



На правах рукописи

ЛОБАНОВ АНДРЕЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ

**ПРОФИЛАКТИКА ОБОСТРЕНИЙ ХРОНИЧЕСКОЙ  
ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ С  
ПОМОЩЬЮ АЭРОЗОЛЕЙ, СОДЕРЖАЩИХ СЕРЕБРО  
(клинико-экспериментальное исследование)**

14.00.45 - пульмонология

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

**диссертации на соискание учёной степени  
доктора медицинских наук**

17 ДЕК 2009

Санкт-Петербург – 2009

Работа выполнена в ГУ НИИ Медицинских проблем Крайнего Севера  
РАМН г. Надым.

Научный консультант:

доктор медицинских наук,  
профессор

Емельянов Александр Викторович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,  
профессор

Петрова Мария Анатольевна

доктор медицинских наук,  
профессор

Серебрякова Валентина Ивановна

доктор медицинских наук,  
профессор, член. корр.

РАМН

Мазуров Вадим Иванович

Ведущая организация: Военно-медицинская академия им. С.М.  
Кирова

Защита состоится «16» марта 2010г. в 10<sup>00</sup> часов на  
заседании Диссертационного совета Д 208.090.02. при ГОУ ВПО  
«Санкт-Петербургский государственный медицинский университет  
им. акад. И.П. Павлова» Федерального агентства по здравоохранению  
и социальному развитию в НИИ пульмонологии (197022, Санкт-  
Петербург, ул. Рентгена, 12).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО «Санкт-  
Петербургский государственный медицинский университет им. акад.  
И.П. Павлова» Федерального агентства по здравоохранению и  
социальному развитию (197089, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д.  
6/8).

Автореферат разослан «3» декабря 2009 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор медицинских наук

Александров Альберт Леонидович

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) относится к числу наиболее распространенных и социально значимых заболеваний. Так, по данным Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (2006) распространенность ХОБЛ среди лиц старше 40 составила 10,1 %. Течение ХОБЛ характеризуется неуклонным прогрессированием, вместе с тем, именно, частота обострений оказывает наибольшее влияние на качество жизни и экономические потери [Seemungal T.A. et al., 2000]. Важной причиной обострений является инфекция (бактерии, вирусы, грибы и ассоциации микроорганизмов) [Patel I.S. et al., 2002].

Современной пульмонологией накоплен значительный опыт профилактики неинфекционных обострений ХОБЛ и применения антибиотикотерапии для лечения уже развившихся инфекционных осложнений. Вместе с тем, остается недостаточно разработанным лечение больных ХОБЛ в случаях, когда риск развития инфекционных обострений велик, а объективных показаний для назначения антибиотиков нет. Длительная профилактика инфекционных обострений необходима пациентам ХОБЛ с бронхитическим синдромом, часто болеющих острыми респираторными вирусными инфекциями, имеющих хронические очаги инфекции дыхательных путей, нуждающихся в частых курсах антибактериальной терапии, принимающих ингаляционные глюкокортикостероиды.

Данная проблема особенно актуальна для регионов Крайнего Севера, где роль инфекционных обострений в прогрессировании ХОБЛ возрастает, на фоне характерных для северян нарушений мукоцилиарного клиренса и сниженной иммунной реактивности [Андронов С.В. 2008].

Для эффективной профилактики обострений ХОБЛ необходимо средство, обладающее широким спектром активности в отношении бактерий, вирусов, грибов, пригодное для длительного применения, оказывающее положительное воздействие на бронхиальный дренаж и механизмы воспаления.

Одним из перспективных направлений является применение серебра обладающего высокой активностью в отношении 650 штаммов микроорганизмов, в том числе вирусов, грибов,

полирезистентной к антибиотикам бактериальной флоры [Klasen H.J. 2000]. При пероральном приеме серебро плохо проникает в очаг воспаления в связи с этим, в начале прошлого века серебро использовалось в чрезвычайно высоких дозах (граммы) преимущественно в виде нитрата серебра, что нередко приводило к аргирии и нитратным отравлениям. Ингаляционный путь введения позволяет использовать в 100 раз более низкие дозы серебра, чем при пероральном введении, и в 20 раз меньшие дозы, чем при внутривенном введении, что достигается за счет попадания серебра, непосредственно, в очаг воспаления. Клинического эффекта можно достичь при ингаляционном введении 1-4 мг серебра, что в 10-20 раз меньше величин, признанных безопасными для ингаляционного пути введения, ведущими экспертами отечественных и зарубежных руководств: «Вредные вещества в промышленности» (код. 46-22-4), «Руководство по токсикологии металлов» (Handbook on the Toxicology of Metals), «Североамериканского агентства по токсичным веществам и зарегистрированным заболеваниям» (ATSDR USA) [Аванесов Л.И. и др., 2004; Fowler B. et al., 1986; Fung M.C. et al., 1996].

Вместе с тем, научно обоснованное применение серебра невозможно без разработки методики введения, изучения вопросов безопасности применения, выявления оптимальной ингаляционной дозы и особенностей воздействия различных форм серебра на механизмы развития обострений ХОБЛ.

В связи с вышеизложенным нами поставлена следующая цель: Разработать метод профилактики обострений хронической обструктивной болезни легких с помощью аэрозолей, содержащих серебро.

Для достижения цели были поставлены задачи исследования:

1. Разработать методику ингаляционного введения различных форм серебра (ионы, молекулы, частицы);
2. Изучить динамику содержания серебра в тканях и органах лабораторных животных при однократном и курсовом ингаляционном введении различных форм серебра;
3. Изучить безопасность ингаляционного введения серебра;
4. Изучить воздействие серебра на вязкость мокроты, работу мерцательного эпителия, синтез иммуноглобулина А, фактора



некроза опухолей-а, перекисную активность у больных хронической обструктивной болезнью легких.

