

кількість резорбційних порожнин при дії вітаміну D, що вказує на зниження активності остеокластів [37]. У іншому дослідженні, в якому остеокласти культивували на поверхні зрізів дентину, також виявлено, що у разі дії $25(\text{OH})\text{D}_3$ зменшується об'єм та глибина лакун резорбції, виявлених за допомогою тримірних зображень кістки. Таким чином, встановлено зниження резорбтивної активності остеокластів, частково зміною їх поверхневої адгезії та рухової активності [55].

Зрілі остеокласти синтезують значно більше $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у відповідь на певний вміст $25(\text{OH})\text{D}_3$, ніж незрілі клітини. У культурі остеокластів, стимульованих 50 нг/мл M-CSF і RANKL, кальцитріол пригнічував здатність до злиття TRAP-позитивних диференційованих остеокластів залежно від дози (1, 10 і 100 нг) з найбільшим ефектом у дозі 100 нг [56].

Серед мішеней дії вітаміну D у остеокластах, як і остеобластах та в остеоцитах, розглядають VDR і CYP27B1 [57]. Остеокласти, отримані з мононуклеарних клітин периферичної крові людини, експресують VDR та CYP27B1 і це підтверджує, що вони мають молекулярний механізм реагування на $25(\text{OH})\text{D}_3$ та впливають на його метаболізм у клітині [58]. Однак незважаючи на це, їх внесок у регуляцію диференціації та активності остеокластів потребує подальших досліджень [59].

Недавно опубліковані експериментальні дані з використанням нокаутних мишей, у яких відсутні VDR і CYP27B1, також розширюють існуючі знання щодо ролі вітаміну D у кістковій тканині. Тварини перебували на раціоні харчування з нормальним (1%) чи низьким (0,02%) вмістом кальцію [19]. Через 8 тиж миші як з VDR, так і без нього на тлі дієти, достатньої за вмістом кальцію, розвивалися нормально, відмінностей у трабекулярній або кортикальній кістковій масі та вмістом кальцію в сироватці крові не виявлено. При низькому вмісті кальцію в раціоні харчування в мишей зменшувалася

маса трабекулярної кістки (40%) і товщина кортикального шару (48%). Додатково встановлено, що остеокластична диференціація гемопоетичних клітин з VDR або без них, індукована M-CSF або RANKL, а також в умовах спільного культивування з остеобластами, відбувалася подібно. Тобто інактивація VDR в остеокластах не впливала на темпи резорбції кісткової тканини [19, 58].

Однак в іншому дослідженні доведено, що відсутність VDR у зрілих остеокластах (миші з селективною делецією VDR) призводить до зміни їх активності та підвищеної втрати кісткової маси, особливо в умовах негативного балансу вмісту кальцію та фосфору [59]. Саме з втратою VDR у зрілих остеокластах нокаутних мишей, відзначено підвищену остеокластичну активність, що призводило до зменшення на 22 і 21% об'ємної фракції кісткової тканини й кількості трабекул відповідно. Таким чином, на активність остеокластів впливає як вміст кальцію та фосфору в крові, так і наявність VDR.

Високі, не фізіологічні концентрації $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, посилюють остеокластогенез *in vitro* та *in vivo* через VDR остеобластів та остеоцитів. У більш складних експериментальних моделях представлені дані щодо нокауту VDR-специфічних ліній остеобластів і остеокластів при використанні трансгенних мишей, в яких були відсутні фактори транскрипції остерикс (Osterix-Cre) і катепсин (K-Cre). Відзначено, що відсутність VDR не впливала на остеокластогенез та темпи резорбції кістки за умов нормального вмісту $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Однак у разі використання трансгенних мишей типу Col1A1-Cre та мишей дентинної матриці 1 (Dmp1)-Cre з нокаутом VDR, у перших збільшувалася кісткова маса через зниження резорбції кісткової тканини [49].

