

ISSN 0039-1735

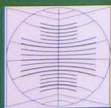
СТОМАТОЛОГИЯ

Том 87



4'2008

Научно-практический журнал



МедиаСфера

Хитозан: структура и свойства. Использование в медицине

Ю.А. ПЕТРОВИЧ, Л.А. ГРИГОРЬЯНЦ, А.Н. ГУРИН, Н.А. ГУРИН

Chitosan: structure, properties, use in medicine and stomatology

YU.A. PETROVICH, L.A. GRIGORYANTS, A.N. GURIN, N.A. GURIN

Московский государственный медико-стоматологический университет, Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Росмедтехнологий, Москва

Структура и свойства хитозана. Широко распространенный в природе биополимер хитин открыли Н. Врасопот, А. Одьер (1811). Его производное — хитозан — обнаружил С. Роугер (1859).

В планктоне океанов и морей ежегодно обновляются миллиарды тонн хитина. Хитин содержится в экзоскелете беспозвоночных животных, панцире крабов и других ракообразных, в кутикуле насекомых, стенках клеток грибов, оболочке микробов [18, 33].

В последние десятилетия хитин и хитозан интенсивно применяют в медицине, ветеринарии, косметологии, сельском хозяйстве, пищевой промышленности, биотехнологии. По данным 1988 г., в Японии произведено 2500 т хитозана, в США — около 1000 т, в Италии, Норвегии — 100 т, в России — около 80 т [4].

Цепи линейного аминополисахарида хитина соединены между собой водородными связями. Каждая цепь преимущественно состоит из многократно повторяющихся остатков N-ацетил-амило-2-дезоксид-β-D-глюкозы и значительно в меньшей степени — из остатков глюкозамина. Оба вида остатков соединены в цепях β(1→4)-гликозидными связями (рис. 1). По химической природе хитин близок к целлюлозе (клетчатке), но в отличие от целлюлозы у 2-го атома углерода хитина вместо гидроксильной группы находится ацетиламинная группа. Молекулярная масса (ММ) хитина — более 1000 кДа. В природных условиях химически чистый хитин не встречается. Молекулы хитина соединены с белками в хитин-белковые полимеры. Хитин в воде и разбавленных кислотах не растворяется, он растворим только в концентрированных кислотах. В состав хитин-белкового комплекса входят минеральные вещества, пигменты и некоторые другие компоненты.

Обработка хитина концентрированной щелочью частично его деполимеризует, гидролизует β(1→4)-гликозидные связи глюкозамина (см. рис. 1). При этом получают в различной степени (от 5 до 95%) деацетилованные производные в виде полимеров, имеющих соответственно от 5 до 95% остатков глюкозамина. При содержании более 50% остатков глюкозамина продукт реакции называют хитозаном. Хитозан растворяется в разбавленных кислотах. При щелочном гидролизе образуется смесь продуктов разной степени деацетилирования и деполимеризации хитина. Более широкое и чистое деацетилирование хитина с образованием хитозана осуществляет фермент хитинадеацетилаза (по Международной классификации ферментов — КФ 3.5.1.14) путем гидролиза ацетиламинной связи с освобождением ацетата (см. рис. 1). Деполимеризует хитин фермент микробов и беспозвоночных хитиназа (КФ 3.2.1.14) [12].

Реакции деполимеризации и деацетилирования хитина часто сопровождаются одновременным разрывом β(1→4)-гликозидных и ацетиламинных связей полимера. Таким образом, хитозан представляет собой полидисперсный по ММ полимер D-глюкозамина, содержащий от 5 до 50% ацетиламинной группы и от 1% групп, соединенных с аминокислотами белков и пептидов. Хитозан в токсическом отношении практически безопасен. Он обладает хорошей биосовместимостью с тканями живых организмов, биоградиремостью, иммуногенными и выраженными сорбиционными свойствами [7].

Хитозан может служить предшественником ряда гликозаминогликанов. На рис. 2 представлены повторяющиеся структурные дисахаридные единицы хондроитин-4-сульфата, хондроитин-6-сульфата, кератан сульфата, гиалуроновой кислоты, которые участвуют в образовании и метаболизме тканей, в том числе кости, хряща и пародонта.

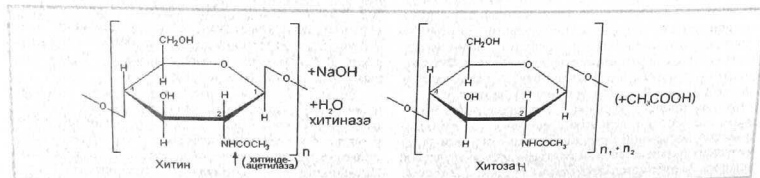


Рис. 1. Деполимеризация хитина n с гидролизом части β(1→4) гликозидных связей при участии щелочи либо гидролитического фермента хитиназы с образованием 2 хитозанов n_1, n_2 ; стрелкой показано место деацетилирования путем гидролиза ацетиламинной связи хитинадеацетилазой с образованием вместо нее протонированной аминогруппы $R-NH_2^+$ и уксусной кислоты (в скобках).

ХИТОЗАН. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В МЕДИЦИНЕ И СТОМАТОЛОГИИ.

Ю.А. Петрович, Л.А Григорьянц, А.Н Гурин, Н.А. Гурин

Московский государственный медико-стоматологический университет,
Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой
хирургии Федерального агентства по высокотехнологичной помощи.

Структура и свойства хитозана. Широко распространенный в природе биополимер хитин открыли Н. Brasconnot, А. Odier (1811). Его производное - хитозан обнаружил С. Rouger (1859).

В планктоне океанов и морей ежегодно обновляются миллиарды тонн хитина. Хитин содержится в экзоскелете беспозвоночных животных, панцире крабов и других ракообразных, кутикуле насекомых, стенке клеток грибов, оболочке микробов [18,33].

