

УДК 579.61

## ПОЛИ-3-ОКСИБУТИРАТ И МИКРОБИОТА ЧЕЛОВЕКА (ОБЗОР)

© 2018 г. А. П. Бонарцев<sup>1, 2, \*</sup>, В. В. Воинова<sup>2</sup>, Г. А. Бонарцева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук”, Москва, 119071, Россия

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, 119234, Россия

\*e-mail: ant\_bonar@mail.ru

Поступила в редакцию 12.01.2018 г.

Природные полиоксисалканоаты (ПОА) и их синтетические аналоги широко используются в медицине, в том числе для изготовления биодеградируемых медицинских изделий (протезов, заплат, стентов, плагов), предназначенных для регенеративной хирургии кишечника. В обзоре подробно рассматривается возможность биосинтеза и биодеградации ПОА, прежде всего, их наиболее распространенного представителя поли-3-оксибутирата (ПОБ), различными симбиотическими и инфекционными бактериями человека и животных, в частности, многочисленными бактериями микробиоты кишечника, а также физиологическая роль биополимера в клетках бактерий. Большое внимание в обзоре также посвящено проблеме эндогенного ПОБ у человека и животных. Обсуждается предположение о том, что источником эндогенного ПОБ могут быть бактерии микробиоты. Кроме того, рассмотрено применение ПОА в регенеративной хирургии кишечника.

**Ключевые слова:** полиоксисалканоаты, поли-3-оксибутират, биополимер, олигомеры, микробиота, трансфекция, транслокация, секреторная система IV типа, кишечник

**DOI:** 10.1134/S0555109918060065

С начала 21 в. происходит активное внедрение в медицинскую практику медицинских изделий и лекарственных форм на основе биоразлагаемых полиэфиров оксикарбоновых кислот – полиоксисалканоатов (ПОА), среди которых особенно активно в клинической практике и научных исследованиях используют следующие: поли-2-оксипропановую (полимолочная – ПМК, полилактиды), поли-2-оксиуксусную (полигликолиевая – ПГК, полигликолиды), поли-6-оксикапролактон (ПКЛ), поли-3-оксимасляную (ПОБ), поли-3-оксивалериановую и др., а также их сополимеры, например, полилактид-со-гликолиды (ПМГК) и близкие по структуре полимеры такие как полип-диоксанон. На основе ПОА уже используется в медицине или находятся в процессе разработок огромный спектр различных медицинских изделий: биоразлагаемые шовные нити, биодеградируемые фиксирующие винты, штифты, шпигаты, скобы и пластины, пародонтологические мембраны, хирургические сетчатые эндопротезы, раневые и ожоговые покрытия, хирургические заплатки для закрытия дефектов кишечника и перикарда, плаги-эндопротезы для колопроктологии и герниопластики, протезы сосудов, кардиоваскулярные стенты-эндопротезы, искусственные клапаны сердца, каркасные проводники для регенерации нервов, филлеры и матриксы для за-

полнения дефектов тканей и другие изделия. В фармацевтике на основе ПОА разрабатывают и уже используют новые лекарственные формы целого ряда лекарственных веществ как низкомолекулярных, так и, например, терапевтических белков, которые придают лекарственным препаратам новые свойства: пролонгированное действие, направленная доставка, сниженная токсичность, увеличенная стабильность. Такое активное использование и внедрение в медицинскую практику ПОА обусловлено уникальным сочетанием их свойств: способность к биодеградации в организме без образования токсичных продуктов, биосовместимость с органами и тканями человека, оптимальные механические (относительно высокая прочность, пластичность), другие физико-химические свойства (термопластичность, специфические диффузионные свойства), возможность использования эффективных технологических процессов при их получении. Одной из наиболее перспективных областей использования ПОА в медицине является создание медицинских изделий для хирургического восстановления тканей желудочно-кишечного тракта (ЖКТ): протезов, заплат, стентов, плагов [1–5].

Между тем, основные свойства синтетических поли-2-оксисалканоатов: ПМК, ПГК и их сополимеров ПМГК – способность к биодеградации и

биосовместимость, оказавшиеся столь подходящими для их биомедицинского применения, обусловлены тем, что эти полимеры являются синтетическими аналогами природных ПОА. Синтетические ПОА в той или иной степени являются биомиметическими материалами. Поэтому изучение природных ПОА, в том числе ПОБ, как биоматериалов для регенерации различных тканей и органов, прежде всего, кишечника имеет первостепенное значение.

Поли-3-оксибутират, основной полимер гомологичного ряда семейства поли-3-оксиалканатов – наиболее известный микробиологический полиэфир, который является перспективной альтернативой биоразлагаемым синтетическим термопластикам [1–5] и активно используется в регенеративной медицине и тканевой инженерии [6–10] наряду с другими перспективными биоматериалами: полисахаридными гидрогелями [11, 12], биофункциональными белками [13, 14], электропроводящими полимерами [15], полиплексами [16], биоразлагаемыми металлами [17] и др. Интересно, что некоторые свойства ПОБ, отличающие его от синтетических аналогов, могут способствовать его применению в хирургии ЖКТ. Так, скорость биодеструкции ПОБ и его сополимеров гораздо ниже скорости биодegradации синтетических ПМК, ПГК и их сополимеров, что, учитывая влияние агрессивной среды, в том числе бактерий в ЖКТ, делает применение ПОА для регенерации органов ЖКТ более актуальным [4, 18]. При этом биодegradация полимера происходит преимущественно за счет фаготитирующей активности специализированных клеток – макрофагов (и гигантских клеток инородного тела) и остеокластов, т.е. имеет место специализированная клеточная биодegradация этих биополимеров [19–22]. Большое значение также имеет лучшая биосовместимость ПОБ и его сополимеров по сравнению с синтетическими ПОА благодаря отсутствию эффекта закисления окружающих тканей продуктами биоразложения полимеров. В целом ряде работ при сопоставлении тканевой реакции ПОБ и синтетических полиэфиров ПЛА, ПГА или их сополимеров показано, что, для ПОБ тканевая реакция мягкая или умеренная, тогда как для ПЛА, ПГА и ПЛГА нередко наблюдается выраженная хроническая воспалительная реакция [4, 23–28].

Однако, несмотря на бактериальное происхождение природных ПОА, роль этого биополимера у бактерий микробиоты кишечника и других органов человека (ротовой полости, легких, кожи и др.) остается практически неисследованной, хотя она имеет большое практическое значение из-за воздействия бактерий микробиоты на этот полимерный биоматериал или, напротив, воздействия биополимера на бактерии микробиоты человека. Между тем, помимо прикладных исследо-

ваний медицинских изделий на основе ПОА, имеются другие веские причины для проведения фундаментальных исследований этой проблемы. В настоящее время накопилось много данных в пользу того, что ПОБ как природный родоначальник практически всех ПОА, используемых в биомедицине, как синтетических, так и полученных биотехнологическим путем, играет важную роль в симбиозе бактерий микробиоты и организма млекопитающих еще и как эндогенный биополимер [29]. Более того, ПОБ имеет не только бактериальное происхождение, было показано присутствие эндогенного ПОБ в организме млекопитающих и других эукариот [29, 30].

Поэтому в обзоре подробно рассматривается возможность биосинтеза и биодegradации ПОА различными симбиотическими и инфекционными бактериями человека и животных, прежде всего, многочисленными бактериями микробиоты кишечника, и та физиологическая роль, которую этот биополимер может играть у этих бактерий, а также рассмотрены примеры применения ПОА для регенеративной хирургии ЖКТ.

**Биосинтез поли-3-оксибутирата симбиотическими бактериями эукариот.** Природные ПОА представляют собой полиэфиры 3-оксиалкановых кислот, поли-3-оксибутират является линейным полиэфиром 3-оксимасляной кислоты. Биополимер включает только R-форму 3-оксимасляной кислоты, благодаря чему в выделенном и очищенном виде является частично кристаллическим полиэфиром – кристалличность ПОБ составляет от 55 до 80% [31]. В зависимости от длины алканового бокового радикала, различают следующие природные ПОА: поли-3-оксибутират, поли-3-оксивалерат, поли-3-оксигексаноат, поли-3-оксиоктаноат и так далее. Чаще всего, при бактериальном биосинтезе получают не гомополимеры других ПОА, а их сополимеры с 3-оксибутиратом: поли-3-оксибутират-со-3-оксивалерат (**ПОБВ**), поли-3-оксибутират-со-3-оксигексаноат (**ПОБГк**), поли-3-оксибутират-со-3-оксиоктаноат (**ПОБО**) и др. Все они довольно сильно различаются по физико-химическим свойствам, таким как кристалличность, температура плавления, температура стеклования, гидрофобность, пластичность, модуль упругости и другим [32–34].

В настоящее время считается, что в природе существует три типа ПОБ, различающиеся молекулярной массой и функциональностью: высокомолекулярный запасной ПОБ, состоящий более чем из 1000 звеньев 3-оксибутирата (запасной ПОБ, **зПОБ**), низкомолекулярный гидрофобный ПОБ, с длиной цепи 100–200 мономеров (олиго-ПОБ, **оПОБ**) и конъюгированный или комплексообразующий ПОБ (**кПОБ**), который состоит не более, чем из 30 остатков 3-оксимасляной кислоты, относительно гидрофильный, ковалентно

связанный с белками и образующий комплексы с другими биополимерами. Иногда низкомолекулярный оПОБ, особенно, если этот полимер образует комплексы с другими биополимерами, в литературе относят к комплексообразующему ПОБ и обозначают как кПОБ. Запасной ПОБ присутствует у многих прокариот (*Eubacteria* и *Archaea*), тогда как оПОБ и кПОБ, как будет показано ниже, можно обнаружить у всех прокариот и даже у эукариот [35].

Способностью к синтезу ПОА в качестве запасного вещества обладают сотни видов бактерий: грамотрицательные и грамположительные вместе пишется бактерии, некоторые археи и цианобактерии. За исключением немногих фототрофных микроорганизмов, *Clostridium* и *Syntrophomonas* – единственные строгие анаэробы, в клетках которых был обнаружен ПОБ. Интересно, что энтеробактерии, как например *Escherichia coli*, как правило, не синтезируют ПОБ в качестве резервного вещества [36–38]. Способные к биосинтезу бактерии аккумулируют ПОБ в цитоплазме в виде дискретных включений (гранул) обычно от 100 до 800 нм в диаметре как пул углерода и химической энергии в условиях азотного голодания. Гранулы окружены монослойной липидной мембраной, в которой локализованы ферменты биосинтеза и деградации/мобилизации (внутриклеточные ПОБ-деполимеразы) [35, 39]. Для большинства микроорганизмов накопленный ПОБ служит источником углерода и энергии при их недостатке. Роль ПОБ как резервного материала подробно освещена в обзоре Андерсона и Дуэса [37]. ПОБ и другие ПОА представляют идеальный резервный материал, так как благодаря гидрофобности и высокому молекулярному весу не вызывают увеличения осмотического давления в клетке [40]. Метаболические пути биосинтеза и утилизации ПОБ у бактерий подробно рассмотрены в ряде обзоров [29, 37, 38, 41].

Основные этапы биосинтеза следующие: фермент  $\beta$ -кетотиолаза катализирует образование углерод-углеродной между двумя остатками ацетил-КоА путем конденсации Кляйзена (молекулы ацетил-КоА поступают при этом из гликолиза через образование пирувата), далее НАДФН-зависимая ацетоацетил-КоА-редуктаза превращает ацетоацетил-КоА в 3-гидроксибутирил-КоА, на следующем этапе молекулы 3-гидроксибутирил-КоА связываются с ПОБ-полимеразой которая осуществляет синтез полимера на поверхности гранул. ПОА-синтазы разделяются на 4 группы: I, II, III и IV классов в зависимости от субстратной специфичности и композиции субъединиц. ПОА-синтазы следующих трех классов – класса I (найден у *Ralstonia eutropha*), класса III (найден у *Allochromatium vinosum*) и класса IV (найден у *Bacillus megaterium*) обладают субстратной специфичностью по отношению к короткоцепочечным

мономерам, 3-гидроксикарбоновым кислотам (C3-C5), тогда как ПОА-синтаза класса II (найдена у *Pseudomonas aeruginosa*) способна осуществлять реакцию с длинноцепочечными 3-гидроксикарбоновыми кислотами в качестве субстрата (C6-C14) [42]. Параллельно с синтезом ПОБ происходит также непрерывное его разложение до мономеров ферментом ПОБ-деполимеразой, эти процессы находятся в равновесии и регулируются в клетке. Кроме того, многие микроорганизмы экскретируют внеклеточные ПОА-деполимеразы (ген *PhaZ*), посредством которых они могут гидролизовать ПОБ до водорастворимых мономеров и олигомеров, к настоящему времени известно более 300 микроорганизмов, относящихся к разным таксономическим группам, способных к деградации ПОБ *in vitro* [43, 44].

Как и многие свободноживущие бактерии ряд симбиотических бактерий микробиоты ЖКТ млекопитающих и других животных способны к биосинтезу и накоплению этого резервного биополимера. В таблице 1 собраны сведения о способности бактерий микробиоты ЖКТ и других симбиотических бактерий человека и животных к синтезу ПОБ. Так, бактерии из рода *Clostridium* способны к синтезу и аккумуляции запасного высокомолекулярного ПОБ, как и, например, известные продуценты ПОБ – почвенные бактерии *Azotobacter* sp. При этом бактерии *Clostridium* sp. являются естественным компонентом кишечной микрофлоры у здоровых людей [45–48]. Способность *Clostridium* sp. к синтезу и запасанию в ПОА-гранулах зПОБ было обнаружено еще в 1973 г. [49], но как продуценты ПОБ эти бактерии не очень эффективны (накапливают лишь до 15% полимера) и, кроме того, различные виды этого рода кишечных бактерий могут быть патогенными: *C. difficile*, *C. acetobutylicum*, *C. propionicum*. В дальнейшем они использовались лишь как источники генов ряда ферментов биохимического пути синтеза ПОБ для метаболической инженерии и энзиматического синтеза *in vitro* этого полимера [50, 51]. Следует отметить, что бактерии *Clostridium* sp. играют огромную роль как естественные представители микрофлоры кишечника в норме, так и в патогенезе целого ряда заболеваний (диабета, различных хронических воспалительных заболеваний ЖКТ, рака прямой кишки, ревматоидного артрита, ожирения и даже аутизма), в том числе инфекционных заболеваний кишечника [47, 48, 52, 53]. Во многих работах показано также значительное влияние кишечных бактерий *Clostridium* sp. на иммунитет человека и отмечена их особая роль в формировании клеток иммунной системы человека, было даже предложено использовать препараты из бактерий этого рода в качестве пробиотика [54, 55].