Остеокласти, як і остеобласти та остеоцити, реалізують аутокринну та паракринну дію вітаміну D на кісткове мікрооточення. Остеокласти перетворюють $25(\text{OH})\text{D}_3$, який циркулює в сироватці крові, на $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

за наявності ферменту CYP27B1. Це регулює функції остеокластів і пом'якшує їх резорбтивну активність [60]. У клітинних культурах, отриманих від мишей з делецією гена CYP27B1, виявлено підвищену резорбтивну активність остеокластів, порушення співвідношення експресії проапоптотичного гена BAX і гена виживання клітин BCL-2, що призводить до збільшення тривалості життя остеокластів та аномального остеокластогенезу через відсутність експресії геном CYP27B1 1 α -гидроксилази. Ці дані свідчать, що 25(OH) D_3 оптимізує остеокластогенез і знижує активність зрілих остеокластів різними шляхами.

Канонічний сигнальний шлях Wnt/ β -катеніну є важливим для формування кісткової тканини, особливо Wnt-10b [61]. Відзначено, що підвищення експресії Wnt-10b остеокластами, преостеобластами, остеобластами та остеоцитами у ділянці ремоделювання кістки сприяє збільшенню кількості преостеобластів і остеобластів, а також зменшенню кількості остеокластів [62]. Одним із шляхів дії 1 α ,25(OH) $_2D_3$ є підсилення секреції остеокластами Wnt-10b, що позитивно впливає на кісткову масу й мінеральну щільність кісткової тканини [56]. Втрата Wnt-10b у мишей спричиняє зниження маси трабекулярної кістки [2].

У пошуках механізмів дії вітаміну D на остеокласти дослідники звернули увагу на галектин-3, нещодавно відкритий регулятор кісткового метаболізму, який бере участь у проліферації, диференціації та апоптозі різних типів клітин [63]. Фактор транскрипції галектин-3 у ядрі остеокластів розташований поряд з VDR. Недавні дослідження продемонстрували, що під впливом 1 α ,25(OH) $_2D_3$ на остеобласти у разі посилення експресії галектину-3 пригнічується їх формування. При цьому рівні експресії генів і білків, пов'язані з остеокластами, а саме – MMP-9, ядерного фактора активованих T-клітин 1 (NFATc1) і катепсину K, також зменшуються [64]. У нокаутних мишей, яким ген галектину-3 було цілеспрямовано

видалено, 1 α ,25(OH) $_2D_3$ негативно впливав на формування та активацію остеокластів, а також експресію генів, які кодують характерні білки.

Таким чином, нині відомо, що дія вітаміну D функціонально пов'язана з остеобластами, остеоцитами та остеокластами. Остеобласти та остеоцити впливають на прорезорбтивні або антирезорбтивні властивості остеокластів на кістку через численні механізми, що, безумовно, потребує подальших досліджень у цьому складному процесі.

ВИСНОВКИ

Таким чином, у підтримці життєдіяльності кісткової тканини беруть участь різні клітини – МСК, остеобласти, остеоцити та остеокласти. Серед низки молекулярних чинників підтримує їхню активність і вітамін D, який чинить аутокринну та паракринну дії на тісно функціонально пов'язані між собою кісткові клітини та кісткове мікрооточення різними шляхами, а також впливає на кальцій-фосфатний метаболізм. Зміна циркулюючих концентрацій кальцію та фосфатів у сироватці крові впливає на кісткові клітини та метаболізм вітаміну D по-різному. В умовах дефіциту кальцію метаболіти вітаміну D індукують резорбцію кісткової тканини, зменшують її мінералізацію, тобто, мають катаболічний ефект, що призводить до відновлення балансу кальцію в сироватці крові. В умовах нормального вмісту сироваткового кальцію 1 α ,25(OH) $_2D_3$ сприяє нормалізації кісткового метаболізму. Кісткові клітини здатні локально перетворювати вітамін D до 1 α ,25(OH) $_2D_3$, який стимулює клітинну проліферацію, зрілість, мінералізацію або резорбцію кісткової тканини через VDR.