5. Изучить эффективность профилактики обострений хронической обструктивной болезни легких, с помощью аэрозолей, содержащих серебро.
6. Изучить особенности воздействия различных форм аэрозолей серебра на клиническую симптоматику, показатели функции внешнего дыхания и качество жизни больных хронической обструктивной болезнью легких;
7. Выявить оптимальную ингаляционную, суточную дозу серебра для профилактики обострений хронической обструктивной болезни легких;
8. Оценить отдаленные эффекты применения ингаляций различных форм серебра у больных хронической обструктивной болезнью легких, (1 год);

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. При ингаляционном введении у животных (крыс) наибольшая концентрация серебра наблюдается в легких. В течении 3 суток серебро практически полностью выводится из тканей и определяется в концентрации не более 0,005 мкг/кг. Не наблюдается статистически значимого увеличения концентрации серебра в течение курса ингаляций (30 дней) по сравнению с первой ингаляцией ( $p > 0,05$ ). Содержание частиц серебра в местах повреждения слизистой в 1,6 раза выше, чем на неповрежденных участках.
2. Серебро (ЭРС) способствуют снижению вязкости мокроты, улучшению мукоцилиарного клиренса, повышению фагоцитарной активности макрофагов, уменьшению перекисной активности и увеличению содержания иммуноглобулина А в конденсате выдыхаемого воздуха у больных хронической обструктивной болезнью легких.
3. Серебро (ЭРС 500-1000 мг/л) не оказывает цитотоксического и нуклеотоксического действия на клетки мерцательного эпителия человека, и не приводит к снижению мукоцилиарного клиренса. Ингаляции 10 мг серебра в течении 30 дней не приводят к гибели животных (крыс) и не вызывают нарушения развития их потомства или бесплодия.

4. Ингаляции аэрозолей, содержащих серебро, при применении на протяжении 6 месяцев 1 раз в день способствуют снижению количества, продолжительности и риска обострений ХОБЛ, оказывают положительное влияние на функцию внешнего дыхания, клиническую симптоматику и качество жизни пациентов, страдающих ХОБЛ;
5. Оптимальной ингаляционной суточной дозой для профилактики обострений ХОБЛ является 2 мг серебра (ЭРС);
6. Небулизации электролизного раствора серебра наиболее эффективно снижают частоту и длительность обострений ХОБЛ, ингаляции импрегнированного серебра оказывают наиболее сильное положительное влияние на клиническую симптоматику в ближние сроки, а ингаляции микрочастиц серебра после прекращения применения дольше других препаратов серебра сохраняют положительное воздействие на клиническую симптоматику;
7. Ингаляционное применение аэрозолей серебра в дозе 2-4 мг/сут на протяжении 6 месяцев хорошо переносится больными и не вызывает развития побочных эффектов.

#### **Научная новизна исследования:**

1. Впервые разработан метод ингаляционного введения различных форм серебра (ионов, молекул и частиц) включающий: выявление оптимальной аэродинамической формы частиц, оптимальных условий образования аэрозоля пластинчатых частиц и устройства для их ингаляционного введения (патент РФ № 62525).
2. Впервые показано, что при ингаляционном применении серебра (10 мг/сут) не происходит депонирование этого элемента в тканях животных (крыс) свыше 3 дней после однократной ингаляции и накопление серебра при курсовом применении (30 дней). Не наблюдается достоверного увеличения концентрации серебра в плазме крови и конденсате выдыхаемого воздуха человека при ингаляциях в течении 30 дней в дозе 2 мг у больных ХОБЛ.
3. Впервые доказано накопление пластинчатых микрочастиц серебра в месте повреждения слизистой дыхательных путей (трахея крыс);
4. Впервые выявлено воздействие ингаляций электролизного раствора серебра на снижение вязкости мокроты, повышение фагоцитарной активности макрофагов, усиление мукоцилиарного

клиренса, уменьшение перекисной активности и увеличение содержания IgA в конденсате выдыхаемого воздуха у больных ХОБЛ;

5. Впервые получены данные о снижении частоты, длительности и риска обострений ХОБЛ при применении различных форм серебра (ионы, молекулы, микрочастицы).
6. Впервые установлено, что длительное (6 мес.) ингаляционное применение различных форм серебра у больных ХОБЛ приводит к снижению выраженности одышки, увеличению резистентности к физической нагрузке, облегчению отхождения мокроты, положительной динамики ФВД, улучшению качества жизни;
7. Впервые получены данные о том, что оптимальной ингаляционной дозой серебра для профилактики обострений ХОБЛ является 2 мг/сут;
8. Впервые установлено, что количество и длительность обострений ХОБЛ наиболее эффективно снижают небулизации электролизного раствора серебра, наибольшее положительное влияние на клинические симптомы оказывают ингаляции импрегнированного серебра, а наиболее продолжительное действие после прекращения ингаляций обеспечивает применение аэрозоля микрочастиц серебра;
9. Впервые получены данные об отдаленных эффектах применения ингаляций, содержащих серебро (1 год);

**Практическая значимость работы** состоит в том, что

1. Разработаны методологические подходы для создания ингаляционных препаратов серебра и устройств для их введения в дыхательные пути;
2. Предложены простые, недорогие и эффективные методики ингаляций аэрозолей, содержащих серебро, применимые для профилактики обострений ХОБЛ в амбулаторных и стационарных условиях;
3. По результатам исследования разработаны рекомендации для практических врачей, освещающие механизмы действия серебра, вопросы безопасности применения, режим дозирования, ожидаемую эффективность, показания и противопоказания для назначения аэрозолей, содержащих серебро;

Результаты исследований были внедрены в ряде лечебно-профилактических учреждений:

- клинике НИИ Медицинских проблем Крайнего Севера РАМН, г. Надым Ямало - Ненецкого автономного округа (ЯНАО);
- участковой больницы п. Самбург, ЯНАО;
- районной больнице п. Яр-Сале, ЯНАО;
- участковой больницы п. Се-Яха, ЯНАО.