Однако, помимо бактерий из рода *Clostridium* к синтезу ПОБ способны также другие бактерии

Таблица 1. Биосинтез ПОБ у симбиотических и инфекционных бактерий человека и животных

Бактерии (род, вид)	Гены ферментов синтеза и расщепления ПОА	Способность к биосинтезу и биодegradации ПОА	Роль бактерий в организме животного	Показанная или предполагаемая функция ПОБ
<i>Agrobacterium</i> ( <i>A. tumefaciens</i> или <i>Rhizobium radiobacter</i> )	<i>PhaC</i> (ПОА-синтаза III класса), <i>PhaZ</i> (UniProt, Protein NCBI*) [157].	Биодegradация ПОБ (косвенно) [212].	Возбудитель нозокомиальных инфекций (редко) [158, 159].	Источник углерода и энергии (косвенно) [212].
<i>Clostridium</i> ( <i>C. difficile</i> , <i>C. acetobutylicum</i> , <i>C. propionicum</i> , <i>C. tetanomorphum</i> , <i>C. botulinum</i> , <i>C. beijerinckii</i> , <i>C. clostridioforme</i> , <i>C. coccoides</i> )	<i>PhaR</i> , <i>PhaC</i> (ПОА-синтаза III класса), <i>PhaZ</i> (UniProt, Protein NCBI*)	Биосинтез и накопление ПОБ в гранулах (до 15% от объема клетки) [49].	Компонент микробиоты кишечника и др. органов, возбудитель инфекций, формирование иммунитета [45–48, 52–55, 213].	Запасное вещество [49].
<i>Escherichia coli</i>	<i>PhaR</i> , <i>PhaC</i> отсутствуют (UniProt, Protein NCBI*). Связывающий белок ABC транспортера <i>YdcS</i> , обладает способностью к синтезу кПОБ [214].	Запасной высокомолекулярный ПОБ не синтезируется [36, 37, 39]. Синтез низкомолекулярных оПОБ и кПОБ [30, 35, 62, 63, 100].	Компонент микробиоты кишечника и др. органов, возбудитель инфекций [215].	Комплексы с различными белками (кПОБ) [84, 101, 103, 120, 121] Улучшение адаптации бактерий к симбиозу (кПОБ) [62, 63]. Подавление роста патогенных <i>E. coli</i> [76, 77].
<i>Ralstonia</i> ( <i>Ralstonia</i> sp., <i>R. pickettii</i> , <i>R. insidiosa</i> )	<i>PhaA</i> , <i>PhaB</i> , <i>PhaR</i> , <i>PhaC</i> (ПОА-синтаза I класса), <i>PhaZ</i> (UniProt, Protein NCBI*) [35].	Биосинтез ПОБ Биодegradация ПОБ ( <i>R. pickettii</i> ) [216]. Биосинтез ПОА ( <i>R. eutropha</i> ) [36, 60].	Компонент микробиоты легких, возбудитель нозокомиальных инфекций у человека [61, 142].	Запасное вещество, источник энергии [36, 60, 216].
<i>Bacillus</i> ( <i>B. subtilis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. globisporus</i> , <i>B. thuringiensis</i> , <i>B. pasteurii</i> , <i>B. lentus</i> , <i>B. megaterium</i> )	<i>phaA</i> , <i>phaB</i> , <i>phaC</i> , <i>phaR</i> , <i>phaP</i> , <i>phaQ</i> (ПОА-синтаза IV класса), <i>PhaZ</i> (UniProt, Protein NCBI*) [35, 186].	Биосинтез ПОБ (до 23,6% сух. вес) [57].	Компонент микробиоты кишечника человека, других млекопитающих, рыб и насекомых, возбудитель инфекций у человека [217, 218].	Запасное вещество [57].
<i>Burkholderia</i> ( <i>B. mallei</i> , <i>B. thailandensis</i> , <i>B. pseudomallei</i> , <i>B. cepacia</i> , <i>B. cenocepacia</i> )	<i>phaA</i> , <i>phaB</i> , <i>phaC</i> (ПОА-синтаза I класса), <i>phaP</i> , <i>PhaZ</i> (UniProt, Protein NCBI*) [59].	Биосинтез и накопление ПОБ в гранулах (до 10% от объема клетки) [58, 59].	Компонент микробиоты кишечника и возбудитель инфекций у человека [218, 219] и насекомых [58, 59].	Запасное вещество, играет важную роль в симбиотических отношениях [59].
<i>Vibrio</i> ( <i>V. cholerae</i> , <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. vulnificus</i> , <i>V. cincinnatiensis</i> , <i>V. campbellii</i> )	<i>phaB</i> , <i>phaC</i> (ПОА-синтаза I класса) (UniProt, Protein NCBI*)	Биосинтез ПОБ (у родственных морских бактерий <i>Vibrio</i> sp.) [220].	Возбудители инфекций у человека, рыб, ракообразных и моллюсков [221].	Кормление ПОБ подавляет инфекционную активность <i>V. campbellii</i> у ракообразных [75].
<i>Legionella</i> ( <i>L. pneumophila</i> )	<i>phaB</i> , <i>phaC</i> (ПОА-синтаза I класса), <i>PhaZ</i> (UniProt, Protein NCBI*)	Биосинтез зПОБ (до 16% сух. вес) [181, 182, 222].	Возбудитель инфекций (болезнь легионеров), облигатные внутриклеточные паразиты макрофагов легких [177, 178].	Запасное вещество, используется в стрессовых условиях [181, 182, 222] и для инфекционной активности [184, 185].

Таблица 1. Продолжение

Бактерии (род, вид)	Гены ферментов синтеза и расщепления ПОА	Способность к биосинтезу и биодеградации ПОА	Роль бактерий в организме животного	Показанная или предполагаемая функция ПОБ
<i>Pseudomonas</i> ( <i>P. fluorescens</i> , <i>P. micrococcus</i> , <i>P. putida</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. (Stenotrophomonas) maltophilia</i> )	<i>phaB</i> , <i>phaC</i> (ПОА-синтаза II класса), <i>PhaZ</i> , <i>PhaF</i> (UniProt, Protein NCBI*) [35, 42].	Биосинтез зПОБ и различных его сополимеров (до 69% сух. веса), накопление ПОБ в гранулах клеток у <i>P. aeruginosa</i> [223].	Компонент микробиоты кишечника человека и других млекопитающих [218], возбудитель нозокомиальных инфекций [224].	Запасное вещество [223].
<i>Mycobacterium</i> ( <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i> , <i>M. kansasii</i> , <i>M. smegmatis</i> )	<i>phaC</i> (ПОА-синтаза I класса) (UniProt, Protein NCBI*).	Биосинтез ПОБ у <i>M. smegmatis</i> не происходит, но есть липофильные включения в клетках [64].	Возбудители инфекций (туберкулез), факультативные внутриклеточные паразиты [225, 226].	Неизвестно.
<i>Acinetobacter</i> ( <i>A. baumannii</i> )	<i>phaA</i> , <i>phaB</i> , <i>phaC</i> (ПОА-синтаза III класса) (UniProt, Protein NCBI*).	Показан для почвенных бактерий, в т.ч. <i>A. oleivorans</i> [227, 228].	Компонент микробиоты кишечника человека и других млекопитающих [213, 218], возбудитель нозокомиальных инфекций [224].	Неизвестно.
<i>Sphingomonas</i> ( <i>S. paucimobilis</i> )	<i>phaA</i> , <i>phaB</i> , <i>phaR</i> , <i>phaC</i> (ПОА-синтаза I класса), <i>PhaZ</i> , <i>PhaF</i> (UniProt, Protein NCBI*).	Показан для почвенных бактерий <i>S. sanxanigenens</i> [229].	Компонент микробиоты кишечника и легких человека и других млекопитающих [142, 218], возбудитель нозокомиальных инфекций [230].	Неизвестно.
<i>Fusobacterium</i> ( <i>F. alocis</i> , <i>F. nucleatum</i> )	<i>phaC</i> (ПОА-синтаза III класса) (UniProt, Protein NCBI*).	Неизвестно.	Компонент микробиоты кишечника человека и других млекопитающих [218], участие в патогенезе пародонтоза [139].	Неизвестно
<i>Neisseria</i> ( <i>N. meningitidis</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> )	<i>phaB</i> , <i>phaR</i> , <i>phaC</i> (UniProt, Protein NCBI*) [186].	Неизвестно	Компонент микробиоты кишечника человека и других млекопитающих, возбудитель инфекций [218].	Неизвестно
<i>Streptomyces</i> ( <i>S. purpurogeniscleroticus</i> , <i>S. aureofaciens</i> )	<i>phaA</i> , <i>phaB</i> , <i>phaC</i> , <i>phaZ</i> (UniProt, Protein NCBI*).	Биосинтез зПОБ (почвенные бактерии) [231]. Обнаружен кПОБ [84].	Обычный компонент микробиоты кишечника человека и других млекопитающих [218], возбудитель кишечных инфекций [232].	Запасное вещество (зПОБ), [231]. Функциональный компонент катионного канала (кПОБ) [84]

Таблица 1. Окончание

Бактерии (род, вид)	Гены ферментов синтеза и расщепления ПОА	Способность к биосинтезу и биодеградации ПОА	Роль бактерий в организме животного	Показанная или предполагаемая функция ПОБ
<i>Haemophilus</i> ( <i>H. influenzae</i> , <i>H. haemolyticus</i> )	Нет (UniProt, Protein NCBI*).	кПОБ в комплексе с полифосфатом и белком NTHi P5 [85].	Компонент микробиоты легких, возбудитель нозокомиальных инфекций [233].	Функциональный компонент катионного канала (кПОБ) [85].
<i>Bordetella</i> ( <i>B. bronchiseptica</i> , <i>B. parapertussis</i> , ( <i>Haemophilus pertussis</i> ))	<i>phaC</i> (ПОА-синтаза I класса), <i>PhaR</i> , <i>PhaZ</i> [186].	Неизвестно.	Возбудители инфекций у человека [234].	Неизвестно.
<i>Rickettsia</i> ( <i>R. rickettsii</i> , <i>R. prowazekii</i> , <i>R. typhi</i> , <i>R. sibirica</i> , <i>R. prowazekii</i> )	<i>phaC</i> (ПОА-синтаза I класса), <i>phaR</i> , <i>PhaZ</i> (UniProt, Protein NCBI*)	Неизвестно.	Возбудители инфекций у человека, облигатные внутриклеточные паразиты [235].	Неизвестно.

\* UniProt – <http://www.uniprot.org>, Protein NCBI – <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein>.

микробиоты человека и различных животных (насекомых, рыб) из родов *Bacillus* и *Burkholderia* [56–59]. Фермент ПОБ-синтаза и, соответственно, ее ген *phaC* также был обнаружен у этих бактерий [58]. В работе [59] была показана возможность биосинтеза ПОБ лактобактериями из родов *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* и *Streptococcus* и накопление этими бактериями от 6 до 35% биополимера от сухой биомассы. Наилучшую способность к биосинтезу ПОБ показали бактерии рода *Lactobacillus*, хотя, доказательств наличия гена ПОБ-синтазы *phaC* у этих бактерий нет. Интересно, что бактерии из рода *Ralstonia*, к которому относится такой известный продуцент ПОБ и других ПОА, как *Ralstonia eutropha* [60], также являются естественными компонентами микробиоты млекопитающих. *R. pickettii* обнаружены в нормальной микрофлоре легких и ротовой полости человека [61]. Кроме того, кишечные бактерии, например *Escherichia coli*, не способные к синтезу высокомолекулярного зПОБ, могут синтезировать низкомолекулярный оПОБ или кПОБ [35, 62, 63]. Показано, что у близкого родственника возбудителя туберкулеза условно патогенной бактерии *Mycobacterium smegmatis* синтез ПОБ не происходит (хотя и некоторые липофильные включения в клетках имеются), но наблюдался у этих бактерий, трансформированных плазмидой, несущей гены *phaA*, *phaB*, *phaC* [64]. Следует отметить, что эффективная продукция ПОБ продемонстрирована не только отдельными штаммами-продуцентами, но и консорциумами, состоящими из множества различных видов бактерий, синтез ПОБ при этом был необходим для существования всего симбиотического сообщества [65–67].

Важная роль синтеза ПОБ в симбиотических отношениях бактерий микробиоты с организмом-хозяином показана на примере сравнения регуляции биосинтеза ПОБ у свободноживущих и симбиотических бактерий рода *Burkholderia* из кишечника бобового жука *Riptortus pedestris*. Было показано, что число гранул, содержащих полимер, гораздо выше у симбиотических бактерий, а более интенсивный биосинтез ПОБ у них ассоциирован с большим количеством регуляторных белков фасинов (ген *PhaP*) на поверхности гранул. Бактерии-мутанты с нокаутированными генами синтеза ПОБ и фасинов обладали гораздо худшими способностями к заселению и размножению в кишечнике жука, что приводило к уменьшению размеров тела и массы самого жука. Но самое интересное, что способность к биосинтезу ПОБ значительно увеличивала стрессоустойчивость бактерий, в то время как выживаемость бактерий-мутантов с выключенными генами синтеза ПОБ в условиях различных видов стресса (воздействия высокой температуры, обедненной среды роста, высокого осмотического давления) была резко снижена. Анализируя эти результаты, авторы предположили, что синтез ПОБ позволяет симбиотическим бактериям выживать в кишечнике жука в стрессовых условиях, вызываемых иммунной системой организма-хозяина с целью регуляции численности этих бактерий [58]. В связи с этим следует отметить, что синтез ПОБ является одним из эволюционных механизмов приспособления микроорганизмов к экстремальным условиям окружающей среды. В процессе эволюции способность к синтезу и накоплению ПОБ играло важную роль в освоении микроорганизмами новых экологических ниш на Земле с экстре-

мально низкими или высокими температурами, высокой соленостью, кислотностью или щелочностью водоемов, так как этот резервный биополимер является универсальным аккумулятором энергии, а способность к его метаболизму позволяет микроорганизму пережить стрессовые периоды существования [68–71]. Показано, что биосинтез ПОБ бактериями резко повышает их устойчивость к различным стрессовым воздействиям: высокой температуре, осмотическому стрессу, УФ-облучению, окислительному стрессу и др. [72]. При биотехнологическом получении этого биополимера для стимуляции процесса его биосинтеза у штамма-продуцента создаются искусственные стрессовые условия [73].

На других организмах (голотурии *Apostichopus japonicus*) также показано, что биосинтез ПОБ имеет большое значение для микробиоты. Метагеномный анализ состава микробиоты ЖКТ голотурий показал, что у крупных особей преобладали бактерии из порядка *Rhodobacterales*, что коррелировало с большей долей генов синтеза ПОБ – *PhaA*, *PhaB*, *PhaC*. По-видимому, синтез ПОБ модулировал микробиоту ЖКТ голотурии, способствуя многократному увеличению размеров животного [74]. Заслуживает внимания работа, в которой показана способность гистамина регулировать синтез низкомолекулярного кПОБ у *E.coli*. Гистамин играет большую роль, как средство коммуникации бактерий с организмом-хозяином и регулятор иммунной системы желудочно-кишечного тракта, 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 [62, 63]. Более того, показана эффективность ПОБ в борьбе против инфекционных заболеваний у животных: использование в качестве добавок к кормам порошка ПОБ защищало рачков Артемий (*Artemia nauplii*) от инфекционного заболевания, вызываемого патогенными бактериями *Vibrio campbellii*. Эффективность ПОБ была в 100 раз больше, чем мономера 3-гидромасляной кислоты [75], кроме того, ПОБ обладает способностью подавлять патогенные бактерии не только *Vibrio* sp., но и *E. coli* и *Salmonella* sp. [76, 77]. Косвенно о значительной роли ПОБ для микробиоты человека свидетельствуют исследования, в которых ПОБ использовали в качестве пребиотиков. А затем исследовали его влияние на микробиоту и на организм-хозяин. К сожалению, биомедицинских исследований такого рода на человеке не было проведено, но были проведены исследования на сельскохозяйственных животных [76]. Показано, что кормление цыплят-бройлеров порошком ПОБ или биомассой штамма-продуцента ПОБ *Rhodobacter sphaeroides*, содержащей около 25% ПОБ от сухого веса клеток,

улучшало мясную производительность цыплят благодаря стимуляции роста бактерий микробиоты ЖКТ животных [77]. Кормление еропейского морского окуня *Dicentrarchus labrax* кормом, содержащим 2 и 5% порошка ПОБ в течение 6 недель приводило к существенному приросту веса рыб, что было связано со значительным изменением состава микробиоты кишечника рыбы, вероятно, из-за ее стимуляции [78]. Кормление мальков сибирского осетра *Acipenser baerii* рачками *Artemia nauplii*, предварительно закормленных порошком ПОБ показало, что биополимер изменяет липидный состав тела мальков, что свидетельствовало об изменении метаболизма липидов у рыб. Это также было сопряжено с изменением состава микробиоты в кишечнике мальков осетра [79].