В последние десятилетия хитин и хитозан интенсивно применяют в медицине, ветеринарии, косметологии, сельском хозяйстве, пищевой промышленности, биотехнологии. По данным 1988 г. в Японии произвели 2500 тонн хитозана, в США около 1000 тонн, в Италии, Норвегии 100 тонн, в России около 80 тонн [4].

Цепи линейного аминополисахарида хитина соединены между собой водородными связями. Каждая цепь преимущественно состоит из многократно повторяющихся остатков N-ацетил-амидо-2-дезоксид-β-D-глюкозы и значительно меньше из остатков глюкозамина. Оба вида остатков соединены в цепях β(1 → 4)-гликозидными связями (рис.1). По химической природе хитин близок к целлюлозе (клетчатке), но в отличие от целлюлозы у 2 атома углерода хитина вместо гидроксила находится ацетиламидная группа. Молекулярная масса хитина более 1000 кДа. В природных условиях химически чистый хитин не встречается. Молекулы хитина соединены с белками в хитин-белковые полимеры. Хитин в воде и разбавленных кислотах не растворяется, только в концентрированных кислотах. В составе хитин-белкового комплекса находятся минеральные вещества, пигменты и некоторые другие компоненты.

Обработка хитина концентрированной щелочью частично его деполимеризует, гидролизует β(1 → 4)-гликозидные связи глюкозамина (рис.1). При этом получают в разной степени (от 5 до 95%) деацетилированные производные в виде полимеров, имеющих соответственно от 5 до 95% остатков глюкозамина. При содержании более 50% остатков глюкозамина продукт реакции называют хитозаном. Хитозан растворяется в разбавленных кислотах. При щелочном гидролизе образуется смесь продуктов разной степени деацетилирования и деполимеризации хитина. Более щадящее и чистое деацетилирование хитина с образованием хитозана выполняет фермент хитиндеацетилаза (по международной классификации ферментов - КФ 3.5.1.41) за счет гидролиза

ацетамидной связи с освобождением ацетата (рис.1). Демполимеризует хитин фермент микробов и беспозвоночных хитиназа (КФ 3.2.1.14) [12].

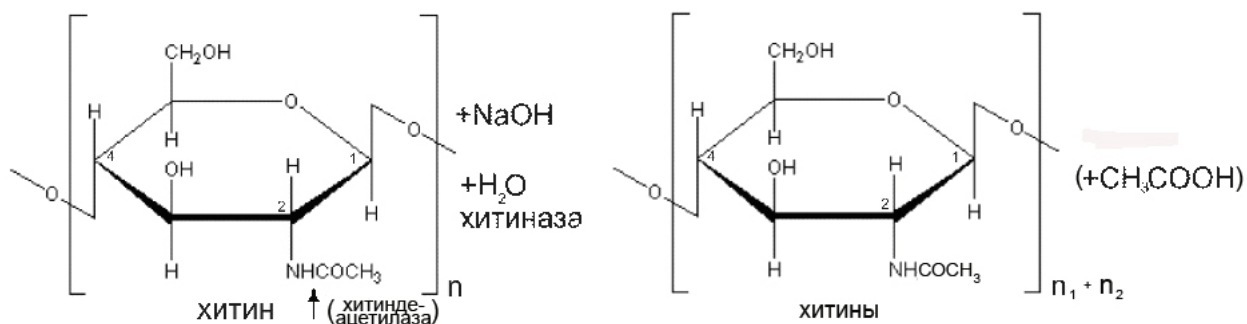


Рис.1 Демполимеризация хитина n с гидролизом части $\beta(1 \rightarrow 4)$ гликозидных связей при участии щелочи, либо гидролитического фермента хитиназы с образованием двух полимеров n_1+n_2 . Стрелкой показано место деацетилирования путем гидролиза ацетамидной связи хитиндеацетилазой с образованием вместо нее протонированной аминогруппы $R-NH_3^+$ и уксусной кислоты (в скобках).

Реакции демполимеризации и деацетилирования хитина часто сопровождаются одновременным разрывом $\beta(1 \rightarrow 4)$ -гликозидных и ацетамидных связей полимера. Таким образом, хитозан представляет собой полидисперсный по молекулярной массе полимер D-глюкозамина содержащий от 5 до 50% ацетамидных групп и от 1% групп, соединенных пептидной связью с аминокислотами белков и пептидов. Хитозан в токсическом отношении практически безопасен. Он обладает хорошей биосовместимостью с тканями живых организмов, биodeградируемостью, неиммуногенными и выраженными сорбционными свойствами [7].

Хитозан может служить предшественником ряда гликозаминогликанов. На рис.2 представлены повторяющиеся структурные дисахаридные единицы хондроитин-4-сульфата, хондроитин-6-сульфата, кератан сульфата, гиалуроновой кислоты, которые участвуют в образовании и метаболизме тканей, в том числе кости, хряща и пародонта.