Нині доведено наявність VDR у МСК кісткового мозку, які диференціюються в остеогенному напрямку, а також у зрілих остеобластах, остеоцитах та остеокластах. Після зв'язку VDR з 1 α ,25(OH) $_2D_3$ відмічено різну функціональну дію залежно від клітин та

стадії розвитку – проліферації, диференціації чи зрілості.

Остеобласти, остеоцити та остеокласти експресують фермент CYP27B1. Більш детально досліджено остеобласти при використанні культури клітин та нокаутних мишей без VDR та CYP27B1. Встановлено, що відсутність CYP27B1 порушує функціональну активність $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. У остеобластах та МСК з нокаутом CYP27B1 змінюється проліферація та диференціювання клітин, підвищується резорбційна активність остеокластів та тривалість життя цих клітин. У контролі біологічної активності $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ доведено взаємодію багатьох інших факторів.

Незважаючи на результати недавно опублікованих досліджень, до цих пір дія вітаміну D на кісткові клітини остаточно не встановлена й вимагає подальшого вивчення для поглибленої ідентифікації та характеристики його аутокринних та паракринних ефектів. Відзначення молекулярних ланок механізму впливу $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ на метаболізм кісток, забезпечить фундаментальну основу для лікування захворювань, пов'язаних з дефіцитом вітаміну D.

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

N.V. Dedukh, N.V. Grygorieva

THE ROLE OF VITAMIN D IN THE FUNCTIONING OF BONE CELLS

State Institution "D.F. Chebotarev Institute of Gerontology of the NAMS of Ukraine", Kyiv; e-mail: dedukh_ninel@ukr.net

The review summarizes current literature data on the importance of vitamin D in bone cell function. An analytical search was conducted in the PubMed, MEDLINE, Embase, Scopus, and Web of Science databases from January 1, 2018, to June 01, 2023. The vitamin D metabolite $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ plays an important role in the regulation of mineral homeostasis and bone metabolism. It has catabolic and anabolic actions on osteoblasts, osteocytes and mature osteoclasts. In this review, we

describe the direct and indirect effects of $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ on the function of mesenchymal stromal cells (MSCs), osteoblasts, osteocytes, and osteoclasts. Among the targets of vitamin D action in bone cells are vitamin D receptor (VDR) and cytochrome P450 Family 27 Subfamily B Member 1 (CYP27B1). In osteoblasts and MSCs with CYP27B1 knockout, cell proliferation and differentiation are impaired, and in osteoclasts, the resorption activity and lifespan of these cells are increased. The role of VDR in bone cells was demonstrated in normal and VDR-knockout animal models. The relationship between $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – VDR signal transduction by bone cells and calcium balance was analyzed. In osteocytes, as well as in osteoblasts, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ regulates the expression of RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand), and additionally in osteocytes regulates the expression of FGF-23. The interaction of many other factors in bone cells has been shown to control the biological activity of $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Thus, the effect of vitamin D on bone cells is in the phase of active research and requires an in-depth study of the features of its autocrine and paracrine effects. Identification of the molecular links of the mechanism of action of $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ on bone metabolism will provide a fundamental basis for approaches to the treatment of vitamin D deficiency diseases.

Key words: vitamin D; $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; vitamin D receptor (VDR); CYP27B1; CYP24A1; mesenchymal stromal cell; osteoblast; osteocyte; osteoclast.

