

UDC 615.46 + 576.5

Взаимодействие полимеров группы полигидроксиалканоатов с клетками и тканями

И. В. Майборodin, И. В. Кузнецова, А. И. Шевела, А. А. Манаев, Г. А. Частикин

Центр новых медицинских технологий Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
Просп. Академика Лаврентьева, 8, Новосибирск, Россия, 630090

imai@mail.ru

В литературе последних лет, посвященной результатам изучения, получения и применения полигидроксиалканоатов (ПГА), содержится множество экспериментальных и клинических данных об эффективности и безопасности использования этих полимеров в медико-биологических целях. Однако применение ПГА как самостоятельно, так и в комбинации с другими препаратами и веществами, несомненно, должно иметь свои преимущества и свои недостатки. Следует отметить полное отсутствие в научной литературе сведений о противопоказаниях и осложнениях при использовании ПГА, а также недостаточное количество данных о закономерностях деградации ПГА в живом организме и морфологических процессах, с этим связанных.

Ключевые слова: полигидроксиалканоаты, реконструктивная медицина, биodeградация, клеточные технологии.

Введение. Успешное внедрение в практику экспериментальной биологии и медицины методов длительного культивирования клеток, в том числе клеток – предшественников специализированных тканей, создало предпосылки для разработки новых технологий и подходов для реконструктивной медицины [1]. В последнее время появились работы, демонстрирующие применение мезенхимальных стволовых клеток (МСК) для регенеративной медицины и тканевой инженерии, которая не просто восстанавливает ту или иную ткань, например, при ранениях кожи [2], но и позволяет воссоздать трехмерную структуру утраченных или поврежденных тканей и даже органов в целом [3–5]. Используемый для этого в тканевой инженерии междисциплинарный подход направлен в первую очередь на создание новых биокомпозиционных материалов с улучшенными свойствами [6–9]. Основные принципы данного подхода заключаются в разработке и применении при имплантации в поврежденный орган

или ткань носителей из биodeградируемых материалов, которые используют в сочетании с донорскими МСК и/или с биоактивными веществами [10].

В связи с этим в течение последнего десятилетия все большее внимание научных исследователей и технологов привлекает новый класс полимеров – полигидроксиалканоатов (ПГА, polyhydroxyalkanoates – PHA).

Характеристика ПГА и их получение. ПГА представляют собой алифатические полиэфиры – полимеры оксипроизводных жирных кислот природного происхождения – β -оксималяной и β -окси-валериановой. Известны более 150 различных мономеров, входящих в состав этого семейства, которые могут дать начало материалам с самыми разнообразными свойствами [11]. Температура плавления ПГА составляет до 180 °С, а разложения – выше 200 °С, молекулярная масса – 100–800 кДа. Важнейшие представители этого семейства – полигидроксибутират (ПГБ, polyhydroxybutyrate – PHB) и полигидрокси-валериат (ПГВ, polyhydroxyvalerate – PHV).

Промышленные разновидности ПГА чаще представляют собой сополимеры ПГБ и ПГВ. Все гомологи ПГА являются продуктами бактериальной жизнедеятельности [12] и для практических целей производятся биотехнологическим методом – бактериальной ферментацией из растительных сахаров, например, глюкозы.

В прошлом ПГА были слишком дорогими продуктами для широкого внедрения. Но сейчас прилагаются усилия для снижения стоимости полимеров за счет их производства из поддающихся ферментации сахаров, получаемых из сравнительно недорогих источников, например, отходов сахарной промышленности, из возобновляемого растительного сырья [13]. В настоящее время ПГА, а именно – ПГБ выпускается в промышленных масштабах в Германии («Biomer[®]»), США («Metabolix[®]») и Великобритании («Biorol[®]»).