Сополимер ПОБ с 3-оксивалератом плохо подвергается перевариванию в желудочно-кишечном тракте свиней. Но предварительная обработка ПОБВ NaOH значительно улучшала расщепление ПОБВ и приводила к расщеплению 37% ПОБВ в ЖКТ свиней. В ЖКТ овец ПОБВ расщеплялся значительно лучше: без обработки расщеплялось более 40% полимера, а после обработки NaOH – более 85%. При этом длительное (3 нед.) кормление овец и свиней пищей, содержащей до 20% порошка ПОБВ, не оказывало вредного воздействия на животных [80, 81]. Основную роль в расщеплении ПОБ и его сополимеров в ЖКТ играют бактериальные ПОБ-деполимеразы, которыми также обладают многие виды бактерий микробиоты человека и животных [44, 76]. Помимо бактериальных ПОБ-деполимераз к неспецифичному расщеплению ПОБ и его сополимеров могут быть способны другие микробные ферменты, так было показано высокое сродство β-маннаназы (фермента, расщепляющего полисахариды маннаны) к гранулам ПОБ [82]. Показано также, что продукты биodeградации некоторых природных ПОА, например, 3-гидроксиоктаноат, обладают антимикробной активностью по отношению к целому ряду инфекционных грамотрицательных вместе пишется и граммположительных бактерий, а также ингибируют продукцию метаболитов, ассоциированных с их патогенной активностью [83].

У некоторых инфекционных бактерий был также обнаружен короткоцепочечный незапасной олиго-ПОБ, причем оПОБ был найден в составе комплексов с полифосфатами в калиевых каналах *Streptomyces lividans* [84] и в комплексе с белком NThiP5 у *Haemophilus influenzae* [85].

Роль ПОБ в симбиозе бактерий микробиоты человека и животных можно лучше понять на примере роли ПОБ у симбиотических бактерий других эукариот, например, растений. Так, синтез ПОБ играет очень важную роль в симбиозе азотфиксирующих бактерий с растениями семей-

ства бобовых. У этих растений фиксация азота происходит в клубеньках, в которых азотфиксирующие бактерии находятся в тесном симбиозе с растительными клетками в специальных сложно организованных тканях. Следует отметить, что многие клубеньковые бактерии, например, из родов *Rhizobium* и *Sinorhizobium* способны к синтезу ПОБ [86]. При этом бактерии, сосуществующие в клубеньках в симбиозе с растительными клетками, инфицируют клетки корневой меристемы, проникая внутрь и переходят в особую форму — бактериоидов, у которых многие физиологические функции бактерии подавлены (в частности, экспрессия и активность ферментов) и метаболические пути переориентированы на осуществление главных — фиксации атмосферного азота и в том числе биосинтеза ПОБ, что было показано как методами протеомного анализа, так и исследованием экспрессии генов [87–90]. В клубеньках сои (*Glycine max* L.) бактериоиды *Rhizobium* sp. синтезируют значительные количества ПОБ благодаря высокой активности ПОБ-синтазы и других ферментов, осуществляющих синтез полимера, тогда как в клубеньках нута (*Cicer arietinum* L.) синтез ПОБ бактериоидами практически не осуществляется, что связано с низкой активностью ферментов, его осуществляющих [91]. В другой работе с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) было продемонстрировано активное накопление ПОБ в бактериоидах *Sinorhizobium* sp. клубеньков коровьего гороха *Vigna unguiculata* и леуцены светлогловчатой (*Leucaena leucocephala*), сопровождающегося экспрессией генов белков фасинов (*phaP1*, *phaP2*, *phaP3*), ассоциированных с ПОА-гранулами бактерий [90]. Важная роль фасинов (*phaP1* и *phaP2*) в биосинтезе ПОБ, фиксации атмосферного азота и одновременно способности к образованию клубеньков у люцерны (*Medicago truncatula* и *Medicago sativa*) была показана для симбиотической азотфиксирующей бактерии *Sinorhizobium meliloti* [92]. Активное накопление ПОБ, также выявленное методом ПЭМ, наблюдалось в бактериоидах *Rhizobia* sp. клубеньков альбиции (*Samanea saman*). Интересно, что инфицированы клубеньки были не только бактериями, но и гифами грибов ризосферы корней этого дерева. Обнаружение сосуществования грибов и азотфиксирующих ПОБ-синтезирующих бактерий в клубеньках хорошо дополняет исследование Джаилс с соавт. [93] по транслокации бактерий *Azotobacter* sp. в гифы гриба [94]. Более того, было показано, что некоторые белки оболочки ПОБ-гранул, например, фасин *PhaR* регулирует не только биосинтез ПОБ у симбиотических бактерий *Bradyrhizobium diazoefficiens*, но и участвует в регуляции их симбиотических отношений с соей — растением-хозяином (*Glycine max* L.), что выражалось, в частности, в увеличении биомассы растений. Столь важная роль фасинов в ре-

гуляции симбиотических отношений бактерий с организмом-хозяином и в биосинтезе ими ПОБ уже была показана выше на примере взаимоотношений бактерий *Burkholderia* sp. и бобового жука. Это может свидетельствовать о связи биосинтеза ПОБ с симбиотическими отношениями бактерий и многоклеточных эукариот [59, 95]. Другие исследователи также подтвердили важность накопления ПОБ для процесса инфицирования растения, формирования клубеньков, роста и размножения симбиотических бактерий *Sinorhizobium meliloti* в клубеньках люцерны и фиксации ими атмосферного азота, т.е. подтвердили значительную роль ПОБ в симбиотических отношениях бактерий и растений, хотя возможно инфицирование корней бобовых растений и формирование клубеньков азотфиксирующими бактериями, не способными к синтезу ПОБ [92, 96]. С другой стороны, было показано, что и растение-хозяин значительно влияет на симбиотические бактерии клубеньков, в том числе регулируя синтез ими ПОБ. Так, в сое был обнаружен ген белка *GmNMNa* с неизвестными функциями, который был локализован в ядрышке и митохондриях растительных клеток. Подавление экспрессии этого гена приводило к угнетению формирования клубенька, уменьшению числа бактериоидов *Bradyrhizobium japonicum* в инфицированных растительных клетках и к уменьшению синтеза и накопления ПОБ в бактериоидах [97]. Механизм подобного сложного взаимодействия симбиотических бактерий и растения-хозяина, ассоциированный с синтезом ПОБ, рассмотрен в работе Ратклиффа с соавт. Известно, что бобовые растения подавляют размножение симбиотических бактерий *Rhizobium* sp., которые недостаточно хорошо фиксируют атмосферный азот [98]. Однако симбиотические бактерии научились сопротивляться этому давлению со стороны растения-хозяина путем синтеза и секреции ингибитора этилеоксида ризобитоксина (Rtx), что позволяло им полноценно размножаться и функционировать в клубеньках. Причем, продуценты ризобитоксина способны к активному синтезу и накоплению в клетках ПОБ, но при этом значительно хуже фиксируют атмосферный азот [99].

**Микробиота и эндогенный поли-3-оксибутират в тканях эукариот.** Одним из наиболее интересных этапов в истории изучения ПОА было нахождение ПОБ в мембранных фракциях различных грамотрицательных и грамположительных бактерий, не способных к его синтезу и не обладающих ПОБ-синтазой [100], а также обнаружение этого полиэфира в различных тканях эукариот и даже у высших представителей — млекопитающих. Следует сразу отметить, что обнаружен был не высокомолекулярный запасной полимер, синтез которого характерен для ряда бактерий, а так называемый короткоцепочечный комплексообразующий



кПОБ и низкомолекулярный оПОБ [35]. Вопреки тому, что специализированные ферменты биосинтеза ПОБ имеются только у прокариот, этот биополимер был обнаружен группой американского профессора Реуш у организмов практически всех типов [101–104]. Коротко- и среднепочечный ПОБ были найдены во множестве различных органов и тканей млекопитающих, включая человека, а именно, в плазме крови, сердце, почках, печени, сосудах (том числе в аорте), нервах, липопротеиновых частицах, тромбоцитах и др. Было показано, что, как и у бактерий, оПОБ находится в мембранах эукариотических клеток в форме ПОБ-полифосфат-кальциевого комплекса [101, 103]. Идентичность обнаруженного олиго-ПОБ как полиэфира оксимасляной кислоты была подтверждена посредством <sup>1</sup>H-ЯМР спектроскопии [102, 103], а его молекулярная масса ( $M_n = 12200$  соответствует длине, примерно 140 звеньев 3-оксимасляной кислоты) была определена с помощью хроматографии и электроспрей-масс спектроскопии [30].

С использованием теста на определение кротоновой кислоты и антител к ПОБ было показано, что концентрация кПОБ варьируется от 3–4 мкг/г в нервных тканях и мозге до 12 мкг/г в плазме крови [102, 105]. В плазме крови человека концентрация оПОБ может изменяться в достаточно широком пределе от 0.6 до 18.2 мг/л при усредненном значении 3.5 мг/л, а основным связывающим ПОБ белком является альбумин [102]. Следует отметить, что промежуточный продукт биодegradации ПОБ – D-3-оксимасляная кислота является кетоновым телом и в норме содержится в крови и тканях млекопитающих в концентрациях 0.3–1.3 мМ, а при патологических состояниях и намного выше [106, 107].

ПОБ (в том числе оПОБ и кПОБ) были обнаружены не только у животных, но и в тканях растений: в стеблях риса [108], в листьях и стеблях сахарной свеклы [109], в стеблях льна [110], в кукурузе [111]. Более того, вопрос наличия ПОБ в тканях растений и грибов теснейшим образом связан с получением трансгенных растений, содержащих гены синтеза ПОБ (ПОБ-синтазы *PhaC*) и способных к синтезу ПОБ [110–112] по традиционной технологии агробактериальной трансформации растений [113], так как ПОБ был найден в контрольных образцах растений дикого типа [110, 111]. В обсуждении авторы либо признают отсутствие ПОБ-синтазы у эукариот и бактерий, не синтезирующих запасной ПОБ, но предполагают, что существует некий альтернативный биохимический путь его синтеза, и предлагают схемы возможных биохимических реакций синтеза ПОБ [109], либо никак не объясняют наличие ПОБ в тканях растений дикого типа [110, 114].

Анализ баз данных по белкам UniProt и Protein NCBI показал, что белок ПОБ-синтаза (ПОА-полимераза, *PhaC*) в обеих базах данных был обнаружен у эукариот только пяти видов: моллюска *Crassostrea gigas* (UniProt: K1QX58; NCBI: EKC26101.1), китайского хомячка *Cricetulus griseus* (UniProt: A0A0L0DUY1; NCBI: ERE46547.1), актинии *Nematostella vectensis* (UniProt: A7TBP6; NCBI: EDO26560.1), а также как неохарактеризованный белок у растения клещевины *Ricinus communis* (UniProt: B9T9C3V; NCBI: EEF27538.1) и губки *Amphimedon queenslandica* (UniProt: I1ENL3; NCBI: XP\_011407756.1). В базе данных UniProt (но не Protein NCBI) ПОБ-синтаза была идентифицирована также у фораминиферы *Reticulomyxa filosa* (UniProt: X6PA37) и другой одноклеточной водоросли *Thecamonas trahens* (UniProt: A0A061HTL5). Столь экзотическое представительство фермента ПОБ-синтазы в надцарстве эукариот наталкивает на мысль о возможно ошибочной ее идентификации у представленных выше видов животных и растений или, что гораздо интереснее, косвенно может свидетельствовать в пользу явления горизонтального переноса генов [115, 116].

Дело в том, что возможность введения генов ферментов, ответственных за синтез ПОБ, с помощью метода агробактериальной трансформации и, факт синтеза и накопления ПОБ в тканях таких трансгенных растений свидетельствует о вполне реальной возможности подобных процессов и в самой природе. Современная генная инженерия, по сути дела, базируется на принципах горизонтального переноса генов, хотя еще недавно не было четкого понимания того, что такого рода генная инженерия широко распространена в природе. Горизонтальный перенос генов между филогенетически отдаленными таксонами (например, между бактериями и растениями) является крайне интересным и одним из наиболее интенсивно исследуемых явлений в современной науке. Чаще всего о горизонтальном переносе генов говорят как об одном из ключевых движущих факторов эволюции у прокариот и, как становится все более очевидным, и эукариот. Однако, это явление может проявляться и на несоизмеримо более малом масштабе, как вполне рутинные процессы взаимодействия друг с другом организмов из различных таксонов, например инфекционной бактерии-паразита и клетками определенных тканей многоклеточного животного или растения-хозяина. Агробактерия сама является самым настоящим природным генным инженером, а человек лишь использует ее уникальные способности. Причем, именно возможность переносить в растения самые различные гены, в том числе гены большой длины, в ядро клеток растений являются важными преимуществами агробактериальной трансформации по сравнению с

другими методами генетической инженерии [115, 116]. Следует отметить, что помимо способности к переносу генов эукариотам, бактерии рода *Agrobacterium* могут синтезировать ПОБ, а ее геном содержит гены всех необходимых для этого процесса ферментов. Впрочем, не следует забывать, что закрепление того или иного гена в геноме эукариот обусловлено прежде всего эволюционными преимуществами, которые этот ген может дать данному виду, а если такого преимущества нет, то даже при успешном горизонтальном переносе гена от бактерии к эукариотическому организму на каком-то этапе эволюции в дальнейшем этот ген может быть утерян.

Однако, несмотря на все вышесказанное, открытым остается вопрос источника поступления ПОБ в организм млекопитающих, так как к настоящему времени, несмотря на значительные успехи в расшифровке геномов различных организмов, гена ПОА-синтазы у млекопитающих (за исключением обнаружения гена ПОБ-синтазы у китайского хомячка *Cricetulus griseus*), обнаружено не было.

Одной из основных задач этого аналитического обзора была попытка разобраться в этом сложном вопросе. Для этого перечислим все теоретически возможные источники ПОБ в организме млекопитающих (в том числе человека), чтобы разобраться в том, насколько велика вероятность их существования:

1. эндогенный синтез в клетках человека с помощью еще неизвестных метаболических путей;
2. синтез бактериями микробиоты человека и попадание в кровь и ткани человека посредством всасывания через слизистую кишечника и последующей миграции в крови;
3. синтез в определенных тканях человека внутри клеток на мРНК, несущих ген ПОБ-синтазы, источником которой являются бактерии микробиоты человека.

Первооткрыватели ПОБ в организме человека являются сторонниками первой теории – эндогенного синтеза биополимера в клетках человека с помощью еще неизвестных биохимических механизмов [101, 102]. Одно из наиболее интересных исследований по обнаружению кПОБ и исследованию его возможной роли у млекопитающих было проведено научной группой под руководством профессора Захарян из медицинской школы Нью-Джерси (США) в сотрудничестве с другими научными группами из США, Канады и Германии. Этими исследователями было показано, что кПОБ связывается с одним из белков из группы рецепторов меластатина, TRPM8, млекопитающих и человека, что приводит к изменению его функционирования [117, 118]. TRPM8 является мембранным кальциевым каналом, функционирующим в качестве температур-

ного сенсора нейронов периферической нервной системы млекопитающих. Методами масс-спектрометрии и иммуноферментного анализа было показано, что этот белок ковалентно связан с короткоцепочечными ПОБ с длиной цепи от 1 до 26 мономеров (кПОБ) во множестве (более 25) сайтов связывания через остатки серина во внеклеточном и трансмембранном доменах. Была также продемонстрирована связь этого белка не только с кПОБ, но и с гораздо более длинноцепочечным оПОБ [35]. Причем, ПОБ, связанный с трансмембранными доменами, находится в мембране в комплексе с полифосфатом. Более того, функция TRPM8 как температурного сенсора зависит от того, связан этот белок с ПОБ или нет, т.е. для нормального функционирования TRPM8 должен быть модифицирован ПОБ, и авторы предположили, что подобная функциональность ПОБ связана с изменением конформационного состояния ПОБ при переходе через температуру стеклования этого полимера, которая составляет примерно 10°C. Ко-экспрессия в клетках помимо TRPM8 еще и ПОБ-деполимеразы *PhaZ7* или модификация методами генетической инженерии сайтов связывания белка с ПОБ приводило к нарушению функции этого мембранного рецептора как сенсора температуры [118, 199]. Авторы делают вывод о том, что связывание белкового канала-рецептора *TRPM8* с кПОБ является пострасляционной модификацией этого белка, необходимым для его нормального функционирования [117, 118]. Следует впрочем отметить, что исследование было проведено на экспериментальной искусственной модели – культуре эмбриональных клеток почек человека и нейронах крысы, трансфицированных геномом TRPM8. Кроме того, методы, использованные в исследовании для доказательства присутствия ПОБ в этих клетках – генетическая инженерия (со-экспрессия клеток с ПОБ-деполимеразой), иммуноферментный анализ (с использованием антител к ПОБ), масс-спектрометрия (MALDI TOF, LC/MS/MS), окраска красителем нильский красный, несмотря на их высокую сложность и технологичность не могут считаться прямыми методами анализа присутствия ПОБ в клетках и могут давать неспецифические реакции. Подобные специфические функции ПОБ, помимо его роли как запасного вещества и энергетического депо у бактерий были обнаружены этой группой ученых как для прокариотических, так и эукариотических организмов. Специфическая роль ПОБ сопряжена, по-видимому, с регуляцией различных белков за счет образования короткоцепочечными кПОБ и оПОБ как нековалентных, так и ковалентных связей с другими биополимерами – белками, неорганическими полифосфатами и ДНК [30, 84, 85, 100–102, 120, 121].

