

ВЛИЯНИЕ МОДИФИКАЦИИ ПОВЕРХНОСТИ РАНЕВОГО ПОКРЫТИЯ «ФОЛИДЕРМ» ПРОИЗВОДНЫМИ ХИТИНА НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ ФИБРОБЛАСТОВ

Б.А.Парамонов.¹, И.В. Чмырёв.², Х.Т.Хоанг.³, Н.В.Скворцов.⁴, Д.В.Щеголев.⁵, Н.С.Дмитриев.⁶,
Д.К.Эгамбердиев.⁷, У.Ш.Эргашов.⁸, А.А.Абдурашидов.⁹

^{1,2,3}Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия,

⁴Государственный научно - исследовательский институт особо чистых биопрепаратов,
Санкт-Петербург, Россия,

^{5,6}Объединенный институт ядерных исследований, Лаборатория ядерных реакций им. Г. Н. Флерова, г.
Дубна Московской обл., Россия.

^{7,8,9}Ферганский медицинский институт общественного здоровья, г. Фергана, Узбекистан.

Для цитирования: © Парамонов Б.А., Чмырёв И.В., Хоанг Х.Т., Скворцов Н.В., Щеголев Д.В., Дмитриев Н.С., Эгамбердиев Д.К., Эргашов У.Ш., Абдурашидов А.А.
ВЛИЯНИЕ МОДИФИКАЦИИ ПОВЕРХНОСТИ РАНЕВОГО ПОКРЫТИЯ «ФОЛИДЕРМ» ПРОИЗВОДНЫМИ ХИТИНА НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ ФИБРОБЛАСТОВ. ЖКМП.-2024.-Т.1.-№1.-С

Поступила: 19.01.2024

Одобрена: 02.02.2024

Принята к печати: 05.03.2024

Аннотация: Раневое покрытие «Фолидерм» по своей сути является микробным фильтром и применяется в качестве раневого покрытия при ожогах. Нанесение биоактивного слоя из производных хитина позволяет мобилизовать на поверхности покрытия лекарственные вещества и повысить лечебную эффективность. Изучены свойства биоактивного слоя различного состава посредством электронной микроскопии и с использованием клеточных культур (фибробластов). Установили, что лучшие результаты достигнуты при применении дибутрилхитина (ДБХ), при нанесении которого формируется нежная сеточка полимера, не закрывающая поры трековой мембраны. При этом, ДБХ является малотоксичным веществом и не нарушает пролиферацию клеток.

Ключевые слова: раневое покрытие; производные хитина; фибробласты, дибутрилхитина, хитозан

XITIN HOSILALARI BO'LGAN "FOLIDERM" MODIFIKATSIYASINING JAROHAT YUZASIDA FIBROBLASTLARNING PROLIFERATSIYASIGA TA'SIRI

В.А.Парамонов.¹, И.В.Чмырьов.², Х.Т.Хоанг.³, Н.В.Скворцов.⁴, Д.В.Щеголев.⁵, Н.С.Дмитриев.⁶,
Д.К.Эгамбердиев.⁷, У.Ш.Эргашов.⁸, А.А.Абдурашидов.⁹

^{1,2,3}S.M.Kirov nomidagi Harbiy tibbiyot akademiyasi, Sankt-Peterburg, Rossiya,

⁴Yuqori sof biologik preparatlar davlat ilmiy tadqiqot instituti, Sankt-Peterburg, Rossiya,

^{5,6}Birlashgan Yadro tadqiqotlari instituti, Yadro reaksiyalari laboratoriyasi. G. N. Flerova, Dubna, Moskva viloyati,
Rossiya,

^{7,8,9}Farg'ona jamoat salomatligi tibbiyot instituti, Farg'ona, O'zbekiston.

Izoh: © Paramonov B.A., Chmiryov I.V., Xoang X.T., Skvorsov N.V., Shegolev D.V., Dmitriyev N.S., Egamberdiyev D.K., Ergashov U.Sh., Abdurashidov A.A.
XITIN HOSILALARI BO'LGAN "FOLIDERM" MODIFIKATSIYASINING JAROHAT YUZASIDA FIBROBLASTLARNING PROLIFERATSIYASIGA TA'SIRI. KPTJ.-2024-N.1.-№1-M

Qabul qilindi: 19.01.2024

Ko'rib chiqildi: 02.02.2024

Nashrga tayyorlandi: 05.03.2024

Аннотация: Фолидерм яра qoplamalari asosan mikroblar filtri bo'lib, kuyishlarni davolashda yara qoplamasi sifatida ishlatiladi. Xitin hosilalarining bioaktiv qatlamini qo'llash dorivor moddalarni qoplama yuzasiga safarbar qilish va terapevtik samaradorlikni oshirish imkonini beradi. Turli tarkibli bioaktiv qatlamning xossalari elektron mikroskopiya va hujayra kulturasi (fibroblastlar) yordamida o'rganildi. Ma'lum bo'lishicha, eng yaxshi natijalarga dibutirilxitin (DBX) qo'llanganda erishilgan, qo'llanganda nozik polimer tarmog'i hosil bo'ladi. Bu yo'l membranasi teshiklarini qoplamaydi. Shu bilan birga, DBX kam zaharli moddadir va hujayra proliferatsiyasiga to'sqinlik qilmaydi.

