

УДК 577.1

Применение полиоксиалканоатов в медицине и биологическая активность природного поли-3-оксибутирата

А. П. Бонарцев^{1,2*}, Г. А. Бонарцева², И. В. Решетов³, К. В. Шайтан¹, М. П. Кирпичников¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, 119234, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

²Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, 119071, Москва, Ленинский просп., 33, корп. 2

³Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

*E-mail: ant_bonar@mail.ru

Поступила в редакцию 28.12.2018

Принята к печати 28.03.2019

DOI: 10.32607/20758251-2019-11-2-4-16

РЕФЕРАТ Биоразлагаемые и биосовместимые полимеры, полиоксиалканоаты, активно используются для изготовления различных медицинских изделий и лекарственных форм. В медицинской промышленности применяют полиоксиалканоаты, полученные химическим синтезом, но растет интерес и к природным полиоксиалканоатам, полученным биотехнологическим путем. Синтетические полиоксиалканоаты являются биомиметическими аналогами бактериального поли-3-оксибутирата и других природных полиоксиалканоатов. В обзоре рассмотрено наличие биологической активности у синтетических и природных полиоксиалканоатов (стимуляция пролиферации и дифференцировки клеток, регенерация тканей) и ее возможная связь с биологическими функциями поли-3-оксибутирата у бактерий и эукариот, в том числе у человека.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА биodeградация, биомиметика, биосинтез, биосовместимость, полиоксиалканоаты, поли-3-оксибутират, регенеративная медицина.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ПОА – полиоксиалканоаты; сПОА – синтетические полиоксиалканоаты; пПОА – природные полиоксиалканоаты, поли-3-оксиалканоаты; ПМК – поли-2-оксипропановая (поли-молочная) кислота, полилактид; ПГК – поли-2-оксиуксусная (полигликолевая) кислота, полигликолид; ПМГК – полимолочно-со-гликолевая кислота (полилактид-со-гликолиды); ПКЛ – поли-6-оксикапролактон (поли-ε-оксикапролактон); ПДС – поли-*n*-диоксанон; ПОБ – поли-3-оксимасляная кислота (поли-3-оксибутират); кПОБ – короткоцепочечный комплексообразующий эндогенный ПОБ; оПОБ – среднецепочечный или олиго-ПОБ; П4ОБ – поли-4-оксимасляная кислота (поли-4-оксибутират); ПОВ – поли-3-оксивалериановая кислота (поли-3-оксивалерат); ПОВВ – поли-3-оксибутират-со-3-оксивалерат; ПОГк – поли-3-оксигексаноат; ПОВГк – поли-3-оксибутират-со-3-гексаноат; ПОВВГк – поли-3-оксибутират-со-3-оксивалерат-со-3-оксигексаноат; ПОВОк – поли-3-оксибутират-со-3-оксиоктаноат; ПОВ4ОБ – поли-3-оксибутират-со-4-оксибутират; ЗГБ – 3-гидроксибутират; ГКИТ – гигантские клетки инородных тел; NO – оксид азота; TNF-α – фактор некроза опухолей альфа (tumor necrosis factor alpha); МСК – мезенхимальные стволовые клетки.

ВВЕДЕНИЕ

Полиоксиалканоаты (ПОА) – это биоразлагаемые полиэфиры оксикарбоновых кислот, которые получают как путем химического синтеза, так и с помощью бактериального биосинтеза. С начала 21 века наблюдается рост интереса к изучению этих полимеров и к внедрению их в медицинскую практику. В настоящее время как в научных исследованиях,

так и в клинической практике используют синтетические поли-2-оксипропановую (поли-молочная (ПМК), полилактиды), поли-2-оксиуксусную (полигликолевая (ПГК), полигликолиды) кислоты, поли-6-оксикапролактон (ПКЛ) и природные поли-3-оксимасляную (поли-3-оксибутират (ПОБ)), поли-4-оксимасляную (П4ОБ), поли-3-оксивалериановую (поли-3-оксивалерат (ПОВ)) кис-

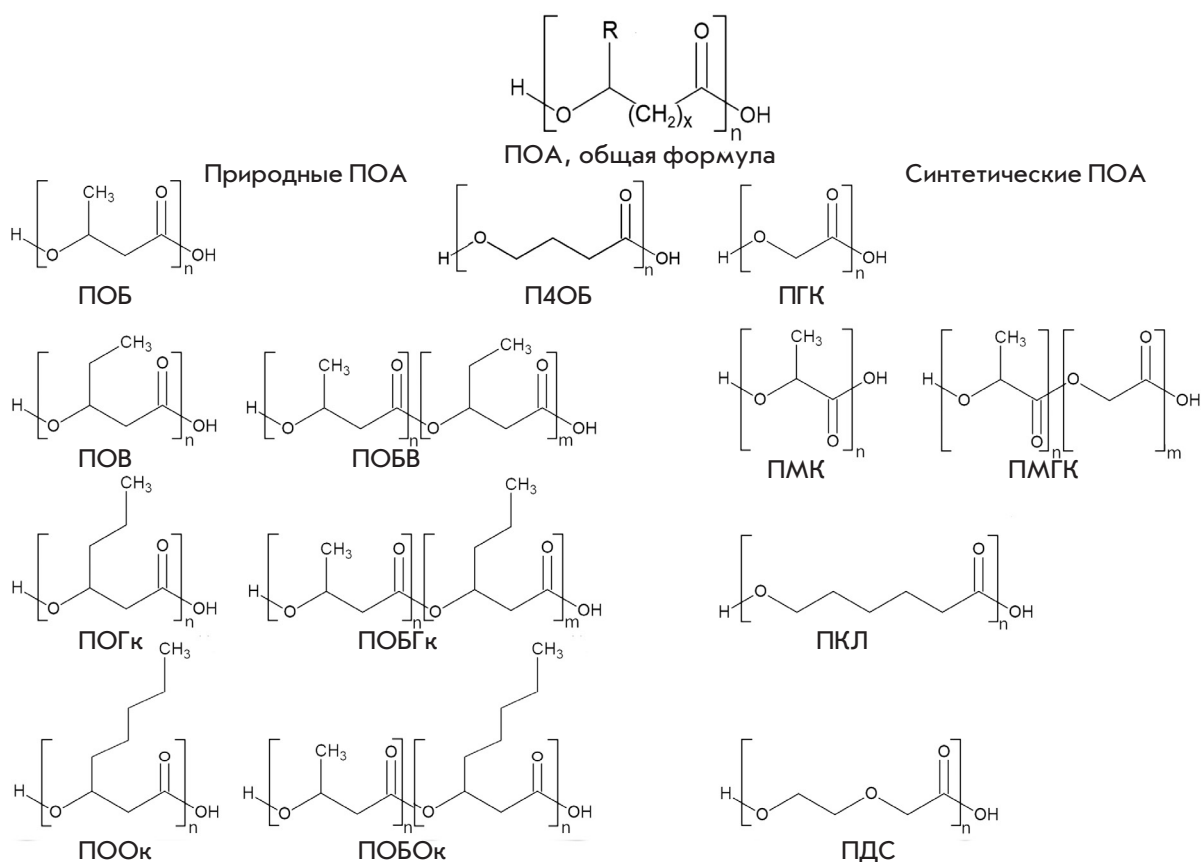


Рис. 1. Общая формула полиоксиканоатов и структурные формулы ряда природных и синтетических полиоксиканоатов биомедицинского применения. Сокращения: ПОБ – поли-3-оксибутират, POV – поли-3-оксивалерат, POBV – поли-3-оксибутират-со-3-оксивалерат, ПОГк – поли-3-оксигексаноат, ПОБГк – поли-3-оксибутират-со-3-оксигексаноат, POOk – поли-3-оксиоктаноат, POBOk – поли-3-оксибутират-со-3-оксиоктаноат, P4OB – поли-4-оксимасляная кислота (поли-4-оксибутират), PGK – поли-2-оксиуксусная кислота (полигликолевая кислота, полигликолид), PMK – поли-2-оксипропановая кислота (полимолочная кислота, полилактид), PMGK – полимолочно-со-гликолевая кислота (полилактид-со-гликолид), PKL – поли-6-оксикапролактон, PDS – поли-*n*-диоксанон

лоты, поли-3-оксигексаноат (ПОГк), их сополимеры и близкие по структуре полимеры, такие, как поли-*n*-диоксанон (PDS) (рис. 1). Благодаря сходству химического строения эти полимеры обладают сходным сочетанием физико-химических и биомедицинских свойств: способностью к биодеградации в организме без образования токсичных продуктов, биосовместимостью с органами и тканями человека, оптимальными физико-химическими свойствами (термопластичность, относительно высокая гидрофобность, специфические диффузионные свойства, относительно высокая прочность, пластичность), возможностью использования эффективных технологических процессов при их получении. Такое уникальное сочетание свойств этих полимеров способствует активному их использованию и внедрению в медицинскую практику [1–4].