Свойства ПГА и сферы их применения. Резкое возрастание в последнее время числа научных публикаций, посвященных ПГА, в Китае, Южной Корее, Японии, Индии, Бразилии, а теперь и в России, свидетельствует о чрезвычайно интересных и полезных качествах этих полимеров. Наиболее активно и успешно изучением этой проблемы в России занимается группа ученых Сибирского федерального университета (Красноярск, РФ), которыми разработана технология получения ПГА, сконструировано и запущено в 2005 году первое отечественное опытное производство биосовместимых и полностью рассасываемых в биологических средах полимеров различной структуры и экспериментальных изделий биомедицинского назначения. Созданные из ПГА шовные нити, трубчатые эндопротезы и мембраны допущены к клиническим испытаниям.

К настоящему времени накоплена значительная экспериментальная база, демонстрирующая такие ценные свойства ПГА, как термопластичность, биосовместимость и, самое главное, биоразрушаемость [12, 14, 15].

Известно, что ПГА не подвержены гидролитической деградации в водных средах, поэтому они характеризуются медленной (месяцы и годы) кинетикой биорезорбции, причем их деструкция в биологических средах не сопровождается изменением

активной реакции среды [14]. Это позволяет использовать их в качестве носителя-подложки для функционирующих клеток [16]. ПГА можно применять в качестве матриксов для депонирования, доставки и длительного контролируемого высвобождения препаратов (лекарств, пестицидов) [17–19], в частности, рубомицина [20]. Данный класс полимеров широко используют как матрицу или скаффолд для доставки МСК в ткани [21–24].

Взаимоотношения ПГА и клеточного окружения *in vitro*. Шишацкая и соавт. [10], используя ПГА в различных фазовых состояниях (растворы, эмульсии, порошки), получили и изучили структуру и свойства дву- и трехмерных матриксов в виде гибких прозрачных пленок, мембран, ультратонких волокон, микрочастиц, губок, объемных плотных и пористых конструкций. Контролем являлись стекло и полистирол. Подтверждена пригодность ПГА-матриксов для выращивания клеток *in vitro*. Проведена оценка биосовместимости и цитотоксичности матриксов из ПГА на животных клетках разного происхождения – мезенхимального (фибробласты и клетки эндотелия) и эктодермального (гепатоциты), а также на первичной культуре остеобластов, выделенных из клеток красного костного мозга. Использовали микроскопию и прижизненное окрашивание клеток трипановым синим. Определяли синтез белка и ДНК культивируемыми клетками, а также клеточную и лекарственную цитотоксичность с использованием способности митохондриальных дегидрогеназ конвертировать водорастворимый 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид (МТТ) в формазан, который кристаллизуется внутри клетки. В результате показано, что морфология клеток, культивируемых при прямом контакте с поверхностью матриксов, не отличается от клеток в контроле, выращиваемых на стекле или полистироле. Прямой контакт клеток с поверхностью матриксов из ПГА не снижает их жизнеспособности, не ингибирует синтез ДНК и пролиферативную активность. Таким образом, доказано отсутствие цитотоксичности матриксов из ПГА и их высокая биосовместимость по отношению к исследуемым культивируемым клеткам. Кроме того, в условиях *in vitro* продемонстрирован остеогенный потенциал ПГА-конструкций [21]. В этих работах не

выявлено различий между биологическим действием ПГБ и сополимерных образцов ПГБ/ПГВ.

Ранее Денг с соавт. [25] на примере культивирования хондроцитов показали, что смеси полимеров (полигидроксибутират-Со-гидроксигексаноат/полигидроксибутират) в сравнении с чистым ПГБ наилучшим образом подходят для выращивания клеток. Зенгом с соавт. [26] продемонстрирована лучшая биосовместимость смеси ПГА (полигидроксибутират-Со-гидроксигексаноат/полигидроксибутират) при сопоставлении с чистым полигидроксибутират-Со-гидроксигексаноатом.

В недавних работах установлено, что ПГА могут способствовать росту и дифференциации стволовых клеток, в частности, в нейроны при повреждениях ЦНС [27] и что ПГА стимулируют рост фибробластов *in vitro* [28]. Однако подобные публикации очень немногочисленны и заканчиваются в 2011 г., но все-таки возможность влияния и изменения дифференциации клеток при взаимодействии с ПГА полностью отвергнуть нельзя и это следует учитывать при работе с такими полимерами в качестве скаффолдов.