**Апробация работы.** Материалы работы представлены и доложены на VI научно-практической конференции «Вопросы профилактической медицины в регионах Крайнего Севера» (г. Надым, 2006 г.), 13 Международном конгрессе по приполярной медицине (г. Новосибирск, 2006 г.), 16 Национальном конгрессе по заболеваниям органов дыхания (г. Санкт-Петербург, 2006 г.), 17 Национальном конгрессе по заболеваниям органов дыхания (г. Казань, 2007 г.).

Число публикаций по теме работы - 27, в том числе, авторское свидетельство на полезную модель (1), статьи в центральных рецензируемых медицинских журналах (8), статьи в региональных рецензируемых изданиях (3), статьи в сборнике научных трудов НИИ Медицинских проблем Крайнего Севера РАМН (3), тезисы (12).

**Объем и структура работы.** Диссертация состоит из разделов: введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, четырех глав собственных наблюдений, обсуждения, выводов, практических рекомендаций. Текст изложен на 225 страницах машинописи, иллюстрирован 98 рисунками и 33 таблицами. Список литературы содержит 245, источников из них 103 отечественных и 142 зарубежных авторов.

#### **Характеристика материала и методов исследования.**

Разработка метода профилактики обострений ХОБЛ с помощью ингаляций аэрозолей, содержащих серебро, потребовала решение двух взаимосвязанных задач: разработку методики ингаляционного применения серебра и изучение воздействия аэрозолей серебра на механизмы развития ХОБЛ. Проведенные исследования были объединены в 2 раздела:

Раздел I «Разработка метода ингаляционного введения серебра»

Раздел II «Профилактика обострений ХОБЛ с помощью аэрозолей, содержащих серебро»

Последовательно были проведены технические эксперименты, исследования с использованием биологических субстратов (мокрота), тканей и клеток (мерцательный эпителий, макрофаги), эксперименты на лабораторных животных (крысы), обследованы здоровые добровольцы. Данный раздел предварял основные исследования, проведенные с участием больных ХОБЛ (рис. 1).



Рис. 1. Дизайн исследования

### Раздел I «Разработка метода ингаляционного введения серебра»

Биологический эффект во многом зависит от того, в какой форме в аэрозоле находится металл: в виде ионов, молекул или микрочастиц. Поэтому в проведенных нами исследованиях мы использовали:

1. Электролизный раствор серебра (ионы серебра) (ЭРС)
2. Частицы натрия хлорида, импрегнированные серебром (молекулярное серебро) (ИС)
3. Механическую смесь частиц натрия хлорида и микрочастиц серебра (пластинчатые частицы серебра) (МЧ)

Аэрозоли серебра не разрабатывались как окончательная лекарственная форма для внедрения в практику, а были предназначены для проведения исследований, направленных на выявление закономерностей воздействия различных форм серебра на механизмы развития и течение ХОБЛ.

ЭРС изготавливался с помощью с помощью сертифицированного устройства «Генератор коллоидных частиц серебра РКЖИ. 066619.033 РЭ» (Россия) на основе 0,9% раствора натрия хлорида.

ИС изготавливался путем кристаллизации раствора, состоящего из смеси электролизного раствора серебра и предельно насыщенного раствора NaCl. При кристаллизации происходило вытеснение Ag из кристаллической решетки с переходом его в молекулярное состояние «импрегнация» [Потару Ю.В., 1985]. Полученный порошок измельчался до дисперсности 5 мкм.

МЧ изготавливался путем механического смешивания частиц NaCl (дисперсностью 50-100 мкм) и пластинчатых частиц серебра марки СП-2, полученных методом электровзрыва (дисперсность 5 мкм, удельная поверхность 0,6-1,2 м<sup>2</sup>/г, массовое содержание серебра 99%). Крупные частицы натрия хлорида (>10 мкм) в данном препарате использовались как отделяемый носитель микрочастиц серебра и практически не попадали в дыхательные пути.

Аэрозоль МЧ состоял из двух компонентов: частиц серебра и частиц NaCl <5 мкм отколовшихся при трении от крупных частиц носителя.

Концентрация серебра в аэрозолях была различной в зависимости от задач эксперимента. Для введения частиц ИС и МЧ применялось специально разработанное устройство «Ксеролайзер».

Изучение дисперсионного состава аэрозоля проводилось с помощью оптического анализатора дисперсности аэрозоля «Malvern Spraytec». Выявление оптимальной формы частиц и оптимальной дисперсности балласта проводилось с помощью импактора «ИСПМ-3» при скорости потока 30 л/мин.

Определение ингаляционной дозы серебра, попадающей в дыхательные пути пациента, проводилось в стандартных условиях (постоянный поток 6 л/мин) и в реальных условиях вдоха. Серебро из потока воздуха отбиралось с помощью фильтров, перекрывающих мундштук (3 мкм). Фильтры минерализовались, далее в минерализате определялась концентрация серебра методом ядерно-абсорбционной спектрометрии согласно методическим рекомендациям (Сидоренко Г.И. и др., 1986 г.) на аппарате Hitachi-Z-8000.