REFERENCES

1. Florencio-Silva R, Sasso GR, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. *Biomed Res Int.* 2015;2015:421746.
2. Fakhry M, Hamade E, Badran B, Buchet R, Magne D. Molecular mechanisms of mesenchymal stem cell differentiation towards osteoblasts. *World J Stem Cells.* 2013;5(4):136-48.
3. Povoroznyuk VV, Płudowski P, Balatska NI, Muts VYA, Klimovytskyi FV, Reznichenko NA, Sinenkyi OV, Mailyan EA, Pankiv IV. Vitamin D deficiency and insufficiency: epidemiology, diagnosis, prevention and treatment. Edited by VV Povoroznyuk, P. Płudowski. Kyiv. Publisher Zaslavsky OYu. 2014.
4. Grygorieva NV, Tronko MD, Kovalenko VM, Komisarenko SV, Tatarchuk TF, Dedukh NV, Velikiy MM, Strafun SS, Komisarenko YuI, Kalashnikov AV, Orlenko VL, Pankiv VI, Shvets OV, Hogunskaya IV, Regeda SI. Diagnosis, prevention and treatment of vitamin D deficiency in adults: Consensus of Ukrainian experts. *Pain Joints Spine.* 2023;2:7-14.
5. Bouillon R, Marcocci C, Carmeliet G, Bikle D, White JH, Dawson-Hughes B, Lips P, Munns CF, Lazaretti-Castro M, Giustina A, Bilezikian J. Skeletal and extraskeletal actions of vitamin D: current evidence and outstanding questions. *Endocrin Rev.* 2019 Aug 1;40(4):1109-51.
6. Gil Á, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: Classic and novel actions. *Ann Nutr Metab.* 2018;72(2):87-95.

