

ОБЗОР

©Коллектив авторов

ОСТЕОГЕННЫЕ И АНГИОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ГЕПАРИНА КАК СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ БИОМОЛЕКУЛ ПРИ БИОИНЖЕНЕРИИ КОСТИ: КРАТКИЙ КРИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

Л.С. Литвинова^{1}, К.А. Юрова¹, О.Г. Хазиахматова¹, М.Ю. Хлусова², В.В. Малащенко¹,
Е.О. Шунькин¹, Н.М. Тодосенко¹, И.К. Норкин¹, П.А. Иванов¹, И.А. Хлусов^{3,4}*

¹Центр иммунологии и клеточных биотехнологий Балтийского федерального университета имени И. Канта, 236041, Калининград, ул. Гайдара, 6; *эл. почта: larisalitvinova@yandex.ru

²Кафедра патофизиологии Сибирского государственного медицинского университета, 634034, Томск, ул. Учебная, 39

³Кафедра морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета, 634050, Томск, ул. Московский тракт, 2, стр. 7

⁴Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий Национального Исследовательского Томского политехнического университета, 634034, Томск, просп. Ленина, 43-А

В обзоре обсуждаются сложные, неоднозначные и индивидуальные эффекты гепарина и его производных на костную и кровеносную системы в зависимости от дозировки, состояния клеток и тканей реципиента. Представлены общие данные о противосвертывающей активности гепарина и его производных; детально рассмотрены аспекты влияния гепарина на мезенхимные клетки и ткани и его роль в ангиогенезе; обсуждается способность гепарина связывать остеогенные и ангиогенные биомолекулы, в приложении к разработке систем их доставки и длительного контролируемого высвобождения. Предложено схематическое представление о позитивных и побочных эффектах гепарина как системы доставки биомолекул при инженерии тканей.

Ключевые слова: гепарин; антикоагулянт; биоинженерия костной ткани; система доставки; регенеративная медицина; система гемостаза

DOI: 10.18097/PBMC20206606431

ВВЕДЕНИЕ

Травмы кости и окружающих мягких тканей неизбежно сопровождаются динамической активацией свертывающей и противосвертывающей систем организма. В результате повреждения кровеносных сосудов кровоизлияние приводит к формированию гематомы. Свернувшаяся кровь заполняет область повреждения и, таким образом, связана с костным мозгом, эндостом, кортикальной костью, периостом и мышечной тканью. Формируется клеточно-молекулярная среда, которая играет важную роль в процессе репаративной регенерации костной ткани. В очаге повреждения иммунокомпетентные клетки, включая макрофаги, выделяют медиаторы воспаления, такие как TNF- α , IL-1, IL-6, IL-11 и др. Эти цитокины опосредуют рекрутирование мезенхимальных стволовых клеток и их дифференцировку в остеобласты и хондробласты [1, 2].

Активация системы гемостаза при переломах костей и их хирургическом лечении может провоцировать гиперкоагуляцию с риском возникновения системных тромбозов и тромбоэмболий. Остеосинтез даже с использованием биосовместимых материалов и имплантатов и, тем более, эндопротезирование крупных суставов также увеличивают вероятность тромбообразования вследствие многочисленных повреждений артериальных и венозных сосудов, рассечения мягких тканей, возможного влияния поверхности медицинских изделий на тромбоциты и белки коагуляционного гемостаза. Баланс между риском

развития тромбоэмболии и кровотечений индивидуален для каждого пациента. Возрастные больные травматологического/ортопедического профиля имеют, как правило, хронические заболевания (ишемическая болезнь сердца, стенокардия, сахарный диабет), сосудистые заболевания (тромбофлебиты, тромбозы глубоких вен, тромбоэмболия лёгочных артерий). Наличие подобных осложнений требует проведения тромбопрофилактики во время лечения, на предоперационном и послеоперационном этапах ведения этой группы пациентов.

Для профилактики ситуаций, угрожающих жизни пациента, тактикой лечебных мероприятий в реабилитационном периоде (после проведения операций с использованием остеозамещающих материалов) является обязательное назначение прямых антикоагулянтов, производных гепарина, в том числе и самого гепарина в различных сочетаниях.