Ингаляционное применение серебра потребовало изучения содержания металла в органах и тканях после однократного и курсового ингаляционного введения. Исследование проведено на 210

беспородных половозрелых самцах лабораторных крыс. Животные были разделены на 3 группы, получающие ингаляции ЭРС, ИС и МЧ. Кроме того, была сформирована группа крыс получающих ЭРС перорально. Эксперимент проводился методом «открытого объема» согласно методическим рекомендациям Гольдберг К.Я. и др. (1986). За 1 час в ингаляционную камеру (объемом 5 л) вводилось 10 мг серебра. ЭРС ингалировался с помощью небулайзера PARI MASTER, а сухие аэрозоли ИС и МЧ с помощью устройства «Ксеролайзер». В группе ЭРС животные были разделены на 5 подгрупп. Забой животных производился перед ингаляцией, сразу после ингаляции, на первые и вторые сутки после однократной ингаляции. Животные получавшие ингаляции на протяжении 30 дней были забиты на 31 сутки (спустя сутки после последней ингаляции). В группах II (ИС), III (МЧ) забой производился на 1 и 31 сутки. В группе IV (ЭРС per os) только на 30. Сравнение производилось с общей группой контроля забитой до ингаляции. Забой производился методом декапитации предварительно наркотизированных животных. Органы забитых животных гомогенизировались (легкие, сердце, печень, мозг, почки, селезенка, семенники, мышца бедра, плазма крови). Концентрация серебра определялась методом ядерно-абсорбционной спектрометрии (табл. 1).

Таблица 1.

Точки контроля и количество животных.

Группы	До ингаляции	Сразу после ингаляции	1 сутки после инг.	3 суток после инг.	30 суток ингаляций
I ЭРС	n=10	n=20	n=20	n=20	n=20
II ИС			n=20		n=20
III МЧ			n=20		n=20
IV per os ЭРС					n=20
Контроль		Выведение →			Накопление

В исследовании накопления серебра в биосредах человека приняло участие 30 больных ХОБЛ средней степени тяжести в период обострения, получавших ингаляции ЭРС в дозе 2 мг/сут. в течении 10 дней. Забиралась венозная кровь и КВВ до лечения после первой ингаляции и на 11 день лечения (спустя сутки после первой ингаляции). Полученные биосубстраты исследовались на содержание серебра методом ядерно-абсорбционной спектрометрии.

Изучение перемещения частиц серебра под воздействием МЦК

проводилось на изолированной трахее крыс. В средней трети трахеи препараточной иглой наносилось повреждение слизистой далее, на 1 мм выше бифуркации наносились частицы серебра. Трахея помещалась в термостат на 5 часов, далее замораживалась, делилась на 3 части, в каждой из которых определялась концентрация серебра методом ядерно-абсорбционной спектрометрии.

Для изучения скорости разрушения частиц серебра в биосредах, частицы серебра помещались в КВВ и мокроту. Каждый час проводилось микроскопическое исследование мазков. Фиксировалась длительность определения частиц в мазке при световой микроскопии.

Важным вопросом являлась безопасность ингаляционного введения серебра. Для исключения цитотоксического действия серебра были исследованы клетки назального мерцательного эпителия 20 здоровых лиц проводивших на протяжении 10 дней, 1 раз в сутки назальные инстилляции ЭРС (1 мл в каждую ноздрю в концентрации 500 мг/л.). Исследование отпечатков со слизистой носа проводилось на 1 и 11 день. Препараты окрашивали ацетарсеином и светлым зеленым, анализировали с помощью светового микроскопа в проходящем свете, используя объектив x 90 с масляной иммерсией и матовым фильтром. Подсчитывали 1000 эпителиальных клеток слизистой носа от каждого человека. Цитотоксический, канцерогенный и мутагенный эффект оценивался согласно методики Беляевой Н.Н. и др., (2005) «Микроядерный метод».

Для изучения воздействия ингаляций серебра на потомство животных, подвергшихся ингаляции ЭРС (10 мг в сутки 30 дней), было проведено контролируемое исследование на 60 беспородных лабораторных крысах. Животные получали ингаляции ЭРС 30 дней в дозе 10 мг/сут. Эксперимент проводился по методике предложенной Гольдберг К.Я. и др. (1986). В последние 5 дней ингаляций животные были рассажены попарно 1 самка 1 самец. В группе воздействия и в группе контроля был проведен анализ количества и развития потомства, наличие аномалий, смертность, бесплодность по методике предложенной Щавелевской С.В. (1967).

Рандомизированное, двойное слепое, плацебоконтролируемое, проспективное, клиническое исследование механизмов воздействия серебра на механизмы развития ХОБЛ было проведено с участием 60 больных ХОБЛ легкой степени тяжести стабильное течение. Возраст



больных составил  $51 \pm 8$  лет (48—56 лет). Все пациенты имели стаж работы на вредном производстве (цементная пыль) не менее 15 лет. Северный стаж не менее 12 лет. Курили 45 из 60 больных. Все пациенты были разделены с помощью генератора случайных чисел на 2 равных группы, сопоставимых по возрасту и тяжести заболевания. В группе коррекции пациенты получали небулизации электролизного раствора серебра в дозе 2 мг, которые проводились 1 раз в день. В группе плацебо пациенты получали небулизации 0,9% раствора натрия хлорида 1 раз в день. Длительность исследования составила 10 дней. Перед началом и после окончания исследования собирался конденсат выдыхаемого воздуха, венозная кровь, мокрота.

У всех пациентов проведены следующие исследования:

Исследование клеточного состава периферической крови, активность фагоцитоза, содержание IgA и ФНО- $\alpha$  в КВВ, проведено исследование оксидантной активности и pH КВВ, исследование вязкости мокроты, цитологическое исследование мокроты. Для исключения негативных эффектов всем больным до и после окончания лечения проводился осмотр офтальмолога, общий анализ мочи, исследование трансаминаз печени.

Исследование перекисной активности КВВ проводилось с помощью биохимлюометра «БХЛ 07» (Россия). Концентрацию иммуноглобулина А в КВВ определяли при помощи набора «IgA секреторный – ИФА – БЕСТ». ФНО- $\alpha$  определяли методом иммуноферментного анализа с использованием диагностических наборов фирмы «Цитокин» (г. Санкт-Петербург). Результат оценивали с помощью иммуноферментного анализатора фирмы «Sunrise Tecan» (Австрия). Измерение pH КВВ проведено на приборе «MP 120 pH Meter Mettler Toledo» (Великобритания). Активность фагоцитоза, стимулированного частицами латекса, оценивалась по светосумме люминесценции (S) на биохимлюометре «БХЛ-07» (Россия).