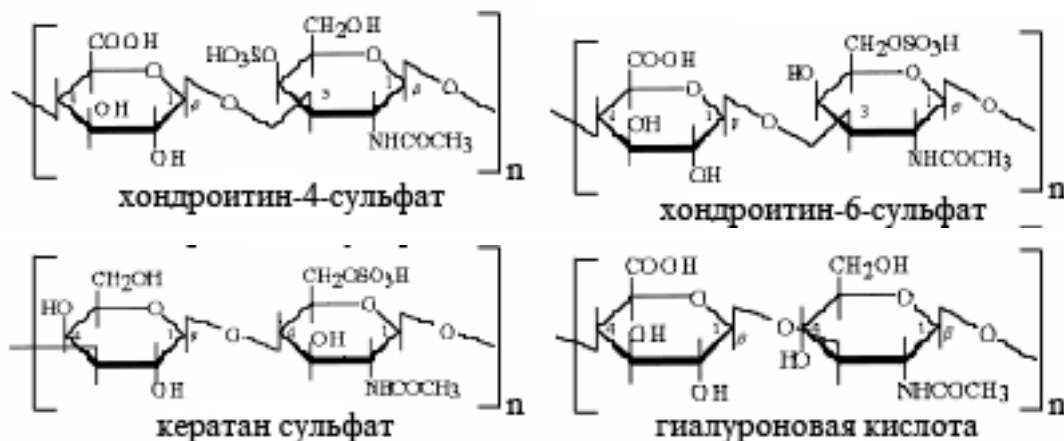


Рис.2 Повторяющиеся структурные единицы гликозаминогликанов [41].

Использование хитозана в медицине. Хитин и его производные применяют при лечении таких тяжелых воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта, как разлитой гнойный перитонит и деструктивная форма воспаления поджелудочной железы [2]. Хитин предупреждает рост кишечной палочки [13]. На основе хитина и хитозана разработаны детоксирующие сорбенты. В гранулярной и гелевой форме они обеспечивают высокую химическую и биологическую активность полимера, достаточную проницаемость и высокую гидрофильность. Хитозан останавливает рост патогенной микрофлоры, агглютинирует микробы [46], стимулирует функциональную активность макрофагов, индуцирует секрецию арахидоновой кислоты посредством активации фосфолипазы A_2 . Хитозан увеличивает выделение медиаторов иммунного ответа, в частности, интерлейкина I, стимулирующего пролиферацию Т-хелперов, а также активность гранулоцитов, преимущественно нейтрофилов. Фагоцитируемые частицы хитина и хитозана усиливают образование активных форм кислорода в альвеолярных макрофагах у мышей [19].

Изучалось влияние хитозана и его производных: N-ацетилглюкозамина, N-ацетилманозамина, N-ацетилгалактозамина, глюкозамина на перитонеальные макрофаги у крыс [39]. Активность воздействия на макрофаги этих сахаридов оценивали по выделению оксида азота NO. Выражен стимулирующий эффект глюкозамина. Самый активный хемотаксис макрофагов отмечался в опытах с N-ацетилглюкозамином и хитозаном, тогда как влияние других гликозаминогликанов незначительное.

При синтезе коллаген-хитозановой мембраны для культивирования *in vitro* клеток карциномы эпидермиса человека (Нер-2) выявили оптимальное соотношение 60% коллагена и 40% хитозана. Такая мембрана может использоваться для тестирования антиканцерогенных препаратов [41].

Исследовалось молекулярное взаимодействие коллагена и хитозана с помощью XR- дифракционного анализа и Фурье ИК-спектроскопии [40]. С помощью вискозиметрии нашли третью желатинно-подобную фазу между коллагеном и хитозаном. Длинные цепи хитозана с тройной спиралью коллагена образуют комплекс бóльшей вязкости, чем отдельные его компоненты. Рентгено-дифракционный анализ показал потерю характерной для коллагена спиралевидности при взаимодействии коллаген-коллаген в сухой фазе. Полученные результаты подобны данным [43-45] о взаимодействии коллагена с хитозаном в виде денатурирующего коллаген полианион-поликатионного комплекса.

При исследовании пролиферативной активности мышечных фибробластов на коллаген-хитозановых подложках выявили наибольшую пролиферативную активность клеток в композиции коллаген-аскорбат хитозана [3]. Этот материал обладал хорошими

адгезивными свойствами и не ингибировал матричные процессы в клетках. Напротив, в большинстве случаев стимулировал, что соответствует результатам других работ [29].

Коллаген-хитозановой губкой покрывали раневые поверхности [2, 3]. В композицию добавляли хондроитинсульфат, гиалуроновую кислоту, гликопротеид - сывороточный фактор роста крупного рогатого скота и гепарин, что ускоряло процессы регенерации кожи на 3-7 суток. Предварительные результаты испытаний раневых покрытий на основе коллаген-хитозанового соединения показали, что данная композиция без любых добавок способна полностью восстанавливать плоскостные дефекты, стимулирует регенерацию тканей. Прибавление к хитозану одного сывороточного фактора роста не влияло на заживление дефектов кожи, особенно на стадии эпителизации.

Применение 40% аскорбата хитозана в мембранном диализе гнойных ран ускоряло на 5-7 суток заживление экспериментальной гнойной раны на фоне мембранного диализа по сравнению с использованием 33% поливинилпирролидона, и сокращало продолжительность госпитализации в среднем на 4 суток [5].

Выявлена антисептическая активность хитозана по отношению к наиболее часто встречающимся возбудителям гнойных осложнений [17]. По силе действия он уступает антибиотикам, но при контакте с микробной флорой в жидкой среде сохраняет бактериостатическую активность в течение 2-2,5 суток.

Губки на хитозан-коллагеновой полимерной основе обладают незначительной бактериостатической активностью к бактериям *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* [15]. Пропитывание антисептиком хлоргексидин-биглюконатом повышает антибактериальные свойства губки. Продукты глубокого гидролиза хитозана (олигомеры) и высокомолекулярные фракции (350 кДа) не биоцидны к патогенной флоре, либо слабо биоцидны [8]. Однако, фракции с низкой молекулярной массой (ММ) 16-20 кДа являлись сильными биоцидами широкого спектра действия. Это подтверждено при использовании крабового и пчелиного низкомолекулярного хитозана с ММ от 4 до 27 кДа [6], однако крабовые хитозаны с ММ 27, 5 кДа и пчелиный хитозан с ММ 15,7 не влияли на *Bifidobacterium*, хитозаны с ММ 12 и 6 кДа подавляли рост этих микроорганизмов. *S. albicans* чувствительна ко всем крабовым хитозанам с ММ 5, 6, 12, 27 кДа и к пчелиному хитозану с ММ 15,7 кДа. Это позволяет рекомендовать их при кандидозной инфекции.