1. ПРОТИВОСВЕРТЫВАЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ГЕПАРИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ

Нефракционированный высокомолекулярный гепарин (НФГ) для терапевтического применения у людей, как правило, изготавливается из экстрактов слизистой оболочки кишечника или лёгочной ткани крупного рогатого скота и свиней; он состоит из гетерогенной смеси гликозаминогликанов (ГАГ) с незначительно различающейся структурой и молекулярной массой [3, 4]. Поэтому независимо от способа его получения НФГ способен

провоцировать реакции гиперчувствительности, сопровождающиеся тромбоцитопенией, сосудистыми нарушениями и повышением уровня сывороточных аланин- (АЛТ) и аспартатаминотрансфераз (АСТ), которые наблюдаются после 4-8 дней терапии [3] (рисунок). При длительном назначении высоких доз гепарина возникает риск системного остеопороза [5]. В связи с этим, из НФГ выделяют активные действующие участки, так называемые низкомолекулярные гепарины (НМГ) с молекулярной массой 1000-10000 Да; к числу которых относятся известные препараты — Фраксипарин (Fraxiparin, “Aspen Notre Dame de Bondeville”, Франция), Клексан (Clexane, “Sanofi Winthrop Industrie”, Франция) и Фрагмин (Fragmin, “Vetter Pharma-Fertigung”, Германия). Одним из способов очистки является гель-хроматография с последующим осаждением в спирте [4]. НМГ в меньшей степени способствуют развитию гепарин-индуцированной тромбоцитопении (ГИТ).

Гепарин не всасывается через слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта и должен вводиться внутривенно или подкожно, он проявляет быструю, но непродолжительную антикоагулянтную активность и низкую биодоступность, особенно при малых дозировках [4]. НФГ является эффективным антикоагулянтом, а его эффекты начинают проявляться при малых дозах и при любых способах введения (в том числе при пероральном, внутривенном, внутримышечном, подкожном, интравенном, интравенном и в виде мазей) [6]. Он связывается со всеми естественными антикоагулянтами и, в частности, с антитромбином III — ингибитором активированных факторов свертывания крови (тромбина, IXa, Xa, XIa, XIIa). При этом наблюдается подавление активированных факторов свертывания

крови II и X, нарушение перехода протромбина в тромбин и торможение образования фибрина из фибриногена; в некоторой степени уменьшается агрегация тромбоцитов. НФГ используется, главным образом, для профилактики и лечения тромбоэмболических заболеваний, при остром коронарном синдроме, фибрилляции предсердий (мерцательной аритмии), а также в качестве антикоагулянта при почечном диализе. В настоящее время его применяют и при коронавирусной инфекции COVID-19 [7]. НФГ имеет ряд ограничений и потенциальных осложнений, включая ГИТ, кожные реакции и остеопороз при длительном применении [8, 9]. НМГ были разработаны в 1980-х годах, и многие из недостатков, связанных с нефракционированным гепарином, преодолеваются их применением, включая более низкий риск остеопороза [9-11]. Кроме того, при использовании НМГ риск возникновения ГИТ снижается, а мониторинг показателей свёртываемости крови проводится реже, чем при применении НФГ [9].

Гепарин в виде полимера, молекулы которого построены из повторяющихся дисахаридных звеньев (1→4) — связанных остатков α-D-глюкозамина и α-идуровой (реже β-D-глюкуроновой) кислоты, относится к семейству ГАГ. Он обнаружен в межклеточном веществе, тканях лёгких, печени, сердца и обычно хранится в секреторных гранулах тучных клеток и высвобождается в сосудистую сеть в местах повреждения тканей, что указывает на его участие в защите от проникновения бактерий и чужеродных элементов [12]. В связи с этим, гепарин способен модулировать состояние клеток и, таким образом, при длительном введении после имплантации и эндопротезирования, влиять на остеоинтеграцию медицинских изделий.