Калит so'zlar: yarani qoplash; xitin hosilalari; fibroblastlar, dibutirilxitin, xitozan

INFLUENCE OF MODIFICATION OF THE SURFACE OF THE WOUND DRESSING «FOLIDERM» WITH CHITIN DERIVATIVES ON THE PROLIFERATION OF FIBROBLASTS

Paramonov B.A.¹, Chmirev I.V.², Hoang H.T.³, Skvorsov N.V.⁴, Shegolev D.V.⁵, Dmitriev N.S.⁶, Egamberdiev D.K.⁷,
Ergashov U.Sh.⁸, Abdurashidov A.A.⁹

^{1,2,3}Military Medical Academy named after S. M. Kirov, St. Petersburg, Russia,

⁴State Scientific Research Institute of Highly Pure Biological Preparations, St. Petersburg, Russia,

^{5,6}Joint Institute for Nuclear Research, Laboratory of Nuclear Reactions named after. G. N. Flerova, Dubna,
Moscow region, Russia,

^{7,8,9}Fergana Medical Institute of Public Health, Fergana, Uzbekistan.

For situation: © Paramonov B.A., Chmirev I.V., Hoang H.T., Skvorsov N.V., Shegolev D.V., Dmitriev N.S., Egamberdiev D.K., Ergashov U.Sh., Abdurashidov A.A.
INFLUENCE OF MODIFICATION OF THE SURFACE OF THE WOUND DRESSING «FOLIDERM» WITH CHITIN DERIVATIVES ON THE PROLIFERATION OF FIBROBLASTS. JCPM.-2024.P.1.№1-A

Received: 19.01.2024

Revised: 02.02.2024

Accepted: 05.03.2024

Abstract: Wound dressing «Foliderm» is inherently a microbial filter and it is used as a wound dressing for burns. The application of a bioactive layer of chitin derivatives makes it possible to mobilize medicinal substances on the surface of the coating and increase the therapeutic efficacy. The properties of the bioactive coating layer were studied by electron microscopy and using cell cultures (fibroblasts). The purpose of this research was to study the effect of various variants of the technology of modeling the bioactive layer on the surface of track-membranes by polymer on the proliferation of fibroblasts. In the course of research, it was found that the best results were achieved with the use of dibutyrylchitine. Modification of the surface of track membranes with dibutyrylchitine in order to create a bioactive layer including mobilized substances is a promising area of research.

Keywords: wound dressing; chitine derivatives; fibroblasts, dibutyrylchitine, chitosan

Введения: Раневые покрытия серии «Фолидерм» [1] были разработаны в конце XX века и изначально были предназначены для лечения поверхностных ожогов (III-а степени), а также ран «донорских участков кожи» (после срезания расщепленных кожных лоскутов). Основой изделия является пленка из биосовместимого оптически прозрачного полимера полиэтилентерефталата со сквозными порами (объемная пористость в пределах 5–15%). Множественные сквозные поры субмикронного размера предотвращают проникновение микроорганизмов в рану (Рис.1) и обеспечивают оптимальный газо- и влагообмен.

Впоследствии появились новые варианты изделия, отличающиеся толщиной пленки, размерами пор и способом модификации её поверхности [2,3]. В зависимости от конкретного варианта покрытия (что зависит от его целевого предназначения) могут варьировать следующие параметры: толщина пленки (в диапазоне от 8 до 25 мкм); размеры пор (от 0,18 мкм до 6,0 мкм); способы обработки поверхности, включая нанесение лекарственных веществ (создание биоактивного слоя). В частности, были начаты производство вариантов покрытия (серия «Фолидерм-гель») с коллагеном, серебром, церием, хитозаном и коллагеназой [3,4]. Однако, нанесение на трековую мембрану гелевых композиций приводило к окклюзии биополимерами пор, что нивелировало уникальные свойства покрытия, связанные с поддержанием газо- и влагообмена раны. В результате, данные препараты не показали желаемой эффективности.

С теоретических позиций «биоактивный слой» должен отвечать ряду требований. Указанный слой должен надежно фиксироваться к основе покрытия (полиэтилентерефталату) и обеспечивать иммобилизацию введенных в его состав медикаментозных препаратов. Основа данной композиции должна иметь низкие параметры токсичности и не влиять отрицательно на клетки раневого ложа. Кроме того, важным является сохранение полупроницаемых свойств трековой мембраны.