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИОКСИКАНОАТОВ В МЕДИЦИНЕ

ПОА стали активно использоваться в медицине еще с 70-х гг. прошлого века. Так, первые биоразлагаемые шовные нити марки «Викрил», изготовленные из полимеров, полученных с помощью химического синтеза, были выведены на рынок медицинских изделий еще в 1974 г. Уже используются или разрабатываются разнообразные изделия из ПОА: биоразлагаемые скобы, винты, пластины, штифты и шпагаты, биорассасываемые шовные нити и скобы для кожных степлеров, раневые и ожоговые покрытия, пародонтологические мембраны, хирургические сетчатые эндопротезы, хирургические заплатки для закрытия дефектов кишечника и перикарда, плаги-эндопротезы для колопроктологии и герниопластики, протезы сосудов, кардиоваскулярные стенты-эндопротезы

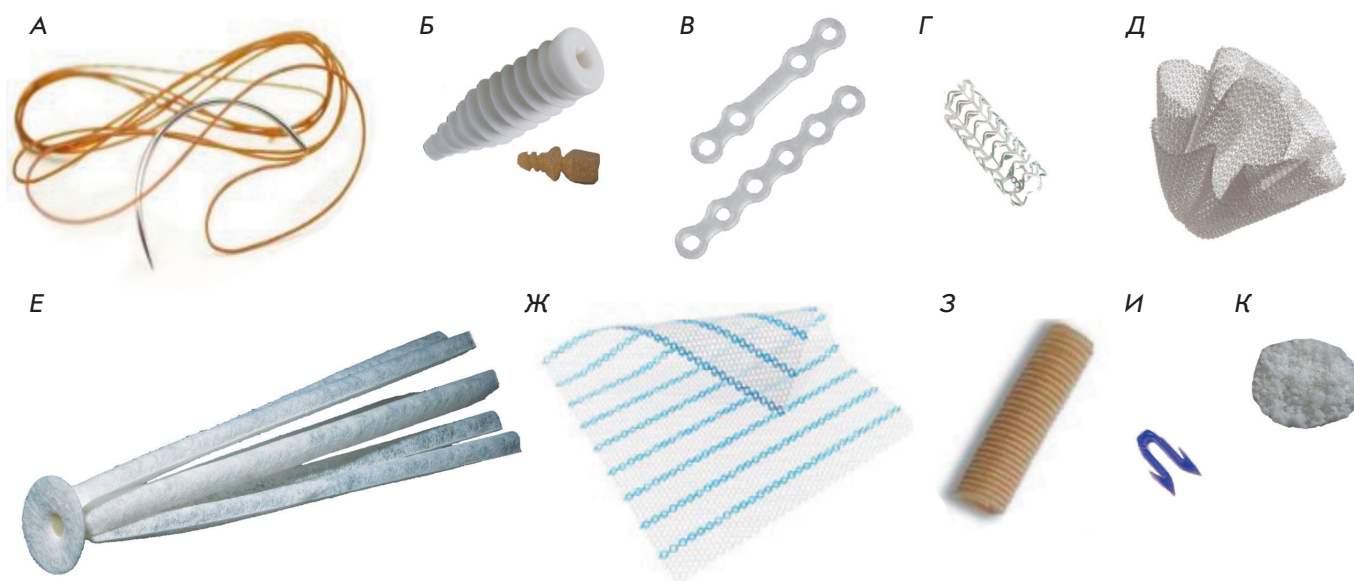


Рис. 2. Применяющиеся в медицинской практике и разрабатываемые медицинские изделия на основе синтетических и природных ПОО. А – биоразлагаемые шовные нити на основе ПГК (Ethicon, Johnson & Johnson, США); Б – биоразлагаемый интерференциальный шуруп для костной фиксации на основе ПМК с пластификатором Osteotwin™ (Biomatlante, Франция); В – биоразлагаемые пластины для костной фиксации LactoSorb® на основе ПМГК (Biomet, США); Г – биорассасывающийся кардиоваскулярный стент-эндопротез Absorb на основе ПМК (Abbott, США); Д – биорассасывающийся тканый плаг-эндопротез для герниопластики Phasix Plug на основе ПЧОБ (C.R. Bard Inc., США); Е – биорассасывающийся плаг-эндопротез для колопроктологии Gore Bio-A fistula plug на основе ПМК (W. L. Gore & Associates Inc., США); Ж – частично биоразлагаемый сетчатый эндопротез для герниопластики на основе тканого материала из монофиламентных нитей из полипропилена и ПМГК Ultrapro Advanced™ (Ethicon, Johnson & Johnson, США); З – эндопротез-гид на основе тканого материала из ПГК для сращивания нервов GEM Neurotube (Synovis Micro Companies Alliance, США); И – биоразлагаемая скрепка на основе ПМК для автоматического степлера для сшивания кожи и мягких тканей (Ethicon, Johnson & Johnson, США); К – биоразлагаемая биополимерная мембрана для замещения дефектов мягких и хрящевых тканей ЭластоПОО на основе ПООБ (АО «БИОМИР сервис», г. Краснознаменск, Московская область, РФ)

зы, каркасные проводники для регенерации нервов, искусственные клапаны сердца и другие изделия. ПОО используются и в фармацевтике как компонент новых лекарственных форм, придающий им такие свойства, как направленная доставка, пролонгированное действие, сниженная токсичность, увеличенная стабильность [1–4] (рис. 2).

Несмотря на то что уникальное сочетание свойств присуще всем представителям класса ПОО, в большинстве случаев в медицине используют такие синтетические ПОО (сПОО), как поли-2-оксипропановая (полимолочная кислота, или полилактид), поли-2-оксиуксусная (полигликолевая кислота, или полигликолид), их сополимеры – полимолочно-со-полигликолевые кислоты (полилактид-со-гликолиды) (ПМГК), поли-6-оксикапролактон и поли-*n*-диоксанон (рис. 1). Это связано с гораздо более масштабным использованием химического синтеза для получения полимеров медицинского назначения и более ранней разработкой способа промышленного получения

сПОО (ПМК, ПГК, ПКЛ и их сополимеров), более ранней сертификацией, проведением доклинических и клинических испытаний и введением этих полимеров в клиническую практику (в 70-х и 80-х гг. прошлого века). Важную роль сыграло также удобство применения этих полимеров, в частности, их быстрая биодegradация в тканях человека [4–6].

Однако ПМК, ПГК и их сополимеры являются синтетическими аналогами природных полиоксикалканатов, поли-3-оксикалканатов (пПОО). И хотя синтетические ПОО (в том числе ПМК, ПГК, ПМГК, ПКЛ) довольно часто называют биополимерами, имея в виду их способность к биодegradации и биосовместимость, это не вполне корректно, так как биополимерами принято называть полимерные продукты жизнедеятельности живых организмов: бактерий, растений, грибов, животных, т.е. биомакромолекулы природного происхождения [7]. Так, поли-3-оксикалканаты являются запасными полимерами многих видов бактерий [1], тогда как сПОО (ПМК, ПГК, ПМГК, ПКЛ и др.) в при-

роде не встречаются [4, 8], хотя методами генетической инженерии с использованием бактериальных штаммов-продуцентов синтезированы сополимеры поли-3-оксибутирата с полимолочной кислотой [9, 10], но это лишь подтверждает их искусственное происхождение. Тем не менее, основные свойства этих полимеров сходны, хотя имеются и важные отличия, уже указанные выше.

Природные поли-3-оксиалканоаты представляют собой полиэфиры 3-оксиалкановых кислот, соответственно ПОБ является линейным полиэфиром R-формы 3-оксимасляной кислоты (рис. 1). Различия разных пПОА определяются наличием бокового радикала: поли-3-оксибутирата, поли-3-оксивалерата, поли-3-оксигексаноата, поли-3-оксиоктаноата и т. д. (рис. 1). Все они довольно сильно различаются по своим физико-химическим свойствам, таким, как кристалличность, температуры плавления и стеклования, гидрофобность, пластичность, модуль упругости и другим. Причем при биосинтезе в бактериях образуются, как правило, не чистые гомополимеры поли-3-оксивалерата, поли-3-оксигексаноата и других более длинноцепочечных мономеров ПОА, а их блок-сополимеры с ПОБ: поли-3-оксибутират-со-3-оксивалерат (ПОБВ), поли-3-оксибутират-со-3-гексаноат (ПОБГк), поли-3-оксибутират-со-3-оксивалерат-со-3-оксигексаноат (ПОБВГк), поли-3-оксибутират-со-3-оксиоктаноат (ПОБОк), поли-3-оксибутират-со-4-оксибутират (ПОБ4ОБ) и др., но свойства этих сополимеров сильно отличаются от свойств ПОБ и значительно зависят от мономерного состава этого сополимера [11–13].

Как правило, для изучения биомедицинских свойств, в том числе биологической активности различных ПОА, проводят тестирование одного из материалов, предназначенного для разработки какого-то определенного медицинского изделия, т.е. используют технический подход. Но что, если рассмотреть биомедицинские свойства ПОА на примере ПОБ как природного родоначальника практически всех ПОА, используемых в медицине, с точки зрения тех функций, которые этот биополимер выполняет в природе? Т.е. использовать такое интересное направление в биологии, как биомиметика [14], тем более, что биомиметический подход в последнее время все активнее применяют для изучения различных полимеров [15].