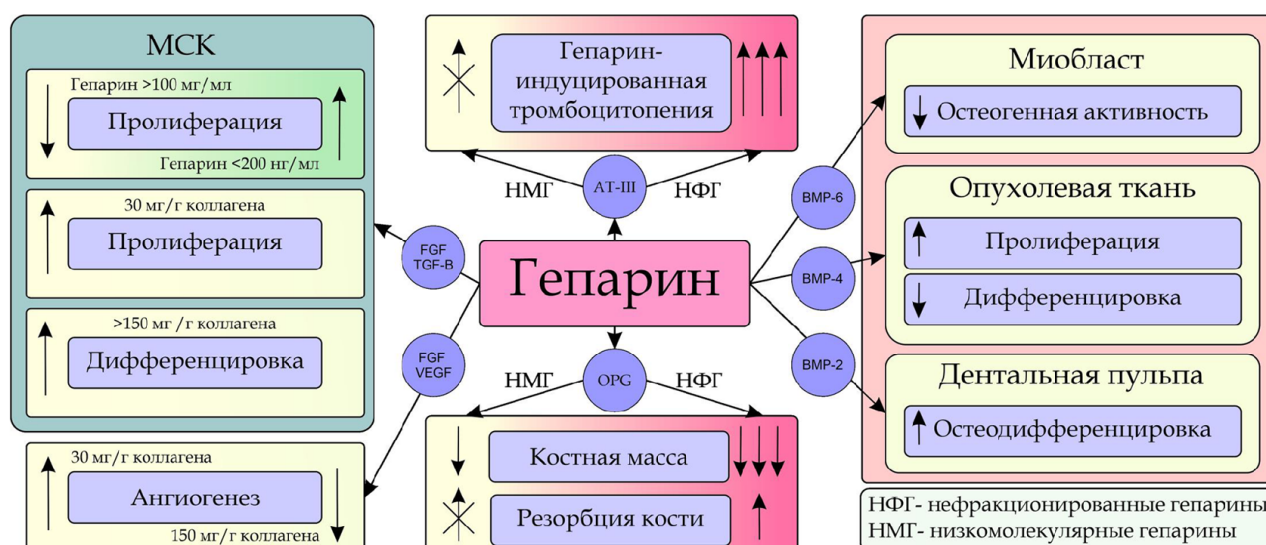


Рисунок. Позитивные и побочные эффекты гепарина как системы доставки биомолекул при инженерии тканей. АТ-III — антитромбин III; BMP-2 — костный морфогенетический белок 2; BMP-4 — костный морфогенетический белок 4; BMP-6 — костный морфогенетический белок 6; FGF — фактор роста фибробластов; OPG — остеопротегерин; TGF-β — трансформирующий ростовой фактор бета-1; VEGF — фактор роста эндотелия сосудов; МСК — мезенхимные стволовые клетки.

2. ВЛИЯНИЕ ГЕПАРИНА НА МЕЗЕНХИМНЫЕ КЛЕТКИ И ТКАНИ

Многочисленные биохимические, клеточно-биологические и генетические исследования показали, что ГАГ играют решающую роль в регуляции большинства сигнальных путей, связанных с факторами роста, включая семейство трансформирующего фактора роста- β (TGF- β) и факторы роста фибробластов (FGFs) [13].

Многолетние исследования влияния гепарина на мезенхимные клетки, проведенные на животных моделях и в исследованиях *in vitro*, дали противоречивые результаты. Однако было обнаружено, что эффекты гепарина на здоровые пролиферирующие клетки и ткани зависят от его концентрации. Так, стимулирующее действие на пролиферацию клеток гепарин оказывает в низких и очень низких концентрациях, а с увеличением концентрации он тормозит клеточную пролиферацию [14] (рисунок). По данным Khan и соавт., опухолевые клетки, напротив, отвечали на гепарин усилением пролиферации и ослаблением дифференцировки через опосредованные BMP-4 сигнальные пути [15] (рисунок).

Связывание гепарина с морфогенетическими белками кости (BMPs) приводит к ограничению остеогенной активности BMP-6 в 72-часовой культуре миобластов, зафиксированному по снижению экспрессии щелочной фосфатазы и остеокальцина [16]. В тесте эктопического образования кости и хряща у остеопорозных мышей гепарин также значительно подавлял регенеративную активность BMP-6. Это позволяет предположить, что взаимодействие с BMP-6 является одним из механизмов гепарин-ассоциированного остеопороза [16] (рисунок).

С другой стороны, *in vitro* гепарин стимулировал остеогенную дифференцировку клеток дентальной пульпы человека, проявляющуюся уже с 3 суток культивирования и характеризующуюся увеличением активности щелочной фосфатазы, экспрессии морфогенетического белка кости (BMP-2) и остеокальцина, формированием узелков минерализации внеклеточного матрикса ЭЦМ [17] (рисунок).