В течение последних 30 лет внимание ученых направлено на возможности применения различных производных хитина, и, прежде всего, хитозана [5-11]. Сфер применения полимеров много: от остановки кровотечения и стимуляции регенерации тканей, до сорбции радионуклидов и применения в качестве матрицы для создания новых материалов и биоинженерного моделирования органов и тканей [5-14]. По своей сути, хитозан – это аминоксахар, производное линейного полисахарида, макромолекулы состоят из случайно связанных β -(1-4) D-глюкозаминовых звеньев и N-ацетил-D-глюкозамина. В основе его получения лежит реакция отщепления от структурной единицы хитина-N-ацетил-D-глюкозамина ацетильной группировки так называемая реакция деацетилирования [5,6,9]. Это достигается, чаще всего, обработкой концентрированными щелочами (50%-ным р-ом NaOH) при повышенных температурах (120°C и более) в течение длительного времени. Хитозан может растворяться в растворах разбавленных кислот, а также связываться и реагировать с другими химическими веществами, что позволяет создавать различные лечебные композиции. По этой причине, химики называют его «конструктором» [5, 9, 10, 13]. В настоящее время производные хитина и хитозана применяют для создания гемостатических препаратов и средств лечения ран различного типа (сорбентов, гидрогелей) без и в сочетании с прочими лекарственными веществами [14-17]. На основе хитина и хитозана изготавливаются раневые покрытия: Beschitin® (Unitika, Япония), Chitipack S® (EisaiCo, Япония) и Tegasorb® (3M, США) [17]. Однако, у производных хитина есть недостатки, среди которых на первом месте стоит его относительно низкая растворимость, что ограничивает применение для модификации поверхности раневых покрытий [17]. Среди большого количества производных хитина в наименьшей степени изучен дибутирилхитин (ДБХ). Во многом это обусловлено особенностями его получения. Синтез осуществляют путем смешивания перхлорной кислоты (катализатора) и

масляного ангидрида (ацилирующего агента), которые добавляют к хитину. Данный процесс чрезвычайно пожаро- и взрывоопасен, он требует строгого соблюдения температурных режимов [6,8,17]. Кроме того, синтез данного полимера сопровождается выделением крайне неприятного (и трудно устранимого) запаха. По этим причинам исследований по применению ДБХ относительно мало. Отметим, что практически все исследования в Европе выполнены на полимере, синтезированном в Техническом Университете г.Лодзь, где смонтирована единственная в мире промышленная установка. В частности, на основе ДБХ было получено весьма перспективное раневое покрытие, которое не нашло клинического применения [18-20]. Дибутрилхитин как полимер имеет особенности: он плохо растворим в воде, но хорошо в спиртах и ряде других органических растворителей. Эти свойства возможно использовать для получения сложных лекарственных композиций. Сначала готовят (ДБХ вместе с лекарственными веществами) в растворе органических растворителей того или иного состава. После нанесения её на поверхность покрытия, происходит испарение растворителя, а сам полимер полимеризуется в виде тонкой сеточки (с включенными в его состав лекарственными веществами). Таким образом, достигается иммобилизация химических соединений на поверхности покрытия. С технологической точки зрения – это относительно простая процедура. Итак, важной технической задачей является нанесение и иммобилизация лекарственных препаратов в составе «биоактивного слоя» раневого покрытия. Отработка оптимальных составов и режимов их нанесения – дело не простое. Необходимо иметь методы экспресс-оценки, позволяющие судить не только о структуре биоактивного слоя, но и о его влиянии на ткани. Поэтому, мы сочетали сканирующую электронную микроскопию и оценку состояния культивируемых *in vitro* клеток млекопитающих (человека).

В настоящее время методы оценки токсичности с использованием клеточных культур находят все более широкое применение в биохимико-токсикологических исследованиях [20]. Такие подходы имеют ряд преимуществ. Во-первых, они помогают разрешить этические проблемы, связанные с массовым использованием и гибелью экспериментальных животных. Напомним, что

ежегодно для научных исследований, тестирования и в образовательных целях во всем мире используется более 100 миллионов позвоночных животных. Во-вторых, они позволяют заметно сократить расходы материальных средств, а также сроки предварительного исследования. В-третьих, уже на самых первых этапах изучения новых материалов возможно оценить биологические эффекты химических соединений непосредственно на культурах клеток человека.

Это позволяет избежать ряда вопросов («перенос» и интерпретация данных), связанных с межвидовой чувствительностью к токсикантам. Кроме того, использование культур клеток позволяет установить характер биологической активности изучаемых соединений непосредственно на клеточном уровне и учесть сложные синергические и/или разнонаправленные эффекты смесей химических соединений [15-23]. Отметим, что в процессе изучения производных хитина (в том числе, ДБХ) ряд ведущих лабораторий (в частности, группа профессора Ricardo Muzzarelli) применили сочетание методов *in vitro* (с использованием клеток грызунов или даже клеточных линий) с возможностями сканирующей электронной микроскопии. Необходимо отметить, что для отдельных частных случаев необходима адаптация применяемых методик в зависимости от физико-химических особенностей изучаемых химических агентов и способа его применения. Иной раз вполне достаточным является изучение количественных параметров пролиферации клеток и их морфологии. В других случаях проводятся дополнительные исследования (исследование активности ферментов как маркеров повреждающего воздействия).

