

Chitozan jako składnik preparatów wspomagających leczenie urazów skóry

Chitosan preparations as a wound dressing material

dr n. farm. Agnieszka Zielińska

Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Zakład Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny;
Warszawski Uniwersytet Medyczny

■ **Słowa kluczowe:** chitozan, srebro koloidowe, kwas hialuronowy, gojenie ran, naturalny opatrunek.

■ **Keywords:** chitosan, colloidal silver, hyaluronic acid, wound healing, natural wound dressings.

■ **Abstract:** Chitosan is one of the natural polymers that are a very promising source for the development of wound healing and antimicrobial preparations. It is obtained by deacetylating chitin - one of the most available natural resources, as well as waste from the seafood industry. Chitosan is biocompatible with the skin, biodegradable and non-toxic. Due to the properties of easy preparation, antibacterial and haemostatic properties, and the ability to support skin regeneration, functional wound dressings of chitosan and its derivatives are of great interest due to their effectiveness and mechanisms of promoting skin wound healing. Chitosan preparations can be used for acute and chronic wounds like ulcers or burns. They are often enriched with other regenerating and antimicrobial ingredients, such as hyaluronic acid or colloidal silver.

■ Wprowadzenie

Skóra jest największym organem ludzkim, który może wynosić nawet 10% całkowitej masy ciała. Stanowi barierę ochronną przed środowiskiem, odpowiada za termoregulację i homeostazę płynów, pełni funkcję sensoryczną i immunologiczną. W przypadkach niewielkich urazów organizm jest w stanie przywrócić integralność skóry z minimalną blizną w procesie wieloetapowym. Etapy procesu naprawy tkanki są podzielone na sekwencję zależnych od czasu faz: hemostazy (krzepnięcia), zapalenia, proliferacji oraz przebudowy. [1] Proces gojenia może zostać zakłócony przez szereg czynników (tab. 1).

Dlatego też opracowano szeroką gamę produktów do pielęgnacji ran, przyspieszających

proces gojenia, prowadząc w ten sposób do znacznych oszczędności kosztów w warunkach szpitalnych.

Dobry opatrunek na ranę musi spełniać szereg warunków, takich jak zapobieganie rozwojowi bakterii chorobotwórczych i wchłanianie wysięku z rany przy zachowaniu jej wilgotności, wspomaganie procesu regeneracji tkanek i przyspieszanie procesu gojenia się rany.

Popularnymi materiałami do opatrunków, ze względu na wysoką biokompatybilność, stały się surowce występujące w przyrodzie i łatwo przetwarzalne, takie jak celuloza, chitozan, kolagen, czy alginiany. Celem tego artykułu jest przedstawienie zastosowania chitozanu w preparatach przyspieszających gojenie ran.

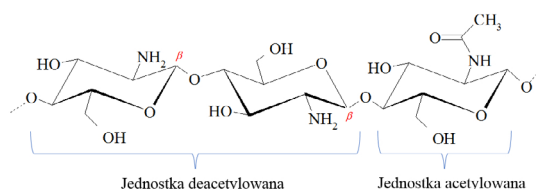
Budowa chemiczna i otrzymywanie

Chitozan produkowany jest z chityny pochodzącej ze skorupki bezkręgowców (np. krewetek), w procesie deacetylacji w środowisku zasadowym.

Pod względem budowy chemicznej jest to liniowy polisacharyd złożony z losowo umieszczonej β -(1 \rightarrow 4)-D-glukozaminy (jednostka deacetylowana) i N-acetylo-D-glukozaminy (jednostka acetylowana) – ryc. 1. Stopień deacetylizacji (DD), wskazujący na liczbę grup aminowych wzdłuż łańcucha, wynosi od 60 do 100%, a masa molowa średnio 3800–20 000 daltonów. Wartość stopnia deacetylacji chitozanu jest bardzo ważnym parametrem określającym jego kationowy charakter w środowisku kwaśnym, wynikającym z protonowania grup aminowych, wpływających na właściwości funkcjonalne, takie jak rozpuszczalność, stopień pęcznienia, bioaktywność i biodegradacja [3].