Через неделю после инъекций хитозана в суставную и эпифизарную хрящевую ткань крыс увеличилась толщина эпифизарного хряща [50]. Общее количество клеток и плотность хондроцитов для всех слоев постепенно увеличивалась на первой неделе. Инъекция 0,1% хитозана с рН 6,9 способствовала формированию фиброзной ткани через 1 неделю после инъекции. Клеточный рост фибробластов *in vitro* [28] на поливинил-алкоголь-гидролевой пленке с хитозаном прямо пропорционален количеству хитозана.

Авторы полагают, что стимуляция происходит за счет электростатического взаимодействия между клетками и хитозаном. Высокая концентрация хитина *in vitro* (500 мкг/мл) ослабляет пролиферацию фибробластов, а *in vivo* увеличивает пролиферацию фибробластов [30]. *In vitro* мышечные мезенхимальные стволовые клетки при содержании хитозана (2мг/мл) могут подвергаться дифференцировке в остеогенные клетки предшественники [27]. Хитозан значительно увеличивает пролиферацию хондроцитов суставного хряща. Хитозан и продукты его распада могут стимулировать синтез гликозаминогликанов, необходимых для функционирования суставного хряща. Рост культуры хондроцитов на хитозановой подложке оказался более активным, чем на полистириновой, что позволило использовать губчатые гранулы хитозана в качестве матрикса носителя лекарственных препаратов пролонгированного действия [42].

Изучалось действие олигосахарида хитозана с аскорбатом. При дистрофически-дегенеративных нарушениях в позвоночнике и позвоночных дисках изменения возникают в результате дефицита гликозаминогликанов, синтезируемых из глюкозамина с помощью фермента хитинсинтазы (КФ 3.1.2.14) [1,12]. Кроме того, при остеохондрозе резко повышается активность коллагеназы, а хрящевые клетки повреждаются свободными радикалами, образующимися при перекисном окислении липидов.

Инъекционное или пероральное введение экзогенного глюкозамина стимулирует синтез хрящевой ткани. Глюкозамин, аккумулируясь в суставной и костной ткани, тормозит разрушение хряща за счет ингибирования коллагеназы, тормозит перекисное окисление липидов и стимулирует синтез хрящевой ткани. Положительный эффект в виде повышения подвижности, уменьшения боли наступает спустя 2-4 недели после начала лечения хитозан-аскорбатом. В водорастворимом низкомолекулярном олигосахариде ионная связь хитозана с аскорбатом под действием желудочного сока разрывается и олигосахарид хитозана и витамин С начинают проявлять характерную для каждого биологическую активность. Олигосахарид хитозана всасывается в кишечнике и стимулирует восстановление хрящевой и костной ткани. Потенцирование с витамином С улучшает состояние соединительной ткани.

Водорастворимый биосовместимый и биodeградируемый полимер хитозан используют при биоинкапсулировании в форме гидрогелевых нано- и микрочастиц, нано- и микрокапсул или полимерных пленок с включенным в них биоматериалом (белками, ферментами, ДНК, гормонами, антибиотиками и др.), а также живыми клетками (микроорганизмами, растительными и животными) [9]. Перспективно биоинкапсулирование хитозана и его производных. Это полимерные покрытия с включенными в них различными терапевтическими агентами для лечения наследственных и приобретенных болезней (ферментами, антибиотиками, антиоксидантами) для терапии

ран, лекарства с пролонгированным высвобождением из полимерной матрицы, пероральные и назальные вакцины пролонгированного действия, ДНК-содержащие носители для получения генетически модифицированных клеток, трансплантация генно-инженерных животных клеток-продуцентов терапевтических агентов (белков, ферментов, факторов роста, гормонов и др.).

Применение хитозана в стоматологии. В литературе на русском языке имеется немного исследований по применению хитозана и его производных в стоматологии. Большой вклад внесли итальянцы R. Muzzarelli и соавт. [34-37]. В частности, они применили хитозан в комплексе с аскорбиновой кислотой при лечении генерализованного пародонтита [35]. Путем специальной обработки получали гель, который вводили в глубокие карманы после открытого кюретажа. Спустя 2 месяца после обработки подвижность зубов приближалась к норме, тогда как до обработки клинически определялась подвижность II степени. Уменьшалась глубина патологического кармана, восстанавливался уровень эпителиального прикрепления.

Первая и до настоящего времени единственная медицинская диссертация С.А. Шоминой (2002) выполнена с применением хитозана по проблемам хирургической стоматологии под руководством проф. В.В. Богатова и д.м.н. В.М. Червинца имеет большое теоретическое и клиническое значение [20]. В ней показано, что к хитозану более чувствительны представители условно-патогенной микрофлоры, в то время как нормальная микрофлора более устойчива. Хитозан обладает антимикробной активностью к патогенным стафилококкам, стрептококкам, энтеробактериям, коринебактериям, микрококкам и грибам рода *Candida*. При использовании фотосенсибилизатора на основе хитозана и метиленовой сини и низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) в инфракрасном (ИК) диапазоне количество жизнеспособных бактерий резко снижается на 7 порядков и до нуля у стафилококков и стрептококков. Усиливается противовоспалительный эффект и ранозаживляющее действие НИЛИ. Однократная обработка гнойной раны в полости рта по описанному выше методу у больных с острыми гнойными периоститами или поверхности раны при абсцессах и флегмонах уменьшало количество патогенных микробов. Частота выделения микроорганизмов в области поражения уменьшились на 2 порядка. У микроорганизмов после лечения хитозаном не обнаруживали гемолитической, лецитиназной, плазмокоагулазно, РНК-азной активности.