В настоящее время клеточные культуры используют для оценки возможных токсических эффектов, в том числе, имплантируемых материалов (костного цемента, протезов и т.д.). Таким образом, применение клеточных культур в процессе отработки вариантов создания биоактивного слоя раневых покрытий представляется обоснованным.

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния на пролиферацию фибробластов различных вариантов технологии моделирования полимерного биоактивного слоя на поверхности трековых мембран.

Материал и методы: Дибутрилхитин получали ацелированием хитина (от различных производителей: ООО «Биопрогресс», Россия; «Sigma-Aldrich», USA) путем смешивания перхлорной кислоты (в качестве катализатора) и «масляного» (бутанового) ангидрида (в качестве ацилирующего агента) при температуре 15°C. Полученный раствор медленно добавляли к порошку хитина при постоянном перемешивании. Следили за тем, чтобы температура в реакторе не превышала 25°C. Через 3 часа останавливали реакцию путем добавления диэтилового эфира. Осадок фильтровали и промывали диэтиловым эфиром и дистиллированной водой для удаления избыточного масляного ангидрида и побочного продукта из масляной кислоты, затем нейтрализовали до pH7. Далее проводили фильтрацию, продукт последовательно промывали водой и эфиром, после чего сушили в вакууме при 50°C. Сухой продукт помещали в ацетон для растворения ДБХ, фильтровали и осаждали водой. Для проведения испытаний готовили образцы, содержащие ДБХ, отличающиеся по ряду параметров: концентрацией полимера в смеси (1%, 3% и 5%); различным составом применяемых растворов (этиловый спирт; этиловый спирт + хлороформ; глицерин и др.). Дальнейшая подготовка образцов для использования в тестах *in vitro* заключалась в следующем. Образцы пленок разрезали на размеры 5×7,5, герметично запечатывали в фольгу и подвергли стерилизации путем автоклавирования при температуре 121°C и давлении 1,0 атм в течение 30 мин. Стерильные образцы помещали в чашки Петри и служили «подложкой» для последующего культивирования на них клеток. Часть образцов пленки с нанесенным на него покрытием ДБХ подвергли специальной обработке, которая позволила частично вернуть («обратить») ДБХ в исходное состояние – хитин. Методика заключалась в следующем. Образцы поместили в нагретый до +90°C 5% раствор едкого натра в воде. Время выдержки составило 15 мин. Далее покрытия вынимали из щелочи и несколько раз промывали в дистиллированной воде до удаления следов щелочи. Для устранения избыточной гидрофобности состав растворов ДБХ вводили до 1 % поверхностно-активные вещества (ПАВ) различных классов: - *неионогенные* (Твин 40, Спен 65, Мурж 51, Бриж 52); - *анионоактивные* (додецилсульфат натрия);

- *катионоактивные* (цетил-триметил-аммоний-бромид).

Культивирование клеток проводили на поверхности трековых мембран, обработанных различным образом. В качестве тестовой культуры использовали клетки линии 1100/14 - эмбриональные фибробласты человека, полученные в ФГБУ Институте Гриппа им. А. А.Сморозина.

Для биологических испытаний использовали клетки после 6-го пассажа культуры. Засев клеток осуществляли в концентрации 50 тыс. клеток в 1 мл в чашки Петри диаметром 35 мм («SPL Lifesciences», Корея). Культивирование осуществляли в среде DMEM («Gibco», USA) с добавлением 10% сыворотки крупного рогатого скота («БиоЛот», РФ). Чашки Петри с культурой помещали в термостатируемый инкубатор с подачей CO₂, выдерживали при температуре +37°C в течение 6–8 суток. В динамике проводили сравнение интенсивности клеточной пролиферации посредством наблюдения в инвертированном микроскопе. Кроме того, на 3-е сутки клеточную культуру в части чашек обрабатывали 0,125% р-ром трипсина («ПанЭко», РФ), после чего производили подсчет открепившихся от поверхности клеток в камере Горяева. Подсчет клеток осуществляли в камере Горяева по общепринятой методике с использованием витальных красителей (трипановый синий).

Поверхность части образцов изучали методом сканирующей электронной микроскопии. В процессе пробоподготовки пленки (с клетками) фиксировали в 2,5% р-ре глутарового альдегида (на буферном р-ре Хенкса) при температуре +4°C в течение периода от 1 до 2 часов. Выполнялась трехкратная промывка дистиллированной водой, после чего исследуемые образцы проводили через растворы этилового спирта восходящей крепости (30%, 50%, 70%, 96% и 100%). Далее, спирт замещали диэтиловым эфиром и высушивали на воздухе. После этого на высушенные образцы пленки (с клетками) на установке вакуумного распыления фирмы «Edward» (Англия) напыляли золото (5 нм), после чего проводили исследование на растровом электронном микроскопе JSM-35C (JEOL, Япония).

Результаты: В ходе ультраструктурных исследований выявили определенные особенности формирующегося на поверхности трековой мембраны т. н. «биоактивного слоя». Установили, что нанесение на раневое покрытие хитина, хитозана и дибутирилхитина (в концентрации более 3%) приводит к тому, что сквозные поры «закрываются» полимером (рис.2а,б). Формирование сплошного слоя любого полимера (органического или синтетического происхождения) приводило к заметному снижению свойств самой трековой мембраны, т. к. нарушался газо- и влагообмен через пленку.