Модификация гепарином пористых композитных матриц (скеффолдов) из коллагена I типа и гидроксиапатита (ГАП) показала зависимость его эффекта от дозы, но не от способа включения в состав скеффолда. В малом количестве (30 мг/г коллагена) гепарин стимулировал пролиферацию, а в большой концентрации (150 мг/г коллагена) — остеогенную дифференцировку мезенхимных стволовых клеток (МСК) костного мозга человека [18].

Выявлена индивидуальная чувствительность пролиферации МСК костного мозга человека, полученных от разных доноров, к малым дозам гепарина (менее 200 нг/мл) и его плеiotропное действие на сигнальные пути клеточного роста и дифференцировки (включающие суперсемейства

трансформирующего фактора роста-бета (TGF- β) и BMPs, факторов роста фибробластов (FGFs), Wnts). В свою очередь, высокие дозы гепарина (100 мкг/мл и более) оказывали однозначно ингибирующее действие на клеточный рост [5].

Клинические исследования влияния гепарина на костную ткань человека, проведенные преимущественно у беременных женщин, дали противоречивые результаты. С одной стороны, долгосрочное применение НМГ при беременности в течение 3 месяцев и более приводило к потере костной массы и переломам [19]. По данным других авторов, абсолютный риск переломов в этой популяции пациентов был небольшим (1-2%) [20]. Снижение средней минеральной плотности костной ткани на 2-4%, вызванное профилактическими дозами НМГ или НФГ, было сопоставимо с потерей костной массы, которая происходит физиологически во время беременности [21].

Эти исследования подтверждают возможную роль длительных курсов НФГ в изменениях костного метаболизма, а также уменьшение риска переломов у пациентов при замене НФГ на НМГ. Тем не менее, снижение минеральной плотности костной ткани на 2-4% или увеличение риска перелома до 2% имеет клиническое значение для других групп населения, включая онкобольных или пожилых людей, которым может потребоваться длительный курс НМГ, и чей базовый риск переломов исходно повышен из-за старения или сопутствующих соматических заболеваний [22-24].

Исследования, проведенные на популяции взрослых небеременных людей малочисленны и неоднозначны. По данным, приведенным Gajic-Veljanoski и соавт., длительная терапия НМГ пациентов с венозной тромбозом снижает среднюю минеральную плотность костной ткани до 4,8% после 3-24 месяцев проведения в 2 из 5 проспективных обсервационных исследованиях [25]. Проведенный метаанализ не выявил увеличения риска переломов в группе с НМГ по сравнению с контрольной группой, где пациенты принимали в основном НФГ или антагонисты витамина К (Vitamin K antagonists, VKA). НМГ терапия в течение 3-6 месяцев может не увеличивать риск переломов, но длительное воздействие до 24 месяцев способно отрицательно повлиять на минеральную плотность костной ткани [26]. Важными обстоятельствами являются необходимость получения при длительной НМГ терапии достаточного количества кальция и витамина D для минимизации потери костной массы и мониторинг минеральной плотности костной ткани у тех, кто подвергается повышенному риску потери костной массы или переломов [25].

Тем не менее, Muir и соавт. с использованием гистоморфометрического анализа продемонстрировали, что НФГ и НМГ вызывали дозозависимое уменьшение объема губчатой кости; эффекты НФГ были значительно сильнее, чем эффекты НМГ.

Оба вещества (НФГ и НМГ) уменьшали образование костной ткани, уменьшая площадь поверхности остеобластов и остеоидов, тогда как резорбцию кости увеличивает только НФГ за счёт увеличения площади остеокластов [27, 28]. Эти результаты были подтверждены биохимическими маркерами костного гомеостаза, сигнализирующими о разрушении и/или восстановлении кости. Лечение НФГ и НМГ приводило к дозозависимому снижению сывороточной щелочной фосфатазы (маркера образования костной ткани); кратковременное увеличение в моче количества коллагена I типа, связанного с пиридином (маркера костной резорбции) было отмечено только в случае применения НФГ [27, 28] (рисунок).