Хитозан усиливает местный иммунитет при лечении больных с острыми гнойными периоститами при помощи фотосенсибилизатора на основе хитозана и метиленовой сини и НИЛИ в ИК-диапазоне. Уровень лизоцима в ротовой полости повышается в 3 раза. При острых гнойных периоститах челюстно-лицевой области в поликлинических условиях рекомендуется использовать с лечебной целью 1% раствор хитозана на 0,25% HCl в

комплексе с метиленовым синим и НИЛИ. Лечение острого гнойного периостита по указанному методу улучшает результат терапии, в том числе сокращение сроков лечения на 1-2 дня по сравнению с традиционными способами лечения. Полное прекращение отделяемого и очищение раны наступало в среднем на $4,3 \pm 0,8$ суток после операции, что в среднем на 2,9 дня раньше, чем у больных, леченных традиционными способами.

Облучение НИЛИ необходимо при каждой перевязке после предварительной очистки гнойной раны от некротических тканей и обработки раствором хитозана в комплексе с метиленовым синим.

А. Майгуров с соавт. (2006) использовали 2% гель аскорбата хитозана (степень деацетилирования 95%, ММ 180-200 кДа) и окиси цинка в соотношении 1:2 при лечении глубокого кариеса [14]. Отсутствовало токсическое воздействие на пульпу. Констатировали высокий бактериостатический эффект за счет агглютинирования микробов и выраженный противовоспалительный эффект вследствие активации гиалуронидазы и β -глюкуронидазы. Через 3 месяца после нанесения пасты были видны плотная облитерация дентинных трубочек и хорошо выраженная минерализация репаративного дентина. Клинически отсутствовала реакция на раздражители, сохранялся цвет коронки зуба, показатели электровозбудимости пришли к норме.

При исследовании антибактериальной активности гелевых препаратов хитозана на смешанной культуре бактерий, выделенных из корневых каналов с деструктивным периодонтитом наиболее выраженным антибактериальным действием обладал 8% гель хитозана. Полностью восстанавливалась костная ткань через 12 мес. у 62,2% пациентов, частично восстанавливалась у 32,7% с тенденцией к полному восстановлению в отдаленные сроки. Гелевая форма 8% водоратворимого аскорбата хитозана с метронидазолом (ММ 70кДа, степень деацетилирования 87%, диаметр частиц меньше 160 мкм) при лечении хронического катарального гингивита способствует быстрой ликвидации воспаления десны, усиливает микровезикулярный транспорт веществ через просвет капилляров, уменьшает отек и восстанавливает структурную организацию десны.

При лечении хронического пародонтита средней степени тяжести использовали губку, содержащую 8% аскорбата хитозана, 2% бычий ацетат коллагена, метронидазол в дозе $0,016 \text{ мг/см}^2$. Стерильную губку размером $0,3 \times 0,3$ см вводили в пародонтальный карман под защитную повязку один раз в день с интервалом в 2 дня. Клинически отмечалось уменьшение кровоточивости десен, уменьшалась подвижность зубов, болевые ощущения при приеме пищи прекратились. Эффект противовоспалительного действия составил 60,5%. В результате проведенных исследований отмечен положительный эффект действия хитозана при различной патологии полости рта.

Пористый имплантат с хитозаном и коллагеном совместно с костным морфогенетическим белком (BMP-7) и клетками пародонтальной связки Zhang Y. et al. (2007) ввели в дефект нижней челюсти у собак. Образование молодой кости проходило интенсивнее в опыте, чем в контроле без хитозана, что подтвердили лазерная конфокальная микроскопия, повышение активности щелочной фосфатазы – маркера остеобластов, увеличение содержания остеопонтина и костного сиалопротеина [53].

При использовании иммобилизованного на мембране из нановолокон хитозана комплексно с BMP-2 Park Y.Y. et al. (2006) получили достоверный остеоиндуктивный эффект [38].

При операции цистэктомии с резекцией верхушки корня и удалении зубов мудрости для заполнения костных дефектов использовали метилпиролидинон хитозана, который получали в виде губки [34]. При гистологическом и электромикроскопическом исследовании удаленных тканей отметили, что его применение способствует росту капилляров, периваскулярных тканей и стимуляции мезенхимальных клеток. Исследования *in vivo* подтвердили, что метилпиролидинон хитозана разрушается под действием лизоцима полости рта. Образовавшиеся олигомеры хитозана активируют макрофаги и стимулируют образование коллагена. Мономеры, полученные в результате деградации, используются для перестройки глюкозаминогликанов в экстрацеллюлярном матриксе для восстановления костной ткани. Остеокондуктивные свойства метилпиролидинона хитозана подтверждены в эксперименте на кроликах, которые подобны процессам, описанным выше у людей [36]. Модификация хитозана путем введения имидазольной группы, увеличивала катионную способность хитозана и повышала его остеоиндуктивные свойства. Применение имидазол хитозана намного эффективнее, чем одного хитозана, и эффективнее, чем метилпиролидинона, при операции цистэктомии с резекцией верхушки корня и удалении зубов мудрости [36].

M. Ito (1991), используя порошок гидроксиапатита и добавки CaO и ZnO с раствором хитозана [24], получил быстро затвердевающую пасту с высокими показателями компрессии. Регулировать компрессию возможно за счет изменения процентного соотношения компонентов в растворе хитозана. Автор отмечает выраженный противовоспалительный эффект пасты и отсутствие миграции частичек гидроксиапатита в окружающие ткани.

