

Российский



СТОМАТОЛОГИЧЕСКИЙ журнал

Russian Journal
of Dentistry



2.2008

МОСКВА
ИЗДАТЕЛЬСТВО
«МЕДИЦИНА»



ная стоматологическая поликлиника (в Жайылском районе), то теперь появились отдельные самостоятельные районные стоматологические поликлиники в Московском, Кеминском районах. По обеспеченности кадрами врачей-стоматологов большие трудности, как уже отмечалось, имеются в сельских районах республики. В Нарынской области обеспеченность врачей-стоматологов составляет 1,2 на 10 000 населения. В Жалалабатской области — 1,3 на 10 000 населения.

Таким образом, реформирование системы здравоохранения в Кыргызской Республике явилось серьезным испытанием для стоматологической службы. Результатом перехода на общественное страховое здравоохранение явилось сокращение числа учреждений стоматологической службы, кадров врачей-стоматологов. Эти изменения нашли прямое отражение в количественных и качественных показателях службы. Данные анализа свидетельствуют, что на фоне стабильных показателей проведения плановых профилактических осмотров имеется тенденция к снижению процентов санитруемости как взрослого, так и детского населения республики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева О. В., Кравченко Н. А. // Экономика здравоохранения. — 2001. — № 4-5. — С. 24-27.
2. Бауказев К. // Реформы здравоохранения в Кыргызской Республике: Материалы конференции. — Бишкек, 1999. — С. 20-23.
3. Валлер В. Д. Прогноз и тенденции развития стоматологии с позиции специалистов и населения: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Омск, 1998.
4. Вишняков Н. И., Мовдиде Т. Ш., Стожаров В. В. и др. // Институт стоматологии. — 2005. — № 2. — С. 12-14.
5. Денисов И. Н., Григорьева Т. Н., Берестов Л. А. // Экономика здравоохранения. — 1996. — № 6-7. — С. 45-46.
6. Искаева А., Сардыбакова А. // Реформы здравоохранения в Кыргызской Республике: Материалы конференции. — Бишкек, 1999. — С. 67-69.
7. Кривинская М. М. Научное обоснование системы финансирования здравоохранения в условиях перехода к рыночной экономике (на примере Кыргызстана): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 2000.
8. Касиев Н. К., Мейманалиев Т. С. // Реформы здравоохранения в Кыргызской Республике: Материалы конференции. — Бишкек, 1999. — С. 7-14.

9. Концепция становления и развития системы ОМС (Проект) // Экономика здравоохранения. — 1996. — № 6-7. — С. 80-86.
10. Кузнец Г. С., Саркисян Ф. С. // Стоматология. — 2002. — № 3. — С. 7-12.
11. Леонтьев В. К., Соколов Е. И., Володина В. В. и др. // Стоматология. — 2001. — № 2. — С. 34-36.
12. Мейманалиев Т. С. Кыргызская модель здравоохранения. — Бишкек, 2003.
13. Национальная программа реформы системы здравоохранения Кыргызской Республики "Манас" (1996-2006). — Бишкек, 1996.
14. Национальная программа реформы системы здравоохранения Кыргызской Республики "Манас таалими" (2006-2010). — Бишкек, 2006.
15. Саркисян А. Г. // Экономика здравоохранения. — 2001. — № 7-8. — С. 30-33.
16. Шестаков В. Т. // Управление, организация, социально-экономические проблемы стоматологической службы страны: Труды ЦНИИС. — М., 1991. — С. 206-211.
17. Beckman M., Zarkovic G. // Health Care in Transition: Report on the Second Meeting of the WHO Working Party on the Health Care Reforms in Europe. — Copenhagen, 1996.
18. Burt B. A., Eklund S. A. Dentistry, Dental Practice and the Community. — 5-th Ed. — Philadelphia, 1999.
19. Cassels A. Health Sector Reform: Key Issues in Less Developed Countries. — Geneva, 1995.
20. Falkingham J. Inequality and Poverty in the CIS. Lucerne Conference of the CIS-7 Initiative. — Lucerne, 2003.
21. Falkingham J. Health, Health seeking Behavior and out of Pocket Expenditures in Kyrgyzstan 2001: The Final Report to Ministry of Health of Kyrgyzstan and the Health and Population Division, Central Asia, United Kingdom Department for International Development. — Bishkek, 2002.
22. Hughes R. J., Domiano P. C., Kanelis M. J. et al. // J. Am. Dent. Assoc. — 2005. — Vol. 136, N 4. — P. 517-524.
23. Kurzin J., Barmann H. // Int. J. Hlth. Plan. Manag. — 1992. — Vol. 7, N 1. — P. 51-72.
24. Kurzin J. Note on Patient Awareness of Co-payment Levels. MANAS Health Policy Analysis Project. Policy Research Paper N 15. — Bishkek, 2002.
25. Kyrgyz Republic: Joint IDA-IMF Staff Assessment of the National Poverty Strategy Paper. — Washington, 2003.
26. Kyrgyz Republic Public Expenditure Review: Fiscal Policies for Growth and Poverty Reduction. — Washington, 2004.

Получено 06.06.07

ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2008

УДК 615.46:577.11/.12].03:616.31

Ю. А. Петрович, А. Н. Гурия, Н. А. Гурия, С. М. Киченко ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В СТОМАТОЛОГИИ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БИОПОЛИМЕРОВ ХИТОЗАНА И АЛЬГИНАТА

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

Первые сообщения о производном хитина — хитозане (ХТЗ), как и об альгинате (АЛГ), относятся еще к XIX веку. Интенсивное изучение и применение ХТЗ и АЛГ в лечебной и профилактической медицине, фармации, косметике, ветеринарии, аэробиологии, пчеловодстве, питании людей прошлого столетия и т.д. началось со второй половины 60-х годов прошлого столетия в Юго-Восточной Азии, в Европе и Америке это произошло позже. С каждым годом количество сообщений, прогрессивно растет. Опубликованы тысячи зарубежных работ стоматологического профиля, в том числе исследований систем и зубо-десневых тканей ротовой полости, связанного с состоянием зубов и десен.

В 2000 г. организовано Российское хитиновое общество по главе с проф. В. П. Варламовым. В нашей стране с 1983 по 2005 г. состоялось восемь всесоюзных, российских и международных конференций по получению хитина и ХТЗ, из которых заслушано четыре стоматологических доклада. Представляют значительный интерес исследования ХТЗ, выполненные в Красноярске проф. И. Н. Большаковым и соавт. [2], полные в Екатеринбурге — проф. С. Е. Жолудевым и соавт. [3, 8], в Тьери проф. В. В. Богатовым и соавт. [9].

Цель сообщения — осветить перспективы применения ХТЗ и АЛГ в стоматологии.

Перспективы применения в стоматологии полифункциональных биополимеров хитозана и альгината.

Ю.А. Петрович, А.Н. Гурин, Н.А. Гурин, С.М. Киченко

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

Введение.

Первые сообщения о производном хитина хитозане (ХТЗ), как и об альгинате (АЛГ), относятся еще к XIX веку. Интенсивное изучение и применение ХТЗ и АЛГ в лечебной и профилактической медицине, фармации, косметике, ветеринарии, агробиологии, пчеловодстве, питании людей и корме скота началось со второй половины 60-ых годов прошлого столетия в Юго-Восточной Азии. В Европе и Америке это произошло позже. С каждым годом количество сообщений прогрессивно нарастало. Опубликованы тысячи зарубежных работ стоматологического профиля, в том числе исследований костей и зубов, а также состава ротовой жидкости, связанного с состоянием зубов и десны.