В опытах *in vitro* гепарин усиливал остеокластическую резорбцию кости, ингибируя активность остеопротегерина (OPG) [19]. Гепарин специфически связывался с OPG и предотвращал его взаимодействие с RANKL на мембране остеобластов, способствуя тем самым взаимодействию RANK-RANKL и активации остеокластов. Препараты НМГ (с массой приблизительно 4000-6000 Да) вызывали менее выраженный остеопорозный эффект, чем НФГ стандартного размера (приблизительно 7000-25000 Да). Более активное ингибирование OPG под действием НФГ, по-видимому, связано с тем, что его молекулы являются более объёмными и стерически препятствуют взаимодействию OPG — RANKL [19].

3. ВЛИЯНИЕ ГЕПАРИНА НА АНГИОГЕНЕЗ

Гепарин в составе пористых скеффолдов коллагена I типа/ГАП в малой концентрации (30 мг/г коллагена) способствовал *in vitro* росту капиллярной сети из эндотелиальных клеток пупочных вен человека и её вращанию в поры композитного материала [18]. При более высокой концентрации (150 мг/г коллагена) гепарин ингибировал данный процесс. Кроме того, антикоагулянт тормозил ангиогенный эффект эндотелиального фактора роста (VEGF) [18].

VEGF, факторы роста фибробластов (FGF1, FGF2) являются одними из основных медиаторов ангиогенеза [29, 30]. Доказательство функционального взаимодействия между FGF и гепарином было представлено в 1983 году. В отличие от данных Quade и соавт. [18], гепарин в низкой концентрации усиливал действие неочищенного препарата FGF1, обеспечивая возможность поддержания культуры эндотелиальных клеток кровеносных сосудов взрослого человека [31]. Наблюдение, что гепарин помимо взаимодействия с FGF также связывается со специфическим доменом рецептора FGF (FGFR) привело к установлению молекулярного механизма участия гепаран-сульфата в ангиогенезе [32]. Образование комплекса между FGF, FGFR и гепаран-сульфатом необходимо для активации ангиогенного FGF-зависимого сигнального пути. Эта концептуальная основа повлияла на последующие попытки идентифицировать конкретные модуляторы процесса и разработать антиангиогенные агенты [33],

необходимые для ограничения развития опухолей. В качестве таких агентов могут выступать гепарин или некоторые из его производных, которые в высокой концентрации в биологических жидкостях способны связывать ангиогенный фактор, конкурируя с гепаран-сульфатом на мембране клетки [33].

4. ГЕПАРИН КАК СИСТЕМА ДОСТАВКИ ОСТЕОГЕННЫХ И АНГИОГЕННЫХ МОЛЕКУЛ

Природные биомакромолекулы, включая ГАГ и их дериваты, обладают хорошей совместимостью, контролируемой биоразлагаемостью, длительным временем кровообращения, нетоксичны и неиммуногенны, поэтому считаются перспективными носителями для терапевтической доставки лекарственных средств, биомолекул, генов и зондов для визуализации при различной патологии, а также для тканевой инженерии [34, 35]. В настоящее время активно разрабатываются протоколы использования гепарина для экспансии и дифференцировки стволовых клеток, улучшения целевой доставки факторов роста. Ключевое словосочетание “гепарин как система доставки лекарств” в поисковой системе PubMed Национального института здоровья США показало 1290 результатов, в то время как при запросе “гепарин и биоинженерия костной ткани” выявлено всего 206 ссылок. Возможно, это обусловлено настороженностью исследователей и клиницистов, обусловленной вариабельностью результатов и побочными эффектами использования гепарина как системы доставки биомолекул при биоинженерии костно-мышечного аппарата [36].

Из примерно 40 цитокинов суперсемейства TGF- β около трети связываются с гепарином, в том числе TGF- β 1, TGF- β 2, некоторые представители BMPs (например, BMP-2; BMP-6), факторы роста и дифференцировки (GDFs), а также GDNF (Glial cell-derived neurotrophic factor) и два его близких гомолога [37].

Гепарин обладает высоким сродством к факторам роста, таким как VEGF, основной FGF и костный морфогенетический белок-2 (BMP-2) [38], что делает это вещество потенциальным носителем для доставки и локального нацеливания данных биомолекул [39].