R.Murugan, R.Ramakrishna (2004) применяли хитозан для повышения биорезорбции гидроксиапатита [32]. Композит гидроксиапатит-хитозан обладал хорошей биосовместимостью, биорезорбируемостью, имел выраженный гемостатический эффект, высокую антибактериальную активность, пластичность и хорошую адгезию. При обработке карбонатапатита использовали 5%-10% раствор хитозана. В ИК-спектрах

композита показаны характерные пики для карбонатапатита, при этом структура карбонатапатита сохранена. С повышением в растворе концентрации хитозана снижаются полосы 603 и 571 см^{-1} , характеризующие кристалличность структуры. При исследовании соотношения между содержанием Ca^{2+} и карбонатапатит-хитозаном в модельном растворе установили, что чем выше концентрация хитозана, тем больше уровень Ca^{2+} , при уменьшении количества хитозана, снижается содержание Ca^{2+} . Однако, параметры кристаллической решетки карбонатапатита после обработки хитозаном практически не изменились. При исследовании pH в условиях резорбции композитов выявили, что чем выше концентрация хитозана в карбонатапатите, тем pH ниже. Уровень pH становится неизменным при pH 7,1. Полученный нанокристаллический карбонатапатит из водного раствора при низкой температуре с добавлением хитозана может быть использован при замещении костных дефектов с активацией биорезорбции карбонатапатита.

R. Murugan et al. (2005) применяли хитозан при обработке карбонатгидроксиapatита, полученного из бычьей кости, с целью улучшения растворимости [31]. Авторы отметили, что в зависимости от концентрации хитозана в растворе, скорость растворения карбонатгидроксиapatита в изотоническом растворе повышалась. Наблюдали снижение pH раствора для карбонатгидроксиapatита с высоким содержанием хитозана (от pH 7,4 до pH 7,1 в течение 20 дней), тогда как при чистом карбонатгидроксиapatите pH снижался незначительно. Исследования дифракционной картины не выявило изменений кристаллической решетки карбонатгидроксиapatита при взаимодействии с хитозаном. На ИК-спектрах было показано, что с повышением содержания хитозана в растворе, уменьшается кристалличность структуры карбонатгидроксиapatита.

R. Tarsi et al. (1995) исследовали адсорбцию *S. mutans* на поверхность гранул гидроксиapatита в присутствии низкомолекулярного хитозана и его производных –

N-карбоксиметил хитозана и имадазолил хитозана [46]. В качестве контроля применялась слюна в присутствии сахарозы и без нее. Авторы показали, что обработки гранул гидроксиapatита хитозаном и его производных значительно снижает адгезию *S. mutans*.

Присутствие хитозана в зубной пасте, жевательной резинке и жидкости для профилактического полоскания значительно снижают колонизацию *S. mutans* на поверхности гидроксиapatита. Остановка роста патогенной флоры объясняется агглютинированием микробных тел хитозаном. Механизм агглютинации идентичен склеиванию эритроцитов поликатионами. За счет связывания хитозана с рецепторами сахаров на клеточной мембране обеспечивается бактериостатический эффект [47].

А. Пестов с соавт. (2006) использовали хитозан и карбоксиэтилхитозан для уменьшения миграции мономеров в полость рта из базиса зубных протезов в виде смеси прополиса (препарат Теториум) и геля глицерата титана (препарат Тизоль), обладающих адгезивными свойствами [16]. Тизоль необходим в качестве сшивающего агента. Сорбция метилметакрилата гелем карбоксиэтилхитозан-Тизоль проходит эффективнее, чем для смеси Тизоль-хитозан при аналогичном поглощении метилметакрилата. Авторы пришли к заключению, что использование глицериновых гелей хитозана или карбоксиэтилхитозана с низкой степенью карбоксиэтирования обеспечивает высокую скорость поглощения метилметакрилата из водных растворов. Использование этих гелей в составе адгезивов для съемных зубных протезов, предохраняющих пациентов от токсического воздействия остаточного количества мономера, выделяющегося из протеза, весьма перспективно для практического применения.

Разработана порошкообразная композиция с повышенной адгезией на основе хитозана. Адгезив хорошо фиксирует съемные зубные протезы в полости рта, происходит ускоренная адаптация к протезам [11].

И. Кайминь, Х. Димантс (1995) предложили хитозановый бумажный перевязочный материал «Ригрилл». Он атравматичен, микробонепроницаем, не вызывает мацерации кожи, не нарушает кровообращения. Используется в качестве защитного покрытия на ранах и послеоперационных швах, поверхностных пролежнях и трофических язвах. В стоматологии применяется в качестве аппликаций [10].

Хитозан нашел применение в хирургической стоматологии при лечении переломов, дистракционном остеогенезе, когда был введен в состав кальцийфосфатных, сульфатных цементов [23,26], паст с ГА [25,51], с β -ТКФ [52]; лечении остеомиелита (Aimin et al. 1999), остеопороза (Hi et al. 2007). Все исследователи отмечали положительный эффект.

В челюстно-лицевой имплантологии при покрытии титановых имплантатов хитозан способствовал ускоренной остеоинтеграции, уменьшал отечность, воспалительный компонент [21,22,48,49].

Таким образом, обзор литературы, указывает на значительный интерес к хитозану зарубежных и отечественных исследователей. В России организовано Российское Хитиновое Общество, проведено с 1983 по 2006 восемь сначала Всесоюзных, затем Всероссийских и Международных конференций.