Установлено, что существуют различия поверхностных свойств пленок, изготовленных из разных видов ПГА, в частности, из поли-3-гидроксибутирата и поли-3-гидроксибутирата-Со-3-гидроксивалериата, что в свою очередь может влиять на уровень клеточной адгезии на поверхности этих пленок. Кроме того, был сделан вывод, что биоматериалы, используемые в тканевой инженерии, специфичны для определенного типа клеток. Например, поли-3-гидроксибутират больше подходит при выращивании обкладочных нейроэпителиальных (обонятельных) клеток, а поли-3-гидроксибутират-Со-3-гидроксивалериат – для МСК [22].

Взаимоотношения ПГА и макроорганизма *in vivo*. В острых и хронических экспериментах на лабораторных животных показано, что биodeградация ПГА зависит от химической структуры полимера, места имплантации и формы изделия, происходит медленно гуморальным и клеточным путями, главным образом с поверхности изделия, без образования локальных дефектов и резкого снижения прочности. В биodeградации ПГА участвуют макрофаги и гигантские клетки инородных тел с высокой активностью кислой фосфатазы, коррелирующей с ак-

тивностью фермента в сыворотке крови животных. Основной мишенью для полимерных частиц являются ткани печени, а также почек и селезенки. Наиболее интенсивное разрушение микрочастиц полимерного матрикса происходит в селезенке и печени. ПГА пригодны к использованию в интервале от нескольких месяцев до года, не вызывают воспалительных, некротических, склеротических или иных негативных реакций в окружающих тканях и не препятствуют репарации *in vivo*, что особенно ценно для хирургических нитей, эндопротезов и остеоимплантатов. При этом деградация структуры полимера начинает проявляться в эксперименте длительностью 12 и более недель [29, 30]. В опытах по изучению репаративного остеогенеза показано, что имплантаты из ПГБ обладают выраженными направленными остеопластическими свойствами [21].

В работах М.Б. Федорова и соавт. [31] по исследованию и получению волокнистых и пленочных материалов на основе ПГБ подтверждена целесообразность использования этого полимера для нанесения в качестве оболочки на хирургические нити. Эти требования многообразны: инертность, механическая прочность, атравматичность, т. е. нить не должна нарушать кро-воснабжения, вызывать развитие некрозов, воспаления в ушиваемых тканях (последнее достигается стерилизацией, снижением капиллярности и приданием пролонгированных бактерицидных свойств). Шовный материал не должен обладать гигроскопическими свойствами, сроки его биodeградации должны быть обусловлены процессом заживления ран.

Следует отметить, что в литературе наряду с результатами, свидетельствующими о высокой эффективности применения ПГА для биомедицинских целей, имеются прямо противоположные данные, указывающие на плохую биodeградацию или даже полное отсутствие лизиса в живом организме этого класса полимеров [32–34].

Морфологическими и радиовизиографическими методами изучали процессы регенерации поврежденного участка кости нижней челюсти крысы после применения ПГА (сополимер из 85 % ПГБ и 15 % ПГВ). На фоне использования полимера в течение всех 5 недель наблюдения отверстие в кости, где находился ПГА, сохранялось неизменным. При-

знаков консолидации его с краем дефекта кости ни в одном случае найдено не было. Сам полимер был окружен фиброзной тканью с большим числом клеточных элементов. Свидетельств деградации искусственного материала на всех сроках эксперимента не обнаружено [32].

Противоречивые данные получены при изучении процессов регенерации поврежденного хряща коленного сустава крыс после имплантации ПГБ/ПГВ. При использовании ПГА деструктивные изменения в поврежденных суставах были выражены значительно сильнее, чем при естественном ходе заживления. Ни в одном случае в исследованные сроки наблюдения ПГА не был обнаружен между суставными поверхностями. Однако иногда ПГА свободно располагался в боковых складках суставной капсулы.