В 2000 г. организовано Российское хитиновое общество во главе с проф. В.П. Варламовым. В нашей стране с 1983 по 2005 г. состоялось 8 Всесоюзных, Российских и Международных конференций по исследованию хитина и ХТЗ, однако стоматология представлена только 6 докладами. Интересные исследования с ХТЗ проводят в Красноярске (И.Н. Большаков и соавт.) [4,8], в Твери (В.В. Богатов и соавт.) [9], в Екатеринбурге (С.Е. Желудев и соавт.) [2,6].

Цель. Осветить перспективы применения хитозана и альгината в стоматологии.

Структура, свойства и метаболические превращения хитозана и альгината.

Целлюлоза, крахмал, хитин и АЛГ – самые распространенные биополимеры. Полисахарид хитин участвует в построении наружного скелета раков и других членистоногих, а также беспозвоночных животных. Больше всего хитина в зеленых диатомовых водорослях планктона океанов и морей. Входит в состав клеточных стенок грибов и многих микроорганизмов. Хитин никогда не встречается в природе в свободном состоянии. Обычно он связан с белками, карбонатами и другими неорганическими соединениями и элементами, липидами, пигментами.

Много альгиновых кислот (D-маннуриновой и L-гулуриновой кислот) и их Са- и Mg-солей содержится в бурых водорослях океанов и морей. *Alga* переводится с латинского и английского как водоросли или морская трава. В ряде бактерий также находятся альгинаты, хитин и ХТЗ.

Биополимеры хитин и ХТЗ относятся к классу гликозаминогликанов (устаревшее название класса - мукополисахариды). Близи к ним по строению полисахариды безазотистые биополимеры

- крахмал пищи человека и целлюлоза корма жвачных животных. К безазотистым полисахаридам относится и АЛГ. Недостаток крахмалсодержащей пищи в ряде развивающихся стран с быстро растущим населением нередко вызывает голод.

Неудивительно, что проблема ХТЗ наиболее интенсивно разрабатывается в таких странах с высокой плотностью населения и дефицитом земли, пригодной для выращивания продуктов питания, как Япония, Южной Корея, Таиланд, Китай, Индия, Южная Корея, Тайвань, Сингапур, Италия, омываемых океанами, морями. Вместе с тем, только морепродуктов, содержащих хитин и ХТЗ, в природе каждый год воспроизводится, по подсчетам Ramesh H.P., Tharanathan R.N. (2003) [63], K.V. Harish Prashanth, R.N. Tharanathan (2007) [34], более 10 миллиардов тонн. Следовательно, на каждого человека ежегодно приходится около полутора тонн обновляющегося неиспользуемого высокоценного биотехнологического сырья и в среднем в течение жизни человека около 100 тонн. Еще не удалось найти дешевый способ полной очистки хитина и ХТЗ от соединений, с которыми они прочно связаны, хотя это нужно для получения полноценных полисахаридов пищи и кормов. Применение АЛГ не требует такой дорогостоящей очистки корма животным.

Хитин и ХТЗ - аналоги целлюлозы, имеющие у 2-го атома углерода вместо гидроксила ацетамидную или аминогруппу. Хитин и ХТЗ выполняют механическую (опорную) и защитную функцию. ХТЗ представляет собой полимер D-глюкозамина β -1,4-(2-ацетиламино-2-дезоксид-глюкоза)_n, содержащий от 3 до 50% ацетамидных групп и, соответственно, от 50 до 97% аминогрупп. Молекулярная масса (ММ) нативного полимера хитина более 1000 кДа. ММ АЛГ водорослей порядка 48-186 кДа и до 4000 кДа у бактерий [32].

ММ ХТЗ колеблется от половины кДа (хитобиозы) до сотен кДа в зависимости от размера деполимеризованных продуктов. Протонированные аминогруппы хитина ($R_1-NH_3^+$) соединены со свободными карбоксильными группами (R_2COO^-) аспарагиновой и глутаминовой аминокислот белков ($R-NH-CO-R_1$). ХТЗ и АЛГ обладают хорошей биосовместимостью с тканями живых организмов, биodeградируемостью, выраженными сорбционными свойствами, неиммуногенны [34, 62]. Содержание ХТЗ в кутикулах разных членистоногих колеблется от 23,7% у некоторых насекомых до 71,4% у ракообразных.

По международной классификации ферментов (КФ) хитиназы (КФ 3.2.1.14) и хитозаназы (КФ 3.2.1.132) гидролизуют β -1,4-2-ацетиламино-2-дезоксид-гликозидные связи в хитине (рис 1). Аналогичный гидролиз продуктов деполимеризации ХТЗ хитотриоз и хитобиоз проводят хитотриазы (хитотриозидазы) и хитобиазы (хитобиозидазы) (КФ 3.2.1.29). Разные микроорганизмы вырабатывают ферменты 18, 19, 20-го семейств хитиназ, которые, в свою очередь, разделяются на 5 классов и на подклассы.

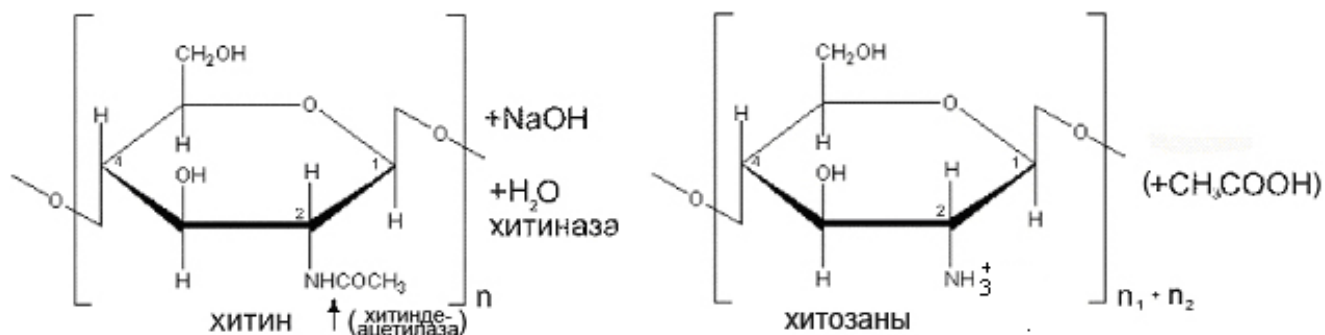


Рис.1 Деполимеризация хитина n с гидролизом части $\beta(1 \rightarrow 4)$ гликозидных связей при участии щелочи, либо гидролитического фермента хитиназы, с образованием двух ХТЗ $n_1 + n_2$. Стрелкой показано место деацетилирования путем гидролиза ацетамидной связи хитиндеацетилазой с образованием вместо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

На рис.1 схематически показана цепь хитина из повторяющихся остатков моносахаридов 2-D-ацетилглюкозамина, соединенных $\beta(1 \rightarrow 4)$ гликозидными связями, которые гидролизуются хитиназой и, аналогично, хитозаназой, мурамидазой (лизоцимом) (КФ 3.2.1.17), N-ацетил- β -D-глюкозаминидазой (КФ 3.2.1.30). Более слабый гидролиз осуществляет пепсин (КФ 3.4.4.1) и липаза (КФ 3.1.1.3). Аналогично проходит гидролиз олигохитозанов с меньшей ММ ХТЗ с образованием хитобиоз и хитотриоз, катализируемый хитобиазами и хитотриазами.

. В свою очередь, цепи хитина соединены между собой водородными и другими связями. В α -хитине цепи расположены параллельно одна другой, в β -хитине – антипараллельно. Более плотная упаковка и более выраженные кристаллические свойства принадлежат β -хитину.