Таким образом, неправильное формирование «биоактивного слоя» приводило к обратному результату – к потере части лечебных свойств раневого покрытия. В этом случае оно превращалось в обычную окклюзионную повязку. Отметим, что сам по себе ДБХ - гидрофобен. Исходя из теоретических представлений, можно заключить, что гидрофобность в определенной степени может повлиять на прикрепление клетки и их пролиферацию. Чтобы сделать поверхность более гидрофильной применили специальную технику обработки. Наиболее простым методом может служить обработка не полностью высохшего слоя ДБХ водой. После окунания лавсановой пленки в раствор ДБХ практически сразу (уже через 1 мин) пленку опускали в воду. При этом, «паутина» ДБХ утончилась и стала более шероховатой. Однако такой подход имеет недостаток – он не обеспечивает равномерного распределения полимера по поверхности трековой мембраны. Существуют варианты решения: ведение в состав смеси ПАВ или же нанесение слоя ДБХ из растворителя иной гидрофобности (в частности, в смеси спирт: хлороформ 4:6). Оба варианта технологии приводят к схожим результатам (рис.3 а,б).

Лучшие результаты были получены при использовании для модификации поверхности растворов ДБХ с концентрацией до 1%. Формирующийся при этом слой полимера - не сплошной, на поверхности мембраны формировалась сеточка из тонких волокон полимера (рис.3), похожая на «паутину», которая представляет собой тяжи с утолщениями – гранулами ДБХ размером около 0.5 мкм, часть из которых непосредственно прикреплены к поверхности мембраны. Клетки прикрепилась к пленке (при всех вариантах

её обработки), и, с течением времени покрыли всю её поверхность. Морфология их был типичной (не изменена). Лучше всего пролиферация происходила на трековой мембране «Фолидерм» без всякой обработки (рис.4). Уже спустя 5–7 дней формировался плотный слой фибробластов, имеющих характерную веретенообразную форму. При модификации пленки пролиферация фибробластов происходила по-разному (табл.1). Самый значительный «прирост» клеток отмечен при использовании трековой мембраны как таковой (без дополнительной обработки). Несколько хуже клетки росли на поверхности пленки, покрытой 1% дибутирилхитином. Ещё ниже был уровень пролиферации при обработке е -3% ДБХ и «обращенным хитином» (рис.5). Так, количество клеток при обработке пленки 3% ДБХ и хитином было в 2.0 и 2,5 раза меньше соответственно. Ухудшение пролиферации клеток в случае модификации покрытия «Фолидерм» обращенным хитином свидетельствует о наличии слабо выраженных цитотоксических свойствах хитозана и «обращенного хитина». Несколько лучше пролиферация клеток происходила поверх «паутинки» дибутирилхитина.

Обсуждение результатов: Раневое покрытие «Фолидерм» на основе трековых мембран может получить дальнейшее развитие за счет мобилизации на его поверхности лекарственных веществ. Последнее может быть достигнуто за счет нанесения т.н. «биоактивного слоя» из природных полимеров. При модификации поверхности важной задачей при этом является не потерять лечебные свойства покрытия, связанные с наличием множественных сквозных пор, обеспечивающих газо- и влагообмен раны. С другой стороны, весьма важным является оценка свойств наносимой на пленку рецептуры (прежде всего – токсических для клеток). Оценка состава и технологии нанесения подобного биослоя может быть выполнена в сочетании двух методических подходов: электронной микроскопии и оценки *in vitro* токсических свойств указанного слоя после завершения процесса его полимеризации. Целесообразно использовать диплоидные клетки человека. Дибутирилхитин является перспективным полимером для модификации поверхности раневых покрытий.

Это обусловлено его физико-химическими свойствами, а именно способностью связываться с различными химическими соединениями (медикаментозными препаратами), которые после его полимеризации остаются на поверхности биоактивного слоя. Уникальная химическая структура полимера позволяет создавать мобилизованные на поверхности покрытия медикаментозные комплексы, включающие, в том числе гидрофобные соединения. Существует несколько вариантов нанесения и иммобилизации лекарственных веществ на поверхности пленки, из которых наиболее технологичным является применение этилового алкоголя или его смесей с прочими органическими растворителями (в частности, смеси этилового спирта и хлороформ в соотношении 4:6). Установлено, что не целесообразно использование ДБХ с концентрацией более 1%. Нанесение ДБХ на поверхность трековых мембран не улучшает пролиферацию клеток, и по этой причине, не может рассматриваться как подложка для культивирования, применяемая с лечебными целями. Дибутрилхитин имеет преимущества перед прочими производными хитина (хитозаном, «обращенным хитином») в случае их использования для создания биоактивного слоя на трековых мембранах. Формирующаяся на поверхности покрытия нежная сеточка полимера не вызывает окклюзии пор и не нарушает лечебные свойства исходной трековой мембраны.