Значительно чаще небольшие фрагменты ПГА находились в мягких тканях вокруг сустава, они были инкапсулированы активно пролиферирующей фиброзной тканью и деформированы. Во всех случаях не зафиксировано явлений макрофагальной и лейкоцитарной реакции на инородное тело и признаков развития гранулематозного воспалительного процесса. Вместе с этим отсутствовали и свидетельства деградации ПГА [34].

Морфологическими методами изучали реакцию организма крыс через различное время после имплантации материалов из ПГБ/ПГВ. Обнаружено, что после имплантации полимера в брюшную полость крыс начинается активный спаечный процесс, вызывающий формирование фиброзных спаек между ПГА и петлями кишечника. Имплантированные пленки из ПГА под кожей и в мышечной ткани инкапсулируются толстой фиброзной капсулой. При имплантации ПГА в виде ультратонких волокон во всех тканях образуются гранулемы инородного тела с перифокальным воспалением и склерозом окружающих тканей. В этих гранулемах происходит фрагментирование полимера и фагоцитоз макрофагами с формированием гигантских клеток инородных тел. Фрагментирование и фагоцитоз происходят именно в гранулемах, а не просто в тканях..

Сделано заключение, что материалы из ПГА после имплантации в организм вызывают активную и выраженную хроническую гранулематозную вос-

палительную реакцию и очень медленно разрушаются макрофагами [33].

Такие разноречивые результаты, наиболее вероятно, обусловлены различной трактовкой полученных данных. Так, в работах Шишацкой с соавт. [29, 30] на основании активной макрофагальной реакции в месте имплантации ПГА делается заключение о его деградации. При этом отмечено, что такой процесс достаточно длительный и начало его может быть обнаружено не менее чем через 12 недель.

Тогда как Майбородин с соавт. [33, 34] на основании подобной выраженной и длительной инфильтрации макрофагами перимплантных тканей делают вывод об отсутствии деградации полимеров указанной группы. В связи с тем, что этими же авторами обнаружены фрагменты ПГА в тканях крыс даже через 1 год после внедрения, такие выводы представляются более обоснованными.

Перспективы дальнейших исследований ПГА.

В последнее время особое внимание уделяют изучению и разработке новых способов получения и модификации ПГА для улучшения их свойств [6, 7, 9, 23, 35–38]. В частности, авторы работ [8] и [36] изучили новые разновидности ПГА: полигидроксиоктаноат (poly-3-hydroxyoctanoate – РНО) и полигидроксиундеканоат (poly-3-hydroxyundecanoate – РНУА) с антибактериальными свойствами.

Уже имеются сообщения о возможности создания биodeградируемых носителей для МСК не просто из ПГБ и ПГВ [21–24], но и из композитов этих полимеров с фосфатом кальция [39, 40]; на основе полигидроксибутират-Со-гидроксивалериата с волластоном. Оказалось, что включение волластонына в конструкцию улучшает адгезию, пролиферацию клеток-предшественников и их дифференциацию в остеобласты даже в неостеогенной среде [41].

Есть работы, подтверждающие то, что именно трехмерные (3D) конструкции из смеси 3-гидроксибутирата, 3-гидроксивалериата и 3-гидроксигексаноата (терполиэфир) наилучшим образом подходят для выращивания нервных клеток по сравнению с сополимером (3-гидроксибутират/3-гидроксигексаноат) и с полимером другого класса – полимолочной кислотой [27, 42].

Выводы. Таким образом, современный этап развития регенеративной медицины характеризуется

высокой потребностью во внедрении новых биосовместимых функциональных материалов, позволяющих конструировать системы, способные воспроизводить биологические функции живого организма. С этим, в свою очередь, связана возможность создания биоискусственных органов и тканей.

Можно сделать вывод о том, что в литературе содер­жится множество данных о целесообразности применения ПГА в реконструктивной медицине, клеточной и тканевой инженерии. Однако следует особо отметить явную недостаточность сведений о противопоказаниях и осложнениях при использовании ПГА, тогда как именно анализ всех полученных данных позволит четко определить сферы их применения. Кроме того, остаются не до конца решенными вопросы о кинетике и регулируемости биодеградации ПГА, о механизмах взаимодействия изделий из ПГА с различными клетками и тканями *in vivo*.