Ацетилированность и деацетилированность ХТЗ оценивают по коэффициентам степени ацетилирования DA (degree of acetylation) и DD (degree of deacetylation):

$$DA = \frac{N - \text{ацетил} - D - \text{глюкозамин} \%}{100\%} \quad \text{и} \quad DD = \frac{D - \text{глюкозамин} \%}{100\%}, \text{ где}$$

100% - это суммарное содержание D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина.

Синтез хитина катализирует хитинсинтаза (КФ 2.4.1.16), превращающая УДФ-2-ацетиламино-2-дезоксид-D-глюкозу и β -1,4-(2-ацетиламино-2-дезоксид-D-глюкозу) $_n$ в УДФ и хитин.

АЛГ – безазотистые полисахариды, состоящие из связанных $[1 \rightarrow 4]$ -гликозидными связями остатков β -D-маннурановой (M) или ее C-5 эпимера α -L-гулурановой кислоты (G), образующих длинные цепи (рис.2). У M 5-эпимеров карбоксильная группа выше шестизначного кольца, а у G эпимеров ниже. Возможны 2 варианта гликозидных связей: $\beta[1 \rightarrow 4]$ при сочетаниях MM или MG и $\alpha[1 \rightarrow 4]$ при сочетании GG, либо GM. В холодной воде АЛГ плохо растворимы, в горячей – растворяется с образованием гелей. Ежегодно обновляется в природе несколько миллиардов тонн АЛГ.

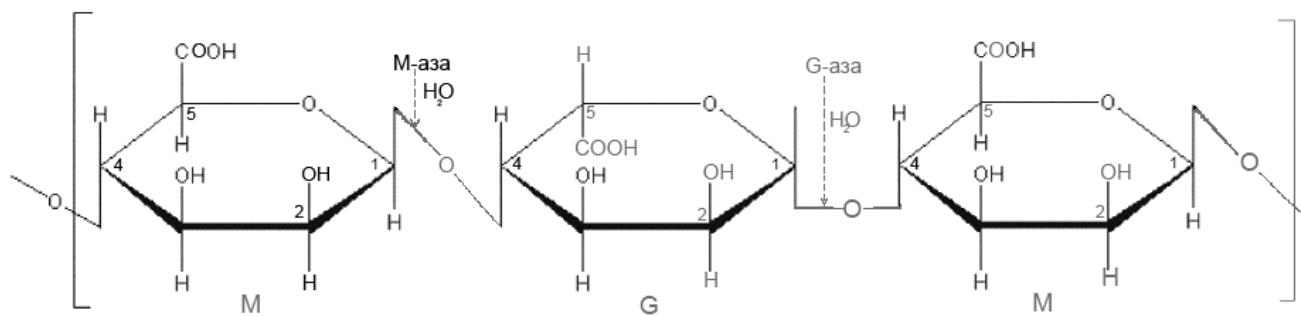


Рис.2 Деполимеризация полимерной структуры альгинатов при гидролизе $\beta(1 \rightarrow 4)$ гликозидных связей между M-G мономерами – β -D-маннуроной (M-азой) и α -L-(1 \rightarrow 4) гликозидных связей между G-M мономерами α -L-гулураной (G-азой).

Альгинатлиазы, иногда называемые альгиназами и альгинагдеполимеразы, катализируют деградацию альгинатов [80]. Очищены и изучены два фермента, определяющие активность альгинатлиаз: β -D-маннуроноза (КФ 4.2.2.3), деполимеризующая β -D-маннуронат, и α -L-гулураноза (КФ 4.2.2.11), деградирующая α -L-гулуранат.

Аналогично показанному на рис.2 гидролизу гликозидных связей между M-G мономерами, M-аза катализирует гидролиз связей между M-M мономерами, а G-азой гидролизует связи между G-G мономерами. Таким образом, каждая из двух альгинатлиаз может участвовать в гидролизе только двух из четырех возможных связей между мономерами.

В бактерии *P. Aerogenosa* многоэтапный синтез альгинатов (АЛГ) последовательно катализируется комплексом ферментов Alg. [32]. Сначала фруктозо-6-фосфат изомеризуется в маннозо-6-фосфат бифункциональным ферментом фосфоманноизомеразой-дифосфоманнопирифосфорилазой (AlgA). Маннозо-6-фосфат при участии ГМФ конвертируется фосфоманнозой (AlgC) в маннозо-1-фосфат. AlgA катализирует конверсию маннозо-1-фосфата в GMP-маннозу, которая окисляется маннозодегидрогеназой (AlgI) до D-маннуроновой кислоты. Полимеризацию GDP-маннуроновой кислоты проводит маннуронатполимераза (Alg8). Затем полиманнуроновая кислота модифицируется ацетилазным комплексом в составе AlgI, AlgJ и AlgF и далее экспортируется через мембрану с помощью образующего пору белка AlgE.

Использование хитозанов и альгинатов в медицине и перспективность их применения в стоматологии.

Многофункциональные и безопасные [62,74] биополимеры ХТЗ и АЛГ используют как биосовместимые, биорезорбируемые и биоадгезивные соединения [17, 28, 33, 45, 33, 45, 48] в медицинских и фармацевтических целях, в том числе в разных имплантационных и инъекционных системах, в ортопедических и пародонтальных композитах [42,77], при обработке ран [56], при регенерации мягких и твердых тканей [52,64], как биореактивный гемостатический агент с антитромбогенными свойствами [55, 77], и как стимулятор иммунной системы хозяина против вирусной и бактериальной инфекции [1]. В результате биodeградации ХТЗ

высвобождаются аминсахара, которые могут включаться в обменные превращения гликозаминогликанов и гликопротеинов, затем экскретироваться [21]. ХТЗ может выполнять специфические клеточные функции, индуцируя цитокины, благоприятно влияющие на гистоархитектонику соединительной ткани, улучшать остеогенез, ангиогенную активность, состояние тканей суставных хрящей [72], кожных регенератов. Микрокапсулы ХТЗ и АЛГ транспортируют ионы, лекарства, гормоны, белки, гены и другие вещества [17, 28, 33, 47, 54, 61, 66, 69, 71, 76]. О применении АЛГ и ХТЗ в ортопедической стоматологии есть многочисленные указания в зарубежной литературе. В отличие от АЛГ о применении ХТЗ в ортопедической стоматологии в российской литературе мало сведений [2,6].

Фармакокинетика разных олигохитиназ зависит от количества в них мономеров глюкозамина [22]. После введения *per os* 30 мг/кг хитобиоз (ХТБ) и хитотриоз (ХТТ) их содержание достигает максимума в плазме крови крысы через 1 час. При введении 100 мг/кг уровень ХТБ выше, чем ХТТ. Хитотетрозы, хитопентозы отсутствуют в плазме в течение 4-х часов после их введения. Отсутствие глюкозамина в плазме (его не вводили), позволяет исключить роль гидролиза хитотетроз и хитопентоз хитобиазой, хитотриазой и другими хитозаназами. Наряду с этим, после внутривенной инъекции снижается уровень ХТБ и ХТТ в плазме с одинаковой скоростью, что отражается при изображении в полулогарифмическом масштабе в виде прямой линии.

Патология пародонта.