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИОКСИАЛКАНОАТОВ

Биосовместимость полиоксиалканоатов и их биологическая активность

Как правило, природные биополимеры, такие, как белки и пептиды, полисахариды, липиды, ну-

клеиновые кислоты, полипренолы, а также их сополимеры обладают выраженной биологической активностью, непосредственно связанной с их специализированными функциями: ферментативной, регуляторной, сигнальной, защитной, транспортной и многими другими. Более того, даже такие биополимеры, как липополисахариды или пектины, выполняющие «нейтральные» функции – структурную или запасную, также могут обладать выраженной биологической активностью [16]. Соответственно медицинские изделия и лекарственные препараты на основе некоторых из этих биополимеров (коллагена, хитозана, полилизина) могут проявлять биологическую активность, иногда нежелательную, например, иммуноксичность [17]. Однако, несмотря на интенсивное исследование, вопрос биологической активности как синтетических, так и природных ПОА остается противоречивым и недостаточно изученным. С одной стороны, активное применение ПОА в медицине во многом обусловлено их высокой биосовместимостью, отсутствием или низким уровнем их токсичности, что, тем не менее, не исключает наличия биологической активности у этих полимеров [17]. Вместе с тем, основной причиной использования ПОА в медицине является их способность к биодegradации. Однако сам процесс биодegradации полимеров предполагает активное взаимодействие между полимером и окружающими его живыми клетками и тканями, зачастую участвующими в этом процессе, а также воздействие на клетки и ткани не только самого полимера, но и продуктов его биодegradации – олигомеров и мономеров. Кроме того, появляется все больше данных о собственной биологической активности ПОА по отношению к различным клеткам и тканям человека и лабораторных животных.

Все основные ПОА как синтетические (ПМК, ПГК, ПМГК и ПКЛ), так и природные ПОБ, (ПОБВ, ПОБГк, П4ОБ) обладают довольно хорошей биосовместимостью по сравнению со многими другими материалами, достаточной для применения этих биоразлагаемых полимеров, в том числе, для изготовления имплантируемых изделий, контактирующих с мягкими тканями, костью и кровью согласно ISO 10993 [2, 4, 17, 18]. Однако сопоставление тканевой реакции ПОБ и синтетических полиэфиров ПЛА, ПГА или их сополимеров выявило легкую или умеренную тканевую реакцию на ПОБ [2, 3], тогда как ПЛА, ПГА и ПЛГА нередко вызывали выраженную хроническую воспалительную реакцию [18]. В большинстве случаев ПОБ и его сополимеры характеризовались хорошей биосовместимостью при использовании в качестве имплантируемых биоматериалов [19–21]. Стандартное определение тканевой реакции на подкожную имплантацию ПОБ и его

сополимеров в виде пленок, применяемое в протоколах доклинических исследований, выявляет слабую или умеренную реакцию на чужеродный материал. В течение одного месяца формируется тонкая фиброзная капсула (около 100 мкм), которая, как показано, рассасывается после биодеградации образцов [19–22]. Во многих работах выявлено малое количество лимфоцитов или практически полное их отсутствие (в частности, Т-лимфоцитов) в области имплантации ПОБ, что свидетельствует о значительном снижении или отсутствии иммунной реакции на этот полимерный биоматериал [23–26]. Показано, что подвергнутые глубокой очистке ПОБ и ПОБВ обладают также хорошей гемосовместимостью, что позволяет использовать их для получения изделий, контактирующих с кровью: заплат стенки перикарда, легочной артерии и правого предсердия, биоразлагаемых кардиоваскулярных стентов [25–30]. Но особенно ярко биосовместимость ПОБ проявляется при использовании изделий на его основе, например, пористых матриксов для регенерации костной ткани. При имплантации изделий из ПОБ в область дефекта костной ткани не происходит присущее многим биомедицинским материалам (например, ПМК) образование соединительнотканной капсулы, изолирующей полимерный материал от костной ткани, т.е. ПОБ полностью интегрируется в костную ткань. В случае имплантации пористого матрикса из ПОБ наблюдается активная васкуляризация матрикса и образование в порах матрикса островков (балок) новой костной ткани из грануляционной ткани [23, 24, 31]. Определение уровня экспрессии различных цитокинов и других белков-маркеров воспаления в области имплантации изделий из ПОБ (и его сополимера ПОБВ) выявило сниженный (по сравнению с другими материалами) уровень экспрессии провоспалительных цитокинов (интерлейкинов, фактора некроза опухоли, белка хемоаттрактанта моноцитов, индуцибельной NO-синтазы, С-реактивного белка) и повышенную экспрессию генов различных белков (коллагена I, кавеолина-1, цитокератина, гепарансульфатпротеогликана, тромбомодулина, простациклина) – маркеров регенеративных процессов в тканях сердца и сосудов, кишечника, нервной, костной ткани [23, 25, 27, 28, 32–35]. Однако в некоторых случаях наблюдалась хроническая воспалительная реакция на имплантацию изделий из ПОБ, например, прототипов стентов-эндопротезов. Следует отметить, что эти изделия получены плавлением или могли быть плохо очищены [36, 37]. На биосовместимость ПОБ и его сополимеров, как и в случае биодеградации, может сильно влиять способ формования изделий из этого полимера, особенно при использовании экструзии или формования из расплава. Плавление

вызывает перекристаллизацию полимера и резко замедляет диффузию воды в полимерной матрице, а именно вода играет ключевую роль в формировании ультраструктуры ПОБ, которая сильно влияет на его биологические свойства [38].

Благодаря своей высокой биосовместимости ПОБ представляет собой перспективный материал для клеточной биологии и инженерии. Хороший уровень клеточной адгезии, пролиферации и жизнеспособности в ходе культивирования *in vitro* на пленках или пористых матриксах из ПОБ проявляют различные клетки млекопитающих: фибробласты человека и мыши, мезенхимальные стволовые клетки (МСК) крысы, мыши и человека, остеобласты костной ткани кролика, остеогенные клетки саркомы человека, хондроциты суставного хряща кролика и клетки гладкой мускулатуры кролика [3]. Нано- и микрочастицы из ПОБ и его сополимеров не оказывают цитотоксического эффекта на различные клетки вплоть до концентрации 1 мг/мл [39, 40], а к их эндоцитозу способны не только макрофаги, но и остеобласты, фибробласты и опухолевые эпителиальные клетки [41–45]. Тогда как цитотоксичность наночастиц из ПМК и ПМГК не проявлялась лишь до концентрации 66–100 мкг/мл, но была выраженной при концентрации более 100 мкг/мл [41, 46]. Водорастворимые олигомеры ПОБ, состоящие примерно из 25 остатков 3-оксибутирата, конъюгированных с липоевой кислотой, также не оказывали цитотоксического действия *in vitro* на кератиноциты в концентрации до 9 мкг/мл [47].

Благодаря своей высокой биосовместимости ПОБ и другие ПОА могут использоваться для изготовления различных конструкций (пористых матриксов, микросфер, каркасов) для экспериментального моделирования 3D-роста *in vitro* различных клеток человека и млекопитающих: мезенхимальных стволовых клеток, фибробластов, различных линий опухолевых клеток, что позволит создавать экспериментальные модели различных заболеваний, прежде всего опухолей [48] (рис. 3).

Вместе с тем, следует принимать во внимание, что такие характеристики полимеров, как химический состав, морфология поверхности, поверхностная энергия и гидрофобность, оказывают большое влияние на жизнеспособность клеток и их рост [49], например, химическая обработка поверхности изделий из ПОБ способствует росту клеток на них [3].

Биодеградация полиоксисилканоатов и их биологическая активность

Скорость биодеградации широко используемых сПОА, ПМК и ПГК значительно выше, чем других ПОА, так как она происходит преимущественно путем гидролитической деструкции. Такой механизм

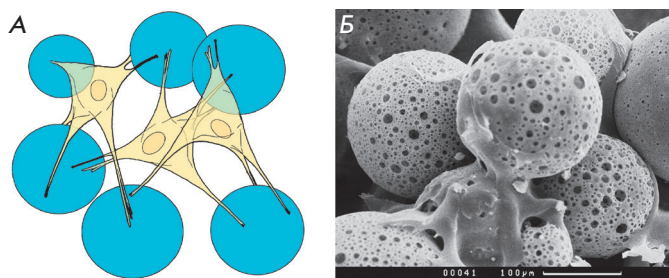


Рис. 3. Экспериментальная модель *in vitro* 3D-роста мезенхимальных стволовых клеток на микросферах из ПОб: схема (А) и микроскопическое изображение (СЭМ, $\times 300$) (Б) роста клеток на микросферах

деструкции сПОА является причиной многих проблем их медицинского использования. Так, продукты деградации ПМК, ПГК и ПМГК, образующиеся в процессе быстрого гидролиза, не успевают утилизироваться в организме, и вблизи имплантата резко снижается рН. Хроническое раздражение ткани в результате снижения рН считается серьезной проблемой применения полимерных имплантатов на основе ПМК, ПГК и ПМГК, оптимальное решение которой не найдено до сих пор [18]. Хроническое воспаление как ответ на деструкцию полилактидов и полигликолидов может усугубляться иммунным ответом на высвобождение нестереорегулярных водорастворимых олигомеров – продуктов деградации полимеров данного класса [18, 50]. Показана цитотоксичность продуктов гидролитической деструкции ПМК и ПГК [18, 41, 46]. В формировании воспалительной реакции на имплантированный ПМГК большую роль играют дендритные клетки, которые этот полимер способен активировать [51]. Такой воспалительный ответ является, в частности, одной из причин торможения биодеградации внутрикостных имплантатов из этих полимеров благодаря их «консервации» в соединительнотканной капсуле, что вызывает различные осложнения: миграцию имплантатов в кости, образование свищей, отторжение имплантата и др. [18]. Чтобы устранить хроническое воспаление приходится прибегать к различным ухищрениям. Так, в изделия из ПМГК вводят противовоспалительные лекарственные средства (дексаметазон, куркумин) [52, 53], антитела к провоспалительным цитокинам (интерферону- γ) [54], используют мезенхимальные стволовые клетки [51].