Вязкость гомогенизированной мокроты измерялась с помощью капиллярного вискозиметра ВК-10. При гомогенизации к 1 части мокроты было добавлено 5 частей 0,9% раствора NaCl.

Для изучения воздействия ЭРС на вязкость мокроты *in vitro* каждая проба мокроты делилась на 2 порции. Одна порция гомогенизировалась с 0,9% раствора NaCl, другая с ЭРС (50 мг/л),

приготовленным на 0,9% раствора NaCl. В обеих порциях при гомогенизации к 1 части мокроты было добавлено 5 частей раствора.

В исследовании воздействия серебра на мукоцилиарный клиренс слизистой носа приняло 45 чел. (15 мужчин и 30 женщин), в возрасте  $28\pm 8$  лет (22-35 лет). Из них 15 некурящих здоровых лиц, 10 курящих здоровых добровольцев и 20 пациентов, страдающих хроническим риносинуситом (в фазе ремиссии). На протяжении 5 дней проводились инстилляции электролизного раствора серебра (30 мг/л) 2 мл в каждую ноздрю 2 раза в день. Воздействие серебра на мукоцилиарный клиренс оценивалось перед началом и после завершения исследования с помощью «сахаринового теста». Данный тест выполнялся с помощью нанесения на слизистую передней трети полости носа гранулы сахарина. Активность мукоцилиарного клиренса оценивалась по времени от внесения сахариновой гранулы до появления сладкого вкуса во рту (чем больше время, тем менее активен мерцательный эпителий).

Изучение воздействие серебра на мерцательный эпителий проводилось с участием здоровых добровольцев 20 чел. (8 мужчины и 12 женщин), средний возраст  $28\pm 4$  лет (22—35 лет). Участники исследования не имели хронических заболеваний носоглотки, не переносили острых респираторных инфекций в течении месяца, не курили, не имели контакта с производственными поллютантами. Препарат живых клеток мерцательного эпителия слизистой носа забирался методом щеточной биопсии. Клетки из одной пробы помещались на 3 предметных стекла в каплю физиологического раствора (в кольцевом боксе) температурой  $37^{\circ}\text{C}$ . К препарату I был добавлен электролизный раствор серебра в концентрации (10 мг/л), к препарату II в концентрации (500 мг/л), к препарату III (контроль) раствор серебра не добавлялся. Визуальное наблюдение проводилось через объектив светового микроскопа при увеличении  $\times 40$  до полного прекращения движения ресничек. Производился замер времени от помещения препарата на предметное стекло до полной остановки движения ресничек.

## **Раздел II «Профилактика обострений ХОБЛ с помощью аэрозолей, содержащих серебро»**

Проведено рандомизированное, двойное слепое, плацебоконтролируемое, проспективное, клиническое исследование, в

в ходе которого была оценена эффективность ингаляционного применения серебра у больных ХОБЛ, выявлена оптимальная суточная доза и особенности действия различных форм серебра.

Длительность исследования составила 360 дней. На протяжении 180 дней пациенты принимали ингаляции препаратов серебра, далее на протяжении 180 дней наблюдение продолжалось, но ингаляции не проводились.

Исследование проводилось в 2 этапа.

На первом этапе была выявлена оптимальная ингаляционная доза серебра, для чего проведено сравнение эффективности ингаляционного применения 1, 2 и 4 мг серебра в сутки.

На втором этапе были выявлены особенности воздействия различных форм серебра.

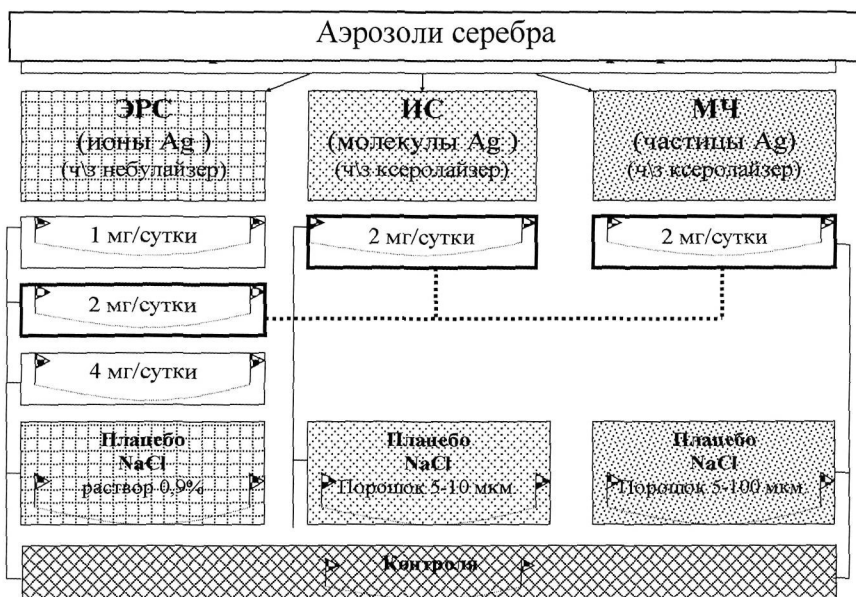
1. Небулизации электролизного раствора серебра (ЭРС)
2. Сухой аэрозоль серебра, импрегнированного в кристаллическую решетку натрия хлорида (ИС)
3. Сухой аэрозоль смеси частиц натрия хлорида и микрочастиц серебра (МЧ)

Эффективность и безопасность каждой формы серебра оценивалась по сравнению с исходным результатами внутри группы, по сравнению с группой плацебо, группой контроля и группами, получавшими ингаляции аэрозоля другой формы серебра. Группа контроля была общей, а группы плацебо были различны при исследовании каждого аэрозоля (рис. 2). В качестве плацебо использовался натрия хлорид в различных ингаляционных формах: 0,9% водный раствор натрия хлорида (в сравнении с ЭРС), порошок натрия хлорида дисперсностью 5-10 мкм (в сравнении с ИС), порошок натрия хлорида дисперсностью 5-100 мкм (в сравнении с МЧ). Препараты серебра по цвету, запаху, ощущениям при ингаляции, не отличались от плацебо. Тест на «разоблачение плацебо» не дал положительных результатов ( $p > 0,05$ ) ни в одной из групп.