Для использования в патологии пародонта требовался ХТЗ с длительно функционирующим составом. Н.Н. Xu et al. (2006) разработали способ приготовления эластичного и достаточно надежного фосфорно-кальциевого цемента (ФКЦ) для восстановления костных дефектов и тканей пародонта [84]. Обычно, подвижность зубов при направленной регенерации тканей пародонта приводит к разрушению ФКЦ. Авторы успешно применили способ изготовления ФКЦ, обеспечивающий сохранение целостности имплантата при подвижности зубов, с соотношением порошка и жидкости 2:1. Сравнивали с ранее применявшимся соотношением 1:1 (контроль). Образцы оценивали по тесту на изгиб, а также с помощью электронной микроскопии и рентгенологического дифракционного анализа. У нового ФКЦ после 28 дней иммерсии тест на изгиб равнялся $5,2 \pm 1,0$ МПа, т.е. был значительно выше, чем в контроле ($1,8 \pm 1,5$), перекрывая показатели сопротивления имплантатов, изготовленных из гидроксиапатита (ГАП), а также из губчатой кости животного происхождения. Предложенный способ изготовления ФКЦ совместно с ХТЗ может использоваться в клинике при регенерации пародонтальных костных дефектов.

При регенерации пародонта еще больше увеличилась надежность ФКЦ после замены композита ФКЦ-ХТЗ на ФКЦ-ХТЗ-лактат (20% ХТЗ-лактата) [82].

Применили 2 варианта лечения повреждений пародонта у собак.

Во-первых, в виде мембраны, в условиях хирургического воспроизведения одностеночных внутрикостных дефектов пародонта (объем 4 куб.см.) у второго премоляра двух собак и аналогичного повреждения у четвертого премоляра четырех животных [85]. Контролем служила лоскутная операция без мембраны. Мембрана с ХТЗ потенцировала поддержку ФКЦ и регенерацию кости, вероятно, благодаря созданию условий, требуемых для удачного завершения манипуляции.

Во-вторых, при горизонтальных костных дефектах нижней челюсти (5 мм глубины и 2 мм ширины) у 3-го и 4-го премоляров с вестибулярной стороны у 10 собак [81]. Для лечения применили конструкцию, состоящую из полисахаридов растения астрогала, ХТЗ, L-полилактид (PLLA) и стволовых клеток костного мозга. Контроль - травма без конструкции. Предложенная конструкция с полисахаридами астрогала и ХТЗ усилила образование новой кости на месте дефекта пародонта, что было видно через 4 недели по появлению в экспериментальной группе островков костеобразования с экспрессией коллагена I-го типа и щелочной фосфатазы. Через 8 недель новообразованная кость была подобна нативной кости. Очевидно, положительный эффект, хотя бы частично, можно объяснить тем, что растения астрогалы в больших количествах концентрируют из почвы микроэлемент Se, являющийся антиоксидантом, необходимым для функционирования 4-х субъединиц Se-содержащего фермента глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9) [7]. ХТЗ с ММ 2,3, 3,27, 5,12 и 15,25 кДа тоже обладают антиоксидантной активностью, как и ХТЗ с ММ 105 кДа [71]. Антиоксидантные свойства зафиксированы даже у хитобиоз и хитотриоз [22]. Известно, что хирургическая травма вызывает окислительный стресс, сопровождающийся выбросом агрессивных активных радикалов кислорода, которые нейтрализуются антиоксидантами. Это положение сохраняет справедливость и для хирургической обработки пародонта.

Цель исследования Ikinçi et al. (2002) заключалась в определении антимикробной активности ХТЗ в форме геля или пленки по отношению к пародонтальному патогену *Porphyromonas gingivalis* [37]. Оценивали вязкость и биоадгезивность препаратов ХТЗ с разной ММ и степенью деацетилирования в присутствии или в отсутствии 0,1 или 0,2% раствора хлоргексидина глюконата. Гель применяли при аппликациях на слизистую оболочку полости рта или после инъекции в десневой карман. Наличие хлоргексидина не влияло на определение биоадгезивности ХТЗ в геле, в пленке, на слизистой оболочке щеки у свиньи. Антимикробная активность ХТЗ увеличивалась с повышением его ММ. Механизм выраженного антимикробного действия ХТЗ Seo et al. (1994) объясняли ионным взаимодействием между протонированными аминогруппами ХТЗ и анионными группами, фосфолипидов и свободными карбоксильными группами моноаминодикарбоновых кислот белков бактериальной стенки [68]. Однако, авторы цитируемой статьи Ikinçi et al. (2002) [37] считают, что механизм комплексный и зависит не только от анионно-катионных связей, а от степени ацетилирования и деацетилирования ХТЗ. Когда

степень деацетилирования (DD) Ikinchi et al.(2002) повышали с 73 до 95% [37], количество протонированных аминокрупп, связывающих анионные группы бактерий, варьировало от 5 до 27%, т.е. более чем в 5 раз, совсем не изменяя антимикробную активность. Комбинация ХТЗ с хлоргексидином обладала бóльшей антимикробной активностью, чем хлоргексидин без ХТЗ. При необходимости многократных повторных введений целесообразно вводить ХТЗ в десневой карман. В форме аппликации геля или пленки на слизистую оболочку авторы статьи рекомендуют применять ХТЗ для лечения пародонтита.

В целях оптимизации процессов костной регенерации в пародонтологии и имплантологии часто необходима костная пластика. Для направленной регенерации костной ткани пробовали и такие варианты подсадки полимеров как матриксный коллаген I-го типа, пористый PLLA(латкид/гликолид)-ГАП, ХТЗ. Результаты предварительных опытов *in vitro* указывают на то, что ХТЗ потенцирует дифференцировку клеток - предшественников и может содействовать образованию кости.

Комплекс из 3,3% микросфер бисфосфоната алендроната с шероховатой поверхностью и 7,7% пористостью микросфер PLLA с успехом применили у пациентов с пародонтитом и остеопорозом [65] [Samdancioglu S. et al., 2006]. Они связывались с кристаллами гидроксиапатита, препятствуя резорбции кости альвеолярного отростка.

При лечении воспаления тканей полости рта проявились высокие антибактериальные, антиоксидантные и противовоспалительные свойства ХТЗ [4. 10-12. 21. 46. 57. 60].

Кариес зубов.

А.А. Майгуров и соавт. (2006) лечили глубокий кариес с помощью ХТЗ, нанесенного на дно кариозной полости в составе пасты, содержащей 2% геля аскорбата ХТЗ (степень DA 95%, MM 180-200 кДа) и окиси цинка в пропорции 1:2 [4]. Значительный бактериостатический и антибактериальный эффект, отсутствие токсичности ХТЗ были весомыми аргументами в пользу применения ХТЗ при данной патологии. Через 7 дней после начала лечения кариеса в пульпе возросло количество молодых фибробластов. Через 14 дней еще больше повысилось их количество в субдонтотластическом слое. Видны отложения заместительного дентина, как признак стимуляции обменных процессов. Через 3 месяца видны облитерация дентинных трубочек и минерализация репаративного дентина. Пульпа многоклеточная, с пролиферацией мезенхимальных клеток, восстановлены ряды одонтобластов. Примененная терапия усилила защитную функцию пульпы, быстро восстановила нормальную гистологию, физиологические и метаболические функции пульпы.

А.А. Солнцев, И.Н. Большаков, О.В. Кудреватых (2003) сравнивали результаты лечения глубокого кариеса 20 зубов у 15 пациентов традиционными методами и 40 зубов у 30 больных пастой с применением лечебной прокладки Кальциесил из 2% геля аскорбата ХТЗ с DA 99%, MM 120 кДа и окись цинка в соотношении 1:3 [8]. Препарировали кариозные полости, обрабатывали

раствором гексидина, высушивали, на дно полости наносили лечебную прокладку с ХТЗ и изолирующую прокладку, пломбировали. Оценивали состояние результатов лечения несколько раз до 30 суток после наложения пломбы, включая электровозбудимость пульпы и рентгенологическое обследование. Паста с ХТЗ на неделю ускорила нормализацию электровозбудимости пульпы. Регенерация нервного аппарата пульпы также ускорялась при пасте с ХТЗ.