Уникальные свойства хитозана (биосовместимость, биорезорбируемость, нетоксичность, антибактериальные свойства, гемостатичность) найдут широкое применение в терапевтической, хирургической и ортопедической стоматологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александрова Е.А., Суворов А., Антипенко Е. Эффективность препарата «Олигохит» при вертеброгенной дорсалгии. Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана. Материалы VII Международной конференции. – Изд. «ВНИРО». – Москва. – 2003. – С.131-134.
2. Большаков И.Н., Насибов С.М., Куклин Е.Ю. и соавт. Использование хитозана и его продуктов при воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихревой, В.П. Варламова – Изд. «Наука». – М. – 2006. – С.7-23.
3. Большаков И.Н., Еремеев А.В., Рожкова Е.В. Исследование пролиферативной активности фибробластов мышцы, культивируемых на коллаген- хитозановых подложках. Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана. Материалы VII Международной конференции. - Изд. «ВНИРО». – М. - 2003. – С.140-144.
4. Быкова В., Немцов В.С. Сырьевые источники и способы получения хитина и хитозана. Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихревой, В.П. Варламова– Изд. «Наука». – М. – 2006. – С.7-23.
5. Винник Ю.С., Большаков И.Н., Карапетян Г.Э. Аскорбат хитозана в мембранном диализе гнойных ран. Современные перспективы в исследованиях хитина и хитозана. Материалы VII Международной конференции. - Изд. «ВНИРО». – М. - 2003. – С.157-161.
6. Герасименко Д.В., Авдиенко И.Д., Банникова Г.Е., Антибактериальная активность низкомолекулярного хитозана. Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана. Материалы VII Международной конференции. - Изд. «ВНИРО». – М. - 2003. – С.233-239.
7. Горовой Л., Косяков В. Сорбционные свойства хитина и его производных. Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихревой, В.П. Варламова – Изд. «Наука». – М. – 2006. – С.217-247.
8. Дарашкевич О.Н., Добролеж О.В., Вербицкая Н.Б. Бицидные свойства хитозана различной степени деполимеризации. Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана. Материалы VII Международной конференции. - Изд. «ВНИРО». – М. - 2003. – С.239-241.
9. Зайцева- Зотова Д.С., Хмелев Г.В., Чернышенко А.О. Хитозан и его производные в биоинкапсулировании. Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихревой, В.П. Варламова – Изд. «Наука». – М. – 2006. – С.315-327.
10. Кайминь И.Ф., Димантс С.И. Хитозановые бумаги в медицинской практике и в стоматологии. Производство и применение хитина и хитозана. Тезисы IV Всероссийской конференции. Изд. «ВНИРО». – 1995. – С.54-55.
11. Кайминь И.Ф., Озолия Г.А. Применение композиции на основе хитозана в стоматологии. Производство и применение хитина и хитозана. Тезисы IV Всероссийской конференции. Изд. «ВНИРО». – 1995. – С.54-55.
12. Классификация и номенклатура ферментов. М. – Изд. иностр. литер. – 1986. – 199с.

13. Кочкина З., Поспешны Г., Чирков С. Ингибирование хитозаном продуктивной инфекции бактериофагов Т- серии в культуре *Escherichia coli*. Микробиология. – 1995. – Т.64. - №2. – С.211-215.
14. Майгуров А., Солнцев А., Большаков И. с соавт. Применение хитозана в лечении воспалительных заболеваний ротовой полости. Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана. Материалы VIII международной конференции. – Изд. «ВНИРО». – М. – 2006. – С.224-227.
15. Никонов Б.А., Панов В.В., Парамонов Б.А. Антибактериальные свойства губок на хитозан-коллагеновой основе. Материалы VII Международной конференции. - Изд. «ВНИРО». – М. - 2003. – С.183-183.
16. Пестов А., Бондарь Ю., Мирсаев Т. Стоматологические материалы их хитозана и карбоксиэтилхитозана. Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана. Материалы VIII международной конференции. – Изд. «ВНИРО». – М. – 2006. – С.233-236.
17. Писаренко Л.В., Игнатов Г.Г., Анфалов В.В. О некоторых медико-биологических свойствах хитозана. Материалы VII Международной конференции. - Изд. «ВНИРО». – М. - 2003. – С.187-190.
18. Степаненко Б.Н. Углеводы. Успехи в изучении строения и метаболизма. - М. – 1968. - 300 с.
19. Чирков С.Н. Противовирусные свойства хитозана. Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. Под ред. К.Г. Скрыбина, Г.А. Вихревой, В.П. Варламова – Изд. «Наука». – М. – 2002. – С.327-339.
20. Шомина С.А. Применение хитозана в лечении острых воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области. Дисс. канд. мед. наук. – Тверь. – 2002. – 195с.
21. Bumgardner J.D., Wiser R., Elder S.H. et al. Contact angle, protein adsorption and osteoblast precursor cell attachment to chitosan coatings bonded to titanium // J. Biomater. Sci. Polym Ed. – 2003. – Vol.14. – 1401-9.
22. Bumgardner J.D., Wiser R., Gerard P.D. et al. Chitosan: potential use as a bioactive coating for orthopaedic and craniofacial/dental implants // J. Biomater. Sci. Polym Ed. – 2003. – Vol.14. – 423-38.
23. Cho B.C., Park J.W., Baik B.S. et al. The role of hyaluronic acid, chitosan, and calcium sulfate and their combined effect on early bony consolidation in distraction osteogenesis of a canine model // J. Craniofac. Surg. – 2002. – Vol.13. – P.783-793.
24. Ito M. In vitro properties of a chitosan-bonded hydroxyapatite bone-filling paste // Biomaterials. – 1991. – Vol.12. - №1. – P. 41-45.
25. Kawakami T., Antoh M., Hasegawa H. et al. Experimental study on osteoconductive properties of a chitosan-bonded hydroxyapatite self-hardening paste // Biomaterials. – 1992. – Vol.13. – P.759-763.
26. Kim S.B., Kim Y.J., Yoon T.L. et al. The characteristics of a hydroxyapatite-chitosan-PMMA bone cement // Biomaterials. – 2004. – Vol.25. – P.5715-23.