Исследование проводилось в амбулаторных условиях на базе медицинских кабинетов промышленных предприятий города Надыма. Все пациенты (кроме группы контроля) получали 1 раз в сутки в одно и то же время ингаляции серебра, либо плацебо.

Сведения о распределении в определенную группу были недоступны пациенту и другим участникам исследования, кроме

организатора исследования и представителей этического комитета, осуществлявших мониторинг. Проведению каждого этапа исследования предшествовало получение разрешения этического комитета. В процессе проведения исследований проводились плановые и внеплановые проверки, включающие: анализ документации, беседу с пациентами, выборочный контроль содержания серебра в аэрозоле.



Примечание:

- 1) Сравнение с исходными результатами
- 2) Сравнение с группами плацебо и контроля
- 3) Сравнение групп получающих, различные препараты металлического серебра в дозе 2 мг/сут.



Рис. 2. Дизайн исследований Раздела II

В исследовании принимало участие 322 больных ХОБЛ (280 мужчин и 62 женщины). Средний возраст составил  $49,8 \pm 7,3$  лет (45 — 59). Все пациенты имели смешанный вариант ХОБЛ, стабильное течение, легкой степени тяжести (314 чел.) и средней степени тяжести (8 чел.). Ограничение воздушного потока на выдохе:  $ОФВ_1$  80-50% от должн.,  $ОФВ_1/ФЖЕЛ < 70\%$  от должн. Для всех пациентов в фазу обострения был характерен бронхитический синдром.

Диагноз ХОБЛ выставлялся на основании критериев GOLD 2003. Обострение ХОБЛ диагностировалось по критериям, предложенным Anthonisen N.R. et al. (1987). Все пациенты имели профессиональные вредности (контакт с цементом и/или сварочным аэрозолям). Курили 85% пациентов. Все пациенты более 10 лет проживали в условиях Крайнего Севера. Ни один из пациентов, включенных в исследование, не принимал регулярной терапии ХОБЛ (несмотря на проведенную разъяснительную работу и полученные рекомендации). После оформления информированного согласия больные были разделены на 3 группы в исследованиях аэрозолей ИС и МЧ и на 5 групп в исследовании электролизного раствора серебра. Стартовая численность каждой из групп составляла 38 - 34 человека.

Распределение в группы происходило в случайном порядке (с помощью генератора случайных чисел «MVC»). Группы были сопоставимы по возрасту, тяжести ХОБЛ по шкале BODE, количеству обострений в год. Расчет должной выборки показал адекватность численности групп (табл. 2). Во всех группах количество выбывших из исследования не превысило 20%. Всего за время исследования выбыло 45 пациентов. Под контролем этического комитета проводился анализ всех причин выбывания из исследования. Единственным побочным эффектом у пациентов, получавших ингаляции, было резкое усиление кашля (11 человек). Причем количество пациентов с данным симптомом было равным среди получавших препараты серебра и плацебо (табл. 2).

Таблица 2.

Количество пациентов в группах и выбывание из исследования

Группы	Количество пациентов						Σ=322				
	I (1 мг)	II (2 мг)	III (4 мг)	IV (плацебо)	V (контроля)						
ЭРС	36	36	36	36	36		180				
ИС		38		36			74				
МЧ		34		34			68				
Группы	Количество выбывших пациентов										Σ=45
	I (1 мг)		II (2 мг)		III (4 мг)		IV (плацебо)		V (контроля)		
	ПЭ	ДП	ПЭ	ДП	ПЭ	ДП	ПЭ	ДП	ДП		
ЭРС	1	5	0	5	0	5	1	3	5		25
ИС			3	4			3	3			13
МЧ			2	1			2	2			7

Примечание: ПЭ — побочные эффекты; ДП — другие причины

Контроль учитываемых показателей проводился до начала исследования и на 15, 30, 180 и 360 день наблюдения. Проводился анализ обострений (АО) (частота и длительность обострений, количество дней нетрудоспособности, количество обращений к врачу и назначений антибактериальной терапии по поводу обострений ХОБЛ). Производилось исследование функции внешнего дыхания с помощью спирографии (СГ) и бодиплетизмографии (БПГ), оценивалась клиническая симптоматика (КСМ), исследование качества жизни (КЖ), исследование рН конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) (табл. 3).

Таблица 3.

Объем обследования

Точки контроля (месяцы)													
0	15	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	день												
АО	СГ	АО	АО	АО	АО	АО	АО	АО	АО	АО	АО	АО	АО
СГ	КСМ	СГ					СГ						СГ
БПГ	КВВ	БПГ					БПГ						БПГ
КС		КСМ					КСМ						КСМ
М		КВВ					КВВ						КВВ
КВВ		КЖ					КЖ						КЖ
КЖ													
ВОЗДЕЙСТВИЕ								НАБЛЮДЕНИЕ					

Ингаляционная доза серебра (на уровне мундштука) составила для пациентов, получающих ЭРС 1, 2 и 4 мг в сутки (в зависимости от группы). В группе ИС и МЧ пациенты получали 2 мг в сутки. Ингаляции проводились 1 раз в сутки, утром в одно и тоже время.

ЭРС ингалировался с помощью струйных небулайзеров PARI MASTER фирмы «Pari» (Германия). Ингаляции сухих аэрозолей ИС и МЧ проводились с помощью специально разработанного для этих целей ингалятора «Ксеролайзер».