Раствор водорастворимого низкомолекулярного ХТЗ больше уменьшал, чем дистиллированная вода или 0,1% раствор гексидина, количество и адсорбцию к гидроксиапатиту *Str. mutans*, величину и pH зубного налета [14,70,74]. Эти результаты совпадают с наблюдениями Н. Sano et al. (2003) по снижению образования зубного налета и числа *Str. mutans* после двухнедельного ополаскивания полости рта 0,5% раствором ХТЗ.

И.В. Орешкин и Л.Д. Зыкова (2003) в эксперименте обосновали возможность применения 4,6 и 8% гелевых форм ХТЗ с окисью цинка для лечения хронического периодонтита, которые составляют около 30% среди осложнений форм кариеса зубов и являются очагами хронической инфекции, интоксикации и аллергизации организма, а также главной причиной одонтогенных воспалительных процессов челюстно-лицевой области [5]. У животных определяли антибактериальное действие гелевых форм ХТЗ на микрофлору, выделенную из корневых каналов зубов с хроническим периодонтитом, и патоморфологию периодонта. Бактериостатическое действие ХТЗ проявлялось в основном в течение 24 часов на бактерии *Lactobacillus sp.*, *Str. salivaris*, *Vacillus sp.* и на дрожжеподобные грибы *Candida crusei* и более слабым действием на другие. Через 3-6 мес. демонстрируются процессы новообразования кости и цемента корня зубов, выраженный противовоспалительный эффект.

Переломы и другие дефекты челюстных костей.

При восстановительных операциях лицевых костей использовали ХТЗ-кальцийфосфатные композиты [30,31,47,82], ХТЗ-кальцийсульфатные [25,29], ХТЗ-лактат-гликолатный [39], с полиглутаматом [35], полидезаминозил-тирозин-этилового эфира поликарбонат в виде мембраны на нижней челюсти [13]. Авторов удовлетворил итог использования композитов с ХТЗ.

Еще одна группа исследований была проведена с композитами, содержащими ХТЗ с коллагеновыми полипептидами и кальцитонином [47] и BMP-2. *In vitro* показали, что рекомбинантный комплекс, состоящий из ХТЗ, желатина и BMP-2 человека вызывал экспрессию гена кальцитонина и приводил к выраженной остеогенетической реакции остеобластов у мышей [50]. *In vivo* видели, что рекомбинантный BMP-2 человека с ХТЗ на пленке вызывает остеоинтеграцию при хирургическом протезировании [51]. Park et al. (2006) при направленной регенерации кости на мембране из нановолокон ХТЗ, конъюгированного с морфогенетическим белком BMP-2, получили локальную индукцию кости [59]. Yoshida et al. (1999) также

использовали рекомбинантный BMP-2 с пористым гидроксиапатитом при лечении дефекта нижней челюсти человека [86].

Park et al (2005) установили, что композиты ХТЗ-гель альгината со стволовыми клетками и BMP-2 на мышцах являются весьма активной остеогенной субстанцией [58]. В дальнейшем, они могут найти клиническое применение при регенерации новой кости.

Широко применяется во многих странах мира хирургический способ коррекции кости без трансплантации компрессионно-дистракционный остеогенез (КДО), разработанный Г.А. Илизаровым и выполняемый с помощью специального аппарата. Метод позволяет дозировано по 1 мм в сутки индуцировать образование новой кости по направлению вектора силового напряжения аппарата. Мягкие ткани при растяжении сохраняются.

М.Б. Швырков (1988) предложил две модификации аппарата для КДО огнестрельных ранений нижней челюсти на основании большого клинического опыта, накопленного им во время боевых событий в Афганистане.

Различают 3 клинические стадии КДО: латентности, дистракции и консолидации.

Для повышения эффективности аппарата Г.А. Илизарова дополнительно имплантируют в зону дистракции биологически активные вещества (БАВ).

Так, Cho et al. (2002) исследовали действие кальция сульфата в его комбинации с гиалуроновой кислотой и хитозаном при компрессионно-дистракционном остеогенезе у собак [27]. Сроки выведения из эксперимента 3 и 6 недель. В группе собак, которым в область дистракции вводили сульфат кальция в комбинации с гиалуроновой кислотой и кальций сульфат с хитозаном, активно формировалась молодая костная ткань. Новая кость появлялась рядом с кортикальной костью после 6 недель имплантации. В группе с хитозаном и в группе с гиалуроновой кислотой развитие новой кости наблюдалось в зоне дистракции к 6 неделям, однако в меньшем количестве, чем в группе сульфата кальция с ХТЗ и группе сульфата кальция с гиалуроновой кислотой. Находки подтвердили, что сульфат кальция в комбинации с хитозаном или гиалуроновой кислотой оказывают больший эффект в консолидации и формировании новой костной ткани.

В другой работе Cho et al. (2005) имплантировали капсулу, содержащую ХТЗ в 1 мл гиалуроновой кислоты в область КДО [24]. На протяжении 6 недель оптическая плотность и гистологическая картина зоны регенерации быстрее приближалась к уровню здоровых собак, чем при КДО без имплантата.

I.S. Kim et al. (2002) положительно оценили КДО челюстно-лицевых костей у собак при имплантации водорастворимого ХТЗ (300 кДа) с BMP-4 и фактором роста β ig-h3 [43]. Они исследовали эффект действия хитозана в ранней стадии консолидации при КДО в модели на собаках. Результаты показали, что ХТЗ стимулирует остеогенные клетки предшественники и способствует адгезии, ускоряя формирование костной ткани. В этой статье цитируется много зарубежных работ, в которых следовали методическим указаниям Г.А. Илизарова, в том числе

наиболее оптимальному расстоянию distraction 1 мм в день при КДО нижней челюсти человека и животных.

Диссертация С.А. Шоминой (2002) содержит результаты комплексного лечения ХТЗ гнойных заболеваний полости рта [9]. Дополнительным воздействием было низкоинтенсивное лазерное излучение в ИК-диапазоне. Его действия значительно усиливаются фотосенсибилизатором метиленовой синью. Результативность исследования подтверждается большим микробиологическим материалом. Условнопатогенная микрофлора более чувствительна к ХТЗ, чем нормальная микрофлора. ХТЗ высоко активен по отношению ко многим патогенным микроорганизмам, причем количество бактерий снижается от 10^9 КОЕ/мл до 10^2 КОЕ/мл и даже до нуля у стафилококков и стрептококков. Положительно влияет однократная обработка гнойной раны с помощью указанного метода у больных с острыми гнойными периоститами, а при абсцессах и флегмонах уменьшает количество микробных тел. ХТЗ усиливает местный иммунитет и сокращает время лечения.

Kawakami et al. (1992) изучали эффект пасты ГА-хитозан, когда на поверхности кости после удаления периоста формирование новой кости начиналось после 1 недели и продолжалось в течение 20 недель [41]. Авторы отмечают, что эта паста может быть использована как остеопластический материал для заполнения костных дефектов.

Hu et al. (2004) получили многослойный нанокompозит хитозан-ГА с высоким модулем прочности, который можно было использовать для внутренней фиксации длинных костных переломов [36].

Имплантология.