Природные поли-3-оксиалканоаты гораздо более устойчивы к гидролизу в водной среде [55], в том числе в присутствии различных эстераз [55–57], причем в живых тканях скорость биодеградации может быть многократно выше, чем в водной среде в модельных

условиях *in vitro*, даже в присутствии липолитических ферментов (например, липазы) в высоких концентрациях [22].

Появляется все больше данных в пользу того, что биодеградация ПОб и его сополимеров происходит преимущественно за счет фагоцитирующей активности специализированных клеток – макрофагов, а также гигантских клеток инородных тел (ГКИТ) и остеокластов, т.е. имеет место специализированная биодеградация этих полимеров. Введение в организм изделий из ПОб и его сополимеров вызывает привлечение в область повреждения макрофагов, которые плотно покрывают полимерный материал при формировании вокруг него соединительнотканной капсулы и активно участвуют в процессах его биодеградации. Полимерный биоматериал подвергается воздействию межклеточной жидкости и клеток, что может приводить к отщеплению от него микро- и наночастиц, олигомеров и мономеров [3, 19, 57–59]. Причем клетки вызывают поверхностную эрозию полимера, без существенного изменения его физико-химических свойств, которое происходит при гидролитической деструкции полимера в объеме. Показано, что после удаления макрофагов и ГКИТ на поверхности полимера оставались следы эрозии в виде углублений диаметром 20–50 мкм [25, 26, 60, 61]. Низкая скорость биодеградации приводит к снижению концентрации продуктов распада вблизи имплантата, среди которых в случае ПОб доминирует 3-гидроксимасляная кислота, гораздо более слабая ($pK_a = 4.41$), чем основной продукт биодеградации ПМК и ПМГК – молочная кислота ($pK_a = 3.73$). Соответственно при биодеградации ПОб и его сополимеров не происходит закисления среды [18–20].

При этом наблюдается активация макрофагов полимерным материалом, что способствует их фагоцитирующей активности [36, 40, 62]. Важную роль играет адгезия макрофагов на поверхности полимерного материала. Показано, что биодеградация полимерных мембран происходит только тогда, когда на их поверхности адгезируются макрофаги. Если же макрофаги не имеют физической возможности прикрепиться к мембране, то деградации полимера не происходит [63]. Макрофаги и остеокласты прочно прикрепляются к полимерным пленкам ПОб и пролиферируют на них [62]. Отмечено значительное увеличение экспрессии липаз двух типов после 7 и 14 дней контакта ПОб с тканями животных, при этом в печени увеличивалась экспрессия липаз этих же типов. Более того, наблюдалось повышение синтеза таких расщепляющих ферментов, как липаза 1-го типа, липаза 2-го типа, амилаза, химотрипсин и трипсин в стенке желудка непосредственно в области контакта тканей с заплатой на основе ПОб [34].

В тканях крыс найдены два фермента, расщепляющих ПОБ: сериновая эстераза печени с максимальной активностью в щелочной среде (рН 9.5) и эстераза почек, активная в нейтральной среде [64]. В опытах с частицами ПОБ низкой молекулярной массы показано участие макрофагов в биодegrадации ПОБ [40]. Установлено, что макрофаги и в меньшей степени фибробласты способны фагоцитировать частицы ПОБ размером 1–10 мкм. При высоких концентрациях частиц ПОБ (>10 мкг/мл) фагоцитоз сопровождается токсическим действием и изменением функционального состояния макрофагов, но не фибробластов [40], тогда как наночастицы (15–250 нм) из ПОБ и его сополимеров не оказывали значительного цитотоксического действия на макрофаги даже при такой большой концентрации, как 1 мг/мл, в отличие от наночастиц ПМК [41]. Фагоцитоз микрочастиц ПОБ сопровождался увеличением продукции оксида азота (NO) и фактора некроза опухолей альфа (TNF- α) в активированных макрофагах, а при фагоцитозе большого количества микрочастиц происходила гибель макрофагов. Показано также, что фагоцитоз частиц ПОБ постепенно снижается благодаря активному процессу биодegrадации ПОБ [40]. Интересно, что к эндоцитозу микрочастиц из низкомолекулярного ПОБ *in vitro* способны не только макрофаги, но и остеобласты. Причем при сокультивировании этих клеток фагоцитирующую способность остеобластов, как и их остеогенную активность (активность щелочной фосфатазы), стимулировали макрофаги, фагоцитирующие полимерные микрочастицы [40].

Таким образом, контакт с живыми тканями полимеров даже с высокой биосовместимостью может сочетаться с развитием естественной воспалительной реакции организма на имплантацию чужеродного тела, активацией макрофагов и остеокластов при расщеплении ими полимера. Однако следует отличать такую биологическую активность ПОА от собственной биологической активности полимеров, связанной с их специфическими свойствами.

Собственная биологическая активность полиоксисилканоатов

ПОБ и его сополимеры, по-видимому, обладают и собственной биологической активностью. Они, как уже отмечено, активируют при имплантации клетки иммунной системы, вызывая секрецию ими провоспалительных цитокинов [34, 35], что характерно для обычной тканевой реакции на имплантацию практически любых материалов, особенно биодegrадируемых. Показано, что изделия из ПОБ (неплетеные заплатки, пористые матриксы) способствуют регенерации тканей различных органов: костной, сердца и сосудов, нервов, кишечника. Использование

изделий из ПОБ приводит к высокой васкуляризации в зоне восстановления дефектов ткани [23–28, 32, 35, 65]. На критических (теменная кость черепа крысы) и некритических (бедренная кость крысы) моделях костных дефектов показано, что пористые матриксы из ПОБ способствуют регенерации костной ткани. На всех стадиях регенерации костного дефекта отмечена минимально выраженная тканевая реакция на имплантацию, связанная с постепенной биорезорбцией полимерного материала, активная васкуляризация матриксов и прорастание образующейся костной ткани в порах матрикса из ПОБ. На регенерацию костной ткани в матриксе из ПОБ указывает также экспрессия остеогенных маркеров, например, коллагена типа I [23, 24]. Мы наблюдали равномерное появление новообразующейся костной ткани по всему объему пористого биополимерного матрикса в виде островков, а не с краев, при этом вокруг биополимерного материала не образовывалась фиброзная капсула, что указывает на его полную интеграцию с костной тканью [24, 65]. Все это свидетельствует о превосходной биосовместимости ПОБ с костной тканью, о выраженной остеокондуктивной и даже остеоиндуктивной способности. Биологическую активность ПОБ и его сополимеров, полученных бактериальным биосинтезом, связывают с возможностью плохой очистки полимерного материала от бактериального липополисахарида или ДНК. Однако даже очень хорошо очищенный полимер способен активировать клеточный ответ [36].

Биологическая активность пористых матриксов из ПОБ и его сополимеров (ПОВВ, ПОВГк, ПОВВГк) показана и на клеточном уровне *in vitro*. Так, терполимер ПОВВГк стимулировал пролиферацию линии HaCaT кератиноцитов человека при росте на полимерных пленках, полученных осаждением из раствора. Исследование механизма стимуляции пролиферации клеток с использованием наночастиц из этого биополимера показало, что добавление наночастиц из ПОВВГк в концентрации 0.02–0.1 г/л стимулировало увеличение тока ионов кальция в цитоплазму, что является одним из основных сигнальных путей активации деления клеток. Продукт деградации ПОА мономер 3-гидроксипропанат (*D*-3-гидроксимасляная кислота, ЗГБ) также самостоятельно вызывает активацию пролиферации кератиноцитов линии HaCaT человека и фибробластов мыши L929 в концентрации от 0.01 до 0.1 г/л (0.1–1.0 мМ) по механизму увеличения концентрации ионов кальция в цитоплазме клетки, а также подавляет апоптоз и некроз фибробластов [66–68]. Подобная активность ЗГБ неудивительна, поскольку это кетонное тело – естественный метаболит млекопитающих, обладающий выраженной биологической активностью [16]. Однако биоло-

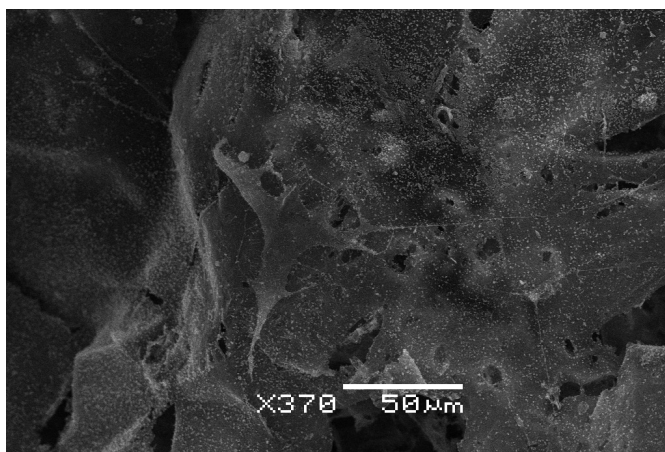


Рис. 4. Мезенхимальная стволовая клетка на матриксе из ПОБ на 21 сутки культивирования, обладающая морфологией остеобласта, и отложения вокруг нее солей кальция на матриксе. Сканирующая электронная микроскопия, $\times 370$

гической активностью могут обладать не только ЗГБ, но и олигомеры ПОА. Так, олигомеры ПОБ и его сополимеры с 4-оксибутиратом и 3-оксигексаноатом (с длиной цепи 20–25 мономеров) не токсичны для клеток (до концентрации 20 мкг/мл) и стимулируют пролиферацию, подавляют апоптоз, выброс кальция в цитоплазму и образование межклеточных контактов между бета-клетками поджелудочной железы мышей [69].