Выводы: Модификация поверхности трековых мембран дибутилхитином с целью создания биоактивного слоя, включающего мобилизованные лекарственные вещества, является перспективным направлением новых средств лечения ран. Предлагаемый подход может быть использован для модификации поверхностей прочих изделий медицинского назначения (катетеры, импланты и др.)

Таблицы и иллюстрации

Таблица 1: Эффективность пролиферации клеток на поверхности пленки «Фолидерм», модифицированной различными производными хитина.

Варианты обработки поверхности подложек для культивирования (трековая мембрана «Фолидерм»)	Кол-во клеток на 1 см ²
без обработки	2470±180
1% дибутилхитин	1720±120
3% дибутилхитин	1200±111
3% хитин	900±80

Рис.1. Трековая мембрана с микроорганизмами на поверхности. Электронная микроскопия. Ув-е ×10 000; фотографии выполнены под углом 60° (а) и 90° (б).

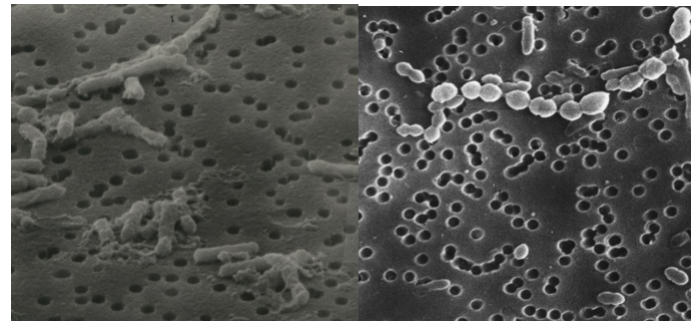


Рис.2. Поверхность трековой мембраны после обработки биоактивными полимерами а) 3% раствором ДБХ в этаноле (ув-е x 10 000); б) «обращенным хитином» (ув-е x 6000). Репер 1 микрон.

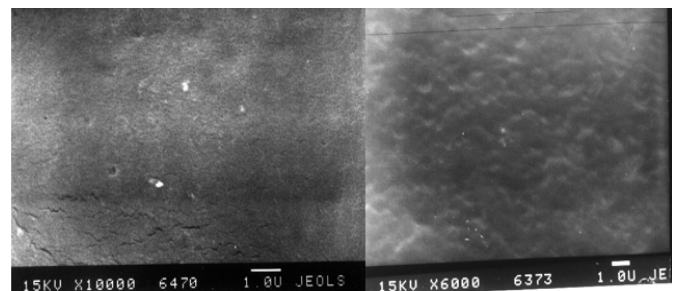
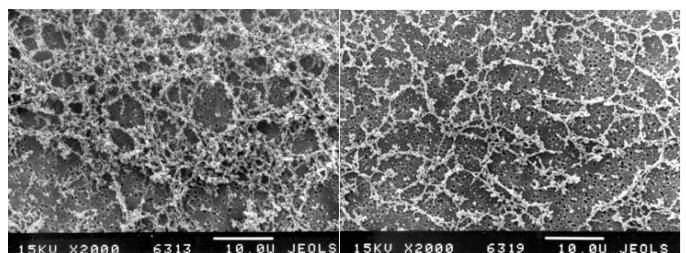
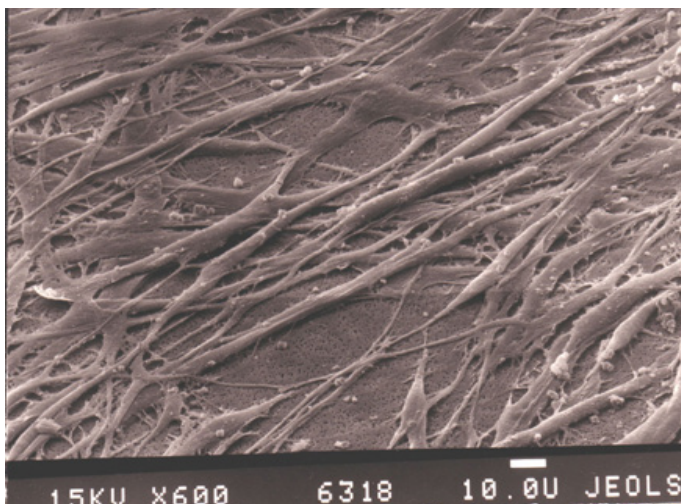