Bumgardner et al. (2003) исследовали взаимодействие ХТЗ с титановыми имплантатами. Авторы отметили, что титан, покрытый ХТЗ, имеет с ним стойкую связь (1,5-1,8 МПа), но меньшую, чем титан, покрытый фосфатом кальция. Адгезия остеобластов на титане, покрытых ХТЗ, была большей, чем на непокрытом. Результаты показали, что ХТЗ как биосовместимый и биорезорбируемый биополимер может использоваться для покрытия внутрикостных имплантатов [19].

Wang et al. (2004) применили композит кальций фосфата с ХТЗ для покрытия имплантатов и отметили стимуляцию стромальных клеток, усиление адгезии остеобластов и активное формирование костной ткани [78].

Bumgardner et al. (2007) показали, что титан, покрытый ХТЗ, поддерживает образование кости и остеоинтеграцию. Да ХТЗ 92,3% (в 1% уксусной кислоте) покрывали стержни из титана 2 мм диаметром и 4мм длиной [18]. Кальция фосфат напыляли на покрытый титановым стержень (опыт) и на непокрытый (контроль). Оба стержня имплантировали в кость кроликов. Через 2,4,8 и 12 недель животных выводили из опыта. Сравнивали гистологическую картину недекальцинированных секций в области имплантации. У опытных кроликов выявлялись

минимальные признаки воспаления, типичное образование фиброзной ткани с последующими стадиями созревания кости. По мнению авторов, это свидетельствует о возможности применения описанного метода в стоматологической и ортопедической имплантологии.

Martin et al. (2007) успешно использовали 3-аминопропилтриэтоксисилан для прочного связывания ХТЗ с поверхностью титанового имплантата [53].

Ортопедическая стоматология.

Если АЛГ хорошо известен стоматологам как слепочная масса, то адгезивные свойства ХТЗ мало знакомы российским стоматологам. Еще выше адгезивные свойства препарата «Тизоль» (гель глицерата титана с ХТЗ). Кроме того, ХТЗ используют для обезвреживания остаточного мономера, выделяющегося из акриловых протезов в ротовую полость пациентов. Как известно, готовят полимерные протезы из порошка (полимера и инициатора полимеризации) и жидкого мономера (метилакрилата или метилметакрилата). Полимер безвреден, однако остаточный мономер, присутствующий в изделии, может оказать вредное воздействие на человека, когда поступает в ротовую полость. Метилметакрилат весьма опасен при нахождении в ротовой полости, его предельно допустимая концентрация в воде составляет 0,01 мг/мл. Свободный мономер может вызвать аллергию. Вместе с тем, прием ХТЗ значительно снижает выход акриловых мономеров в полость рта. ХТЗ с производными акриловой кислоты образует N-этилированные замещенные продукты. С.Е. Желудев с сотр. показали, что одно из производных акриловой кислоты акриламид взаимодействует с ХТЗ твердофазно [2,6]. У пациентов применяли высокоадгезивные смеси для этой цели. На рис.3 представлена схема связывания акрилатов с ХТЗ по Sashiwa et al. (2003) [67].

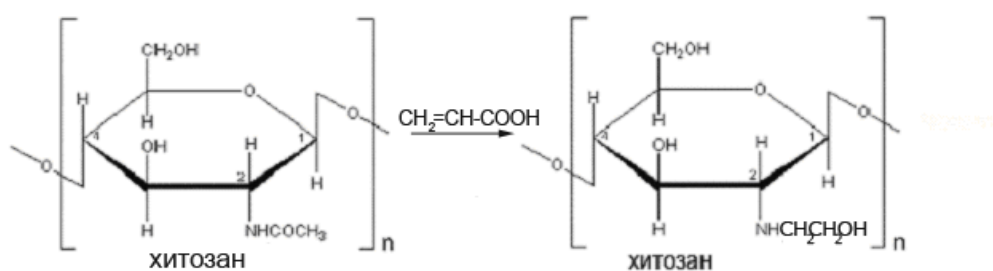


Рис.3 Схема реакции ХТЗ с альгинатами.

Приводимые сведения необходимы стоматологам для их практической деятельности. В этой связи провели анкетирование 142 стоматологов-ортопедов Свердловской области. Опрос показал, что стоматологи недостаточно представляют возможности адгезивных средств. «Стоматологи (60%) не информированы об адгезивных средствах, не имеют достаточной информации о положительном влиянии адгезивных средств на фиксацию протеза и адаптацию к

нему, поэтому и не видят смысл в их использовании» (цит. по 64 стр. монографии зав.каф. ортопедической стоматологии Уральской медакадемии проф. С.Е. Жолудев и соавт., 2007).

Заключение.

Обзор литературы публикуется, чтобы уникальные качества биополимера XXI века ХТЗ: биосовместимость, биорезорбируемость, биоадгезивность, нетоксичность, гемостатичность, участие в инкапсулировании, транспорте лекарств, БАВ, белков, ферментов, генов и антибактериальные свойства нашли широкое практическое применение при лечении взрослых и детей. АЛГ успешно используются российскими стоматологами в практической деятельности как оттисковые массы и адгезивные средства. Другие менее известные свойства АЛГ, представленные в обзоре, также могут оказаться полезными для врачей стоматологов.

Список литературы

1. Байтукалов Т.А., Богословская О.А., Ольховская И.Н. и соавт. Регенеративная активность и антибактериальный эффект низкомолекулярного хитозана. – Известия Росс. Акад. Наук. - Серия биол. - 2005.- №.6. - С.659-663.
2. Желудев С.Е. Адгезивные средства в ортопедической стоматологии. М. Изд.«Стоматология». 2007.-108 с.
3. 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.
4. 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.
5. Орешкин И.В., Зыкова Л.Д. Экспериментальное обоснование применения препаратов хитозана для лечения хронического периодонтита. - Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана. Материалы VII международной конференции. – Изд. «ВНИРО». – М. – 2003. – С.184-185.
6. 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.
7. Петрович Ю.А., Подорожная Р.П. Селеноэнзимы и другие селенопротеины. Их биологическое значению - Успехи совр. биол. - 1981.-Т.91. - Вып.1. - С.127-147.
8. Солнцев А.С., Большаков И.Н., Кудреватых О.В. Результаты лечения глубокого кариеса с применением хитозансодержащих паст. - Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана. Материалы VII Международной конференции. - Изд. «ВНИРО». – М. - 2003. – С.196-197.
9. Шомина С.А. Применение хитозана в лечении острых воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области. Дисс. канд. мед. наук. – Тверь. – 2002. – 196с.
10. Amaral I.F., Cordeiro A.L., Sampaio P. et al. Attachment, spreading and short-term proliferation of human osteoblastic cells cultured on chitosan films with different degrees of acetylation // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. – 2007. – Vol.18. - №.4. – P.469-485.
11. Amaral I.F., Langhari M., Sousa S.R. et al. Rat bone marrow stromal cell osteogenic differentiation and fibronectin adsorption on chitosan membranes: the effect of the degree of acetylation // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2005. – Vol.75. - №.2. – P.387-397.
12. Amaral I.F., Sampaio P., Barbosa M.A. Three-dimensional culture of human osteoblastic cells in chitosan sponges: the effect of the degree of acetylation // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2006. – Vol.76. - №.2. – P.335-346.
13. Asikainen A.J., Noponen J., Lindqvist C. et al. Tyrosine-derived polycarbonate membrane in treating mandibular bone defects. An experimental study // J. R. Soc. Interface. - 2006. - Vol.3. - №.10. - P.629-635.