Dzięki obecności sprotonowanych grup aminowych NH_2 (pKa 6,5) chitozan jest dodatnio naładowany oraz rozpuszczalny w roztworach wodnych o pH < 7. Dodatni ładunek odpowiada za duże powinowactwo chitozanu do ujemnie naładowanych błon komórkowych. Obecność wiązań β -(1,4) glikozydowych między jednostką deacetylowaną i acetylowaną umożliwia otrzymywanie pochodnych, np. hydroksyalkilowych lub karboksyalkilowych, o lepszej rozpuszczalności w wodzie przy wyższym pH. W rezultacie poprawia to biokompatybilność i poszerza zastosowania.

Chitozan jest dobrze biodegradowalny, degradacja prowadzi do rozpadu na nieszkodliwe związki, które mogą być całkowicie wchłaniane przez komórki żywe [2, 4].



Ryc. 1. Struktura chemiczna chitozanu

Rola chitozanu w procesie gojenia

Chitozan i jego pochodne odgrywają rolę głównie w pierwszych trzech etapach gojenia ran:

1. W fazie hemostazy pomagają zatrzymać krwotok poprzez promowanie agregacji płytek krwi i erytrocytów oraz hamowanie rozpuszczania fibryny. Chitozan przyczynia się do wzmacniania ekspresji glikoproteiny GPIIb-IIIa na błonach komórkowych płytek krwi, tym samym promując adhezję płytek do ściany naczynia i agregację płytek krwi. Ponadto dodatnio naładowany chitozan może również sprzyjać agregacji poprzez interakcję z ogromną ilością ujemnie naładowanych substancji na powierzchni płytek krwi [5]. Natomiast powstawaniu skrzepów fibryny i agregacji erytrocytów mogą sprzyjać oddziaływania elektrostatyczne między dodatnio naładowanym chitozaniem i ujemnie naładowanymi grupami na powierzchni erytrocytów [6].
2. Chitozan może także hamować fibrynolizę (rozpuszczanie zakrzepu krwi). Na etapie zapalenia pomaga w usuwaniu bakterii z rany, choć mechanizm ten nie jest do końca wyjaśniony. Obecnie uznane możliwe mechanizmy obejmują uszkodzenie ścian komórkowych i błon komórkowych bakterii, chelatowanie śladowych ilości kationów metali, interakcję z celami wewnątrzkomórkowymi i osadzanie się na bakteriach [5].
3. W fazie proliferacji chitozan przyspiesza ten etap poprzez promowanie wzrostu tkanki ziarninowej – wzmacniając funkcje komórek zapalnych, takich jak leukocyty polimorfonuklearne, makrofagi i fibroblasty. W ten sposób faza zapalna zostaje skrócona, a faza proliferacyjna rozpoczyna się wcześniej. Chitozan może także zwiększać wytrzymałość ran na rozciąganie [7]. Dalej następuje proces przemodelowania skóry, prowadzący do zakończenia gojenia.

Właściwości przeciwdrobnoustrojowe

Potrzeba opracowania nowych generacji środków przeciwdrobnoustrojowych wynika z istnienia

Tabela 1. Czynniki zakłócające przebieg gojenia rany [2]

Czynniki miejscowe	Czynniki ogólnoustrojowe
natlenienie	wiek i płeć
zakażenie rany	hormony
ciało obce	stres
wydolność żylna	niedokrwienie
obszar rany	choroby somatyczne ogólnoustrojowe
głębokość	otyłość
ucisk	leki
	alkoholizm i palenie tytoniu
	stany z obniżoną odpornością i odżywianie

patogenów lekoopornych, powodujących długotrwałe infekcje trudne do leczenia i w konsekwencji wzrost kosztów leczenia. Oprócz standardowo stosowanych leków, np. antybiotyków, interesującą grupę stanowią polimery przeciwdrobnoustrojowe. Należą do nich peptydy przeciwdrobnoustrojowe, polimery zawierające halogen, pochodne fosforu i siarki, nanocząstki metali, heparyna i inne, jednak najbardziej obiecujący wydaje się chitozan [3]. Mechanizm działania przeciwko komórkom drobnoustrojów nie jest do końca poznany, ale liczne badania prowadziły do podobnych wniosków. Dlatego sformułowano kilka hipotez, tłumaczących sposób, w jaki chitozan może hamować wzrost drobnoustrojów:

1. Oddziaływania elektrostatyczne zachodzą między chitozaniem o ładunku dodatnim (kationowym) a cząsteczkami anionowymi na powierzchni komórki drobnoustrojów, co może prowadzić do rozerwania ściany komórkowej i wycieku składników wewnątrzkomórkowych [5]. Grupy NH_3^+ chitozanu oddziałują z lipopolisacharydami na błonie komórkowej bakterii Gram-ujemnych lub kwasami tejchojowymi na bakteriach Gram-dodatnich, co doprowadza do nierównomiernego rozkładu ładunków ujemnych na powierzchni, i w konsekwencji braku równowagi między syntezą i rozpuszczaniem ściany komórkowej (z silniejszą tendencją do rozpuszczania). Błona komórkowa bakterii ulega deformacji i pękaniu pod wpływem nie zrównoważonego ciśnienia osmotyczne-

go, co prowadzi do wycieku zawartości komórek i ostatecznie do lizy komórek [7,8]. Oddziaływania elektrostatyczne są również odpowiedzialne za właściwości przeciwegrybicze chitozanu (np. grzybów z rodziny *Candida*). W tym przypadku mechanizm jest inny, kationowe cząsteczki chitozanu oddziałują z ujemnie naładowanymi fosfolipidami drobnoustroju, wpływając w ten sposób na błonę komórkową i powodując wyciek materiału wewnątrzkomórkowego [3,7].

2. Chitozan niskocząsteczkowy LMW o masie cząsteczkowej nie większej niż 5000 D może przenikać przez ścianę komórkową bakterii, tworząc kompleksy z DNA, osłabiając działanie polimerazy DNA i polimerazy RNA, a tym samym hamując replikację i transkrypcję DNA i RNA, zakłócając w ten sposób procesy syntezy białek [3,5].
3. Wysoka zdolność chitozanu do chelatowania różnych jonów metali (Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , itp.) przy pH wyższym niż jego pKa może wyjaśniać hamujący wpływ chitozanu na rozwój drobnoustrojów. Jony te mają fundamentalne znaczenie dla stabilności komórek [9].

Masa molowa oraz stopień deacetylacji (DD) mają ogromne znaczenie dla właściwości przeciwdrobnoustrojowych chitozanu. Większy stopień DD zwiększa jego rozpuszczalność i ładunek dodatni, lepkość i biokompatybilność, podczas gdy z jego spadkiem rośnie krystaliczność i biodegradowalność.

Właściwości biologiczne, takie jak zdolności przeciwdrobnoustrojowe, hemostatyczne i mukoadhezyjne, także zwiększają się wraz ze wzrostem stopnia deacetylacji. Z kolei chitozan o dużej masie molowej (HMW) tworzy gęstą warstwę na powierzchni komórki, zapobiegając wchłanianiu składników odżywczych, natomiast znacznie mniejsze cząsteczki potrafią przenikać przez błonę, a nawet wiążą się z DNA i RNA [3,9].

Przykłady form preparatów z chitozanem

Chitozan jest stosowany w produktach na rany w wielu postaciach, w zależności od przeznaczenia. Może występować w formułacjach hydrożelowych, hydrokolidowych, jako składnik membran, filmów, gąbek oraz jako nanowłókna. Na rynku dostępne są preparaty w formie sprayu i żelu zawierające chitozan.

Duża zdolność tego biopolimeru do łączenia się z anionowymi polimerami umożliwia tworzenie struktur 2D i 3D o różnej porowatości struktury i wytrzymałości mechanicznej. Najbardziej popularną formą są hydrożele, składające się z trójwymiarowej (3D) sieci hydrofilowych polimerów, takich jak np. poli(kwas akrylowy) (karbomery), poli(glikol etylenowy) (PEG) oraz poli(alkohol winylowy) (PVA). Sieć umożliwia wchłonięcie od 10–20% (dowolny dolny limit) do nawet tysięcy razy ich równoważnika wagowego w wodzie.

Chitozan może być fizycznie połączony poprzez wiązania wodorowe i oddziaływania hydrofobowe z hydrożelem albo chemicznie wbudowany w sieć, co zwiększa wytrzymałość mechaniczną żelu [4].