Исследование ФВД: спирометрия и общая бодиплетизмография проводилась в утренние часы согласно рекомендациям Американского торакального общества (American Thoracic Society, 1987) с помощью аппарата Masterlab/Masterscren фирмы «Jaeger» (Германия). Для определения физической работоспособности использовали 6-минутный нагрузочный тест, (6 MWT) [Borg G., 1976]. Толерантность к физической нагрузке оценивали по расстоянию, пройденному за данный интервал времени, и производили расчет должных величин. Одышка оценивалась в баллах по шкале (Medical

Research Council Dyspnea Scale) [Bestall J.C. et al., 1999]. Выраженность кашля в баллах оценивалась по шкале Hsu J.A., Stone R.V. et al. (1994). Характер, количество и отхождение мокроты оценивали в баллах по шкалам, предложенным Носаль Е.М. и др. (1962). Конденсат выдыхаемого воздуха (КВВ) собирался утром в одно и то же время с помощью одноразового конденсора. рН КВВ определялся с помощью рН метра «рН-150М» (Великобритания). Качество жизни изучалось с помощью стандартизованной шкалы общей оценки состояния здоровья SF-36 (The MOS 36-Item Short-Form Health Survey - русскоязычная версия) [Horney C.A., 1992].

Статистическая обработка производилась с помощью пакета программ STATISTICA-6. Для каждой группы был проведен тест Шапиро–Уилка на нормальное распределение. Данные представлены как среднее значение и стандартное отклонение ( $M \pm SD$ ). Для внутригрупповых сравнений был использован критерий Вилкоксона, для межгрупповых сравнений – критерий Манна-Уитни, анализ обострений проводился с использованием критерия  $\chi^2$  по методу Пирсона. При количестве пациентов в группе менее 5, но более 3 использовался точный критерий Фишера. Различия считались достоверными если уровень значимости не превышал 5% ( $p < 0,05$ ). Проводился классификационный кластерный анализ.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Ингаляционное введение электролизного раствора серебра не представляло технической сложности, так как вопросы небулизаций низкомолекулярных растворов достаточно изучены. Использование сухих аэрозолей серебра ИС и МЧ, напротив, потребовало проведения целого комплекса исследований.

В ходе проведенных экспериментов было выявлено, что частицы серебра пластинчатой формы по сравнению с частицами глобулярной формы более чем на 10% легче преодолевают II ступень импактора (3 мм) ( $p=0,002$ ). Вместе с тем, ингаляционное применение пластинчатых частиц было затруднено из-за образования агрегатов, ухудшающих аэродинамические свойства аэрозоля. Данную проблему удалось разрешить, опираясь на данные экспериментов, в которых было показано, что при добавлении в распыляемый порошок крупнодисперсных частиц NaCl «носителя» (остающихся в камере ингалятора) снижается количество агрегатов в аэрозоле. Было

выявлено, что агрегатообразование уменьшается при увеличении размера частиц носителя ( $p=0,04$ ). Для отделения частиц носителя от ингалируемых частиц серебра было разработано устройство «Ксеролайзер».

При изучении ингаляционной дозы серебра (на уровне мундштука) выявлено, что ЭРС, ингалируемый через небулайзер в стандартных условиях (скорость потока 6 л/мин), позволяет добиться более стабильной ингаляционной дозы, чем при использовании сухих аэрозолей ИС и МЧ, ингалируемых через «Ксеролайзер». Однако, в условиях реального вдоха сухие аэрозоли ИС и МЧ показали более высокую стабильность ингалируемой дозы. Содержание серебра в аэрозоле на уровне мундштука составило для ЭРС -  $1,7\pm 0,9$  мг; ИС -  $1,8\pm 0,7$  мг; МЧ -  $1,8\pm 0,7$  мг (при расчетной дозе 2 мг).

При исследовании выведения серебра из органов и тканей крыс после однократного ингаляционного введения было выявлено, что сразу после ингаляции ЭРС максимальная концентрация серебра определялась в легких ( $0,07$  мкг/кг). Спустя сутки после ингаляции концентрация серебра в легких снизилась до  $87,5\%$ , на вторые сутки достигла уровня  $25\%$ , через 3 суток серебро определялось в следовых концентрациях (не более  $0,005$  мкг/кг).

Наибольшая концентрация серебра в других тканях и органах наблюдалась спустя сутки после ингаляции. Отмечалось достаточно быстрое выведение серебра из организма. Уже к 3 суткам во всех тканях и органах регистрировались лишь следовые концентрации серебра не более  $0,005$  мкг/кг. Наибольшее накопление серебра отмечено в мышцах  $0,07$  мкг/кг и селезенке  $0,06$  мкг/кг (рис. 3).

При исследовании накопления серебра в тканях и органах при его курсовом применении выявлено, что в легких животных ингалированных ИС и МЧ концентрация серебра была меньше на  $15\%$ , чем в легких животных ингалированных ЭРС. Вместе с тем, статистически достоверных различий между группами установлено не было ( $p=0,1$ ). Ни в одной группе не выявлено статистически достоверных различий содержания серебра в органах и тканях, между животными, получившими одну ингаляцию и 30 ингаляций ( $p>0,05$ ). В группе животных, принимающих ЭРС перорально, в легких определялись только следовые концентрации серебра ( $<0,001$  мкг/кг).