Показано, что скаффолды из ПОБ и его сополимеров (ПОБВ, ПОБГк) стимулируют дифференцировку остеобластов и мезенхимальных стволовых клеток человека, крысы, кролика (выделенных как из жировой ткани, так и из костного мозга) в остеогенном направлении при росте клеток на них [23, 24, 39, 63, 70–72]. Дифференцировка МСК при росте на скаффолдах из пПОА подтверждена изменением морфологии клеток (рис. 4), угнетением их пролиферации, увеличением активности щелочной фосфатазы, отложением солей кальция в клетке [24, 39, 70–72] и экспрессией маркеров остеогенной дифференцировки и формированием костной ткани (щелочной фосфатазы, коллагена типа 1, *Runx2*, остеокальцина, остеопонтин) с помощью иммуноферментных методов и ПЦР [23, 24, 70]. Впрочем, в некоторых работах индукция остеогенной дифференцировки при росте эмбриональных предшественников остеобластов на матриксах не была подтверждена [73]. Здесь необходимо отметить, что значительное влияние на рост и дифференцировку МСК могут влиять их физико-химические свойства, а также микроструктура и топография конструкций из этих полимеров, на которых растут клетки. Этот эффект

может даже нивелировать воздействие биоактивных молекул, стимулирующих рост или дифференцировку клеток в том или ином направлении [49, 74, 75]. Влияние ПОА на дифференцировку МСК также может быть связано с биоактивностью продукта их биодegradации – ЗГБ. Так, ЗГБ в концентрации 0.005–0.1 г/л (0.05–1 мМ) вызывает остеогенную дифференцировку остеобластов мыши линии МС3Т3-E1, определенную по увеличению активности щелочной фосфатазы, отложению кальция (тест на краситель Ализариновый красный S) и экспрессии остеокальцина. Остеоиндуктивное действие ЗГБ *in vivo* показано на модели остеопороза у самок крыс с удаленными яичниками. Тем не менее, ЗГБ в меньших концентрациях не оказывал подобного действия, а при медленной биодegradации ПОА ЗГБ образуется в концентрациях, гораздо меньших 0.05 мМ [76]. ПОБГк вызывает также дифференцировку МСК в хондрогенном направлении, что показано по изменению экспрессии хондрогенных генов-маркеров МСК: агрегана, *col2*, *sox9*, *col10* и *pthrp* [74]. В других исследованиях показано, что ПОБ, ПОБГк, ПОБВГк, ПОВО и их композиты, а также ПМК стимулируют дифференцировку МСК в нейрогенном направлении, что выражается в изменении морфологии клеток и экспрессии ими генов специфических белков: нестина, фибриллярного кислого белка глии и β III-тубулина [77, 78]. Теоретически это могло быть связано с показанным ранее нейропротективным действием ЗГБ, если бы не тот факт, что позитивное воздействие ЗГБ на нервную систему обусловлено питательной (энергетической) функцией жирных кислот, в том числе ЗГБ, в нейронах и проявляется при очень больших дозах этих веществ [79]. Однако показано также, что ЗГБ стимулирует образование целевых контактов между нейронами для передачи электрического сигнала, чем может объясняться вызываемое им улучшение памяти и обучаемости [80]. Интересно, что реализация эффектов ПОА на пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток может осуществляться через интегрины – молекулы межклеточных контактов и распознавания. Дифференцировка МСК и апоптоз остеобластов осуществляются по каскадному механизму, который запускается при взаимодействии ПОА с интегринными на поверхности клетки [81, 82].

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ПРИРОДНЫЕ ФУНКЦИИ ПОЛИ-3-ОКСИБУТИРАТА

Поли-3-оксибутират как запасной полимер бактерий

Природные поли-3-оксиалканоаты возникли в процессе эволюции, прежде всего, как резервные биопо-

лимеры, т.е. такие полимеры, которые предназначены для биодegradации ферментными системами живых организмов с целью извлечения из них энергии и углерода для обеспечения жизнедеятельности клеток и биосинтеза ими других биомолекул. Способность к синтезу резервных пПОА, преимущественно ПОБ, широко распространена у прокариот, сотни видов бактерий используют этот биополимер в качестве запасного вещества. Для большинства микроорганизмов накопленные пПОА служат источником углерода и энергии при их недостатке. Бактерии, способные к синтезу пПОА, запасают биополимер в цитоплазме в виде дискретных включений (гранул) обычно от 100 до 800 нм в диаметре (рис. 5). Роль пПОА, прежде всего ПОБ, как резервного материала бактерий подробно освещена в обзоре Anderson и Dawes [83].

Более того, к синтезу ПОБ способны или обладают ферментами (и их генами) его биосинтеза (прежде всего, ПОА-полимеразой) симбиотические и инфекционные бактерии человека, такие, как *Agrobacterium*, *Clostridium*, *Ralstonia*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Vibrio*, *Legionella*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Acinetobacter*, *Sphingomonas*, *Fusobacterium*, *Neisseria*, *Streptomyces*, *Bordetella*, *Rickettsia*. Некоторые из этих бактерий, например *Pseudomonas sp.*, способны к синтезу не только ПОБ, но и различных его сополимеров [84]. Многие из этих бактерий формируют значительную долю нормальной микрофлоры кишечника, играющего важнейшую роль в формировании иммунитета человека, и других органов (ротовой полости, легких, кожи) или являются возбудителями многих широко распространенных инфекционных заболеваний. Соответственно иммунная система человека распознает антигены этих бактерий, вероятно, с момента формирования иммунитета в младенчестве. Одним из таких обычных и привычных для иммунитета антигенов является ПОБ, чем, по-видимому, можно объяснить высокую биосовместимость этого биополимера и его синтетических аналогов, близких по своей структуре и физико-химическим свойствам. Однако с липополисахаридом иммунная система также контактирует на этапе формирования иммунитета, что не мешает этому биополимеру быть мощным стимулятором иммунитета. А ПОБ является таким же продуктом как симбиотических, так и инфекционных бактерий. Возможно, в организме человека ПОБ выполняет какую-то функцию, отличную от функции запасного вещества у представителей микрофлоры.

Эндогенный поли-3-оксибутират в тканях животных и его предполагаемые функции

Вопреки мнению, что ПОБ синтезируется только в клетках прокариот, этот биополимер обнаружен

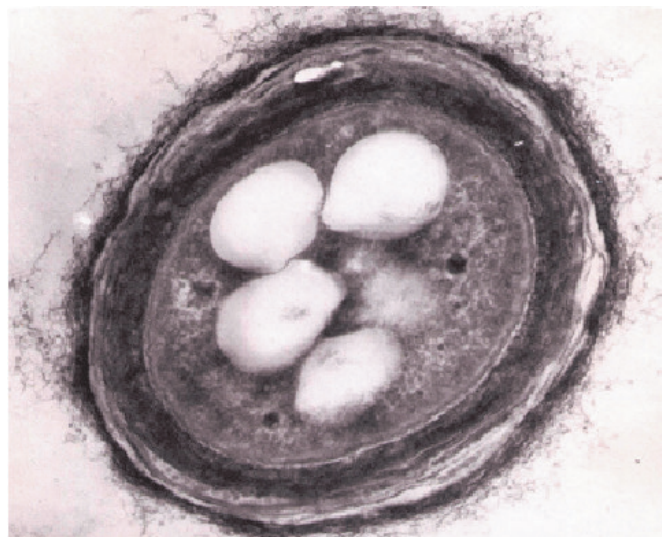


Рис. 5. Штамм-продуцент ПОА *Azotobacter chroococcum* 7Б с гранулами ПОБ в бактериальной клетке в процессе биосинтеза биополимера (сканирующая электронная микроскопия, $\times 50000$)

группой Reusch у организмов практически всех типов [85]. Короткоцепочечный комплексообразующий ПОБ (кПОБ, не более 30 мономеров 3-оксибутирата) и среднецепочечный, или олиго-ПОБ (оПОБ, 100–200 мономеров 3-оксибутирата), найдены в различных органах и тканях млекопитающих, включая человека (а также коровы, овцы, свиньи) и птиц (курицы, индейки), – в крови, мозгу, сердце, печени, почках, сосудах, нервах, липопротеиновых частицах, тромбоцитах и др. Концентрация кПОБ/оПОБ варьирует от 3–4 мкг/г в нервных тканях и мозгу до 12 мкг/г в плазме крови. Концентрация оПОБ в плазме крови человека может изменяться в достаточно широких пределах – от 0.6 до 18.2 мкг/мл при усредненном значении 3.5 мкг/мл [85]. Следует отметить, что промежуточный продукт биодegradации ПОБ – ЗГБ – является так называемым кетоновым телом. В норме он содержится в крови и тканях млекопитающих в концентрациях 0.3–1.3 мМ, а при патологических состояниях и намного выше [86].