Wykazano, że hydrożele na bazie chitozanu wspomagają gojenie się ran na różnych etapach, a także mogą łagodzić czynniki utrudniające gojenie się ran (takie jak nadmierne zapalenie i przewlekłe zakażenie rany). Mają wysokie właściwości absorpcyjne, zapewniające wilgotne środowisko w miejscu rany i retencję wody oraz przepuszczalność tlenu. Opatrunki chitozynowe na bazie hydrożelu pozwalają mu służyć za-

równo jako opatrunek na rany, jak też system dostarczania leków (DDS), np. przeciwbakteryjnych, czynników wzrostu, komórek macierzystych itd., co może jeszcze bardziej przyspieszyć gojenie się ran [2,3,5].

Inne składniki preparatów z chitozanem

Preparaty z chitozanem i jego pochodnymi są często wzbogacane dodatkowymi składnikami przeciwdrobnoustrojowymi czy regenerującymi. Substancje te mogą być również stosowane jako nośniki powolnego uwalniania leku.

Kwas hialuronowy (HA)

Kwas hialuronowy można znaleźć na każdym etapie procesu gojenia się ran. Niesiarczanowany glikozaminoglikan (GAG) jest głównym składnikiem macierzy zewnątrzkomórkowej skóry (ECM) i bierze udział w odpowiedzi zapalnej, angiogenezie i procesie regeneracji tkanek. Wpływ kwasu można określić na podstawie masy cząsteczkowej. Cząsteczki o większej masie cząsteczkowej stymulują odpowiedzi przeciwzapalne, podczas gdy cząsteczki o mniejszej masie cząsteczkowej wywołują stan zapalny. Ze względu na nieodłączne właściwości HA (takie jak biokompatybilność, biodegradowalność i hydrofilowość) jest on wykorzystywany do produkcji różnych opatrunków na rany, np. gąbek, filmów, hydrożeli i membran [10].

Kwas hialuronowy wykazuje polianionowe właściwości, co w połączeniu z polikationową naturą chitozanu w roztworze wodnym pozwala uzyskać unikalny materiał hydrożelowy, bez usieciowania chemicznego lub ultrafioletowego. Uzyskana w ten sposób matryca posiada integralność strukturalną i właściwości elastyczne, a każdy składnik pozostaje w swoim rodzimym i biologicznie istotnym stanie. Preparaty łączące oba składniki przyspieszają gojenie się ran poprzez promowanie migracji komórek, proliferacji, tworzenia ziarniny i angiogenezy [2].

Preparaty łączące kwas hialuronowy z chitozanem mogą być stosowane w leczeniu ran oparzeniowych [2], ran wystawionych na działanie wody morskiej [11], owrzodzeń skóry [7].

Srebro koloidalne

W celu wzmocnienia właściwości bakteriobójczych, preparaty z chitozanem mogą zawierać srebro, na ogół w postaci koloidalnej nanocząsteczkowej. Badania *in vivo* wykazały, że formułacje takie mają doskonałe właściwości gojenia ran, mniejszą liczbę bakterii i zwiększoną produkcję tkanki łącznej [12,13]. Połączenia srebra nanokoloidalnego z chitozanem znalazły m.in. zastosowanie w leczeniu przypadków owrzodzenia stopy cukrzycowej [14].

Działanie srebra jest nieselektywne, co skutkuje szerokim spektrum przeciwdrobnoustrojowym wobec bakterii tlenowych i bez-tlenowych, a także grzybów i wirusów. [15]. Oddziaływanie srebra ze środowiskiem wodnym (np. rana sącząca) powoduje utlenianie nanocząstek, a następnie uwalnianie przeciwdrobnoustrojowych jonów srebra. Forma jonowa reaguje z grupami tiolowymi w enzymach i białkach, wpływając niekorzystnie na funkcję enzymów oraz replikację komórek w sposób niespecyficzny. Jony srebra zakłócają również transport elektronów i membranowe systemy jonowymienne.

W zakażonych ranach opatrunki zawierające srebro nanokrystaliczne stosuje się do oczyszczenia rany; są one także pomocne we wczesnej fazie leczenia (pierwsze 2–3 tygodnie) w celu zmniejszenia liczby bakterii i złagodzenia zapachu rany. W miarę jak rana się oczyszcza, należy stosować opatrunki niezawierające srebra, aby zminimalizować toksycyność wobec keratynocytów i fibroblastów [16].