7. Lu M, Taylor BV, Körner H. Genomic Effects of the vitamin D receptor: potentially the link between vitamin D, immune cells, and multiple sclerosis. *Front Immunol* 2018;9:477.
8. Mendes MM, Botelho PB, Ribeiro H. Vitamin D and musculoskeletal health: outstanding aspects to be considered in the light of current evidence. *Endocrin Connect*. 2022 Sep 26;11(10):e210596.
9. Liu MC, Weng PW, Chen SC, Liu TH, Huang HW, Huang CT, Yang CT, Mishra VK, Yang MT. Immunologic, anti-inflammatory, and anti-muscle damage profile of supplemented vitamin D3 in healthy adults on strenuous endurance exercise. *Biology (Basel)*. 2023 Apr 26;12(5):657.
10. Muresan GC, Hedesiu M, Lucaciu O, Boca S, Petrescu N. Effect of vitamin D on bone regeneration: A Review. *Medicina (Kaunas)*. 2022 Sep 23;58(10):1337.
11. Cignachi NP, Ribeiro A, Machado GDB, Cignachi AP, Kist LW, Bogo MR, Silva RBM, Campos MM. Bone regeneration in a mouse model of type 1 diabetes: Influence of sex, vitamin D3, and insulin. *Life Sci*. 2020;263:118593.
12. Kwiatek J, Jaroń A, Trybek G. Impact of the 25-hydroxycholecalciferol concentration and vitamin d deficiency treatment on changes in the bone level at the implant site during the process of osseointegration: A prospective, randomized, controlled clinical trial. *J Clin Med*. 2021;10:526.
13. Carlberg C. Vitamin D and its target genes. *Nutrients*. 2022 Mar 24;14(7):1354.
14. Christakos S, Li S, DeLa Cruz J, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D and bone. *Handb Exp Pharmacol*. 2020;262:47-63.
15. El-Sharkawy A, Malki A. Vitamin D signaling in inflammation and cancer: molecular mechanisms and therapeutic implications. *Molecules*. 2020; 25(14):3219.
16. Agostini D, Donati Zeppa S. Vitamin D, diet and musculoskeletal health. *Nutrients*. 2023, 15, 2902.
17. Van Driel M, van Leeuwen JPTM. Vitamin D and bone: a story of endocrine and auto/paracrine action in osteoblasts. *Nutrients*. 2023;15:480.
18. Brazianus MD, Cortizo AM. Vitamin D-VDR signaling in bone cells. *Physiol Mini Rev*. 2014;7(6):77-90.
19. Verlinden L, Janssens I, Doms S, Vanhevel J, Carmeliet G, Verstuyf A. VDR expression in osteoclast precursors is not critical in bone homeostasis. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2019;195:105478.
20. Mahdavi R, Belgheisi G, Haghbin-Nazarpak M, Omidi M, Khojasteh A, Solati-Hashjin M. Bone tissue engineering gelatin-hydroxyapatite/graphene oxide scaffolds with the ability to release vitamin D: fabrication, characterization, and in vitro study. *J Mater Sci Mater Med*. 2020 Oct 31;31(11):97.
21. Kitase Y, Prideaux M. Targeting osteocytes vs osteoblasts. *Bone*. 2023;170:116724.
22. Geng S, Zhou S, Bi Z, Glowacki J. Vitamin D metabolism in human bone marrow stromal (mesenchymal stem) cells. *Metabolism*. 2013 Jun;62(6):768-77.
23. Jo S, Yoon S, Lee SY, Kim SY, Park H, Han J, Choi SH, Han JS, Yang JH, Kim TH. DKK1 induced by 1,25D3 is required for the mineralization of osteoblasts. *Cells* 2020 Jan 17;9(1):236.