Следует также обратить внимание на саму возможность успешной трансфекции клеток млекопитающих — эмбриональных клеток почек человека и нейронов крысы геном бактериального фермента ПОб-деполимеразы *PhaZ7* ДНК с последующим синтезом функционального фермента. Ведь это косвенно может свидетельствовать в пользу возможности трансфекции клеток млекопитающих геном ПОб-синтазы. Проведение же исследования на клетках, трансфицированных TRPM8, может указывать на возможный неспецифический механизм ковалентной модификации белка олигомером кПОб. На подобную неспецифичность могут указывать работы этой же научной группы, в которых было показано, что *TRPM8* является также рецептором тестостерона и его экспрессия увеличена в опухолевых клетках, что указывает на вовлеченность этого белка в онкогенез [122].

Заслуживают внимания также ряд работ, посвященных поиску и исследованию низкомолекулярного ПОб в митохондриях млекопитающих, учитывая, что эволюционно происхождение митохондрий также связано с внутриклеточным симбиозом с бактериями [123]. Так, небольшие количества кПОб были выделены из митохондрий, изолированных из здоровых бычьих сердец [103]. Ученые из группы Павлова исследовали физиологическую роль кПОб в митохондриях млекопитающих и показали, что кПОб участвует в увеличении тока ионов кальция в митохондрию за счет возможного увеличения проницаемости внутренней мембраны митохондрии для этих ионов и изменения вязкости липидного бислоя мембраны [124, 125].

Подтверждает возможность какой-то альтернативной физиологической роли ПОб в организме млекопитающих и работы нескольких других исследователей, которые показали, что олигомеры ПОб и его сополимеры (с длиной цепи 20–25 мономеров) не токсичны для клеток (до концентрации 20 мкг/мл) и обладают биологической активностью. Так, олигомеры ПОб и его сополимеры с 4-оксибутиратом и 3-оксигексаноатом стимулировали пролиферацию, подавляли апоптоз, выброс кальция в цитоплазму и межклеточные контакты В-клеток поджелудочной железы мышей [126]. Тогда как продукт биодеградации ПОб — 3-гидроксибутират (3-ГБ) является естественным метаболитом в организме млекопитающих, так называемым, кетонным телом и обладал выраженной разносторонней биологической активностью [106, 107].

Теории эндогенного синтеза ПОб в клетках млекопитающих с помощью еще неизвестных биохимических механизмов во многом связано с постулируемой авторами функциональной ролью кПОб в организме млекопитающих, как полимера, модулирующего функцию ионных каналов и

насосов в мембране клеток и митохондрий [127]. Эта роль кПОб обязывает считать присутствие ПОб в организме как жизненно необходимое с самых ранних этапов эмбрионального развития, поэтому исследователи предполагают синтез ПОб в клетке посредством известных или еще неизвестных ферментных систем эукариотической клетки. Однако крайне сложно представить, что, несмотря на полную расшифровку даже такого сложного генома, как геном человека, можно обнаружить ПОб-синтазу или какие-либо ферменты, родственные ПОб-синтазе — (нуклеотидные последовательности), они уже должны были бы быть обнаружены. Но так как ПОб-синтаза до сих пор так и не была обнаружена у человека, то речь может идти только о неспецифическом синтезе ПОб другими ферментами. Однако эти исследователи обнаружили в тканях человека не только кПОб, имеющего длину до 30 мономеров, но и оПОб, состоящего из 100–200 мономеров. А синтез гомополимера, состоящего более чем из 100 остатков 3-оксимасляной кислоты крайне сложно осуществить с помощью какой-либо неспецифической ферментативной системы, по крайней мере, такое предположение требует приведения веских доказательств реальной возможности подобного синтеза. Кроме того, для других биополимеров, сходных по своей структуре с ПОб — полипренолов и долихолов уже достаточно давно были найдены ферментные системы и подробно расшифрованы биохимические механизмы их синтеза у млекопитающих, хотя все метаболиты этих биохимических процессов также присутствуют как у прокариот, так и у эукариот [128]. Примером может служить также и полифосфат, синтез которого осуществляет один и тот же специфический фермент как у прокариот, так и у эукариот [129]. Практически то же самое можно сказать про все биополимеры прокариот и эукариот: ДНК, РНК, белки, полисахариды и липиды. Мы не можем найти другой пример синтеза столь длинноцепочечных полиэфиров, осуществляемых неспецифическим ферментом или комплексом ферментов при наличии эволюционно более древнего специфического фермента, осуществляющего его синтез у других организмов. Поэтому эта теория не представляется убедительной.

С другой стороны, ярким примером других биополимеров, по химической структуре весьма сходных с ПОб, которые широко используются в природе для осуществления различных целей подобно оПОб и кПОб именно путем конъюгации с белками являются полипренолы (у бактерий, растений и грибов) и долихолы (у бактерий и животных). Полипренилование (ковалентное связывание с полипренолами) играет важнейшую роль в посттрансляционной модификации ряда белков с целью их закрепления в мембране [88]. Все организмы, как эукариоты, так и прокариоты

обладают биохимическими механизмами синтеза этих биополимеров и их конъюгации с белками, идентифицированы также и соответствующие ферменты, что может косвенно свидетельствовать о возможности существования эндогенных путей синтеза ПОБ у млекопитающих. Соответственно есть основания полагать, что функциональность кПОБ и оПОБ у эукариот может быть подобной функциональности полипренолов и долихолов.

А может ли источником ПОБ в организме человека быть его микробиота? Действительно, самым простым объяснением наличия ПОБ в тканях млекопитающих может быть теория его синтеза некоторыми бактериями микробиоты кишечника и всасывание биополимера в кровь через слизистую кишечника с дальнейшим проникновением в другие ткани. Но способен ли такой гидрофобный полимер как ПОБ к всасыванию через слизистую кишечника в кровь и миграции в кровотоке? Кстати, этот вопрос также очень важен для использования медицинских изделий на основе ПОБ для регенеративной хирургии кишечника. Известно, что высокомолекулярный ПОБ в воде нерастворим, но его олигомеры не столь гидрофобны, что позволяет предполагать возможность их всасывания через слизистую кишечника. Так, было показано, что после гидролитического разложения ПОБ и водной экстракции продуктов деградации полимера в воде были обнаружены растворимые олигомеры ПОБ с длиной цепи до 7 остатков 3-ГБ [130]. Однако, позже было показано, что олигомеры ПОБ, состоящие из примерно 25 остатков 3-ГБ, конъюгированные с липолиевой кислотой, также были растворимы в воде [131]. Однако, через слизистую кишечника способны проникать олигомеры ПОБ с длиной цепи менее 5 мономеров [132]. После перорального введения крысам тетрамера ПОБ (эфир 2-кето-бутан-4-ол – КТХ 0204) в дозе 300 мг/кг через 30 мин концентрация в крови 3-ГБ повысилась до более чем 1.0 мМ и оставалась повышенной до 3 ч, после чего вернулась к физиологическим значениям (около 0.1 мМ), что свидетельствовало о быстром и активном всасывании этого короткого олигомера ПОБ в желудочно-кишечном тракте. Короткие олигомеры ПОБ в плазме крови и в гомогенатах тканей быстро расщепляются до 3-гидроксипропаната [132, 133]. Тем не менее, некоторые исследователи предполагают, что кПОБ с 30 остатками 3-ГБ также может всасываться в ЖКТ и проникать в кровоток по тому же механизму, что и холестерин, а циркулируя в крови кПОБ происходит при его связывании с альбумином или в составе липопротеинов низкой плотности, но прямых доказательств этой теории авторы не приводят [134], поэтому достаточно трудно объяснить обнаружение кПОБ, а тем более оПОБ с длиной цепи более 100 мономеров

остатков 3-ГБ лишь возможностью всасывания через слизистую кишечника.

Но как же тогда ПОБ может оказаться в крови и тканях человека? Подсказку можно увидеть в работах исследователей из группы уже упомянутой нами выше профессора Реуш, в которых изучалась роль низкомолекулярного ПОБ в организме млекопитающих и человека [105, 135]. В них приводится целый ряд данных, которые свидетельствуют об участии ПОБ в патологических процессах. Так, на стрептозотоциновой модели диабета у крыс было продемонстрировано повышение концентрации кПОБ от 3 до 8 раз в крови и других органах, вовлеченных в патофизиологию диабета: почках, глазах, седалищном нерве и аорте, что может свидетельствовать об участии кПОБ в патогенезе диабета, причем наблюдается корреляция концентрации кПОБ с атерогенным липидным профилем в плазме крови [105]. Теоретически было высказано также предположение, что повышенная вязкость, вызываемая присутствием кПОБ и его взаимодействием с биополимерами внеклеточного матрикса, может приводить к повышению внутриглазного давления, что, в свою очередь, приводит к глаукоме. Здесь авторы также предполагают, что кПОБ может быть синтезирован неспецифически и его синтез может быть ассоциирован с биосинтезом холестерина, что и обуславливает его роль в патогенезе диабета и глаукомы [135].

Однако здесь прослеживается гораздо более интригующая связь ПОБ с патогенезом диабета и сопутствующими ему заболеваниями, которая не была предположена этими авторами. В настоящее время активно развивается направление по исследованию роли микробиоты кишечника в патогенезе диабета второго типа. Так, показана четкая связь между дисбактериозом и диабетом второго типа. Причем, авторы этих работ, опубликованных в журнале "Nature", продемонстрировали увеличение числа бактерий *Clostridium clostridioforme* в кишечнике при диабете 2 типа [136, 137]. Было показано, что при этом типе диабета у пациентов повышается проницаемость слизистой кишечника и наблюдается транслокация бактерий из просвета кишечника в системный кровоток, то есть в крови больных диабетом людей присутствуют бактерии разных видов. Причем, бактерии, обнаруженные в крови, были идентифицированы как облигатные анаэробы из группы *Clostridium coccoides* и кластера *Atopobium*, а также факультативные анаэробы из *Streptococcus* и *Enterobacteriaceae*. Более того, бактериальная ДНК была обнаружена в системном кровотоке у людей до начала клинических проявлений у них диабета и в большем количестве у тех из них, кто страдал ожирением. Таким образом, явление транслокации может быть использовано в качестве диагностического средства самых начальных

стадий диабета или даже предрасположенности к его развитию [137, 138]. Какое же отношение это явление транслокации кишечных бактерий имеет к ПОБ? Оказывается, самое прямое, если учитывать, что бактерии рода *Clostridium* микробиоты кишечника способны к синтезу запасного высокомолекулярного ПОБ, как было уже показано выше [49]. Другие бактерии микробиоты ЖКТ человека и различных животных также способны к синтезу как высокомолекулярного ПОБ, так и низкомолекулярных кПОБ и оПОБ, что уже было описано в предыдущей части обзора.

Для различных видов анаэробных бактерий микробиоты человека показана способность к транслокации через слизистую кишечника и ротовой полости. Так, другая обладающая ПОБ-синтазой грамотрицательная анаэробная бактерия, *Fusobacterium nucleatum* ротовой полости способна прикрепляться к эпителиальным и эндотелиальным клеткам слизистой рта, а затем и проникать через них при помощи специального белка *FadA*, который связывается с кадгеринном эндотелия сосудов. Интересно, что совместная инкубация *F. nucleatum* с бактериями других видов, например, с *E. coli* увеличивала проницаемость эндотелия для всех бактерий, что объясняет обнаружение этой бактерии при инфекционных процессах, вызываемых другими патогенами. Была также показана возможность транслокации этих бактерий из слизистой ротовой полости в атеросклеротические бляшки коронарных сосудов [139, 140]. У пациентов, перенесших коронарную баллонную ангиопластику, и страдающих одновременно пародонтозом, в атеросклеротических бляшках было обнаружено 27 различных видов (штаммов) бактерий, из которых 11 (из родов *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Fusobacterium*, *Neisseria*, *Sphingomonas*, *Ralstonia*), в том числе 5 из 15 наиболее многочисленных видов обладают ПОА-синтазой и/или способны к синтезу ПОА, что может указывать на значительную роль биосинтеза ПОБ для транслокации бактерий из слизистой в кровь или вообще на большую долю ПОБ-синтезирующих бактерий в микробиоте человека [140]. С помощью методов флуоресцентной гибридизации *in situ* и ПЭМ было показано наличие бактерий различных видов в норме в цитоплазме эпителиальных клеток желчного пузыря здоровых свиней [141] и в цитоплазме эпителиальных клеток альвиол легких здоровых мышей [142]. Все больше появляется доводов в пользу того, что бактерии микробиоты человека могут проникать в сосудистое русло не только при инфекционном процессе, но и у здоровых людей. Методом ПЭМ было показано присутствие бактериальных клеток в крови здоровых людей [143]. Методом полимеразной цепной реакции было установлено наличие рибонормальной РНК бактерий 8 видов в крови здоровых людей [144]. Была обнаружена

транслокация бактерий из кишечника в кровяносное русло также при помощи ПЭМ у здоровых крыс и в лимфу у здоровых собак [145, 146]. Помимо обнаружения бактерий в крови у здоровых людей с предрасположенностью к диабету и страдающих ожирением, такой маркер наличия бактерий как липополисахарид-связывающий белок также был обнаружен и у здоровых пожилых людей (60–89 лет) без клинических проявлений острых или хронических заболеваний), что, как предполагают авторы статьи, связано с их неподвижным образом жизни [147]. Следует отметить, что те исследователи, которые обнаружили бактерии у пациентов с диабетом 2 типа, обнаружили бактерии в небольшом количестве также и у здоровых людей в контрольной группе, и эти бактерии были идентифицированы ими как группа *Clostridium coccoides* и *Streptococcus* [138]. Как было показано японским профессором Тедши с соавт. в публикации в журнале “Nature” еще в 1969 г. подобные микоплазмам L-формы бактерий *Listeria* sp. были найдены в крови здоровых людей. Более того, было продемонстрировано, что их присутствие в крови ассоциировано с атипичным метаболизмом эритроцитов, в частности, с поглощением ими нуклеотидов и аминокислот [148]. Способность бактерий рода *Clostridium* к образованию L-форм была также продемонстрирована [149, 150]. Более того, в последние 2–3 года уже начали появляться статьи, фактически признающие наличие бактерий в крови здоровых людей и даже статьи, где признается наличие микробиоты крови здоровых людей и исследуется ее состав [151, 152]. В вышедшей же в 2017 г. статье проводится биоинформационное исследование состава и филогении бактерий микробиоты крови здоровых людей на основании обширных данных сиквенса 16S рибосомальной РНК в их крови, полученных в ходе выполнения международного проекта Национального института здоровья “Микробиота Человека” (NIH’s Human Microbiome project). Показано, что у здоровых людей в крови имеется 43 вида бактерий из родов: *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Cardiobacterium*, *Psychrobacter*, *Bacteroides* и др. [152].