Так, клиническое применение BMP-2, одной из наиболее активных остеоиндуктивных молекул, требует применения супрафизиологических доз вследствие её нестабильности и быстрой ферментативной деградации, которые обуславливают системную токсичность и побочные эффекты применения [40]. Lee и соавт. [41] разработали систему с гепарин-конъюгированным фибрином (HCF) для доставки рекомбинантного BMP-2 человека при биоинженерии костной ткани. Позднее был разработан носитель на основе гепарина и полиэлектролита (PEC) для доставки BMP-2 [42].

Бесклеточные гепаринизированные минерализованные мембраны из подслизистой оболочки, насыщенные BMP-2, обладали контролируемым долгосрочным 40-дневным

высвобождением костного протеина, способствовали экспрессии остеогенных генов *in vitro* в МСК костного мозга и заживлению костного дефекта челюсти у остеопорозных крыс. При этом гепарин использовался для улучшения иммобилизации и контролируемого выделения BMP-2 [43].

Недавно разработан синтетический гидрогель на основе молекул-миметиков гепарина — поливинилсульфоновой кислоты или поли-4-стиренсульфоновой кислоты для локального концентрирования и пролонгации эффекта BMP-2 [40]. Гепарин-миметический сульфонированный гель эффективно связывал BMP-2, стабилизировал его концентрацию и пролонгированно повышал остеогенную дифференцировку инкапсулированных МСК костного мозга без добавления в культуру экзогенного фактора роста. Более того, гель повышал свою остеогенную активность за счёт локализации новых молекул BMP-2, продуцируемых МСК. Это свидетельствует о перспективности гепарин-ассоциированных систем доставки и высвобождения биомолекул для усиления регенерации костной ткани [40].

В то же время фактор дифференцировки 5 (GDF5) связывается с гепарином, однако, клинические концентрации гепарина (>10 нМ) подавляют активность GDF5 в отношении хондрогенной дифференцировки МСК человека и мышечных клеток линии ATDC5 [36].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При переломах костей, их хирургическом лечении методами остеосинтеза и эндопротезирования отмечается смещение динамического равновесия системы гемостаза в сторону повышенной свертываемости крови. Наличие гематомы является необходимым этапом репаративной регенерации костной ткани. В то же время, угроза тромбозов и эмболий, особенно, в условиях имплантации искусственных материалов, неизбежно приводит к профилактическому или терапевтическому назначению гепарина и его производных, имеющих, по оценкам различных авторов, неоднозначный и индивидуальный эффект на костную и кровеносную системы в зависимости от дозировки, состояния клеток и тканей реципиента.