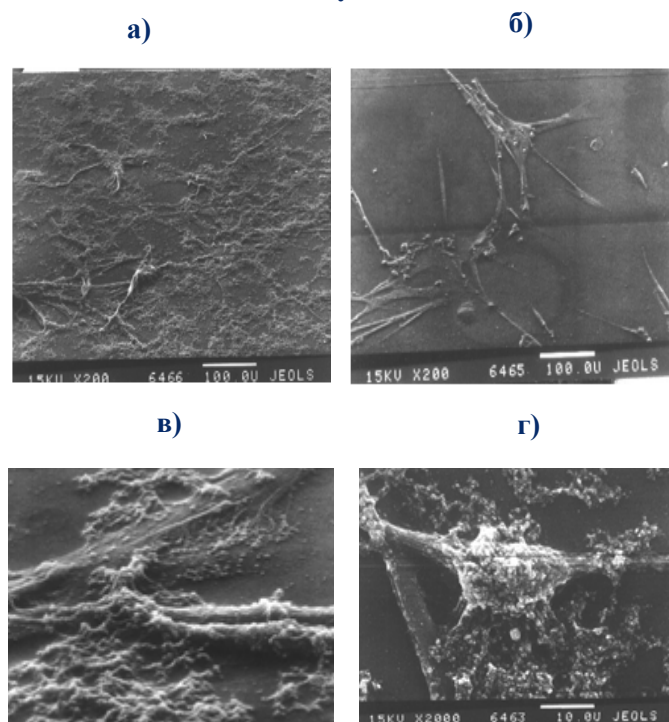
Рис.3. Электронная микрофотография слоя ДБХ на поверхности трековой мембраны «Фолидерм». Ув-е ×2000. Репер 10 микрон. А) из смеси с ПАВ; б) в смеси спирт: хлороформ 4:6



**Рис.4. Электронная микрофотография слоя фибро-
бластов на трековой мембране «Фолидерм».
Ув-е ×10 000. Репер 1 микрон.**



**Рис.5. Фибробласты на поверхности покрытия
«Фолидерм», покрытого 3% дибутрилхитином.
СЭМ, а,б, - ув-е 200; в,г, –обработка «обращенным
хитином» ув-е 2000.**



СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

- 1.Парамонов Б.А., Сидельников В.О., Татарин С.Н. и др. Новые раневые покрытия в 33333лечении ожогов и ранений (статья) //Военно-медицинский журнал-2002- Т.323.- №4- С.70-73
- 2.Патент РФ на изобретение № 2270646/ 27.02.2006. Бюл. № 6. Никонов Б.А., Антонов С.Ф., Золина Н.В., и др. Перевязочное средство. Режим доступа: <https://patentimages.storage.googleapis.com/9d/9b/34/3bd-86210d8452e/RU2270646C2.pdf>. Дата обращения: 28.02.2023.
- 3.Патент РФ на изобретение № 2717312/ 20.03.2020. Бюл. № 8. Парамонов Б.А., Алексеев А.А., Андреев Д.Ю., и др. Пористая основа для перевязочного средства. Режим доступа: <https://patentimages.storage.googleapis.com/7f/8e/62/85fa071db34053/RU2717312C1.pdf>. Дата обращения: 28.02.2023.
- 4.Регистрационное удостоверение ФС 01262006/3813-06/ 28.08.2006. Покрытия раневые – пленка лавсановая, перфорированная с гидрогелем, «Фолидерм-гель», стерильная.Режим доступа: https://nevacert.ru/files/med_reestr_v2/o23584_scan.pdf. Дата обращения: 28.02.2023.
- 5.Селиверстов А.Ф.,Варламов П.В, Ильина А.В., Шагдарова Б.Ц., и др. Хитин/хитозан и его производные: фундаментальные и прикладные аспекты // Успехи биологической химии. 2020. Т. 60. С. 317–368.
- 6.Нудьга Л.А. Структурно-химическая модификация хитина, хитозана и хитин-глюкановых комплексов тема. Дис. – доктора хим. наук .- Спб.- 2006-С.361.
- 7.Осовская И. И. Дополнительные главы технологии полимерных материалов. Физико-химические свойства хитина, хитозана и волокон на их основе: учеб. пособие / И.И. Осовская. — СПб.: ВШТЭ СПбГУПТД, 2021 — 80 с. ISBN 987-5-91646-263-0
- 8.Осовская И.И., Будилина Д.Л., Тарабукина Е.Б., Нудьга Л.А. Хитин-глюкановые комплексы (Физико – химические свойства и молекулярные характеристики): учебное пособие /Под Г.М.Полторацкого; /Гоувпо СПбГТУРП.- СПб., 2010 - 52 с.
- 9.Гамза-заде А.И. Производные хитина/хитозана контролируемой структуры в качестве потенциально новых биоматериалов: дис. ... д-ра хим. наук. Москва, 2005. 363 с.

10. Kumar, M. N. V. R., Muzzarelli, R. A. A., Muzzarelli, C., Sashiwa, H., & Domb, A. J./Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives. Chemical Reviews. -2004). V.104., №12ю -PP. 6017–6084. [doi:10.1021/cr030441b](https://doi.org/10.1021/cr030441b)

11.R.A.A. Muzzarelli. Chitin-2013-Pergamon Press.-P.2013.

12.Сливкин Д.А., Лапенко В.Л., Сафонова О.А., и др. Хитозан для фармации и медицины // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2011. № 2. С. 214–232. 13.Камская В.Е.Хитозан: Структура, свойства и использование // Научное обозрение. Биологические науки. 2016. № 6. С. 36–42. Селивёрстов А.Ф.Сорбция хитином, хитозаном и хитинсодержащими материалами радиоактивных элементов из водных растворов: дис. ... канд. хим. наук. Москва, 2004. 111 с.