Научное направление по обнаружению бактерий в различных тканях здоровых людей и выяснение их роли в норме активно развивается в настоящее время, но является настоящим прорывом в медицине, т.к. связано с тяжелейшим преодолением устоявшейся парадигмы, согласно которой присутствие бактерий где-либо в тканях человека обязательно свидетельствует об инфекционном или иного рода патологическом процессе. Несмотря на то, что в России и в мире активно расширяются представления о важнейшей роли микробиоты в нормальной физиологии человека, не только в процессе пищеварения, но и для нормального функционирования иммунной, гумо-

ральной и нервной системы и раскрывается новое видение человека как симбиотического суперорганизма [153]. Сам факт обнаружения бактерий в крови в контрольной группе здоровых пациентов однозначно свидетельствовал бы о некорректном подборе контрольной группы в этом исследовании, что согласно старым представлениям потребовало бы проведение противомикробной терапии пациентов из этой контрольной группы. На 114 конгрессе Американского микробиологического общества в 2014 г. был принят факт наличия бактерий в моче здоровых людей. За этим последовала публикация в престижном журнале *European Urology* [56, 154]. Возможность полного принятия мировым научным сообществом концепции того, что бактерии в моче в каком-то небольшом количестве присутствуют в моче здоровых людей, а не у больных неинфекционными заболеваниями, что уже общепринято [151], не кажется теперь столь невероятным и неприемлемым, как было еще совсем недавно. Огромный вклад в изменение взглядов мировой научной общественности в этом вопросе внес международный проект Национального института здоровья “Микробиота Человека” (NIH’s Human Microbiome project), в ходе выполнения которого были получены обширные данные по исследованию состава микробиоты в самых различных тканях человека в норме [155, 156].

Таким образом, синтез ПОБ, по-видимому, возможен в определенных тканях человека внутри клеток на ПОБ-синтазе с несущей ген этого фермента мРНК бактерий микробиоты человека. Выше были описаны замечательные возможности агробактериальной трансформации растений генами ферментов синтеза ПОБ. В свете этого интересен факт наличия ПОБ-синтазы и, соответственно ее гена у бактерий того самого рода *Agrobacterium*, которые широко используются для получения трансгенных растений, например, у *Agrobacterium tumefaciens* CCNWS0286 (UniProt: B9JEJ2; Protein NCBI: EHH09041.1; ACM26413.1) [157]. И самое поразительное, что *Agrobacterium tumefaciens*, известная также как *Rhizobium radiobacter*, может вызывать инфекции у людей – катетерные инфекции у лиц с ослабленным иммунитетом, в частности, у ВИЧ-инфицированных. *Agrobacterium tumefaciens* поражает протезированные суставы и протезированные клапаны, вызывает сепсис, перитонит и инфекции мочевых путей. Так, описан клинический случай перитонита, вызванного инфицированием этой бактерией при хирургической операции [158, 159]. Это означает, что теоретически эти бактерии могут трансфицировать клетки человека, например, клетки слизистой кишечника помимо генов других бактериальных белков генами синтеза ПОБ. Более того, есть прямые подтверждения агробактериальной трансформации (трансфекции) клеток че-

ловека. В ряде работ была продемонстрирована успешная генетическая трансфекция клеток млекопитающих, в том числе человека (клеточные культуры рака шейки матки *HeLa*, эмбриональные клетки почек человека НЕК 29, феохромоцитомы надпочечников крысы *PC12*, фибробласты мартышки COS-1) при помощи *Agrobacterium tumefaciens* [160–162]. С помощью этой технологии удалось получить трансгенные клетки млекопитающих со встроенными генами различных белков: фосфотрансферазы неомицина и зеленого флуоресцентного белка, а также показана успешная экспрессия этих белков в трансфицированных клетках. Причем, трансфекция клеток млекопитающих осуществлялась по тому же механизму, что и трансфекция растительных клеток. Было показано сходство процесса прикрепления бактерий к мембране клеток млекопитающих с клетками протопластов растений. Кроме того, генетическая конструкция, синтезированная *in vitro* из белков (VirD2 и VirE2), входящих в состав T4SS секреторной системы *Agrobacterium tumefaciens*, была использована для доставки ДНК в ядро клеток млекопитающих (клеточная культура *HeLa*), что также подтвердило трансфекцию клеток млекопитающих по обычному механизму агробактериальной трансформации растений [163, 164]. Для проверки эффективности агробактериальной трансформации клеток млекопитающих в условиях *in vivo* российскими учеными было проведено экспериментальное инфицирование (путем введения бактерий в кровь) мышей бактериями *Agrobacterium tumefaciens*, несущими генетические конструкции для трансфекции мышинных клеток и последующей экспрессии зеленого флуоресцентного белка в тканях животных. Было показано, что, несмотря на успешную трансфекцию клеток млекопитающих *in vitro* (культура эмбриональных клеток печени человека НЕК293), успешная генетическая трансфекция клеток мышей *in vivo* не была реализована ни в одной из тканей животных, хотя та же генетическая конструкция использовалась успешно для трансфекции тканей листьев табака [165]. Успешная агробактериальная трансформация (трансфекция) была показана не только для клеток млекопитающих, но и клеток других животных, например, паукообразных. Так, была продемонстрирована успешная трансфекция *in vitro* клеток клещей *Rhipicephalus microplus* и *Ixodes scapularis* генами фактора слюны *SALP15* и зеленого флуоресцентного белка с помощью *Agrobacterium tumefaciens*. Более того, в отличие от млекопитающих была продемонстрирована успешная агробактериальная трансформация (трансфекция) тканей живых личинок клещей *in vivo* [162].

Однако, *Agrobacterium tumefaciens* далеко не единственный вид бактерий, обладающих секреторной системой IV типа T4SS. Эта система ис-

пользуется симбиотическими и инфекционными бактериями человека различных родов: *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*, *Actinomyces*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Helicobacter*, *Legionella*, *Listeria*, *Escherichia* и др., ее строение, механизмы функционирования, роль и значение для бактерий описаны в ряде обзоров [166, 167]. Показано, что с использованием секреторной системой IV типа T4SS эти бактерии успешно осуществляют перенос своих генов в клетки млекопитающих: клетки слизистой желудка [168, 169], клетки яичника китайского хомячка СНО К1 [170], эндотелиальные клетки человека [171], HeLa, HepG2, COS-1, J774 и перитонеальные макрофаги [172].

Однако в рамках данного обзора нас особенно интересует секреторная система T4SS у тех видов бактерий, которые, с одной стороны, обладают способностью к синтезу ПОБ, а, с другой, являются компонентами микрофлоры человека или являются возбудителями инфекций у человека, то есть, обладают потенциальной способностью к горизонтальному переносу бактериальных генов в клетки различных тканей и органов человека, прежде всего, в клетки эпителия слизистой оболочки ЖКТ. Секреторной системой T4SS обладают бактерии рода *Clostridium*, способные к синтезу зПОБ, среди которых есть как инфекционные виды, так и виды, являющиеся естественным компонентом микробиоты кишечника человека, роль которых уже подробно описана выше [173, 174]. Многими элементами секреторной системы IV типа обладают и бактерии рода *Bacillus*, способные к синтезу ПОБ, которые также являются обычными представителями микробиоты кишечника человека и способны вызывать инфекционные заболевания [175]. Упомянутые выше патогенные бактерии насекомых из рода *Burkholderia*, способные к синтезу ПОБ, также обладают системой T4SS, гомологичной подобной системе *Agrobacterium tumefaciens*, и способны трансфецировать бактериальными генами эукариотические клетки [176]. Но особенно интересна роль секреторной системы IV у инфекционных бактерий *Legionella pneumophila*, вызывающих такое опасное инфекционное заболевание легких, как болезнь легионеров. Эти бактерии являются облигатными внутриклеточными паразитами свободноживущих амёб в водоемах и легочных макрофагов человека. При инфицировании человека *L. pneumophila* размножается внутри нейтрофилов, макрофагов и дендритных клеток. Более того, эти бактерии, активно используя секреторную систему T4SS, вводят в клетку-хозяин более 300 различных бактериальных ферментов и биоактивных факторов [177, 178]. Благодаря наличию секреторной системы T4SS *L. pneumophila* способна, по-видимому, также трансфецировать клетки-хозяева своими генами, т.к. бактерии могут прини-

мать гены хозяина-эукариота, в результате чего многие гены *L. pneumophila* имеют эукариотическое происхождение из-за горизонтального переноса генов [177, 179, 180], хотя прямых подтверждений трансфекции *in vitro* клеток млекопитающих этой бактерий мы не нашли. Между тем, важную роль для выживания этих паразитических бактерий играет их способность к биосинтезу запасного высокомолекулярного ПОБ, который используется ими в качестве источника энергии в стрессовых условиях [181–183]. Было показано, что гены утилизации ПОБ, такие как *bdhA* (фермента 3-гидроксибутират дегидрогеназы) тесно связаны со способностью этих бактерий к репликации внутри амёб и макрофагов легкого, т.е. их инфекционной активностью [184, 185]. Некоторые исследователи предполагают, что гены, необходимые для биосинтеза ПОА — *phaA*, *phaB* и *phaC* активно передавались в процессе эволюции от одних видов инфекционных бактерий и бактерий микробиоты к другим путем горизонтального переноса генов.

Следует отметить, что особенно распространен горизонтальный перенос генов между именно симбиотическими или паразитическими бактериями и их хозяином — многоклеточным животным. Многие исследователи указывают на ведущую роль микробиоты кишечника животных и важнейшую роль секреторной системы IV типа симбиотических и инфекционных бактерий в горизонтальном переносе генов между бактериями и эукариотами в процессе эволюции [178, 180, 186], предполагают, что это явление довольно распространенное и играет важную роль в патогенезе многих заболеваний, например, опухолевых [187]. Яркой иллюстрацией масштаба подобного горизонтального переноса генов между бактерией-паразитом и животным-хозяином является пример переноса почти полного генома внутриклеточного паразита бактерии *Wolbachia* sp. в геном их хозяина — мушки *Drosophila ananassae* [188].

Таким образом, исходя из вышесказанного, доказанные и еще требующие доказательства функции природных ПОА, прежде всего, ПОБ у бактерий микробиоты человека и животных можно суммировать в таблице.

Анализ научной литературы свидетельствует о том, что многие типичные представители микробиоты ЖКТ человека и известные возбудители инфекционных заболеваний человека (в том числе, облигатные внутриклеточные паразиты) одновременно обладают секреторной системой IV типа и ферментами для синтеза ПОБ (таблица), что значительно повышает вероятность генетической трансфекции клеток эпителия кишечника, желудка, ротовой полости, легких и других органов триадой генов *PhaA*, *PhaB*, *PhaC*, необходимых для синтеза ПОБ. Можно даже предполо-

жить, что такая трансфекция происходит направленно локально в какой-либо области слизистой кишечника, например, в слепой кишке или аппендиксе, где и может осуществляться синтез ПОБ в количествах, достаточных для достижения тех концентраций в крови, которые были идентифицированы некоторыми исследователями ранее. Разумеется, это всего лишь предположение, которое еще ждет своего экспериментального подтверждения.

Таким образом, функция ПОБ бактерий микробиоты может далеко не исчерпываться использованием этого биополимера в качестве запасного вещества и источника энергии в стрессовых условиях. Хотя, учитывая сильнейшее воздействие иммунной системы организма животного-хозяина на свои симбиотические и инфекционные бактерии, именно наличие такого эффективного механизма аккумуляции энергии, возможно, дает бактериям синтезирующим ПОА, огромные преимущества для адаптации к стрессовым условиям. Но обнаружение ПОБ уже в тканях и клетках самого животного заставило предположить наличие каких-то других дополнительных функций этого биополимера. В редких работах, например, в замечательном обзоре Мэдисон и Хьюсман [29], посвященном биосинтезу ПОА, вопрос подобных предполагаемых дополнительных функций ПОБ и его сополимеров, в том числе, низкомолекулярного ПОБ, уже выдвигался, как и указывалось на парадоксы, связанные с этим вопросом, но возможная особая роль этого биополимера в симбиотических отношениях бактерий и эукариот не высказывалась. Между тем, показанная во многих исследованиях значительная роль ПОБ для симбиотических отношений бактерий микробиоты с организмом-хозяином и регуляции иммунитета животного может свидетельствовать именно об использовании бактериями этого биополимера в качестве сигнальной молекулы как для коммуникации друг с другом, так и для "общения" с клетками иммунной системы организма-хозяина. Возможно, именно этим объясняется высокая биосовместимость ПОБ как материала биомедицинского материала, преимущественно клеточная его биодegradация в тканях животного и его биоактивность (в некоторых случаях). Ведь этот биополимер является не только естественным продуктом микробиоты человека (т.е. он знаком иммунной системе с самого раннего периода жизни человека), но и может использоваться как биоактивная макромолекула для взаимодействия бактерий с клетками иммунной системы, слизистой кишечника и других тканей, вызывая у них тот или иной физиологический ответ. Обнаружение ПОБ-синтезирующих бактерий в крови и в различных тканях в норме и при различных патологиях, способность их к трансфекции клеток млекопитающих бактери-

альными генами и наличие у этих бактерий секреторной системы IV типа (и других типов) может объяснить не только наличие ПОБ в тканях животных, не обладающих прокариотической ПОА-синтазой, но и могут указывать на сигнальную или регуляторную функцию ПОБ для бактерий микробиоты. Специфическая сложная надмолекулярная структура ПОБ также указывает на эту предположительную функцию биополимера. Таким образом, затронутая нами область науки пока изобилует белыми пятнами и требует обширного и тщательного исследования.

**Применение полиоксидантов для регенеративной хирургии кишечника.** Как было показано выше, ПОБ обладает различными природными свойствами, как запасной или, возможно, регуляторной биополимер у прокариот и эукариот, и играет большую роль у бактерий микробиоты кишечника человека. При этом, возвращаясь к началу обзора, ПОБ, другие природные ПОА и их синтетические аналоги являются полимерами медицинского назначения, которые могут использоваться, в том числе и для регенеративной хирургии кишечника. Есть важные особенности использования биоразлагаемых медицинских изделий для хирургии ЖКТ, если сравнивать с использованием этих биоматериалов в хирургии других органов. Так, при имплантации в стенку кишечника ПОА подвергаются воздействию не только клеток окружающих тканей кишечника, например, макрофагов или гигантских клеток инородного тела (ГКИТ), но и агрессивной среды содержимого кишечника и, что еще важнее, бактерий микробиоты кишечника, хотя бы по причине наличия у множества видов бактерий микробиоты специфических ПОА-деполимераз. Далее мы рассмотрим примеры использования ПОА как материалов для регенеративной хирургии кишечника.

Хронические воспалительные заболевания толстого и тонкого кишечника, такие как язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, неспецифический язвенный колит, ишемический колит, болезнь Крона, а также операционные вмешательства на кишечнике с локальным удалением тканей и их осложнения могут стать причиной образования прободных язв и свищей. При возникновении таких опасных состояний, особенно при наличии бактериального воспаления, проводится общепринятая практика лечения, предполагающая хирургическое устранение отверстия с последующей противобактериальной химиотерапией антибиотиками широкого спектра действия [189]. При возникновении необходимости закрыть дефект желудочно-кишечного тракта в настоящее время на практике часто применяется исторически сложившийся стандартный подход к лечению, заключающийся в ушивании раны с установкой заплаты Грэма из сальника [190, 191].



Однако нередко следствием обширного оперативного вмешательства на тонком кишечнике из-за перечисленных воспалительных заболеваний, врожденных патологий, травматических повреждений, заворота кишок и ишемического некроза возникает такое тяжелое патологическое состояние, как “синдром короткого кишечника”. Уменьшение длины кишечника у взрослых до 100 см приводит к нарушению всасывания питательных веществ и жидкости, к дефициту кальция, магния, цинка, железа, витамина В<sub>12</sub> и жирорастворимых витаминов, что сопровождается диареей, обезвоживанием и прогрессирующим неусвоением питательных веществ. Для лечения синдрома короткого кишечника проводят трансплантацию кишечника, что связано, однако, с многочисленными техническими сложностями, высокой частотой отторжения трансплантата и долгосрочной иммуноподавляющей химиотерапией [192].