The interaction of polyhydroxyalkanoate polymer group with cells and tissues

I. V. Maiborodin, I. V. Kuznetsova, A. I. Shevela, A. A. Manaev, G. A. Chastikin

The Center of New Medical Technologies,
Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine,
The Russian Academy of Sciences, Siberian Branch
8, Akademika Lavrentieva Ave., Novosibirsk, Russia, , 630090

Summary

In the recent literature devoted to the results of the study, formulation and application of polyhydroxyalkanoates (PHA), contains a wealth of experimental and clinical data on efficacy and safety of using these polymers with biomedical goals. However, the application of PHA, both independently and in combination with other drugs and substances that must surely have its advantages and disadvantages. It should be noted the complete absence, information on contraindications and complications of the PHA, and insufficient data on the patterns of degradation of PHA in vivo, and morphological processes connected with it of scientific literature.

Keywords: polyhydroxyalkanoates, cellular technologies, reconstructive medicine, biodegradation.

Взаємодія полімерів групи полігідроксикалканатів з клітинами і тканинами

I. В. Майбородін, I. В. Кузнецова, А. І. Шевела, А. О. Манаєв, Г. А. Частикін

Резюме

У літературі останніх років, присвяченій результатам вивчення, отримання і застосування полігідроксикалканатів (ПГА), місти-

ться безліч експериментальних і клінічних даних щодо ефективності і безпеки використання цих полімерів для медико-біологічних потреб. Проте застосування ПГА як самостійно, так і в комбінації з іншими препаратами і речовинами, поза сумнівом, повинно мати свої переваги і свої недоліки. Варто відмітити повну відсутність у науковій літературі відомостей про протипоказання і ускладнення за використання ПГА, а також недостатню кількість даних стосовно закономірностей деградації ПГА у живому організмі і морфологічних процесах, з цим пов'язаних.

Ключові слова: полігідроксикалканати, реконструктивна медицина, біодеградація, клітинні технології.

REFERENCES

1. Vacanti CA, Vacanti JP. The science of tissue engineering. *Orthop Clin North Am.* 2000;**31**(3):351–6.
2. Fu X, Li H. Mesenchymal stem cells and skin wound repair and regeneration: possibilities and questions. *Cell Tissue Res.* 2009;**335**(2):317–21.
3. Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J Cell Physiol.* 2007;**213**(2):341–7.
4. Mansilla E, Drago H, Marin GH, Sturla F, Ibar R, Soratti C. Mesenchymal stem cells, could they be the link between tolerance and regeneration? *Burns.* 2007;**33**(2):137–8.
5. Weinand C, Gupta R, Weinberg E, Madisch I, Neville CM, Jupiter JB, Vacanti JP. Toward regenerating a human thumb *in situ*. *Tissue Eng Part A.* 2009;**15**(9):2605–15.
6. Potapov AG, Parmon VN. Biodegradable polymers – forward in the future. *Ekologiya i Promyshlennost Rossii.* 2010; (5 Sp iss):4–8.
7. Jacquelin N, Tajima K, Nakamura N, Kawachi H, Pan P, Inoue Y. Nucleation mechanism of polyhydroxybutyrate and poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyhexanoate) crystallized by orotic acid as a nucleating agent. *J Appl Polym Sci.* 2010;**115**(2):709–15.
8. Mauclair L, Brombacher E, Bunge JD, Zinn M. Factors controlling bacterial attachment and biofilm formation on medium-chain-length polyhydroxyalkanoates (mcl-PHAs). *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2010;**76**(1):104–11.
9. Yu BY, Chen PY, Sun YM, Lee YT, Young TH. Effects of the surface characteristics of polyhydroxyalkanoates on the metabolic activities and morphology of human mesenchymal stem cells. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2010;**21**(1):17–36.
10. Shishatskaya EI, Volova TG, Gordeyev SA, Puzyr AP. Biodegradation of sutural threads on a basis of polyhydroxyalkanoates in biological environment. *Perspektivnye Materialy.* 2002; 2:56–62.
11. Chen GQ, Wu Q. The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials. *Biomaterials.* 2005;**26**(33):6565–78.
12. Brandl H, Gross RA, Lenz RW, Fuller RC. Plastics from bacteria and for bacteria: poly(beta-hydroxyalkanoates) as natural, biocompatible, and biodegradable polyesters. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 1990;**41**:77–93.
13. Ciesielski S, Pokoj T, Klimiuk E. Molecular insight into activated sludge producing polyhydroxyalkanoates under aerobic-anaerobic conditions. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2008;**35**(8):805–14.
14. Amass W, Amass A, Tighe B. A review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies. *Polym Int.* 1998; **47**(2):89–144.
15. Dawes E. A. Novel biodegradable microbial polymers. Dordrecht, Kluwer Acad. press, 1990; 287 p.