14.Кадысева О.В. Изучение влияния физико-химических свойств на гемостатическую активность хитозана и местных гемостатических средств на его основе: дис. ... канд. фармацевт. наук. Санкт-Петербург, 2021. 157 с.

15.MohhamedResaKasaai. Chitosan-based Materials of wound healing and tissue engineering: an overview on their properties and applications.//Journal of Biotechnology @ Bioreserch.-2019.2(1)-p.1-4. JBV/000526.2019

16.Рахметова А.А., Богословская О.А., Ольховская И.П., и др. Ранозаживляющие свойства мягких лекарственных форм с наночастицами меди и низкомолекулярными производными хитозана // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2016. Т. 19, № 7. С. 12–18.

17.R.A. A. Muzzarelli, Guerrieri M., Goteri G., Muzzarelli C., Armeni T., Giselli R., Cornelissen M., Biocompatibility of dibutyl chitin in context of wound dressings. //J. Biomaterials.-2005.-v.26(29), №4-PP/844-854. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.03.006. Epub 2005.

18.Chilarski A., Szoslandb L., Krucińska I., et al. Novel dressing materials accelerating wound healing made from dibutylchitin // Fibres and Textiles in Eastern Europe. 2007. Vol. 15, N 4. P. 77–81.

19.Pielka S., Paluch D., Staniszevska-Kus J., Bogusawa Z., Solski L., Szosland L., Czarny A., Zaczynska E. Wound Healing Acceleration by a Textile Dressing Con-

taining Dibutylchitin and Chitin // FIBRES & TEXTILES in Eastern Europe April / June 2003, Vol. 11, No. 2 (41)- P.79-84.

20.Schoukens G., Kiekens P., Krucinska I. New bioactive textile dressing materials from dibutylchitin stimulating wound healing.// International Technical Textiles Congress, 3rd, Proceedings. -2007.-p.18-27

21.Экспресс-оценка токсичности отходов производства и потребления на культуре клеток млекопитающих.-М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора,2008.- 12 с.

22.Еропкин М.Ю.Культуры клеток как модельная система в биохимико-токсикологических исследованиях: дис. ... д-ра биол. наук. Санкт-Петербург, 2004. 354 с.

23.Лукиянов А.С., Лукьянова Л.Л., Чернавская Н.М., и др. Проблемы биоэтики. Альтернативы экспериментам на животных. Москва: Изд-во Моск. ун-та, 2001. 213 с.

Информация об авторах:

- © ПАРАМОНОВ Б.А., ЧМЫРЁВ., ХОАНГ Х.Т. - Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия.
© СКВОРЦОВ Н.В. - Государственный научно - исследовательский институт особо чистых биопрепаратов, Санкт-Петербург, Россия.
© ЩЕГОЛЕВ Д.В., ДМИТРИЕВ Н.С. - Объединенный институт ядерных исследований, Лаборатория ядерных реакций им. Г. Н. Флерова, г. Дубна Московской обл., Россия.
© ЭГАМБЕРДИЕВ Д.К., ЭРГАСHEV У.Ш., ABDURASHIDOV A.A. - Ферганский медицинский институт общественного здоровья, Кафедра Урологии и Онкологии., г. Фергана, Узбекистан.

Muallif haqida ma'lumot:

- © PARAMONOV B.A., CHMIRYOV I.V., XOANG X.T. - S.M.Kirov nomidagi Harbiy tibbiyot akademiyasi, Sankt-Peterburg, Rossiya.
© SKVORSOV N.V. - Yuqori sof biologik preparatlar davlat ilmiy tadqiqot instituti, Sankt-Peterburg, Rossiya.
© SHEGOLEV D.V., DMITRIYEV N.S. - Birlashgan Yadro tadqiqotlari instituti, Yadro reaksiyalari laboratoriyasi. G. N. Flerova, Dubna, Moskva viloyati, Rossiya.
© EGAMBERDIYEV D.K., ERGASHEV U.SH., ABDURASHIDOV A.A. - Farg'ona jamoat salomatligi tibbiyot instituti, Urologiya va Onkologiya kafedrası, Farg'ona sh., O'zbekiston.

Information about the authors:

- © PARAMONOV B.A., CHMIRYOV I.V., XOANG X.T. - Military Medical Academy named after S. M. Kirov, St. Petersburg, Russia.
© SKVORSOV N.V. - State Scientific Research Institute of Highly Pure Biological Preparations, St. Petersburg, Russia.
© SHEGOLEV D.V., DMITRIYEV N.S. - Joint Institute for Nuclear Research, Laboratory of Nuclear Reactions named after. G. N. Flerova, Dubna, Moscow region, Russia
© EGAMBERDIYEV D.K., ERGASHEV U.SH., ABDURASHIDOV A.A. - Fergana Medical Institute of Public Health, Department of Urology and Oncology. Fergana, Uzbekistan.