24. Posa F, Di Benedetto A, Colaianni G, Cavalcanti-Adam EA, Brunetti G, Porro C, Trotta T, Grano M, Mori G. Vitamin D effects on osteoblastic differentiation of mesenchymal stem cells from dental tissues. *Stem Cells Int*. 2016;2016:9150819.
25. Lou YR, Toh TC, Tee YH, Yu H. 25-Hydroxyvitamin D3 induces osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Sci Rep*. 2017 Feb 17;7:42816.
26. Borojević A, Jauković A, Kukolj T, Mojsilović S, Obradović H, Trivanović D, Živanović M, Zečević Ž, Simić M, Gobeljić B, Vujić D, Bugarski D. Vitamin D3 stimulates proliferation capacity, expression of pluripotency markers, and osteogenesis of human bone marrow mesenchymal stromal/stem cells, partly through SIRT1 signaling. *Biomolecules*. 2022 Feb 18;12(2):323.
27. Yamamoto Y, Yoshizawa T, Fukuda T, Shirode-Fukuda Y, Yu T, Sekine K, Sato T, Kawano H, Aihara K, Nakamichi Y, Watanabe T, Shindo M, Inoue K, Inoue E, Tsuji N, Hoshino M, Karsenty G, Metzger D, Chambon P, Kato S, Imai Y. Vitamin D receptor in osteoblasts is a negative regulator of bone mass control. *Endocrinology*. 2013 Mar;154(3):1008-20.
28. Bikle DD, Patzek S, Wang Y. Physiologic and pathophysiologic roles of extra renal CYP27b1: Case report and review. *Bone Rep*. 2018 Feb 26;8:255-67.
29. Zhou S, Geng S, Glowacki J. Histone deacetylation mediates the rejuvenation of osteoblastogenesis by the combination of 25(OH)D3 and parathyroid hormone in MSCs from elders. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2013 Jul;136:156-9.
30. Mori T, Horibe K, Koide M, Uehara S, Yamamoto Y, Kato S, Yasuda H, Takahashi N, Udagawa N, Nakamichi Y. The vitamin D receptor in osteoblast-lineage cells is essential for the proresorptive activity of 1 α ,25(OH)2D3 in vivo. *Endocrinology*. 2020 Nov 1;161(11):bqaa178.
31. Goltzman D. Functions of vitamin D in bone. *Histochem Cell Biol*. 2018 Apr;149(4):305-12.
32. Goltzman D, Hendy GN, White JH. Vitamin D and its receptor during late development. *Biochim Biophys Acta*. 2015 Feb;1849(2):171-80.
33. Xu D, Gao HJ, Lu CY, Tian HM, Yu XJ. Vitamin D inhibits bone loss in mice with thyrotoxicosis by activating the OPG/RANKL and Wnt/ β -catenin signaling pathways. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Nov 30;13:1066089.
34. Van der Meijden K, Lips P, van Driel M, Heijboer AC, Schulten EA, den Heijer M, Bravenboer N. Primary human osteoblasts in response to 25-hydroxyvitamin D3, 1,25-dihydroxyvitamin D3 and 24R,25-dihydroxyvitamin D3. *PLoS One*. 2014 Oct 17;9(10):e110283.
35. Yao P, Sun L, Xiong Q, Xu X, Li H, Lin X. Cholecalciferol supplementation promotes bone turnover in Chinese adults with vitamin D deficiency. *J Nutr*. 2018 May 1;148(5):746-51.
36. Wang D, Song J, Ma H. An in vitro experimental insight into the osteoblast responses to vitamin D3 and its metabolites. *Pharmacology*. 2018;101(5-6):225-35.
37. Vu AA, Bose S. Effects of vitamin D3 release from 3D printed calcium phosphate scaffolds on osteoblast and osteoclast cell proliferation for bone tissue engineering.