Reusch с соавт. [85] предполагают, что ПОБ, помимо роли запасного вещества и энергетического депо у бактерий, выполняет также и различные регуляторные функции у эукариот и прокариот. При этом ПОБ (а именно короткоцепочечные кПОБ и оПОБ) влияет на функционирование белковых рецепторов и каналов, а также ДНК путем образования с ними как нековалентных, так и ковалентных связей. Наличие ПОБ в различных тканях человека эти исследователи объясняют существованием неких биохимических

механизмов синтеза этого биополимера. Показано, что кПОБ и оПОБ образуют нековалентные комплексы с неорганическими полифосфатами и ионами кальция, которые могут функционировать как небелковые каналы, способные к проведению неорганических ионов через плазматическую мембрану. Эти структуры образуют также нековалентные комплексы с белками ионных каналов и входят в их состав, а также влияют на функции рецепторов и каналов за счет ковалентного связывания. Так, олигомеры ПОБ ковалентно связываются с кальциевой АТФ-азой плазматической мембраны эритроцитов человека, формируя одновременно комплекс с неорганическими фосфатами [86]. Получены косвенные подтверждения существования определенной физиологической функции у конъюгатов кПОБ с белками. Так, активность противоопухолевых пептидов DP18L усиливается при их конъюгации с 3-гидроксидеканоатом [87].

Предполагаемые функции поли-3-оксибутирата в микробиоте животных

Однако ПОБ может выполнять и другие функции в организме человека, не требующие его обязательного синтеза. Можно предположить, что ПОБ каким-то образом участвует во взаимодействии бактерий микробиоты кишечника, где этот биополимер синтезируется, с клетками иммунной системы и эпителием слизистой кишечника. В пользу этой версии свидетельствует особая роль ПОБ в симбиозе бактерий микробиоты и организма животного-хозяина. Например, синтез ПОБ играет важную роль во взаимодействии бактерий рода *Burkholderia* с их организмом-хозяином клопом *Riptortus pedestris*, повышая устойчивость бактерий к иммунной системе этого клопа [88]. Показано также, что биосинтез ПОБ имеет большое значение для микробиоты голотурии (морской огурец) *Apostichopus japonicus*. Синтез ПОБ, по-видимому, модулирует микробиоту голотурии, что способствует многократному увеличению размеров животного [89]. Заслуживает внимания работа, в которой изучали способность гистамина регулировать синтез низкомолекулярного кПОБ у *Escherichia coli*. Гистамин играет важную роль как средство коммуникации бактерий с организмом-хозяином и регулятор иммунной системы кишечника, позволяющий бактериям быть «своими» для организма-хозяина, поэтому влияние гистамина на синтез кПОБ может свидетельствовать о вовлечении этого биополимера в процессы адаптации и сосуществования с организмом-хозяином [90]. Более того, показана эффективность ПОБ при инфекционных заболеваниях: использование в качестве корма порошка ПОБ защищало рачков *Artemia nauplii* от заболевания, вызываемого *Vibrio campbellii*, причем эффективность

ПОБ была в 100 раз выше, чем у 3-гидроксимасляной кислоты [91]. Кроме того, ПОБ способен подавлять не только *Vibrio* sp., но также *E. coli* и *Salmonella* sp. [92]. Показано также, что продукты биodeградации некоторых пПОА, например, 3-гидроксиоктаноат, обладают антимикробной активностью в отношении целого ряда грамотрицательных и грамположительных бактерий, а также ингибируют продукцию метаболитов, ассоциированных с патогенной активностью этих бактерий, тогда как для цитотоксического воздействия на фибробласты человека необходима значительно большая концентрация пПОА [93].

На возможность того, что ПОБ может выполнять какие-то сигнальные функции в организме, указывает также и такой интересный факт, что димеры и тримеры 3-оксибутирата являются половыми феромонами у пауков [94]. Не исключено, что эти феромоны могут быть продуктами биосинтеза бактериями микробиоты членистоногого. Так, например, у жуков *Costelytra zealandica* половым феромоном является фенол, который синтезируется из тирозина в специальных железах симбиотическими бактериями *Morganella morganii* [95]. Димеры и тримеры 3-оксибутирата обнаружены у гриба *Hypoxylon truncatum*, однако механизм их синтеза не установлен [96].

На основе П4ОБ и ПОБ4ОБ получают целый ряд биоразлагаемых медицинских изделий: хирургических нитей, тканых сетчатых эндопротезов и плаг-эндопротезов, скаффолдов для регенерации мягких тканей. Благодаря измененной химической структуре П4ОБ, как ПМК и ПГК, подвергаются преимущественно гидролитической деградации. В природе этих полимеров не существует, их получают биотехнологическим путем с помощью биосинтеза генетически модифицированным штаммом-продуцентом *E. coli* K12. Мономер П4ОБ – 4-гидроксибутират (γ-оксимасляная кислота), как и 3-оксибутират, является естественным метаболитом и одним из нейромедиаторов, который используется как мощное психоактивное вещество и даже входит в перечень наркотических средств [97].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, наблюдаемая многими исследователями биологическая активность ПОА, например, способность этих полимеров стимулировать регенерацию костных и хрящевых тканей, может быть связана не только с физико-химическими свойствами ПОА или со структурой изделий на их основе, но и с наличием собственной активности ПОА, которая, в свою очередь, обусловлена природными функциями предшественника этих полимеров – ПОБ (таблица). Подобная связь имеется также и между способностью ПОА, используемых для изготовле-

Биологическая активность синтетических и природных ПОА в организме человека и природные функции поли-3-оксибутирата

Биологическая активность	Возможные причины	Природные функции
Активация макрофагов и остеокластов [36, 40, 63].	Способность к гидролитической и ферментативной деструкции [1–4, 19, 58–60]. Преимущественно клеточная биodeградация пПОА [25, 26, 61, 62].	Способность ПОБ к контролируемой биodeградации как внутриклеточного запасного вещества бактерий [83].
Стимуляция пролиферации клеток (кератиноцитов, фибробластов, бета-клеток) [67–70].	Собственная биоактивность пПОА [69, 81, 82] и ЗГБ [67, 68].	Возможная сигнальная функция ПОБ при взаимодействии бактерий микробиоты, его синтезирующих, с клетками иммунной системы и эпителием слизистой кишечника [88–90, 94]. Возможная функциональность эндогенного ПОБ [85]. Разнообразные функции кетонового тела ЗГБ и других 3-гидроксиалканоатов в организме млекопитающих [76, 79, 93].
Стимуляция дифференцировки остеобластов и МСК в остеогенном, хондрогенном и нейрогенном направлении [23, 24, 39, 63, 70–72, 77, 78].	Физико-химические свойства ПОА [24, 49, 71], микроструктура и топография изделий [74, 75], способность к биodeградации [1–4], собственная биоактивность пПОА [69, 81, 82] и ЗГБ [77, 80].	
Активация регенерации различных тканей (сердца и сосудов, кишечника, нервной, костной) [1, 2, 4, 23, 25, 27, 28, 32–35, 36].		
Хроническая воспалительная реакция (низкая [1–4, 19–35], выраженная [18, 36, 37]).	Защисление тканей продуктами биodeградации ПМК [18], иммунная реакция на сПОА с измененной химической структурой [18, 50, 51], плохая очистка, жесткая обработка полимеров (например, плавлением) [38, 49], микроструктура и форма изделий [18].	Низкая токсичность ПОБ как внутриклеточного запасного вещества бактерий [83]; низкая иммуногенность ПОБ благодаря его наличию у бактерий микробиоты млекопитающих [84] и возможному наличию эндогенного ПОБ у млекопитающих [85].
Цитотоксичность (низкая [1–4, 39–45, 47], выраженная [18, 41, 46]).	Защисление тканей продуктами биodeградации сПОА [18, 41, 46].	

ния медицинских изделий, к биodeградации в тканях человека и природной функцией ПОБ как запасного биополимера в бактериальной клетке, так как, чтобы выполнять свою функцию, запасное вещество должно обладать способностью к расщеплению клеточными ферментами. Возможно, что этот биополимер выполняет некие сигнальные функции в нашем организме, посредством которых бактерии микробиоты взаимодействуют с клетками иммунной системы, слизистой кишечника и других тканей, вызывая у них тот или иной физиологический ответ. Можно предположить, что структура ПОА, полученных с помощью как химического синтеза, так и биотехнологических методов, сходна со структурой ПОБ, что позволяет имитировать биологические свойства ПОБ, связанные с теми его функциями, которые этот биополимер приобрел в процессе долгой эволюции синтезирующих его организмов.

Несмотря на то что подавляющее большинство изделий и лекарственных форм на основе ПОА изготовлены из синтетических ПОА, уже разработаны и применяются несколько изделий на основе природных ПОА. Это, например, биополимерная мембрана для замещения дефектов мягких и хря-

щевых тканей ЭластоПОБ (АО «БИОМИР сервис», г. Краснознаменск, Московская область, РФ) [98] и композитный сетчатый эндопротез TerphaFLEX (Terpha Inc., США) Phasix™ Plug [97] (рис. 2). Незатихающий интерес к природным ПОА, используемым как в промышленности (упаковка, текстиль, косметика, бытовые изделия), так и в медицине доказывает также строящийся биотехнологический завод итальянской компании Bio-on (<http://www.bio-on.it/index.php>) для крупнотоннажного промышленного производства ПОБ и его сополимеров.