Podsumowanie

Chitozan jest jednym z najważniejszych biopolimerów, który można wykorzystać do produk-

cji opatrunków na rany. Nie tylko przyspiesza proces gojenia, ale także zapobiega zakażeniu rany. Ważną cechą chitozanu stanowi jego biokompatybilność oraz biodegradowalność. Jest produktem uzyskanym z chityny – biomateriału o ogromnej dostępności i niskim koszcie.

Obecność na rynku wielu opatrunków na bazie chitozanu wskazuje na ogromne znaczenie i duży potencjał tego biopolimeru w terapii leczenia ran, nie tylko ostrych, ale także stanów przewlekłych, jak np. owrzodzenia cukrzycowe.



dr n. farm. Agnieszka Zielińska
agnieszka.zielinska@wum.edu.pl
Nadesłano: 23-03-2022

Piśmiennictwo:

1. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing, *Plast Reconstr Surg.* 117(7 Suppl) (2006) 12s-34s.
2. Liu H, Wang C, Li C, *et al.* A functional chitosan-based hydrogel as a wound dressing and drug delivery system in the treatment of wound healing, *RSC Advances* 8(14) (2018) 7533-7549.
3. Matica MA, Aachmann FL, Tøndervik A, *et al.* Chitosan as a Wound Dressing Starting Material: Antimicrobial Properties and Mode of Action, *Int. J. Mol. Sci.* 20(23) (2019) 5889.
4. Sikora M, Wiśniewska-Wrona M, Arabski M. Biomedyczne właściwości chitozanu – zastosowanie w inżynierii tkankowej Biomedical properties of chitosan: Application in tissue engineering, *Postepy Hig Med Dosw.* 75(1) (2021) 1020-1037.
5. Feng P, Luo Y, Ke C, *et al.* Chitosan-Based Functional Materials for Skin Wound Repair: Mechanisms and Applications, *Front. Biotechnol.* 9 (2021).
6. Ong SY, Wu J, Mochhala SM, *et al.* Development of a chitosan-based wound dressing with improved hemostatic and antimicrobial properties, *Biomaterials* 29(32) (2008) 4323-32.
7. Dai T, Tanaka M, Huang Y, Hamblin MR. Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects, *ERATCK* 9(7) (2011) 857-879.
8. Kassem A, Ayoub GM, Malaeb L. Antibacterial activity of chitosan nano-composites and carbon nanotubes: A review, *Sci Total Environ.* 668 (2019) 566-576.
9. Kong M, Chen XG, Xing K, Park HJ. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review, *Int J Food Microbiol.* 144(1) (2010) 51-63.
10. Dovedyitis M, Liu ZJ, Bartlett S. Hyaluronic acid and its biomedical applications: A review, *ER.* 1 (2020) 102-113.
11. Wang X, Xu P, Yao Z, *et al.* Preparation of Antimicrobial Hyaluronic Acid/Quaternized Chitosan Hydrogels for the Promotion of Seawater-Immersion Wound Healing, *Front. Bioeng. Biotechnol.* 7 (2019).
12. Pansara C, Mishra R, Mehta T, *et al.* Formulation of Chitosan Stabilized Silver Nanoparticle-Containing Wound Healing Film: In Vitro and In Vivo Characterization, *J Pharm Sci.* 109(7) (2020) 2196-2205.
13. Bharathi S, Bamesh B, Kumaran S, *et al.* Development of nanobio-material for wound healing based on silver nanoparticles loaded on chitosan hydrogel, *3 Biotech.* 11(12) (2021) 490.
14. Nair HKR. Nano-colloidal silver and chitosan bioactive wound dressings in managing diabetic foot ulcers: case series, *J Wound Care* 27(Sup9a) (2018) S32-s36.
15. Alves PJ, Barreto RT, Barrois BM, *et al.* Update on the role of antiseptics in the management of chronic wounds with critical colonisation and/or biofilm, *Int. Wound J.* 18(3) (2021) 342-358.
16. Khansa I, Schoenbrunner AR, Kraft CT, Janis JE. Silver in Wound Care-Friend or Foe?: A Comprehensive Review, *Plast. Reconstr. Global Open* 7(8) (2019) e2390-e2390.