- RSC Adv. 2019;9(60):34847-53.
38. Lieben L, Masuyama R, Torrekens S, Van Looveren R, Schrooten J, Baatsen P, Lafage-Proust MH, Dresselaers T, Feng JQ, Bonewald LF, Meyer MB, Pike JW, Bouillon R, Carmeliet G. Normocalcemia is maintained in mice under conditions of calcium malabsorption by vitamin D-induced inhibition of bone mineralization. *J Clin Invest.* 2012 May;122(5):1803-15.
 39. Hemmatian H, Bakker AD, Klein-Nulend J, van Lenthe GH. Alterations in osteocyte lacunar morphology affect local bone tissue strains. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2021 Nov;123:104730.
 40. Al-Bari AA, Al-Mamun A. Current advances in regulation of bone homeostasis. *FASEB Bioadv.* 2020 Sep 19;2(11):668-79.
 41. Razzaque MS. Interactions between FGF23 and vitamin D. *Endocr Connect.* 2022 Sep 26;11(10):e220239.
 42. Lanske B, Densmore MJ, Erben RG. Vitamin D endocrine system and osteocytes. *Bonekey Rep.* 2014 Feb 5;3:494.
 43. Kato H, Ochiai-Shino H, Onodera S, Saito A, Shibahara T, Azuma T. Promoting effect of 1,25(OH)₂ vitamin D₃ in osteogenic differentiation from induced pluripotent stem cells to osteocyte-like cells. *Open Biol.* 2015;5:140201.
 44. Yajima A, Tsuchiya K, Burr DB, Wallace JM, Damrath JD, Inaba M, Tominaga Y, Satoh S, Nakayama T, Tanizawa T, Ogawa H, Ito A, Nitta K. The importance of biologically active vitamin D for mineralization by osteocytes after parathyroidectomy for renal hyperparathyroidism. *JBMR Plus.* 2019 Oct 23;3(11):e10234.
 45. Yuan Y, Jagga S, Martins JS, Rana R, Pajevic PD, Liu ES. Impaired 1,25 dihydroxyvitamin D₃ action and hypophosphatemia underlie the altered lacuno-canalicular remodeling observed in the Hyp mouse model of XLH. *PLoS One.* 2021 May 27;16(5):e0252348.
 46. Lieben L, Carmeliet G. Vitamin D signaling in osteocytes: effects on bone and mineral homeostasis. *Bone.* 2013 Jun;54(2):237-43.
 47. Rolvien T, Krause M, Jeschke A, Yorgan T, Puschel K, Schinke T, Busse B, Demay MB, Amling M. Vitamin D regulates osteocyte survival and perilacunar remodeling in human and murine bone. *Bone.* 2017;103:78-87.
 48. Milovanovic P, Busse B. Phenomenon of osteocyte lacunar mineralization: indicator of former osteocyte death and a novel marker of impaired bone quality? *Endocr Connect.* 2020 Apr;9(4):R70-R80.
 49. Nakamichi Y, Udagawa N, Suda T, Takahashi N. Mechanisms involved in bone resorption regulated by vitamin D. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018;177:70-6.
 50. Ahmadi A, Mazloomnejad R, Kasravi M, Gholamine B, Bahrami S, Sarzaem MM, Niknejad H. Recent advances on small molecules in osteogenic differentiation of stem cells and the underlying signaling pathways. *Stem Cell Res Ther.* 2022 Nov 12;13(1):518.
 51. Khalaf RM, Almudhi AA. The effect of vitamin D deficiency on the RANKL/OPG ratio in rats. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2022 Mar-Apr;12(2):228-32.
 52. Gu J, Tong XS, Chen GH, Wang D, Chen Y, Yuan Y, Liu XZ, Bian JC, Liu ZP. Effects of 1 α ,25-(OH)₂D₃ on the formation and activity of osteoclasts in RAW264.7 cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2015 Aug;152:25-33.
 53. Gu J, Tong X, Chen Y, Zhang C, Ma T, Li S, Min W, Yuan Y, Liu X, Bian J, Liu Z. Vitamin D inhibition of TRPV5 expression during osteoclast differentiation. *Int J Endocrinol Metab.* 2019 Oct 14;17(4):e91583.
 54. Haussler MR, Livingston S, Sabir ZL, Haussler CA, Jurutka PW. Vitamin D receptor mediates a myriad of biological actions dependent on its 1,25-dihydroxyvitamin D ligand: distinct regulatory themes revealed by induction of klotho and fibroblast growth factor-23. *JBMR Plus.* 2020 Dec 3;5(1):e10432.
 55. Kogawa M, Findlay DM, Anderson PH, Atkins GJ. Modulation of osteoclastic migration by metabolism of 25OH-vitamin D₃. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013 Jul;136:59-61.
 56. Lu CL, Shyu JF, Wu CC, Hung CF, Liao MT, Liu WC, Zheng CM, Hou YC, Lin YF, Lu KC. Association of anabolic effect of calcitriol with osteoclast-derived Wnt10b secretion. *Nutrients.* 2018 Aug 25;10(9):1164.
 57. Starczak Y, Reinke DC, Barratt KR, Russell PK, Clarke MV, Davey RA, Atkins GJ, Anderson PH. Vitamin D receptor expression in mature osteoclasts reduces bone loss due to low dietary calcium intake in male mice. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2021 Jun;210:105857.
 58. Verlinden L, Carmeliet G. Integrated view on the role of vitamin D actions on bone and growth plate homeostasis. *JBMR Plus.* 2021 Nov 18;5(12):e10577.
 59. Starczak Y, Reinke DC, Barratt KR, et al. Absence of vitamin D receptor in mature osteoclasts results in altered osteoclastic activity and bone loss. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018;177:77-82.
 60. Reinke DC, Kogawa M, Barratt KR, Morris HA, Anderson PH, Atkins GJ. Evidence for altered osteoclastogenesis in splenocyte cultures from Cyp27b1 knockout mice. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016. Nov;164:353-60.
 61. Perkins RS, Singh R, Abell AN, Krum SA, Miranda-Carboni GA. The role of WNT10B in physiology and disease: A 10-year update. *Front Cell Dev Biol.* 2023 Feb 6;11:1120365.
 62. Cook CV, Islam MA, Smith BJ, Versypt ANF. Mathematical modeling of the effects of Wnt-10b on bone metabolism. *Aiche J Am Institute Chemical Engineers.* 18 Jun 2022, 68(12):e17809.
 63. Xu L, Qian Z, Wang S, Wang R, Pu X, Yang B, Zhou Q, Du C, Chen Q, Feng Z, Xu L, Zhu Z, Qiu Y, Sun X. Galectin-3 enhances osteogenic differentiation of precursor cells from patients with diffuse idiopathic skeletal hyperostosis via Wnt/ β -catenin signaling. *J Bone Miner Res.* 2022 Apr;37(4):724-39.
 64. Gu J, Zhang X, Zhang C, Li Y, Bian J, Liu X, Yuan Y, Zou H, Tong X, Liu Z. Galectin-3 contributes to the inhibitory effect of 1 α ,25-(OH)₂D₃ on osteoclastogenesis. *Int J Mol Sci.* 2021 Dec 11;22(24):13334.

*Матеріал надійшов
до редакції 28.07.23*