14. Bae K., Jun E.J., Lee S.M. et al. Effect of water-soluble reduced chitosan on *Streptococcus mutans*, plaque regrowth and biofilm vitality // *Clin. Oral. Investig.* - 2006. - Vol.10. - №.2. - P.102-107.
15. Bernkop-Senürch A. Thiomers: a new generation of mucoadhesive polymers // *Adv. Drug Deliv. Rev.* - 2005. - Vol.57. - №.11. - P.1569-1582.
16. Bjerkan T.M., Lillehov B.E., Strand W.I. et al. Construction and analyses of hybrid *Azotobacter vinelandii* mannuronan C-5 epimerases with new epimerization pattern characteristics // *Biochem. J.* - 2004. - Vol.381. - P.813-821.
17. Borchard G. Chitosans for gene delivery // *Adv. Drug Deliv. Rev.* - 2001.-Vol.52. - №.2. - P. 145-150.
18. Bumgardner J.D., Chesnutt B.M., Yuan Y. et al. The integration of chitosan-coated titanium in bone: an in vivo study in rabbits // *Implant. Dent.* - 2007. - Vol.16. - №.1 - P.66-79.
19. Bumgardner J.D., Wisner 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. - P.1401-1409.
20. Bumgardner J.D., Wisner 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. - P.423-438.
21. Chatelet C., Damour O., Domard A. Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films // *Biomaterials.* - 2001. - Vol.22. - P.261-268.
22. Chen A.-S., Taguchi T., Sakai K. et al. Antioxidant activities of chitobiose and chitotriose // *Biol. Pharm. Bull.* - 2003. - Vol.26. - №.9. - P.1326-1330.
23. Cho B.C., Chung H.Y., Lee D.G. et al. The effect of chitosan bead encapsulating calcium sulfate as an injectable bone substitute on consolidation in the mandibular distraction Osteogenesis of a dog model // *J. Oral Maxillofac. Surg.* - 2005. - Vol.63. - P.1753-1764.
24. Cho B.C., Kim J.Y., Lee J.H. et al. The bone regenerative effect of chitosan microsphere-encapsulated growth hormone on bony consolidation in mandibular distraction osteogenesis in a dog model // *J. Craniofac. Surg.* 2004. - Vol.15. - №.2. - P.299-311.
25. Cho B.C., Kim T.G., Yang J.D. et al. Effect of calcium sulfate-chitosan composite: pellet on bone formation in bone defect // *J. Craniofac. Surg.* - 2005. - Vol.16. - №.2. - P.213-224.
26. Cho B.C., Moon J.H., Chung H.Y. The bone regenerative effect of growth hormone on consolidation in mandibular distraction osteogenesis of a dog model // *J. Craniofac. Surg.* - 2003. - Vol.14. - №.3. - P.417-425.
27. 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.
28. Coppi G. et al. Chitosan-alginate microparticles as a protein carrier // *Drug Dev. Ind. Pharm.* - 2001. - Vol.27. - №.5. - P.393-400.

- 29.d'Ayala G.G., De Rosa A, Laurienzo P. et al. Development of a new calcium sulphate-based composite using alginate and chemically modified chitosan for bone regeneration // *J. Biomed. Mater. Res. A.* - 2007. - Vol.81. - №.4. - P.811-820.
- 30.Ding S.J. Preparation and properties of chitosan/calcium phosphate composites for bone repair // *Dent. Mater. J.* - 2006.- Vol.25. - №.4. - P.706-712.
- 31.Finisie M.R., Josué A., Fávere V.T. et al. Synthesis of calcium-phosphate and chitosan bioceramics for bone regeneration // *An. Acad. Bras. Ciênc.* – 2001. – Vol.73. - №.4.
- 32.Galindo E., Peña C., Nuñez C. et al. Molecular and bioengineering strategies to improve alginate and polyhydroxyalkanoate production by *Azobacter vinelandii* // *Microbial cell factories.* - 2007. - Vol.6. - №1. – P.7-33.
- 33.George M., Abraham T.E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan—a review // *J. Control. Release.* – 2006. – Vol.114. - №.1. – P.1-14.
- 34.Harish Prashanth K.V., Tharanathan R.N. Chitin-chitosan: modifications and their unlimited application potential - an overview // *Trends in food science & technology.* – 2007. – Vol.18. – P.117-131.
- 35.Hsieh C.Y., Tsai S.P., Wang D.M. et al. Preparation of gamma-PGA-chitosan composite tissue engineering matrices // *Biomaterials.* – 2005. – Vol.26. - №.28. – P.5617-5623.
- 36.Hu Q. Li B., Wang M. et al. Preparation and characterization of biodegradable chitosan-hydroxyapatite nanocomposite rods via in situ hybridization: a potential material as internal fixation of bone fracture // *Biomaterials.* – 2004. – Vol.25. - №.5. – P.779-785.
- 37.Ikinci G., Şenel S., Akincibay H. et al. Effect of chitosan on a periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* // *Int. J. of Pharmaceuticals.* – 2002. – Vol. 235. – P.121-127.
- 38.Inanç B., Elçin A., Koç A. et al. Encapsulation and osteoinduction of human periodontal ligament fibroblasts in chitosan-hydroxyapatite microspheres // *J. Bimed. Mater. Res. A.* – 2007 – ahead of print.
- 39.Jiang T., Abdel-Fattah W.I., Laurencin C.T. In vitro evaluation of chitosan/poly (lactic acid-glycolic acid) sintered microsphere scaffolds for bone tissue engineering // *Biomaterials.* - 2006. - Vol.27. - №.28. - P.4894-4903.
- 40.Jung W.K., Moon S.H., Kim S.K. Effect of chitooligosaccharides on calcium bioavailability and bone strength in ovariectomized rats // *Life Sci.* – 2006. – Vol.78. - №.9. – P.970-976.
- 41.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.
- 42.Khor E., Lim L.Y. Implantable applications of chitin and chitosan // *Biomaterials.* – 2003. – Vol.24. – P.2339-2349.
- 43.Kim I.S., Park J.W., Kwon I.C. et al. Role of BMP, betaig-h3, and chitosan in early bony consolidation in distraction Osteogenesis in a dog model // *Past. Reconstr. Surg.* – 2002. – Vol.109. - №.6. – P.1966-1977.
- 44.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.5715-5723.