ПОБ и его сополимеры, а также их композиты с другими полимерами использовались для разработки заплат и протезов кишечника и пищевода для регенеративной хирургии этих отделов ЖКТ. Показано, что изделия обладали высокой биосовместимостью, подвергались биодеградации и замещению тканями стенки пищевода и кишечника [193, 194]. Разработка биоразлагаемых протезов на основе ПОА для регенеративной хирургии стенки кишечника и, особенно, его слизистой, ведется еще с 90 гг. прошлого века. На ранних этапах развития этого направления были получены трубчатые каркасы с пористой стенкой для прикрепления и роста клеток на них [195–197]. Трубчатые каркасы со стенкой из неплетеного волокна из различных синтетических ПОА: ПМК, ПГК, ПМГК и ПКЛ были имплантировались внутрибрюшинно крысам, исследовали их биодеградацию и биосовместимость. Показано, что каркасы из ПГК и ПМГК обладали наибольшей скоростью биодеградации *in vivo* — до полного рассасывания за 3 месяца. Тканевая реакция на имплантацию изделий из всех этих полимеров характеризовалась в той или иной степени выраженной острой и хронической воспалительной реакции и фиброзом [198]. Для исследования регенеративного потенциала трубчатых каркасов с пористой стенкой изделия имплантировали крысам подкожно, а через 5 нед. в просвет каркасов вносили суспензию тканей слизистой оболочки тонкой кишки, и проводили исследование роста тканей в течение 4 нед. Было показано, что в просвете каркаса на внутренней поверхности его стенки формировалась новообразованная слизистая тонкого кишечника, состоящая из энтероцитов и бокаловидных клеток, образовывались ворсинкоподобные структуры [199–201]. В похожей работе японских исследователей трубчатые каркасы, плетенные из нитей ПГК, использовали для получения тканеинженерной конструкции

путем заполнения их коллагеновым гелем и культивирования на них клеток эпителия пищевода человека. Регенеративный потенциал полученных конструкций был исследован при внутримышечной имплантации. Была показана миграция фибробластов и неоваскуляризация в коллагеновом геле протеза, тогда как имплантированные эпителиальные клетки формировали до 15 клеточных слоев и базальную мембрану [197]. Несмотря на неудачное использование сетчатых эндопротезов, плетеных из ПМГК нитей, для закрытия дефекта стенки пищевода (3 из 5 кроликов умерло в течение первой недели после имплантации из-за перитонита) у оставшихся 2 наблюдали восстановление слизистой оболочки [202]. Однако в другой работе была продемонстрирована успешная трансплантация трубчатого протеза на основе неплетеных матов из ПГК при замещении части пищевода собаки. Для этого протезы были засеяны фибробластами и кераноцитами и помещены в брюшную полость для формирования тканеинженерной конструкции *in situ*. При этом происходило формирование слизистой и мышечной оболочек, которые функционировали и после замещения пищевода, тогда как протез, не засеянный клетками, отторгался [203].

Успешное использование тканеинженерной конструкции на основе сетчатого эндопротеза из ПГК с покрытием из ПМК в качестве заплаты стенки желудка показано на модели дефекта стенки желудка на крысах. Сетчатый эндопротез засеивали эмбриональными эпителиальными клетками и показали срастание заплаты с тканями стенки желудка и формирование на ней слизистой и гладкомышечной оболочек [204]. Отсутствие острой и хронической воспалительной реакции на имплантацию с целью поддержания просвета тонкой кишки крысы было показано для трубчатых каркасов, полученных методом электроспиннинга из композита ПМГК с желатином. Демонстрирован также хороший рост клеток эпителия слизистой кишечника на волокнистых полимерных матриксах [205]. Японскими учеными была разработана тканеинженерная конструкция на основе пористого трубчатого протеза из ПГК, засеянного эмбриональными эпителиальными клетками кишечника. Для анализа регенеративного потенциала конструкции на крысах хирургически был образован анастомоз трубчатого протеза с тощей кишкой крысы [206] и показано формирование слизистой оболочки с ворсинчатым эпителием на полимерном каркасе и его интеграция с тканями стенки кишечника. Пористые матрицы на основе ПМГК сложной микроархитектуры, моделирующей ворсинки слизистой тонкого кишечника, были разработаны для тканевой инженерии слизистой оболочки кишечника, показан активный рост эпителиальных клеток кишечника как коммерческой линии Caco-2, так и выделенных

из слизистой кишечника человека на полученных матриксах. Показано формирование ворсинкоподобных полимерно-клеточных гибридных структур, дифференцировка культивируемых клеток в функциональные клетки слизистой кишечника: энтероциты, бокаловидные клетки и клетки Панета, продемонстрирована продукция слизи [207].

С совершенствованием эндоскопической шовной техники открываются новые возможности применения разработок, сделанных в области тканевой инженерии, для восстановления тканей желудочно-кишечного тракта, которые уже показали хороший результат и зарекомендовали себя как безопасные и надежные. Так, Такешита с соавт. для закрытия дефекта стенки кишечника успешно использовали биоинженерный материал, представляющий собой культуру фибробластов на матрице из ПКЛ, полученной методом трехмерной печати [208]. Черна с соавт. опубликовали отчет о нескольких удачно проведенных операциях, в которых были использованы частично биодеградируемые стенты из поли- $\pi$ -диоксанона и полиуретана для закрытия утечек анастомозов ободочной кишки и экранирования раны от содержимого кишечника, а также у пациентов с прободением пищевода [209]. Положительный результат у 87% пациентов с дефектами желудочно-кишечного тракта был получен при комбинировании в ходе операции фибринового клея и викариловой заплаты на основе ПМГК [210]. Таким образом, происходит активное внедрение биоматериалов из ПОА и тканеинженерных конструкций на их основе в области регенеративной хирургии ЖКТ. Причем, ПОБ и его сополимеры обладают некоторыми преимуществами как биоматериалы для регенеративной хирургии ЖКТ не только из-за большей устойчивости к агрессивной среде содержимого кишечника, но, прежде всего, как полимеры, получаемые путем микробиологического биосинтеза, который позволяет синтезировать полимеры заданного химического состава и контролировать их физико-химические свойства [73, 211].

Однако, далеко не всегда при использовании ПОА для восстановления тканей кишечника учитывается возможное воздействие бактерий микробиоты кишечника на эти полимерные изделия, равно как и, напротив, влияние полимерного материала этих изделий на симбиотические бактерии. Таким образом, при разработке медицинских изделий не только на основе ПОБ и других природных ПОА, но и их биомиметических аналогов — синтетических ПОА, особенно изделий на основе этих полимеров для хирургии кишечника, следует учитывать ту природную роль и функции, которые ПОБ выполняет у бактерий микробиоты кишечника человека.

Работа была проведена при финансовой поддержке гранта Российского Научного Фонда № 17-74-20104 от 01 августа 2017 г. во всех разделах, за исключением раздела “Микробиота и эндогенный поли-3-оксибутират в тканях эукариот”, который был выполнен в рамках гос. задания, № гос. регистрации 01201351358.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mokhtarzadeh A., Alibakhshi A., Hejazi M., Omidi Y., Dolatabadi J.E.N. // Trends in Analytical Chemistry. 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. Chen G.Q., Zhang J. // Artif. Cells. Nanomed. Biotechnol. 2018. V. 46. № 1. P. 1–18.
4. Бонарцев А.П., Бонарцева Г.А., Шаһтан К.В., Курпичников М.П. // Биомедицинская химия. 2011. Т. 57. № 4. С. 374–391.
5. Farah S., Anderson D.G., Langer R. // Adv. Drug Deliv. Rev. 2016. V. 107. P. 367–392.
6. Ribeiro-Samy S., Silva N.A., Correló V.M., Fraga J.S., Pinto L., Teixeira-Castro A., Leite-Almeida H., Almeida A., Gimble J.M., Sousa N., Salgado A.J., Reis R.L. // Macromol. Biosci. 2013. V. 13. № 11. P. 1576–1592.
7. Gredes T., Gedrange T., Hinüber C., Gelinsky M., Kurnert-Keil C. // Ann. Anat. 2015. V. 199. P. 36–42.
8. Biazar E., Heidari Keshel S. // ASAIJ. 2015. V. 61. P. 357–365.
9. Bonartsev A.P., Zharkova I.I., Yakovlev S.G., Myshkina V.L., Makhina T.K., Zernov A.L., Kudryashova K.S., Feofanov A.V., Akulina E.A., Ivanova E.V., Zhuikov V.A., Volkov A.V., Andreeva N.V., Voinova V.V., Bonartseva G.A., Shaitan K.V., Kirpichnikov M.P. // J. Biomater. Tissue Eng. 2016. V. 6. № 1. P. 42–52.
10. Shumilova A.A., Myltygashev M.P., Kirichenko A.K., Nikolaeva E.D., Volova T.G., Shishatskaya E.I. // J. Biomed. Mater. Res. A. 2017. V. 105. № 2. P. 566–577.
11. Douglas T.E., Krawczyk G., Pamula E., Declercq H.A., Schaubroeck D., Bucko M.M., Balcaen L., Van Der Voort P., Bliznuk V., van den Vreken N.M., Dash M., Detsch R., Boccaccini A.R., Vanhaecke F., Cornelissen M., Dubruel P. // J. Tissue Eng. Regen. Med. 2016. V. 10. № 11. P. 938–954.
12. Raucci M.G., Alvarez-Perez M.A., Demitri C., Sannino A., Ambrosio L. // J. Appl. Biomater. Funct. Mater. 2012. V. 10. P. 302–307.
13. Kuan S.L., Wang T., Weil T. // Chemistry. 2016. V. 22. № 48. P. 17112–17129.
14. Moisenovich M.M., Malyuchenko N.V., Arkhipova A.Y., Kotlyarova M.S., Davydova L.I., Goncharenko A.V., Agapova O.I., Drutskaya M.S., Bogush V.G., Agapov I.I., Debabov V.G., Kirpichnikov M.P. // Dokl. Biochem. Biophys. 2015. V. 463. P. 232–235.
15. Kasparikova V., Humpolicek P., Capakova Z., Bober P., Stejskal J., Trchova M., Rejmontova P., Junkar I., Lehocky M., Mozetic M. // Colloids Surfaces B Biointerfaces. 2017. V. 157. P. 309–316.

16. *Ulasov A.V., Khrantsov Y.V., Trusov G.A., Rosenkranz A.A., Sverdlov E.D., Sobolev A.S.* // *Molecular Therapy*. 2011. V. 19. № 1. P. 103–112.
17. *Liu Y., Wu Y., Bian D., Gao S., Leeflang S., Guo H., Zheng Y., Zhou J.* // *Acta Biomater.* 2017. V. 62. P. 418–433.
18. *Bonartsev A.P., Boskhomodgiev A.P., Iordanskii A.L., Bonartseva G.A., Rebrov A.V., Makhina T.K., Myshkina V.L., Yakovlev S.A., Filatova E.A., Ivanov E.A., Bagrov D.V., Zaikov G.E.* // *Molecular Crystals and Liquid Crystals*. 2012. V. 556. № 1. P. 288–300.
19. Патент США. 1965. № 3229766.
20. *Malm T., Bowald S., Karacagil S., Bylock A., Busch C.* // *Scand. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1992. V. 26. № 1. P. 9–14.
21. *Malm T., Bowald S., Bylock A., Busch C., Saldeen T.* // *European Surgical Research*. 1994. V. 26. P. 298–308.
22. *Shishatskaya E.I., Volova T.G., Gordeev S.A., Puzyr A.P.* // *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2005. V. 16. № 5. P. 643–657.
23. *Castellano D., Blanes M., Marco B., Cerrada I., Ruiz-Sauri A., Pelacho B., Arana M., Montero J.A., Cambra V., Prosper F., Sepulveda P.* // *Stem. Cells Dev.* 2014. V. 23. № 13. P. 1479–1490.
24. *Giavaresi G., Tschon M., Daly J.H., Liggat J.J., Sutherland D.S., Agheli H., Fini M., Torricelli P., Giardino R.* // *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2006. V. 17. № 12. P. 1405–1423.
25. *Solheim E., Sudmann B., Bang G., Sudmann E.* // *J. Biomed. Mater. Res.* 2000. P. 49. № 2. P. 257–263.
26. *Ceozzo K., Gaynor A., Shaffer L., Kojima K., Vacanti C.A., Stahl G.L.* // *Tissue Eng.* 2006. V. 12. № 2. P. 301–308.
27. *Kim M.S., Ahn H.H., Shin Y.N., Cho M.H., Khang G., Lee H.B.* // *Biomaterials*. 2007. V. 28. № 34. P. 5137–5143.
28. *Stevanovic M., Pavlovic V., Petkovic J.* // *Express Polymer Letters*. 2011. V. 5. № 11. P. 996–1008.
29. *Madison L.L., Huisman G.W.* // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1999. V. 63. № 1. P. 21–53.
30. *Reusch R.N.* // *Biopolymers*. V. 3A. Eds. Doi Y. and Steinbuechel A. Wiley VCH, Weinheim, Germany, 2001. P. 123–172.
31. *Holmes P.A.* // *Developments in crystalline polymers*. Ed. *Bassett D.C.* V. 2. London: Elsevier. 1998. P. 1–65.
32. *Bloembergen S., Holden D.A., Hamer G.K., Bluhm T.L., Marchessault R.H.* // *Macromolecules*. 1986. V. 19. № 11. P. 2865–2871.
33. *Barcham P.J.* // *Novel Biosynthetic Biodegradable Polymers of Industrial Interest from Microorganisms*. /Ed. E.A. Dawes Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1990. P. 81–96.
34. *Akhtar S., Pouton C.W., Notarianni L.J.* // *Polymer*. 1992. V. 33. № 1. P. 117–126.
35. *Jendrossek D., Pfeiffer D.* // *Environ. Microbiol.* 2014. V. 16. № 8. P. 2357–2373.
36. *Brandl H., Gross R.A., Lenz R.W., Fuller R.C.* // *Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology*. /Eds. Ghose T.K., Fiechter A.V. 41. Berlin: Springer, 1990. P. 77–93.
37. *Anderson A.J., Dawes E.A.* // *Microbiol. Rev.* 1990. V. 54. № 4. P. 450–472.
38. *Steinbuechel A.* // *Polyhydroxyalkanoic Acids. Biomaterials*. / Ed. D. Byrom. Basingstoke: MacMillan, 1991. P. 125–213.
39. *Steinbuechel A., Aerts K., Babel W., Follner C., Liebergesell M., Madkour M.H., Mayer F., Pieper-Furst U., Pries A., Valentin H.E., Wieczorek R.* // *Can. J. Microbiol.* 1995. V. 41. Suppl. 1. P. 94–105.
40. *Dawes E.A., Senior P.J.* // *Adv. Microb. Physiol.* 1973. V. 10. P. 135–266.
41. *Rehm B.H.* // *Biochem. J.* 2003. V. 376(Pt 1). P. 15–33.
42. *El Rabey H.A., Albureikan M.O., Aly M.M., Kabli S.A., Schneider K., Nolke G.* // *J. Invest. Genomics*. 2017. V. 4. № 1. P. 00056.
43. *Nojiri M., Saito T.* // *J. Bacteriol.* 1997. V. 179. P. 6965–6970.
44. *Jendrossek D., Handrick R.* // *Ann. Rev. Microbiol.* 2002. V. 56. P. 403–432.
45. *Queipo-Ortuño M.I., Seoane L.M., Murri M., Pardo M., Gomez-Zumaquero J.M., Cardona F., Casanueva F., Tinahones F.J.* // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 5. P. e65465.
46. *Marques C., Meireles M., Norberto S., Leite J., Freitas J., Pestana D., Faria A., Calhau C.* // *Adipocyte*. 2015. V. 5. № 1. P. 11–21.
47. *Woting A., Blaut M.* // *Nutrients*. 2016. V. 8. № 4. P. 202.
48. *Heo J., Seo M., Park H., Lee W.K., Guan L.L., Yoon J., Caetano-Anolles K., Ahn H., Kim S.Y., Kang Y.M., Cho S., Kim H.* // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 33566.
49. *Emeruwa A.C., Hawirko R.Z.* // *J. Bacteriol.* 1973. V. 116. № 2. P. 989–993.
50. *Liu S.J., Steinbüchel A.* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2000. V. 53. № 5. P. 545–552.
51. *Saika A., Watanabe Y., Sudesh K., Tsuge T.* // *J. Biosci. Bioeng.* 2014. V. 117. № 6. P. 670–675.
52. *Lee Y.K.* // *Biosci. Microbiota Food Health*. 2013. V. 32. № 1. P. 1–12.
53. *Baxter N.T., Zackular J.P., Chen G.Y., Schloss P.D.* // *Microbiome*. 2014. V. 2. P. 20.
54. *Gaboriau-Routhiau V., Rakotobe S., Lécuyer E., Mulder I., Lan A., Bridonneau C., Rochet V., Pisi A., De Paepe M., Brandt G., Eberl G., Snel J., Kelly D., Cerf-Bensussan N.* // *Immunity*. 2009. V. 31. № 4. P. 677–689.
55. *Barnes M.J., Powrie F.* // *Science*. 2011. V. 331. № 6015. P. 289–290.
56. *Yilmaz M., Soran H., Beyatli Y.* // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2005. V. 21. P. 565–566.
57. *Kaynar P., Beyatli Y.* // *Fisheries Science*. 2009. V. 75. № 2. P. 439–443.
58. *Kim D.Y., Park D.S., Kwon S.B., Chung M.G., Bae K.S., Park H.Y., Rhee Y.H.* // *J. Microbiol.* 2009. V. 47. № 5. P. 651–656.
59. *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., Dohmae N., Fukatsu T., Lee B.L.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013. V. 110. № 26. P. E2381–E2389.