Способность гепарина связывать остеогенные и ангиогенные биомолекулы является перспективным свойством для разработки систем их доставки и контролируемого длительного высвобождения. В то же время, проблемой является собственный неоднозначный потенциал гепарина как модулятора остео- и ангиогенеза. В условиях прогрессирующего остеопороза в популяции (ожидаемый прогноз до 30% больничных коек) [44] применение гепарина самостоятельно или в комплексе с биомолекулами требует персонализированного подхода и тщательного мониторинга, прежде всего, у пациентов с отягощённым анамнезом и сопутствующими соматическими заболеваниями.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 16-15-10031).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Marsell R., Einhorn T.A. (2011) Injury, **42**(6), 551-555.
2. Muire P.J., Mangum L.H., Wenke J.C. (2020) Front. Immunol., **11**, 1056. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01056.
3. Zhao W., Jin K., Li J., Qiu X., Li S. (2017) J. Biol. Eng., **11**, 22. DOI: 10.1186/s13036-017-0058-3. eCollection 2017.
4. Yee J., Kaide C.G. (2019) West. J. Emerg. Med., **20**(5), 770-783.
5. Ling L., Camilleri E.T., Helledie N., Samsonraj R., Titmarsh D.M., Chua R.J., Dreesen O., Dombrowski C., Rider D.A., Galindo M., Lee I., Hong W., Hui J.H., Nurcombe V., van Wijnen A.J., Cool S.M. (2016) Gene, **576**(1Pt2), 292-303.
6. Shore-Lesserson L., Baker R.A., Ferraris V., Greulich P.E., Fitzgerald D., Roman P., Hammon J. (2018) J. Extra Corpor. Technol., **50**(1), 5-18.
7. Hadid T., Kafri Z., Al-Katib A. (2020) Blood Rev., **2020**, 100761. DOI: 10.1016/j.blre.2020.100761.
8. Alban S. (2012) Handb. Exp. Pharmacol., **207**, 211-263.
9. Signorelli S.S., Scuto S., Marino E., Giusti M., Xourafa A., Gaudio A. (2019) Int. J. Mol. Sci., **20**(21), 5275. DOI: 10.3390/ijms20215275.
10. Rajgopal R., Bear M., Butcher M.K., Shaughnessy S.G. (2008) Thromb. Res., **122**, 293-298.
11. Galambosi P., Hiilesmaa V., Ulander V.M., Laitinen L., Tiitinen A., Kaaja R. (2016) Thromb. Res., **143**, 122-126.
12. Nader H.B., Chavante S.F., dos Santos E.A., Oliveira T.W., de Paiva J.F., Jerônimo S.M., Medeiros G.F., de Abreu L.R., Leite E.L., de Sousa-Filho J.F., Castro R.A., Toma L., Tersariol I.L., Porcionatto M.A., Dietrich C.P. (1999) Braz. J. Med. Biol. Res., **32**(5), 529-538.
13. Zhang F., Zheng L., Cheng S., Peng Y., Fu L., Zhang X., Linhardt R.J. (2019) Molecules, **24**(18), 3360. DOI: 10.3390/molecules24183360.
14. Susanto A., Putera B.W., Wijaya A., Muhtadi A. (2019) Cytotherapy, **21**(5), 87-88.
15. Khan S.A., Nelson M.S., Pan C., Gaffney P.M., Gupta P. (2008) Am. J. Physiol. Cell Physiol., **294**(6), 1387-1397.
16. Brkljacic J., Pauk M., Erjavec I., Cipicic A., Grgurevic L., Zadro R., Inman G.J., Vulicevic S. (2013) Int. Orthop., **37**(3), 529-541.
17. Rodrigues E.M., Cornelio A.L.G., Godoi P.H., da Costa P.I., Rossa-Junior C., Faria G., Guerreiro Tanomaru J.M., Tanomaru-Filho M. (2019) Int. Endod. J., **52**(6), 829-837.
18. Quade M., Knaack S., Weber D., König U., Paul B., Simon P., Rossen-Wolf A., Schwartz-Albiez R., Gtlinsky M., Lode A. (2017) Eur. Cell Mater., **33**, 105-120.