Таким образом, рассмотренная нами область науки требует глубокого и тщательного исследования, которое позволит установить природные функции используемых в медицине полимеров – биомиметических аналогов природных предшественников, и разработать новые природоподобные технологии создания полимерных медицинских изделий и лекарственных препаратов нового поколения. ●

Работа получила финансовую поддержку РФФИ офи-м (проект № 15-29-04856 в рамках раздела 1) и РФФИ офи-м (проект № 18-29-09099 в рамках разделов 2 и 3).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mokhtarzadeh A., Alibakhshi A., Hejazi M., Omidi Y., Dolatabadi J.E.N. // *Trends Analyt. Chem.* 2016. V. 82. P. 367–384.
2. Lim J., You M., Li J., Li Z. // *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2017. V. 79. P. 917–929.
3. Бонарцев А.П., Бонарцева Г.А., Шайтан К.В., Кирпичников М.П. // *Биомед. химия.* 2011. Т. 57. № 4. С. 374–391.
4. Farah S., Anderson D.G., Langer R. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2016. V. 107. P. 367–392.
5. Athanasiou K.A., Niederauer G.G., Agrawal C.M. // *Biomaterials.* 1996. V. 17. № 2. P. 93–102.
6. Middleton J.C., Tipton A.J. // *Biomaterials.* 2000. V. 21. № 23. P. 2335–2346.
7. Vert M., Doi Y., Hellwich K.H., Hess M., Hodge P., Kubisa P., Rinaudo M., Schue F. // *Pure Appl. Chem.* 2012. V. 84. № 2. P. 377–410.
8. *Biomedical polymers* / Ed. Jenkins M. Birmingham, UK: Univ. Birmingham, 2007. 203 p.
9. Park S.J., Kang K.H., Lee H., Park A.R., Yang J.E., Oh Y.H., Song B.K., Jegal J., Lee S.H., Lee S.Y. // *J. Biotechnol.* 2013. V. 165. № 2. P. 93–98.
10. Jung Y.K., Lee S.Y. // *J. Biotechnol.* 2011. V. 151. № 1. P. 94–101.
11. Bloembergen S., Holden D.A., Hamer G.K., Bluhm T.L., Marchessault R.H. // *Macromolecules.* 1986. V. 19. № 11. P. 2865–2871.
12. Barcham P.J. // *Novel biosynthetic biodegradable polymers of industrial interest from microorganisms* / Ed. Dawes E.A. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1990. P. 81–96.
13. Akhtar S., Pouton C.W., Notarianni L.J. // *Polymer.* 1992. V. 33. № 1. P. 117–126.
14. Vincent J.F., Bogatyreva O.A., Bogatyrev N.R., Bowyer A., Pahl A.K. // *J. R. Soc. Interface.* 2006. V. 3. № 9. P. 471–482.
15. Kushner A.M., Guan Z. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2011. V. 50. № 39. P. 9026–9057.
16. Nelson D.L., Cox M.M. *Lehninger Principles of Biochemistry*, 5th Edition. New York: W.H. Freeman and Company, 2008. P. 852–860.
17. Севастьянов В.И., Кирпичников М.П. (под ред.). *Биосовместимые материалы: Учебное пособие.* М.: Мед. информ. агентство, 2011. 540 с.
18. Ramot Y., Haim-Zada M., Domb A.J., Nyska A. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2016. V. 107. P. 153–162.
19. Qu X.H., Wu Q., Zhang K.Y., Chen G.Q. // *Biomaterials.* 2006. V. 27. № 19. P. 3540–3548.
20. Freier T., Kunze C., Nischan C., Kramer S., Sternberg K., Sass M., Hopt U.T., Schmitz K.P. // *Biomaterials.* 2002. V. 23. № 13. P. 2649–2657.
21. Kawaguchi T., Tsugane A., Higashide K., Endoh H., Hasegawa T., Kanno H., Seki T., Juni K., Fukushima S., Nakano M. // *J. Pharm. Sci.* 1992. V. 87. № 6. P. 508–512.
22. Босхонджиев А.П., Бонарцев А.П., Махина Т.К., Мышкина В.Л., Иванов Е.А., Баргов Д.В., Филатова Е.В., Иорданский А.Л., Бонарцева Г.А. // *Биомед. химия.* 2009. Т. 55. № 6. С. 625–635.
23. Shumilova A.A., Myltygashev M.P., Kirichenko A.K., Nikolaeva E.D., Volova T.G., Shishatskaya E.I. // *J. Biomed. Mater. Res.* 2017. V. 105. № 2. P. 566–577.
24. Жаркова И.И. Матрикс из биосинтетического сополимера поли-3-оксибутирата с полиэтиленгликолем для инженерии костной ткани. М.: МГУ, 2017.
25. Malm T., Bowald S., Karacagil S., Bylock A., Busch C. // *Scand. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1992. V. 26. № 1. P. 9–14.
26. Malm T., Bowald S., Bylock A., Busch C., Saldeen T. // *Eur. Surg. Res.* 1994. V. 26. P. 298–308.
27. Malm T., Bowald S., Bylock A., Busch C. // *J. Thoracic Cardiovasc. Surgery.* 1992. V. 104. P. 600–607.
28. Malm T., Bowald S., Bylock A., Saldeen T., Busch C. // *Scandinavian J. Thoracic Cardiovasc. Surgery.* 1992. V. 26. № 1. P. 15–21.
29. Sevastianov V.I., Perova N.V., Shishatskaya E.I., Kalacheva G.S., Volova T.G. // *J. Biomat. Sci. Polymer Ed.* 2003. V. 14. № 10. P. 1029–1042.
30. Unverdorben M., Spielberger A., Schywalsky M., Labahn D., Hartwig S., Schneider M., Loozt D., Behrend D., Schmitz K., Degenhardt R., et al. // *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* 2002. V. 25. № 2. P. 127–132.
31. Kostopoulos L., Karring T. // *Clin. Oral. Implants Res.* 1994. V. 5. № 2. P. 66–74.
32. Castellano D., Blanes M., Marco B., Cerrada I., Ruiz-Sauri A., Pelacho B., Arana M., Montero J.A., Cambra V., Prosper F., et al. // *Stem. Cells Dev.* 2014. V. 23. № 13. P. 1479–1490.
33. Pontallier M., Illangakoon E., Williams G.R., Marijon C., Bellamy V., Balvay D., Autret G., Vanneaux V., Larghero J., Planat-Benard V., et al. // *Tissue Eng. Part A.* 2015. V. 21. № 9–10. P. 1552–1564.
34. Lobler M., Sass M., Kunze C., Schmitz K.P., Hopt U.T. // *Biomaterials.* 2002. V. 23. № 2. P. 577–583.
35. Lobler M., Sass M., Schmitz K.P., Hopt U.T. // *J. Biomed. Mater. Res.* 2003. V. 61. P. 165–167.
36. Wu A.C., Grondahl L., Jack K.S., Foo M.X., Trau M., Hume D.A., Cassady A.I. // *Biomaterials.* 2006. V. 27. № 27. P. 4715–4725.
37. Unverdorben M., Spielberger A., Schywalsky M., Labahn D., Hartwig S., Schneider M., Loozt D., Behrend D., Schmitz K., Degenhardt R., et al. // *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* 2002. V. 25. № 2. P. 127–132.
38. Iordanskii A.L., Ol'khov A.A., Pankova Yu.N., Bonartsev A.P., Bonartseva G.A., Popov V.O. // *Macromolecular symposia.* 2006. V. 233. P. 108–116.
39. Saad B., Ciardelli G., Matter S., Welti M., Uhlschmid G.K., Neuenschwander P., Suter U.W. // *J. Biomed. Mater. Res.* 1998. V. 39. № 4. P. 594–602.
40. Saad B., Ciardelli G., Matter S., Welti M., Uhlschmid G.K., Neuenschwander P., Suter U.W. // *J. Biomed. Mater. Res.* 1996. V. 30. P. 429–439.
41. Xiong Y.C., Yao Y.C., Zhan X.Y., Chen G.Q. // *J. Biomater. Sci. Polymer Ed.* 2010. V. 21. № 1. P. 127–140.
42. Bonartsev A.P., Zernov A.L., Yakovlev S.G., Zharkova I.I., Myshkina V.L., Mahina T.K., Bonartseva G.A., Andronova N.V., Smirnova G.B., Borisova J.A., et al. // *Anti-Cancer Agents in Med. Chem.* 2017. V. 17. № 3. P. 434–441.
43. Ermakova N.P., Bonartsev A.P., Zernov A.L., Konyaeva O.I., Kulbachevskaya N.Y., Merkulova I.B., Abramova T.V., Chaley V.A., Yakovlev S.G., Bonartseva G.A., et al. // *Anti-Cancer Agents in Med. Chem.* 2017. V. 17. № 15. P. 1661–1668.
44. Lu X.Y., Li M.C., Zhu X.L., Fan F., Wang L.L., Ma J.G. // *BMC Biotechnol.* 2014. V. 14. P. 4.
45. Penalzoza J.P., Marquez-Miranda V., Cabana-Brunod M., Reyes-Ramírez R., Llancalahuen F.M., Vilos C., Maldonado-Biermann F., Velásquez L.A., Fuentes J.A., González-Nilo F.D. // *J. Nanobiotechnol.* 2017. V. 15. № 1. P. 1.
46. Stevanovic M., Pavlovic V., Petkovic J. // *Express. Polymer Lett.* 2011. V. 5. № 11. P. 996–1008.
47. Maksymiak M., Debowska R., Jelonek K., Kowalczyk M., Adamus G. // *Rapid. Commun. Mass Spectrom.* 2013. V. 27. P. 773–783.