16. Shishatskaya EI. Cellular matrixes from the resorbed polyhydroxyalkanoates. *Cellular transplantology and tissue engineering*. 2007; 2(2):68–75.
17. Voinova ON, Kalacheva GS, Grodnitskaia ID, Volova TG. Microbial polymers as a degradable carrier for pesticide delivery. *Prikl Biokhim Mikrobiol*. 2009; 45(4):427–31.
18. Livshits VA, Bonartsev AP, Jordansky AL, Ivanov EA, Mahina TA, Myshkina VL, Bonartseva GA. Mikrosfera from poly-3-hydroxybutyrate for the prolonged release of medicinal substances. *Vysokomolekulyarnyye soyedineniya*. 2009; 51(7):1243–51.
19. Shishatskaya EI, Goreva AV, Voinova ON, Inzhevatin EV, Khlebopros RG, Volova TG. Evaluation of antitumor activity of rubomycin deposited in absorbable polymeric microparticles. *Bull Exp Biol Med*. 2008; 145(3):358–61.
20. Shishatskaia EI, Zhemchugova AV, Volova TG. Biodegradable polyhydroxyalkanoates as carriers for antitumor agents. *Antibiot Khimioter*. 2005; 50(2–3):4–7.
21. Shishatskaya EI, Kamendov IV, Starosvetsky SI, Volova TG. Research of osteoplastic properties of matrixes from resorbed polyether of hydroxybutyrate acid. *Cellular transplantology and tissue engineering*. 2008; 3(4):41–7.
22. Ahmed T, Marcal H, Lawless M, Wanandy NS, Chiu A, Foster LJ. Polyhydroxybutyrate and its copolymer with polyhydroxyvalerate as biomaterials: influence on progression of stem cell cycle. *Biomacromolecules*. 2010; 11(10):2707–15.
23. Ke Y, Wang Y, Ren L. Surface modification of PHBV scaffolds via UV polymerization to improve hydrophilicity. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2010; 21(12):1589–602.
24. Wang L, Wang ZH, Shen CY, You ML, Xiao JF, Chen GQ. Differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells grown in terpolyesters of 3-hydroxyalkanoates scaffolds into nerve cells. *Biomaterials*. 2010; 31(7):1691–8.
25. Deng Y, Zhao K, Zhang XF, Hu P, Chen GQ. Study on the three-dimensional proliferation of rabbit articular cartilage-derived chondrocytes on polyhydroxyalkanoate scaffolds. *Biomaterials*. 2002; 23(20):4049–56.
26. Zhao K, Deng Y, Chen GQ. Effects of surface morphology on the biocompatibility of polyhydroxyalkanoates. *Biochem Eng J*. 2003; 16(2):115–123.
27. Xu XY, Li XT, Peng SW, Xiao JF, Liu C, Fang G, Chen KC, Chen GQ. The behaviour of neural stem cells on polyhydroxyalkanoate nanofiber scaffolds. *Biomaterials*. 2010; 31(14):3967–75.
28. Dong Y, Li P, Chen CB, Wang ZH, Ma P, Chen GQ. The improvement of fibroblast growth on hydrophobic biopolyesters by coating with polyhydroxyalkanoate granule binding protein PhaP fused with cell adhesion motif RGD. *Biomaterials*. 2010; 31(34):8921–30.
29. Shishatskaya EI, Goreva AV, Voinova ON, Kalacheva GS, Volova TG. Distribution and resorption of polymeric microparticles in visceral organs of laboratory animals after intravenous injection. *Bull Exp Biol Med*. 2009; 148(5):789–93.