27. Klokkevold P., Vandemark L., Kenney E., Bernard G. Osteogenesis enhanced by chitosan (poly- N-acetyl glycosaminoglycan) in vitro // J. Periodontol. – 1996. – Vol.67. – P.1170-1175.
28. Koyano T., Minoura N., Kobayashi K. Attachment and growth of cultured fibroblast cells on PVA/chitosan-blended hydrogels // J. Biomed. Mater. Res. – 1998. – Vol.39. – P.486-490.
29. Krapczyk I., Krowczynski I., Marchut E. et al. Chitin and chitosan. Sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications // Lond-N.Y. – 1990. – P. 605-616.
30. Mori T., Okumura M., Matsuura M. et al. Effects of chitin and its derivatives on the proliferation and cytokine production of fibroblasts in vitro // Biomaterials. – 1997. – Vol.18. - №13. – P.947-951.
31. Murugan R., Kumar S. et al. Hydroxyl carbonateapatite hybrid bone composites using carbohydrate polymer // J. of Composite Materials. – 2005. – Vol.39. – №13. - P.1159–1166.
32. Murugan R., Ramakrishna R. Bioresorbable composite bone paste using polysaccharide based nanohydroxyapatite // Biomaterials. – 2004. – Vol.25. – P. 3829-3835.
33. Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A. et al. Harper's Biochemistry 25th ed. Stamford. 2000. 927 p.
34. Muzzarelli R., Biagini G. et al. Osteoconduction exerted by methylpyrrolidinone chitosan used in dental surgery // Biomaterials. – 1993. – Vol.14. - №1. – P. 39-43.
35. Muzzarelli R., Biagini G. et al. Reconstruction of paradontal tissue with chitosan // Biomaterials. – 1989. – Vol.10. - №11. – P. 598-603.
36. Muzzarelli R., Biagini G. et al. Osteoconductive properties of methylpyrrolidinone chitosan in an animal model // Biomaterials. – 1993. – Vol.14. - №12. – P. 925-929.
37. Muzzarelli R., Baldassarre V. et al. Biological activity of chitosan: ultrastructural study // Biomaterials. – 1988. – Vol.9. - №5. – P. 247-252.
38. Park Y.J., Kim K.H., Lee J.Y. et al. Immobilization of bone morphogenetic protein-2 on a nanofibrous chitosan membrane for enhanced guided bone regeneration // Biotechnol. Appl. Biochem. – 2006. – Vol.43 – Pt.1 – P.17-24.
39. Peluso G., Petillo O. et al. Chitosan- mediated stimulation of macrophage function // Biomaterials. – 1994. – Vol.15. - №15. – P. 1215–1220.
40. Sionkowska A., Wisniewski M., Skopinska J. Molecular interactions in collagen and chitosan blends // Biomaterials. – 2004. – Vol.25. - №.5. – P. 795-801.
41. Shanmugsundaram N., Ravichandran Reddy P. et al. Collagen- chitosan polymeric scaffold for the in vitro culture of human epidermoid carcinoma cells // Biomaterials. – 2001. – Vol. 22. – P. 1943- 1951.
42. Suh I. K. F., Matthew H. Application of chitosan- based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review // Biomaterials. – 2000. – Vol.21. – P. 2589-2598.
43. Taravel M., Domard A. Relation between the physicochemical characteristics of collagen and its interactions with chitosan I // Biomaterials. – 1993. – Vol. 14, №12. – P. 930- 938.

44. Taravel M., Domard A. Collagen and its interaction with chitosan II. Influence of the physicochemical characteristics of collagen // *Biomaterials*. – 1995. – Vol. 16, №11. – P. 865-871.
45. Taravel M., Domard A. Collagen and its interaction with chitosan III. Some biological and mechanical properties // *Biomaterials*. – 1996. – Vol. 17, №4. – P. 451- 455.
46. Tarsi R., Muzzarelli R. Guzman C. et al. Inhibition of *Streptococcus mutans*. Adsorption of hydroxyapatite by low-molecular weight chitosans // *J. Dent. Research*. – 1997. – Vol.76. - №2. – P. 665-672.
47. Velichkov A.D., Nikolova S.F., Vejanov D.K. // *C.R. Acad. Bulg. Sci.* – 1989. – Vol.42. - №3.- P.81-84. (цит. По №10 Горовой Л., Косяков В.)
48. Wang J., de Boer J., de Groot K. Preparation and characterization of electrodeposited calcium phosphate/chitosan coating on Ti6Al4V plates // *J. Dent. Res.* – 2004. – Vol.83. – P.296-301.
49. Wang X., Ma J., Wang Y., He B. Bone repair in radii and tibias of rabbits with phosphorylated chitosan reinforced calcium phosphate cements // *Biomaterials*. – 2002. – Vol.23. – P.4167-76.
50. Xi Lu., Prudhommeaux F., Meunier A. et al. Effect of chitosan on rat knee cartilages // *Biomaterials*. – 1999. – Vol.20. – P.1937-1944.
51. Xu H.H., Quinn J.B., Takagi S., Chow L.C., Synergistic reinforcement of in situ hardening calcium phosphate composite scaffold for bone tissue engineering // *Biomaterials*. – 2004. – Vol.25. – P.1029-37.
52. Yin Y., Ye F., Cui J. et al. Preparation and characterization of macroporous chitosan-gelatin/beta-tricalcium phosphate composite scaffolds for bone tissue engineering // *J. Biomed. Mater. Res.* – 2003. – Vol.63A. – P.844-855.
53. Zhang Y., Song J., Shi B. et al. Combination of scaffold and adenovirus vector expressing bone regeneration at dental implant defects // *Biomaterials*. – 2007. – Vol.28. –N.31. – P.4635-4642.