60. *Brigham C.J., Zhila N., Shishatskaya E., Volova T.G., Sinskey A.J.* // *Subcell. Biochem.* 2012. V. 64. P. 343–366.
61. *Stelzmueller I., Biebl M., Wiesmayr S., Eller M., Hoeller E., Fille M., Weiss G., Lass-Floerl C., Bonatti H.* // *Clin. Microbiol. Infect.* 2006. V. 12. № 2. P. 99–101.
62. *Kyriakidis D.A., Theodorou M.C., Filippou P.S., Kyriakidis K.D., Tiligada E.* // *Amino Acids.* 2008. V. 35. № 1. P. 45–52.
63. *Kyriakidis D.A., Tiligada E.* // *Amino Acids.* 2009. V. 37. № 3. P. 443–458.
64. *Lee J.W., Parlane N.A., Rehm B.H., Buddle B.M., Heiser A.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2017. V. 83. № 5. P. e02289-16.
65. *Moita R., Freches A., Lemos P.C.* // *Water Res.* 2014. V. 58. P. 9–20.
66. *Ozdemir S., Akman D., Cirik K., Cinar O.* // *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2014. V. 172. № 5. P. 2390–2399.
67. *Miao L., Wang S., Li B., Cao T., Xue T., Peng Y.* // *Bioresour. Technol.* 2015. V. 192. P. 354–360.
68. *Quillaguaman J., Guzmán H., Van-Thuoc D., Hattikaul R.* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2010, V. 85. № 6. P. 1687–1696.
69. *Valentine D.L.* // *Nat. Rev. Microbiol.* 2007. V. 5. № 4. P. 316–323.
70. *Obruca S., Sedlacek P., Krzyzanek V., Mravec F., Hrubanova K., Samek O., Kucera D., Benesova P., Marova I.* // *PLoS One.* 2016. V. 11. № 6. P. e0157778.
71. *Tribelli P.M., Lopez N.I.* // *Extremophiles.* 2011. V. 15. № 5. P. 541–547.
72. *Kadouri D., Jurkevitch E., Okon Y.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2003. V. 69. № 6. P. 3244–3250.
73. *Pena C., Castillo T., García A., Millan M., Segura D.* // *Microb. Biotechnol.* 2014. V. 7. № 4. P. 278–293.
74. *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.
75. *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.
76. *Defoirdt T., Boon N., Sorgeloos P., Verstraete W., Bossier P.* // *Biotechnol. Adv.* 2009. V. 27. № 6. P. 680–685.
77. Патент США. 2013. № 8603518.
78. *De Schryver P., Sinha A.K., Kunwar P.S., Baruah K., Verstraete W., Boon N., De Boeck G., Bossier P.* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2010. V. 86. № 5. P. 1535–1541.
79. *Najdegerami E.H., Baruah K., Shiri A., Rekecki A., Van den Broeck W., Sorgeloos P., Boon N., Bossier P., De Schryver P.* // *Aquaculture Research.* 2013. V. 46. № 4. P. 801–812.
80. *Forni D., Bee G., Kreuzer M., Wenk C.* // *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 1999. V. 81. P. 41–50.
81. *Forni D., Wenk C., Bee G.* // *Ann. Zootech.* 1999. V. 48. P. 163–171.
82. *Kim D.Y., Ham S.J., Lee H.J., Kim Y.J., Shin D.H., Rhee Y.H., Son K.H., Park H.Y.* // *Enzyme Microb. Technol.* 2011. V. 48. № 4–5. P. 365–370.
83. *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.
84. *Reusch R.N.* // *Biochemistry.* 1999. V. 38. № 47. P. 15666–15672.
85. *Zakharian E., Reusch R.N.* // *Biophys. J.* 2007. V. 92. № 2. P. 588–593.
86. *Werner D., Morschel E., Stripf R., Winchenbach B.* // *Planta.* 1980. V. 147. № 4. P. 320–329.
87. *Мишустин Е.Н., Громыко Е.П.* // *Изв. АН СССР. Сер. биол.* 1976. Т. 5. С. 637–648.
88. *Nelson D.L., Cox M.M.* / *Lehninger Principles of Biochemistry, 5th Edition.* New-York: W.H. Freeman and Company, 2008. 1158 p.
89. *Natera S.H., Guerreiro N., Djordjevic M.A.* // *Mol. Plant. Microbe Interact.* 2000. V. 13. № 9. P. 995–1009.
90. *Li Y., Tian C.F., Chen W.F., Wang L., Sui X.H., Chen W.X.* // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 8. P. e70531.
91. *Kim S.A., Copeland L.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 1996. V. 62. № 11. P. 4186–4190.
92. *Wang C., Saldanha M., Sheng X., Shelswell K.J., Walsh K.T., Sobral B.W., Charles T.C.* // *Microbiology.* 2007. V. 153(Pt2). P. 388–398.
93. *Giles K.L., Whitehead H.* // *Science.* 1976. V. 193. № 4258. P. 1125–1126.
94. *Qadri R., Mahmood A., Athar M.* // *Pol. J. Microbiol.* 2007. V. 56. № 3. P. 199–204.
95. *Quelas J.I., Mesa S., Mongiardini E.J., Jendrossek D., Lodeiro A.R.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2016. V. 82. № 14. P. 4299–4308.
96. *Ratcliff W.C., Kadam S.V.* // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2008. V. 65. № 3. P. 391–399.
97. *Libault M., Govindarajulu M., Berg R.H., Ong Y.T., Puricelli K., Taylor C.G., Xu D., Stacey G.* // *Mol. Plant. Microbe Interact.* 2011. V. 24. № 9. P. 1051–1060.
98. *Kiers E.T., Rousseau R.A., West S.A., Denison R.F.* // *Nature.* 2003. V. 425. P. 78–81.
99. *Ratcliff W.C., Denison R.F.* // *ISME J.* 2009. V. 3. № 7. P. 870–872.
100. *Reusch R.N., Hiske T.W., Sadoff H.L.* // *J. Bacteriol.* 1986. V. 168. № 2. P. 553–562.
101. *Reusch R.N.* // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1989. V. 191. № 4. P. 377–381.
102. *Reusch R.N., Sparrow A.W., Gardiner J.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1992. V. 1123. № 1. P. 33–40.
103. *Seebach D., Brunner A., Bürger H.M., Schneider J., Reusch R.N.* // *Eur. J. Biochem.* 1994. V. 224. № 2. P. 317–328.
104. *Pavlov E., Zakharian E., Bladen C., Diao C.T., Grimbley C., Reusch R.N., French R.J.* // *Biophys. J.* 2005. V. 88. № 4. P. 2614–2625.
105. *Reusch R.N., Bryant E.M., Henry D.N.* // *Acta Diabetol.* 2003. V. 40. № 2. P. 91–94.

106. Wiggam M.I., O'Kane M.J., Harper R., Atkinson A.B., Hadden D.R., Trimble E.R., Bell P.M. // *Diabetes Care*. 1997. V. 20. P. 1347–1352.
107. Larsen T., Nielsen N.I. // *J. Dairy Sci.* 2005. V. 88. № 6. P. 2004–2009.
108. Tsuda H., Shiraki M., Inoue E., Saito T. // *J. Plant. Physiol.* 2016. V. 201. P. 9–16.
109. Suzuki Y., Esumi Y., Koshino H., Doi Y. // *Macromol. Biosci.* 2005. V. 5. № 9. P. 853–862.
110. Wrobel M., Zebrowski J., Szopa J. // *J. Biotechnol.* 2004. V. 107. № 1. P. 41–54.
111. Hahn J.J., Eschenlauer A.C., Sleytr U.B., Somers D.A., Srienc F. // *Biotechnol. Prog.* 1999. V. 15. № 6. P. 1053–1057.
112. Tilbrook K., Gebbie L., Schenk P.M., Poirier Y., Brumbley S.M. // *Plant Biotechnol. J.* 2011. V. 9. № 9. P. 958–969.
113. Snell K.D., Singh V., Brumbley S.M. // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2015. V. 32. P. 68–75.
114. Wrobel-Kwiatkowska M., Skorkowska-Telichowska K., Dyminska L., Maczka M., Hanuza J., Szopa J. // *Biotechnol. Prog.* 2009. V. 25. № 5. P. 1489–1498.
115. Шестаков С.В. // *Экологическая генетика*. 2007. Т. 5. № 2. С. 12–24.
116. Шестаков С.В. // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2009. Т. 13. № 2. С. 345–354.
117. Zakharian E., Thyagarajan B., French R.J., Pavlov E., Rohacs T. // *PLoS One*. 2009. V. 4. № 4. P. e5404.
118. Cao C., Yudin Y., Bikard Y., Chen W., Liu T., Li H., Jendrossek D., Cohen A., Pavlov E., Rohacs T., Zakharian E. // *Cell Rep.* 2013. V. 4. № 2. P. 302–315.
119. Handrick R., Reinhardt S., Focarete M.L., Scandola M., Adamus G., Kowalczyk M., Jendrossek D. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. № 39. P. 36215–36224.
120. Huang R., Reusch R.N. // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. № 36. P. 196–202.
121. Reusch R.N. // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. V. 14. № 6. P. 10727–10748.
122. Asuthkar S., Velpula K.K., Elustondo P.A., Demirkhanyan L., Zakharian E. // *Oncotarget*. 2015. V. 6. № 19. P. 17221–17236.
123. Gray M.W. // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2012. V. 4. № 9. P. a011403.
124. Elustondo P.A., Angelova P.R., Kawalec M., Michalak M., Kurcok P., Abramov A.Y., Pavlov E.V. // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 9. P. e75812.
125. Smithen M., Elustondo P.A., Winkfein R., Zakharian E., Abramov A.Y., Pavlov E. // *Cell Calcium*. 2013. V. 54. № 2. P. 86–94.
126. 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.
127. Reusch R.N., Huang R., Kosk-Kosicka D. // *FEBS Lett.* 1997. V. 412. № 3. P. 592–596.
128. Rip J.W., Rupar C.A., Ravi K., Carroll K.K. // *Prog. Lipid. Res.* 1985. V. 24. № 4. P. 269–309.
129. Jimenez J., Bru S., Ribeiro M.P., Clotet J. // *Curr. Genet.* 2017. V. 63. № 1. P. 15–18.
130. Athlan A., Braud C., Vert M. // *J. Polym. Environ.* 1997. V. 5. № 4. P. 243–247.
131. Maksymiak M., Debowska R., Jelonek K., Kowalczyk M., Adamus G. // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2013. V. 27. P. 773–783.
132. Патент США. 2001. № 6316038.
133. Патент США. 2009. № 7485743.
134. Dedkova E.N., Blatter L.A. // *Front. Physiol.* 2014. V. 5. P. 260.
135. Norris V., Bresson-Dumont H., Gardea E., Reusch R.N., Gruber D. // *Med. Hypotheses*. 2009. V. 73. № 3. P. 398–401.
136. Karlsson F., Tremaroli V., Nookaew I., Bergstrom G., Behre C., Fagerberg B., Nielsen J., Backhed F. // *Nature*. 2013. V. 498. P. 99–103.
137. Morris G., Berk M., Carvalho A., Caso J.R., Sanz Y., Walder K., Maes M. // *Mol. Neurobiol.* 2017. V. 54. № 6. P. 4432–4451.
138. Sato J., Kanazawa A., Ikeda F., Yoshihara T., Goto H., Abe H., Komiya K., Kawaguchi M., Shimizu T., Ogihara T., Tamura Y., Sakurai Y., Yamamoto R., Mita T., Fujitani Y., Fukuda H., Nomoto K., Takahashi T., Asahara T., Hirose T., Nagata S., Yamashiro Y., Watada H. // *Diabetes Care*. 2014. V. 37. № 8. P. 2343–2350.
139. Fardini Y., Wang X., Témoin S., Nithianantham S., Lee D., Shoham M., Han Y.W. // *Mol. Microbiol.* 2011. V. 82. № 6. P. 1468–1480.
140. Serra e Silva Filho W., Casarin R.C., Nicoleta E.L.Jr., Passos H.M., Sallum A.W., Gonçalves R.B. // *PLoS One*. 2014. V. 9. № 10. P. e109761.
141. Jimenez E., Sanchez B., Farina A., Margolles A., Rodriguez J.M. // *Microbiologyopen*. 2014. V. 3. № 6. P. 937–949.
142. Yun Y., Srinivas G., Kuenzel S., Linnenbrink M., Alnahas S., Bruce K.D., Steinhoff U., Baines J.F., Schai-ble U.E. // *PLoS One*. 2014. V. 9. № 12. P. e113466.
143. McLaughlin R.W., Vali H., Lau P.C., Palfree R.G., De Ciccio A., Sirois M., Ahmad D., Villemur R., Desrosiers M., Chan E.C. // *J. Clin. Microbiol.* 2002. V. 40. № 12. P. 4771–4775.
144. Nikkari S., McLaughlin I.J., Bi W., Dodge D.E., Relman D.A. // *J. Clin. Microbiol.* 2001. V. 39. № 5. P. 1956–1959.
145. Nikitenko V.I., Stadnikov A.A., Kopylov V.A. // *J. Wound Care*. 2011. V. 20. № 3. P. 114–122.
146. Dahlinger J., Marks S.L., Hirsh D.C. // *J. Vet. Intern. Med.* 1997. V. 11. № 6. P. 319–322.
147. Stehle J.R.Jr., Leng X., Kitzman D.W., Nicklas B.J., Kritchevsky S.B., High K.P. // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2012. V. 67. № 11. P. 1212–1218.
148. Tedeschi G.G., Amici D., Paparelli M. // *Nature*. 1969. V. 222. № 5200. P. 1285–1286.
149. Mahony D.E. // *Infect. Immun.* 1977. V. 15. № 1. P. 19–25.
150. Mearls E.B., Izquierdo J.A., Lynd L.R. // *BMC Microbiol.* 2012. V. 12. P. 180.
151. Potgieter M., Bester J., Kell D.B., Pretorius E. // *FEMS Microbiol. Rev.* 2015. V. 39. № 4. P. 567–591.