30. Shishatskaya EI, Volova TG, Markelova NM, Vinnik YuS, Cherdantsev DV, Gavrilenko ES, Kuznetsov MN, Beletskii II, Zykova LD. The first results of a biodegraded sutural material based on linear polyether of 3-hydroxybutyrate acid application. *Uspekhi sovremennogo yestestvoznaniya*. 2008; 9:106–9.
31. Fedorov MB, Vikhoreva GA, Kil'deeva NR, Mokhova ON, Bonartseva GA, Gal'braikh LS. Antimicrobial activity of core-sheath surgical sutures modified with poly-3-hydroxybutyrate. *Prikl Biokhim Mikrobiol*. 2007; 43(6):685–90.
32. Maiborodin IV, Shevela AI, Sheplev B.V, Kolesnikov IS, Matveeva VA, Drovosekov MN, Shevela AA, Kozodiy DM, Vyborno MS. Application biodegraded polyhydroxyalkanoates after injury of a bone of the bottom jaw to experiment. *Clin. Stomatol*. 2010; N 4:54–7.
33. Maiborodin IV, Shevela AI, Anishchenko VV, Matveeva VA, Shevela AA, Drovosekov MN, Vlasov VV. The peculiarities of rat tissue reactions to intraperitoneal implants made out of biodegradable polyhydroxyalkanoates. *Morfologiya*. 2011; 139(2):62–6.
34. Maiborodin IV, Shevela AI, Beregovoy EA, Matveeva VA, Angelsky AA, Drovosekov MN. The Intraarticular implantation of biodegraded polyhydroxyalkanoates in experiment. *Travmatologia I Ortopedia Rossii*. 2011; 59(1):67–75.
35. Boiandin AN, Kalacheva GS, Rodicheva EK, Volova TG. Synthesis of reserve polyhydroxyalkanoates by luminescent bacteria. *Mikrobiologiya*. 2008; 77(3):364–9.
36. Ruth K, Grubelnik A, Hartmann R, Egli T, Zinn M, Ren Q. Efficient production of (R)-3-hydroxycarboxylic acids by biotechnological conversion of polyhydroxyalkanoates and their purification. *Biomacromolecules*. 2007; 8(1):279–86.
37. Sun J, Dai Z, Zhao Y, Chen GQ. In vitro effect of oligo-hydroxyalkanoates on the growth of mouse fibroblast cell line L929. *Biomaterials*. 2007; 28(27):3896–903.
38. Volova TG, Kalacheva GS, Kozhevnikov IV, Steinbuechel A. Biosynthesis of multicomponent polyhydroxyalkanoates by *Wautersia eutropha*. *Mikrobiologiya*. 2007; 76(6):797–804.
39. Duan B, Wang M. Customized Ca-P/PHBV nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering: design, fabrication, surface modification and sustained release of growth factor. *J R Soc Interface*. 2010; 7 Suppl 5:S615–29.
40. Duan B, Wang M, Zhou WY, Cheung WL, Li ZY, Lu WW. Three-dimensional nanocomposite scaffolds fabricated via selective laser sintering for bone tissue engineering. *Acta Biomater*. 2010; 6(12):4495–505.
41. Li H, Zhai W, Chang J. Effects of wollastonite on proliferation and differentiation of human bone marrow-derived stromal cells in PHBV/wollastonite composite scaffolds. *J Biomater Appl*. 2009; 24(3):231–46.
42. Wang M, Chen LJ, Ni J, Weng J, Yue CY. Manufacture and evaluation of bioactive and biodegradable materials and scaffolds for tissue engineering. *J Mater Sci Mater Med*. 2001; 12(10–12):855–60.

Received 02.04.14