48. Solorio L.D., Vieregge E.L., Dhama C.D., Alsborg E. // *Tissue Eng. Part B Rev.* 2013. V. 19. № 3. P. 209–220.
49. Fischer D., Li Y., Ahlemeyer B., Kriegelstein J., Kissel T. // *Biomaterials.* 2003. V. 24. № 7. P. 1121–1131.
50. Rihova B. // *Adv. Drug. Delivery Rev.* 1996. V. 21. P. 157–176.
51. Zhu H., Yang F., Tang B., Li X.M., Chu Y.N., Liu Y.L., Wang S.G., Wu D.C., Zhang Y. // *Biomaterials.* 2015. V. 53. P. 688–698.
52. Vacanti N.M., Cheng H., Hill P.S., Guerreiro J.D., Dang T.T., Ma M., Watson S., Hwang N.S., Langer R., Anderson D.G. // *Biomacromolecules.* 2012. V. 13. № 10. P. 3031–3038.
53. Su S.H., Nguyen K.T., Satasiya P., Greilich P.E., Tang L., Eberhart R.C. // *J. Biomater. Sci. Polymer Ed.* 2005. V. 16. № 3. P. 353–370.
54. Khouw I.M., van Wachem P.B., de Leij L.F., van Luyn M.J. // *J. Biomed. Mater. Res.* 1998. V. 41. P. 202–210.
55. Жуйков В.А., Бонарцев А.П., Махина Т.К., Мышкина В.Л., Воинова В.В., Бонарцева Г.А., Шайтан К.В. // *Биофизика.* 2018. Т. 63. № 2. С. 249–257.
56. Zhuikov V.A., Bonartsev A.P., Bagrov D.V., Yakovlev S.G., Myshkina V.L., Makhina T.K., Bessonov I.V., Kopitsyna M.N., Morozov A.S., Rusakov A.A., et al. // *Molecular Crystals Liquid Crystals.* 2017. V. 648. № 1. P. 236–243.
57. Abe H., Doi Y. // *Biomacromolecules.* 2002. V. 3. № 1. P. 133–138.
58. Renstad R., Karlsson S., Albertsson A.C. // *Polym. Degrad. Stab.* 1999. V. 63. P. 201–211.
59. Kramp B., Bernd H.E., Schumacher W.A., Blynov M., Schmidt W., Kunze C., Behrend D., Schmitz K.P. // *Laryngorhinootologie.* 2002. V. 81. № 5. P. 351–356.
60. Baptist J.N., Ziegler J.B. // Патент № 3229766. США. 1965.
61. Shishatskaya E.I., Volova T.G., Gordeev S.A., Puzyr A.P. // *J. Biomater. Sci. Polymer Ed.* 2005. V. 16. № 5. P. 643–657.
62. Cool S.M., Kenny B., Wu A., Nurcombe V., Trau M., Cassidy A.I., Grøndahl L. // *J. Biomed. Mater. Res A.* 2007. V. 82. № 3. P. 599–610.
63. Bat E., van Kooten T.G., Feijen J., Grijpma D.W. // *Biomaterials.* 2009. V. 30. № 22. P. 3652–3661.
64. Saito T., Tomita K., Juni K., Ooba K. // *Biomaterials.* 1991. V. 12. № 3. P. 309–312.
65. Иванов С.Ю., Бонарцев А.П., Гажва Ю.В., Жаркова И.И., Мухаметшин Р.Ф., Махина Т.К., Мышкина В.Л., Бонарцева Г.А., Андреева Н.В., Акулина Е.А. и др. // *Биомед. химия.* 2015. Т. 61. № 6. С. 717–723.
66. Ji Y., Li X.T., Chen G.Q. // *Biomaterials.* 2008. V. 29. P. 3807–3814.
67. Cheng S., Chen G.Q., Leski M., Zou B., Wang Y., Wu Q. // *Biomaterials.* 2006. V. 27. P. 3758–3765.
68. Cheng S., Yang F., Xu M., Wu Q., Leski M., Chen G.Q. // *Biomacromolecules.* 2005. V. 6. P. 593–597.
69. Yang X.D., Zou X.H., Dai Z.W., Luo R.C., Wei C.J., Chen G.Q. // *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2009. V. 20. № 12. P. 1729–1746.
70. de Paula A.C., Zonari A.A., Martins T.M., Novikoff S., da Silva A.R., Correló V.M., Reis R.L., Gomes D.A., Goes A.M. // *Tissue Eng. Part A.* 2013. V. 19. № 1–2. P. 277–289.
71. Wang Y.W., Wu Q., Chen G.Q. // *Biomaterials.* 2004. V. 25. № 4. P. 669–675.
72. Misra S.K., Ansari T., Mohn D., Valappil S.P., Brunner T.J., Stark W.J., Roy I., Knowles J.C., Sibbons P.D., Jones E.V., et al. // *J. R. Soc. Interface.* 2010. V. 7. № 44. P. 453–465.
73. Zhang S., Prabhakaran M.P., Qin X., Ramakrishna S. // *J. Biomater. Appl.* 2015. V. 29. № 10. P. 1394–1406.
74. Wang Y., Jiang X.L., Yang S.C., Lin X., He Y., Yan C., Wu L., Chen G.Q., Wang Z.Y., Wu Q. // *Biomaterials.* 2011. V. 32. № 35. P. 9207–9217.
75. Criscenti G., Vasilevich A., Longoni A., De Maria C., van Blitterswijk C.A., Truckenmuller R., Vozzi G., De Boer J., Moroni L. // *Acta Biomater.* 2017. V. 55. P. 310–322.
76. Zhao Y., Zou B., Shi Z., Wu Q., Chen G.Q. // *Biomaterials.* 2007. V. 28. № 20. P. 3063–3073.
77. Wang L., Wang Z.H., Shen C.Y., You M.L., Xiao J.F., Chen G.Q. // *Biomaterials.* 2010. V. 31. № 7. P. 1691–1698.
78. Lizarraga-Valderrama L.R., Nigmatullin R., Taylor C., Haycock J.W., Claeysens F., Knowles J.C., Roy I. // *Eng. Life Sci.* 2015. V. 15. P. 612–621.
79. Zhang J., Cao Q., Li S., Lu X., Zhao Y., Guan J.S., Chen J.C., Wu Q., Chen G.Q. // *Biomaterials.* 2013. V. 34. № 30. P. 7552–7562.
80. Zou X.H., Li H.M., Wang S., Leski M., Yao Y.C., Yang X.D., Huang Q.J., Chen G.Q. // *Biomaterials.* 2009. V. 30. № 8. P. 1532–1541.
81. Wang Y., Gao R., Wang P.P., Jian J., Jiang X.L., Yan C., Lin X., Wu L., Chen G.Q., Wu Q. // *Biomaterials.* 2012. V. 33. № 2. P. 485–493.
82. Wang Y., Jiang X.L., Peng S.W., Guo X.Y., Shang G.G., Chen J.C., Wu Q., Chen G.Q. // *Biomaterials.* 2013. V. 34. № 15. P. 3737–3746.
83. Anderson A.J., Dawes E.A. // *Microbiol. Rev.* 1990. V. 54. № 4. P. 450–472.
84. Бонарцев А.П., Воинова В.В., Бонарцева Г.А. // *Прикладная биохимия и микробиология.* 2018. Т. 54. № 6. С. 561–584.
85. Reusch R.N. // *Chem. Biodivers.* 2012. V. 9. № 11. P. 2343–2366.
86. Larsen T., Nielsen N.I. // *J. Dairy Sci.* 2005. V. 88. № 6. P. 2004–2009.
87. Szwej E., Devocelle M., Kenny S., Guzik M., O'Connor S., Nikodinovic-Runic J., Radivojevic J., Maslak V., Byrne A.T., Gallagher W.M., et al. // *J. Biotechnol.* 2015. V. 204. P. 7–12.
88. Kim J.K., Won Y.J., Nikoh N., Nakayama H., Han S.H., Kikuchi Y., Rhee Y.H., Park H.Y., Kwon J.Y., Kurokawa K., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013. V. 110. № 26. P. E2381–E2389.
89. Yamazaki Y., Meirelles P.M., Mino S., Suda W., Oshima K., Hattori M., Thompson F.L., Sakai Y., Sawabe T., Sawabe T. // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 21631.
90. Kyriakidis D.A., Tiligada E. // *Amino Acids.* 2009. V. 37. № 3. P. 443–458.
91. Defoirdt T., Halet D., Vervaeren H., Boon N., van de Wiele T., Sorgeloos P., Bossier P., Verstraete W. // *Environ. Microbiol.* 2007. V. 9. № 2. P. 445–452.
92. Defoirdt T., Boon N., Sorgeloos P., Verstraete W., Bossier P. // *Biotechnol. Adv.* 2009. V. 27. № 6. P. 680–685.
93. Radivojevic J., Skaro S., Senerovic L., Vasiljevic B., Guzik M., Kenny S.T., Maslak V., Nikodinovic-Runic J., O'Connor K.E. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2016. V. 100. № 1. P. 161–172.
94. Schulz S., Toft S. // *Science.* 1993. V. 260. № 5114. P. 1635–1637.
95. Marshall D.G., Jackson T.A., Unelius C.R., Wee S.L., Young S.D., Townsend R.J., Suckling D.M. // *Naturwissenschaften.* 2016. V. 103. № 7–8. P. 59.
96. Quang D.N., Hashimoto T., Toyota M., Asakawa Y. // *J. Nat. Prod.* 2003. V. 66. № 12. P. 1613–1614.
97. Williams S.F., Martin D.P., Moses A.C. // *Aesthet. Surg. J.* 2016. V. 6 (suppl 2). P. S33–S42.
98. Nemets E.A., Efimov A.E., Egorova V.A., Tonevitsky A.G., Sevastianov V.I. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2008. V. 145. № 3. P. 371–373.