19. Irie A., Takami M., Kubo H., Sekino-Suzuki N., Kasahara K., Sanai Y. (2007) *Bone*, **41**, 165-174.
20. Vik A., Brodin E., Sveinbjornsson B., Hansen J.B. (2007) *Thromb. Haemost.*, **98**, 148-154.
21. Greer I.A., Nelson-Piercy C. (2005) *Blood*, **106**, 401-407.
22. Sonawane S., Kasbekar N., Berns J.S. (2006) *Semin. Dial.*, **19**, 305-310.
23. Compston J. (2013) *Curr. Osteoporos. Rep.*, **11**, 30-35.
24. Coleman R.E., Rathbone E., Brown J.E. (2013) *Nat. Rev. Rheumatol.*, **9**, 365-374.
25. Gajic-Veljanoski O., Chai W., Prakesh S., Cheung A.M. (2016) *J. Gen. Intern. Med.*, **31**, 947-957.
26. Hull R.D., Pineo G.F., Brant R., Liang J., Cook R., Solymoss S., Poon M.-C., Raskob G. (2009) *Am. J. Med.*, **122**, 762-769.
27. Muir J.M., Andrew M., Hirsh J., Weitz J.I., Young E., Deschamps P., Shaughnessy S.G. (1996) *Blood*, **88**, 1314-1320.
28. Muir J.M., Hirsh J., Weitz J.I., Andrew M., Young E., Shaughnessy S.G. (1997) *Blood*, **89**, 3236-3242.
29. Chiodelli P., Bugatti A., Urbinati C., Rusnati M. (2015) *Molecules*, **20**, 6342-6388.
30. Li J.P., Kusche-Gullberg M. (2016) *Int. Rev. Cell Mol. Biol.*, **325**, 215-273.
31. Thornton S.C., Mueller S.N., Levine E.M. (1983) *Science*, **222**, 623-625.
32. Kan M., Wang F., Xu J., Crabb J.W., Hou J., McKeehan W.L. (1993) *Science*, **259**, 1918-1921.
33. Ghiselli G. (2019) *Medicines*, **6**(3), 80. DOI: 10.3390/medicines6030080.
34. Cassinelli G., Naggi A. (2016) *Int. J. Cardiol.*, **212**(Suppl.1), S14-S21. DOI: 10.1016/S0167-5273(16)12004-2.
35. Zhang Y., Sun T., Jiang C. (2018) *Acta Pharm. Sin. B.*, **8**(1), 34-50.
36. Ayerst B.I., Smith R.A.A., Nurcombe V., Day A.J., Merry C.L.R., Cool S.M. (2017) *Tissue Eng. Part A.*, **23**(7-8), 275-292.
37. Rider C.C., Mulloy B. (2017) *Molecules*, **22**(5), pii: E713. DOI: 10.3390/molecules22050713.
38. Leppänen V.M., Tvorogov D., Kisko K., Prota A.E., Jeltsch M., Anisimov A. (2013) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 12960-12965.
39. Kim J.Y., Al-Hilal T.A., Chung S.W., Kim S.Y., Ryu G.H., Son W.C. (2015) *J. Control Release*, **199**, 122-131.
40. Kim S., Cui Z.-K., Kim P.J., Jung L.Y., Lee M. (2018) *Acta Biomater.*, **72**, 45-54.
41. Lee J.S., Lee S.K., Kim B.S., Im G.I., Cho K.S., Kim C.S. (2015) *J. Biomed. Mater. Res. A*, **103**, 545-554.
42. Wang M., Lam R.W., Abbah S.A., Hu T., Toh S.Y., Cool S. (2016) *Spine*, **41**, 1199-1207.
43. Sun T., Liu M., Yao S., Ji Y., Shi L., Tang K., Xiong Z., Yang F., Chen K., Guo X. (2018) *Int. J. Nanomedicine*, **13**, 791-804.
44. Habraken W., Habibovic P., Epple M., Bohner M. (2016) *Materials Today*, **19**(2), 69-87.

Поступила в редакцию: 20. 08. 2020.
После доработки: 16. 10. 2020.
Принята к печати: 29. 10. 2020.

OSTEOGENIC AND ANGIOGENIC PROPERTIES OF HEPARIN AS A SYSTEM OF BIOMOLECULE DELIVERY FOR BONE BIOENGINEERING: A BRIEF CRITICAL REVIEW

L.S. Litvinova^{1*}, K.A. Yurova¹, O.G. Khaziakhmatova¹, M.Yu. Khlusova², V.V. Malashchenko¹,
E.O. Shunkin¹, N.M. Todosenko¹, I.K. Norkin¹, P.A. Ivanov¹, I.A. Khlusov^{3,4}

¹Center for Immunology and Cellular Biotechnology of the Immanuel Kant Baltic Federal University,
6 Gaidara str., Kaliningrad, 236000 Russia; *e-mail: larisalitinova@yandex.ru

²Division of Pathophysiology Siberian State Medical University,
39 Uchebnaya str., Tomsk, 634050 Russia

³Department of Morphology and General Pathology Siberian State Medical University,
2, bld. 7 Moskovsky Trakt, Tomsk, 634050 Russia

⁴Research School of Chemistry and Applied Biomedical Sciences National Research Tomsk Polytechnic University,
43-A Lenin ave., Tomsk, 634034 Russia

The review discusses the complex, ambiguous and individual effects of heparin and its derivatives on the bone and circulatory systems, in dependence of the dosage, the state of the cells and tissues of recipients. General data on the anticoagulant activity of heparin and its derivatives are presented; aspects of the effect of heparin on mesenchymal cells and tissues and its role in angiogenesis are considered in details. Particular attention is paid to the ability of heparin to bind osteogenic and angiogenic biomolecules: this is especially important for the development of systems for their delivery and sustained controlled release. A schematic representation of the positive and side effects of heparin as a delivery system for biomolecules in tissue engineering is proposed.

Key words: heparin; anticoagulant; bone tissue bioengineering; delivery system; regenerative medicine; hemostasis system

Funding. The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 16-15-10031.

Received: 20.08.2020, revised: 16.10.2020, accepted: 29.10.2020.