- 45.Krajewska B. Membrane-based processes performed with use of chitin-chitosan materials // Separation and Purification Technology. – 2005. – Vol.41. – P.305-312.
- 46.Li D.X., Fan H.S., Zhu X.D. Controllable release of salmon-calcitonin in injectable calcium phosphate cement modified by chitosan oligosaccharide and collagen polypeptide // J. Mater. Sci. Mater. Med. - 2007. – ahead of print.
- 47.Li T., Shi X.W., Du Y.M. et al. Quaternized chitosan-alginate nanoparticles for protein delivery // J. Biomed. Mater. Res. Part A. – 2007. - ahead of print.
- 48.Li X.Y., Jin L.J., McAllister T.A. et al. Chitosan-alginate microcapsules for oral delivery of egg yolk immunoglobulin (IgY) // J. of Agric. Food Chem. – 2007. – Vol.55. – P.2911-2917.
- 49.Liang D., Zuo A., Wang B., Zhang J. In vitro osteogenesis of the compound of chitosan and recombinant human bone morphogenetic protein 2. // Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. - 2005. - Vol. - 19. - №.9. - P.721-724.
- 50.Lin Y.H., Mi F.L., Chen C.T. et al. Preparation and characterization of nanoparticles shelled with chitosan for oral insulin delivery // Biomacromolecules. 2007.- Vol.-8.- №.1.-P.146-152.
- 51.López-Lacomba J.L., García-Cantalejo J.M., Sanz Casado J.V. et al. Use of rhBMP-2 activated chitosan films to improve osseointegration // Biomacromolecules. - 2006. - Vol.7. - №.3. - P.792-798.
- 52.Ma L., Gao C., Mao Z. et al. Collagen-chitosan porous scaffolds with improved biostability for skin tissue engineering // Biomaterials. – 2003. - Vol.24. – P.4833-4841.
- 53.Martin H.J., Schulz K.H., Bumgardner J.D. et al. XPS study on the use of 3-aminopropyltriethoxysilane to bond chitosan to a titanium surface // Langmuir. – 2007. – Vol.23. - №.12. – P.6645-6651.
- 54.Meera G., Abraham T.E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan – a review // J of Controlled Release. – 2006. – Vol.114. – P.1-14.
- 55.Muzzarelli C., Muzzarelli R.A.A. Natural and artificial chitosan-inorganic composites // J. of Inorganic Biochemistry. – 2002. – Vol.92. – P.89-94.
- 56.Muzzarelli R.A.A., Muzzarelli C. Chitosan chemistry: relevance to the biomedical sciences // Adv. Polym. Sci. – 2005. – Vol.186. – P.151-209.
- 57.Qno K., Saito Y., Yura H. et al. Photocrosslinkable chitosan as a biological adhesive // J. Biomed. Mater. Res. 2000.- Vol.49.- № 2.-P.289-295.
- 58.Park D.J., Choi B.H., Zhu S.J. et al. Injectable bone using chitosan-alginate gel-mesenchymal stem cells-BMP2 composites // J. Craniofac. Surg. – 2005. – Vol.33. - №.1. – P.50-54.
- 59.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. - №.1. - P.17-24.
- 60.Park Y.J., Lee Y.M., Park S.N. et al. Platelet derived growth factor releasing chitosan sponge for periodontal bone regeneration // Biomaterials. – 2000. – Vol.21. – P.153-159.

- 61.Pasparakis G., Bouropoulos N. Swelling studies and in vitro release of verapamil from calcium alginate and calcium alginate-chitosan beads // *Int. J. of Pharmaceutics.* – 2006. – Vol.323. – P.34-42.
- 62.Qin C., Gao J., Wang L. et al. Safety evaluation of short-term exposure to chitoooligomers from enzymic preparation // *Food and Chemical Toxicology.* – 2006. - Vol.44. – P.855-861.
- 63.Ramesh H.P., Tharanathan R.N. Carbohydrates - the renewable raw materials of high biotechnological value // *Crit. Rev. Biotechnol.* – 2003. – Vol.23. - №.2. – P.149-173.
- 64.Ruel-Garriepy E., Chenite A., Chaput C. et al. Characterization of thermosensitive chitosan gels for the sustained delivery of drugs // *Int. J. of pharmaceutics.* – 2000. – Vol.203. – P.89-98.
- 65.Samdancioglu S., Calis S., Sumnu M. Formulation and in vitro evaluation of bisphosphonate loaded microspheres for implantation in osteolysis // *Drug Dev. Ind. Pharm.* - 2006. - Vol.32. - №.4. - P.473-481.
- 66.Sarmento B., Ribeiro A., Veiga F. et al. Alginate-Chitosan nanoparticles are effective for oral insulin delivery // *Pharmaceutical research.* – 2007 - ahead of print.
- 67.Sashiwa H., Yamamori N., Yoshifumi I. et al. Michael reaction of chitosan with various acryl reagents in water // *Biomacromolecules.* – 2003. - №4. – P.1250-1254.
- 68.Seo H., Shoj, A., Itoh, Y. et al. Antibacterial fiber blended with chitosan // *Chitin World.* - Wirtschaftsverlag NV-Verlag fur neue Wissenschaft GmbH, Germany. - 1994. - P. 623-631.
- 69.Serp D. et al. Characterization of an encapsulation device for the production of monodisperse alginate beads for cell immobilization // *Biotechnol. Bioeng.* - 2000. - Vol.70. - №.1. - P.41-53.
- 70.Shibasaki K., Sano H., Matsukubo T., Takaesu Y. pH response of human dental plaque to chewing gum supplemented with low molecular chitosan // *Bull. Tokyo Dent. Coll.* - 1994. - Vol.35. - №.2. - P.61-66.
- 71.Stabler C. et al. The effects of alginate composition on encapsulated betaTC3 cells// *Biomaterials* - 2001. - Vol.22. - №.11. - P.1301-1310.
- 72.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.
- 73.Sun T., Zhou D., Xie J. et al. Preparation of chitosan oligomers and their antioxidant activity // *Eur. Food Res. Technol.* – 2007. – Vol.225. – P.451-456.
- 74.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.
- 75.Tiğh R.S., Karakeçili A., Gümüşderelioğlu M. In vitro characterization of chitosan scaffolds: influence of composition and deacetylation degree // *J. Mater. Sci: Mater. Med.* – 2007. – Vol.18. – P.1665-1674.
- 76.Tonnesen HH, Karlsen J. Alginate in drug delivery systems// *Drug Dev. Bid. Pharm.* - 2002.- Vol.28. - P.621-630.
- 77.Wang L., Khor E., Lim L-Y. Chitosan-alginate-CaCl system for membrane coat application // *J. of pharmaceutical sciences.* – 2001. – Vol.90. – №.8. – P.1134-1142.

78.Wang, J. van Apeldoorn A., de Groot K. Electrolytic deposition of calcium phosphate/chitosan coating on titanium alloy: growth kinetics and influence of current density, acetic acid, and chitosan // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2004. – Vol.76. - №.3. – P.503-511.

79.Weiss S., Baumgart., Jochum M. et al. Systemic regulation of distraction osteogenesis: a cascade of biochemical factors // J. Bone Miner. Res. – 2002. – Vol.17. - №.7. – P.1280-1289.

80.Wong T.Y., Preston L.A., Schiller N.L. Alginate lyase: review of major sources and enzyme characteristics, structure-function analysis, biological roles, and applications // Annu. Rev. Microbiol. – 2000. – Vol.54. – P.289-340.

81.Xu C.J., Guo F., Gao Q.P. et al. Effects of astragalus polysaccharides-chitosan/poly(lactic acid) scaffolds and bone marrow stem cells on repairing supra-alveolar periodontal defects in dogs // Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. - 2006. - Vol.31. - №.4. - P.512-517.

82.Xu H.H., Quinn J.B., Takagi S. et al. Processing and properties of strong and non-rigid calcium phosphate cement // J. Dent. Res. - 2002. - Vol.81. - №.3. - P.219-224.

83.Xu H.H., Quinn J.B., Takagi S. et al. Synergistic reinforcement of in situ hardening calcium phosphate composite scaffold for bone tissue engineering // Biomaterials. – 2004. – Vol.25. – P.1029-1037.

84.Xu H.H., Takagi S., Sun L. et al. Development of a nonrigid, durable calcium phosphate cement for use in periodontal bone repair // J. Am. Dent. Assoc. – 2006. – Vol.137. - №.8. – P.1131-1138.

85.Yeo Y.J., Jeon D.W., Kim C.S..et al. Effects of chitosan nonwoven membrane on periodontal healing of surgically created one-wall intrabony defects in beagle dogs // J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater. - 2005. - Vol.72. - №.1. - P.86-93.

86.Yoshida K, Bessho K, Fujimura K, Konishi Y, Kusumoto K, Ogawa Y, Iizuka T. Enhancement by recombinant human bone morphogenetic protein-2 of bone formation by means of porous hydroxyapatite in mandibular bone defects // J. Dent. Res. - 1999. - Vol.78. - №.9. - P.1505-1510.