152. *Bhattacharyya M., Ghosh T., Shankar S., Tomar N.* // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2017. V. 109. P. 404–408.
153. *Шестакоев С.В.* // *Успехи современной биологии.* 2010. Т. 130. № 6. С. 531–543.
154. *Wolfe A.J., Brubaker L.* // *Eur. Urol.* 2015. V. 68. № 2. P. 173–174.
155. *Koren O., Knights D., Gonzalez A., Waldron L., Segata N., Knight R., Huttenhower C., Ley R.E.* // *PLoS Comput. Biol.* 2013. V. 9. P. e1002863.
156. *Ding T., Schloss P.D.* // *Nature.* 2014. V. 509. P. 357–360.
157. *Hao X., Xie P., Johnstone L., Miller S.J., Rensing C., Wei G.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2012. V. 78. № 15. P. 5384–5394.
158. *Chao C.M., Tsai T.C., Lai C.C.* // *Surg. Infect. (Larchmt).* 2014. V. 15. № 2. P. 141–143.
159. *Badrising S., Bakker L., Lobatto S., van Es A.* // *Perit. Dial. Int.* 2014. V. 34. № 7. P. 813–815.
160. *Kunik T., Tzfira T., Kapulnik Y., Gafni Y., Dingwall C., Citovsky V.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001. V. 98. № 4. P. 1871–1876.
161. *Tzfira T., Kunik T., Gafni Y., Citovsky V.* // *Methods in Molecular Biology (Agrobacterium Protocols Volume 2)*, Ed.: *Walker J.M.* New-York: Springer, 2006. V. 344. P. 435–451.
162. *Machado-Ferreira E., Balsemão-Pires E., Dietrich G., Hojgaard A., Vizzone V.F., Scoles G., Bell-Sakyi L., Piesman J., Zeidner N.S., Soares C.A.* // *Exp. Appl. Acarol.* 2015. V. 67. № 2. P. 269–287.
163. *Ziemiencowicz A., Gorlich D., Lanka E., Hohn B., Rossi L.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. V. 96. № 7. P. 3729–3733.
164. *Pelczar P., Kalck V., Gomez D., Hohn B.* // *EMBO Rep.* 2004. V. 5. № 6. P. 632–637.
165. *Petrunia I.V., Frolova O.Y., Komarova T.V., Kiselev S.L., Citovsky V., Dorokhov Y.L.* // *PLoS One.* 2008. V. 3. № 6. P. e2352.
166. *Bhatty M., Laverde Gomez J.A., Christie P.J.* // *Res. Microbiol.* 2013. V. 164. № 6. P. 620–639.
167. *Goessweiner-Mohr N., Arends K., Keller W., Grohmann E.* // *Plasmid.* 2013. V. 70. № 3. P. 289–302.
168. *Busler V.J., Torres V.J., McClain M.S., Tirado O., Friedman D.B., Cover T.L.* // *J. Bacteriol.* 2006. V. 188. № 13. P. 4787–4800.
169. *Wang X., Ling F., Wang H., Yu M., Zhu H., Chen C., Qian J., Liu C., Zhang Y., Shao S.* // *Curr. Microbiol.* 2016. V. 73. № 1. P. 22–30.
170. *Waters V.L.* // *Nat. Genet.* 2001. V. 29. № 4. P. 375–376.
171. *Schroder G., Schuelein R., Quebatte M., Dehio C.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. V. 108. P. 14643e8.
172. *Grillot-Courvalin C., Goussard S., Courvalin P.* // *Cell Microbiol.* 2002. V. 4. P. 177e86.
173. *Marathe N.P., Shetty S.A., Lanjekar V.B., Rasane M.H., Ranade D.R., Shouche Y.S.* // *Gut. Pathog.* 2014. V. 6. P. 30.
174. *Zhang W., Cheng Y., Du P., Zhang Y., Jia H., Li X., Wang J., Han N., Qiang Y., Chen C., Lu J.* // *Genome.* 2017. V. 60. № 1. P. 8–16.
175. *Leonetti C.T., Hamada M.A., Laurer S.J., Broulidakis M.P., Swerdlow K.J., Lee C.A., Grossman A.D., Berkmen M.B.* // *J. Bacteriol.* 2015. V. 197. № 15. P. 2558–2567.
176. *Zhang R., LiPuma J.J., Gonzalez C.F.* // *Microbiology.* 2009. V. 155. P. 4005–4013.
177. *So E.C., Mattheis C., Tate E.W., Frankel G., Schroeder G.N.* // *Can. J. Microbiol.* 2015. V. 61. № 9. P. 617–635.
178. *Copenhaver A.M., Casson C.N., Nguyen H.T., Fung T.C., Duda M.M., Roy C.R., Shin S.* // *Infect. Immun.* 2014. V. 82. № 10. P. 4325–4336.
179. *Richards A.M., Von Dwingelo J.E., Price C.T., Abu Kwaik Y.* // *Virulence.* 2013. V. 4. № 4. P. 307–314.
180. *Suzuki K., Moriguchi K., Yamamoto S.* // *Res. Microbiol.* 2015. V. 166. № 10. P. 753–763.
181. *James B.W., Mauchline W.S., Dennis P.J., Keevil C.W., Wait R.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 1999. V. 65. № 2. P. 822–827.
182. *Hayashi T., Nakamichi M., Naitou H., Ohashi N., Imai Y., Miyake M.* // *PLoS One.* 2010. V. 5. № 7. P. e11718.
183. *Guglielmetti S., Balzaretto S., Taverniti V., Miriani M., Milani C., Scarafoni A., Corona S., Ciranna A., Arioli S., Santala V., Iametti S., Bonomi F., Ventura M., Mora D., Karp M.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2014. V. 80. № 17. P. 5161–5169.
184. *Aurass P., Pless B., Rydzewski K., Holland G., Bannert N., Fliieger A.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2009. V. 75. № 13. P. 4506–4515.
185. *Scaturro M., Barello C., Giusti M.D., Fontana S., Pinci F., Giuffrida M.G., Ricci M.L.* // *APMIS.* 2015. V. 123. № 4. P. 330–341.
186. *Kalia V.C., Lal S., Cheema S.* // *Gene.* 2007. V. 389. № 1. P. 19–26.
187. *Lacroix B., Citovsky V.* // *MBio.* 2016. V. 7. № 4. P. e00863–16.
188. *Dunning Hotopp J.C., Clark M.E., Oliveira D.C., Foster J.M., Fischer P., Munoz Torres M.C., Giebel J.D., Kumar N., Ishmael N., Wang S., Ingram J., Nene R.V., Shepard J., Tomkins J., Richards S., Spiro D.J., Ghedin E., Slatko B.E., Tettelin H., Werren J.H.* // *Science.* 2007. V. 317. № 5845. P. 1753–1756.
189. *Solomkin J.S., Mazuski J.E., Bradley J.S., Rodvold K.A., Goldstein E.J., Baron E.J., O'Neill P.J., Chow A.W., Dellinger E.P., Echempati S.R., Gorbach S., Hilfiker M., May A.K., Nathens A.B., Sawyer R.G., Bartlett J.G.* // *Surg. Infect. (Larchmt).* 2010. P. 11. № 1. P. 79–109.
190. *Bertleff M.J.O.E., Lange J.F.* // *Dig. Surg.* 2010. V. 27. № 3. P. 161–169.
191. *Prabhu V., Shivani A.* // *Ann. Med. Health Sci. Res.* 2014. V. 4. № 1. P. 22–29.
192. *Warner B.W.* // *Ann. Surg.* 2004. V. 240. № 5. P. 755–756.
193. *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.

194. Fan M.R., Gong M., Da L.C., Bai L., Li X.Q., Chen K.F., Li-Ling J., Yang Z.M., Xie H.Q. // *Biomed. Mater.* 2014. V. 9. № 1. P. 015012.
195. Mooney D.J., Organ G., Vacanti J.P., Langer R. // *Cell Transplant.* 1994. V. 3. № 2. P. 203–210.
196. Widmer M.S., Gupta P.K., Lu L., Meszlenyi R.K., Evans G.R., Brandt K., Savel T., Gurlek A., Patrick C.W.Jr., Mikos A.G. // *Biomaterials.* 1998. V. 19. № 21. P. 1945–1955.
197. Sato M., Ando N., Ozawa S., Miki H., Kitajima M. // *ASAIO J.* 1994. V. 40. № 3. P. M389–M392.
198. Boomer L., Liu Y., Mahler N., Johnson J., Zak K., Nelson T., Lannutti J., Besner G.E. // *J. Biomed. Mater. Res A.* 2014. V. 102. № 11. P. 3795–3802.
199. Day R.M., Boccaccini A.R., Maquet V., Shurey S., Forbes A., Gabe S.M., Jerome R.J. // *Mater. Sci. Mater. Med.* 2004. V. 15. № 6. P. 729–734.
200. Lloyd D.A., Ansari T., Shurey S., Maquet V., Sibbons P.D., Boccaccini A.R., Gabe S.M. // *Transplant. Proc.* 2006. V. 38. № 9. P. 3097–3099.
201. Lloyd D.A., Ansari T.I., Gundabolu P., Shurey S., Maquet V., Sibbons P.D., Boccaccini A.R., Gabe S.M. // *Eur. Cell Mater.* 2006. V. 11. P. 27–33.
202. Lynen Jansen P., Klinge U., Anurov M., Titkova S., Mertens P.R., Jansen M. // *Eur. Surg. Res.* 2004. V. 36. № 2. P. 104–111.
203. Nakase Y., Nakamura T., Kin S., Nakashima S., Yoshikawa T., Kuriu Y., Sakakura C., Yamagishi H., Hamuro J., Ikada Y., Otsuji E., Hagiwara A. // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2008. V. 136. № 4. P. 850–859.
204. Maemura T., Kinoshita M., Shin M., Miyazaki H., Tsujimoto H., Ono S., Hase K., Saitoh D. // *Artif. Organs.* 2012. V. 36. № 4. P. 409–417.
205. Son S.R., Franco R.A., Bae S.H., Min Y.K., Lee B.T. // *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 2013. V. 101. № 6. P. 1095–1105.
206. Kaihara S., Kim S.S., Benvenuto M., Choi R., Kim B.S., Mooney D., Tanaka K., Vacanti J.P. // *Transplantation.* 1999. V. 67. № 2. P. 241–245.
207. Costello C.M., Hongpeng J., Shaffiey S., Yu J., Jain N.K., Hackam D., March J.C. // *Biotechnol. Bioeng.* 2014. V. 111. № 6. P. 1222–1232.
208. Takeshita N., Ho K.Y. // *Clin. Endosc.* 2016. V. 49. № 5. P. 438–443.
209. Cerna M., Kocher M., Valek V., Aujesky R., Neoral C., Andrasina T., Panek J., Mahathmakanthi S. // *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* 2011. V. 34. № 6. P. 1267–1271.
210. Bohm G., Mossdorf A., Klink C., Klinge U., Jansen M., Schumpelick V., Truong S. // *Endoscopy.* 2010. V. 42. № 7. P. 599–602.
211. Bonartsev A.P., Zharkova I.I., Yakovlev S.G., Myshkina V.L., Mahina T.K., Voinova V.V., Zernov A.L., Zhukov V.A., Akoulina E.A., Ivanova E.V., Kuznetsova E.S., Shaitan K.V., Bonartseva G.A. // *Prep. Biochem. Biotechnol.* 2017. V. 47. № 2. P. 173–184.
212. Mergaert J., Boley A., Cnockaert M.C., Müller W.R., Swings J. // *Syst. Appl. Microbiol.* 2001. V. 24. № 2. P. 303–310.
213. Saraf M.K., Piccolo B.D., Bowlin A.K., Mercer K.E., LeRoith T., Chintapalli S.V., Shankar K., Badger T.M., Yeruva L. // *Microbiome.* 2017. V. 5. № 1. P. 77.
214. Dai D., Reusch R.N. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008. V. 374. № 3. P. 485–489.
215. Starcić Erjavec M., Zgur-Bertok D. // *FEMS Microbiol. Lett.* 2015. V. 362. № 5. P. fnu061.
216. Sugimoto A., Shiraki M., Hatakeyama S., Saito T. // *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2008. V. 94. № 2. P. 223–232.
217. Bernardeau M., Lehtinen M.J., Forssten S.D., Nurminen P. // *J. Food. Sci. Technol.* 2017. V. 54. № 8. P. 2570–2584.
218. Li G., Yang M., Zhou K., Zhang L., Tian L., Lv S., Jin Y., Qian W., Xiong H., Lin R., Fu Y., Hou X. // *J. Microbiol. Biotechnol.* 2015. V. 25. № 7. P. 1136–1145.
219. Vander Broek C.W., Stevens J.M. // *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2017. V. 7. P. 255.
220. Numata K., Doi Y. // *Mar. Biotechnol. (NY).* 2012. V. 14. № 3. P. 323–331.
221. Elmahdi S., DaSilva L.V., Parveen S. // *Food Microbiol.* 2016. V. 57. P. 128–134.
222. Gillmaier N., Schunder E., Kutzner E., Tlapák H., Rydzewski K., Herrmann V., Stämmel M., Lasch P., Eisenreich W., Heuner K. // *J. Biol. Chem.* 2016. V. 291. № 12. P. 6471–6482.
223. Timm A., Steinbüchel A. // *Appl. Environ. Microbiol.* 1990. V. 56. № 11. P. 3360–3367.
224. Potron A., Poirel L., Nordmann P. // *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2015. V. 45. № 6. P. 568–585.
225. Kondratieva T., Azhikina T., Nikonenko B., Kaprelyants A., Apt A. // *Tuberculosis (Edinb).* 2014. V. 94. № 5. P. 462–468.
226. Анучин А.М., Гончаренко А.В., Галон И.В., Демиденко О.И., Кудыкина Ю.К., Мойсенович М.М., Мулюкин А.Л., Капрельяни А.С. // *Прикл. биохимия и микробиология.* 2010. Т. 46. С. 308–314.
227. Park C., Shin B., Jung J., Lee Y., Park W. // *Microb. Biotechnol.*, 2017, V. 10. № 6. P. 1809–1823.
228. Yang C., Zhang W., Liu R., Zhang C., Gong T., Li Q., Wang S., Song C. // *FEMS Microbiol. Lett.* 2013. V. 346. № 1. P. 56–64.
229. Wu M., Li G., Huang H., Chen S., Luo Y., Zhang W., Li K., Zhou J., Ma T. // *Int. J. Biol. Macromol.* 2016. V. 82. P. 361–368.
230. Ryan M.P., Adley C.C. // *J. Hosp. Infect.* 2010. V. 75. № 3. P. 153–157.
231. Verma S., Bhatia Y., Valappil S.P., Roy I. // *Arch. Microbiol.* 2002. V. 179. № 1. P. 66–69.
232. Osipov G.A., Verkhovtseva N.V. // *Benef. Microbes.* 2011. V. 2. № 1. P. 63–78.
233. Garmendia J., Martí-Llitas P., Moleres J., Puig C., Bengoechea J.A. // *Int. Microbiol.* 2012. V. 15. № 4. P. 159–172.
234. Shrivastava R., Miller J.F. // *Curr. Opin. Microbiol.* 2009. V. 12. № 1. P. 88–93.
235. Sahni S.K., Rydkina E. // *Future Microbiol.* 2009. V. 4. № 3. P. 323–339.

## Poly(3-hydroxybutyrate) and Human Microbiota

A. P. Bonartsev<sup>a, b, \*</sup>, V. V. Voinova<sup>b</sup>, and G. A. Bonartseva<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Leninsky Ave. 33, bld. 2, Moscow, 119071 Russia*

<sup>b</sup>*Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie gory 1, bld. 12, Moscow, 119236 Russia*  
*\*e-mail: ant\_bonar@mail.ru*

Received January 12, 2018

**Abstract**—Natural polyhydroxyalkanoates (PHAs), especially, their synthetic analogues are widely used in medicine, including for the manufacture of biodegradable medical devices (prostheses, patches, stents, plugs) intended for regenerative surgery of intestine. The review examines in detail the possibility of biosynthesis and biodegradation of PHAs, especially, their the most common representative, poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) by various symbiotic and infectious bacteria of human and animals, in particular, by numerous bacteria of the intestinal microbiota, as well as the physiological role of the biopolymer in bacterial cells. Much attention in the review is also devoted to the problem of endogenous PHB in human and animals. We discuss the assumption that bacteria of microbiota can be the source of endogenous PHB. In addition, the application of PHAs in regenerative surgery of intestine is considered.

**Keywords:** polyhydroxyalkanoates, poly(3-hydroxybutyrate), biopolymer, oligomers, microbiota, symbiotic, endogenic, transfection, translocation, type IV secretory system, intestine