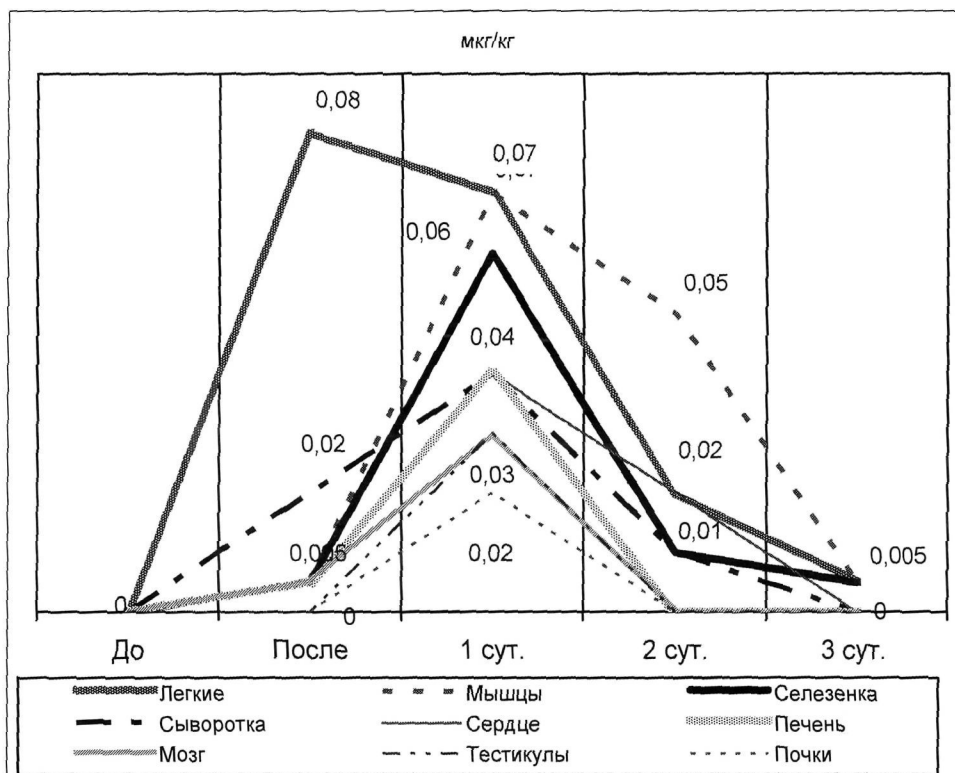


Рис. 3. Содержание серебра в органах и тканях лабораторных крыс после однократной ингаляции ЭРС (10 мг)

В исследовании накопления серебра в биосредах человека увеличение концентрации серебра в плазме крови и КВВ сразу после ингаляции было выявлено только у пациентов, получающих ЭРС, а после 10 дней ингаляций (через день после последней ингаляции) только у пациентов, принимающих МЧ.

В исследовании перемещения частиц серебра под воздействием МЦК выявлено, что микрочастицы серебра достаточно быстро проходят участки с сохраненным МЦК и накапливаются в очаге повреждения. О данном факте свидетельствует достоверно большая концентрация серебра в средней части трахеи (где было нанесено повреждение) по сравнению с дистальным и проксимальным отрезками (рис. 4).

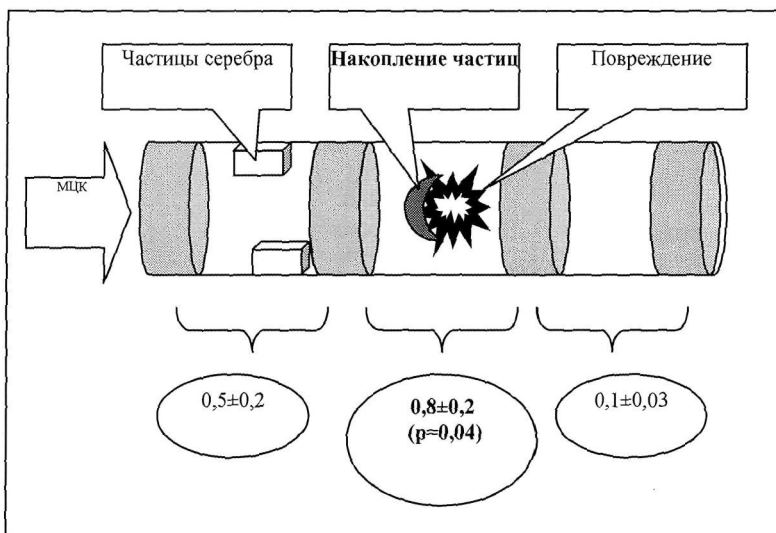


Рис. 4. Перемещение частиц серебра под воздействием МЦК

В исследовании скорости разрушения микрочастиц серебра в КВВ и мокроте выявлено, что через 5 часов в данных биосредах при световой микроскопии не определяются частицы серебра.

При исследовании воздействия ингаляций серебра на потомство животных (беспородных лабораторных крыс) не было зафиксировано развитие аномалий и бесплодных пар ни в одной из групп. Степень развития была идентичной во всех группах и соответствовала норме (3 балла). Гибель детенышей в 1 неделю после рождения была меньше в группах получающих ингаляции серебра, и составила в группе получающих ЭРС – 3, МЧ – 3, в группе контроля – 3 животных.

В ходе исследования токсического, мутагенного и канцерогенного действия серебра на клетки мерцательного эпителия слизистой носа было выявлено, что у лиц принимающих инстилляцию ЭРС не только не наблюдалось повреждения ядра, но напротив, была выявлена положительная динамика большинства показателей. Наблюдалось статистически достоверное уменьшение количества клеток с вакуолизацией ядра ( $p=0,03$ ) и клеток с инвагинациями кариолеммы ( $p=0,04$ ) (табл. 4).

Таблица 4.

## Воздействие серебра на ядро клеток.

Цитогенетические показатели (мутагенный и потенциальный канцерогенный эффект)	до	после (11 день)	p
Микроядра	0,5±0,3	0,3±0,2	0,1
Протрузии	0	0	
<b>Показатели дегенерации ядра на ранней стадии (цитотоксический эффект)</b>			
Вакуолизация ядра	6,8±3,0	1,1±4,2	<u>0,03</u>
Инвагинация кариолеммы	20,0±17,2	11,1±16,0	<u>0,04</u>
<b>Показатели дегенерации ядра на поздней стадии (цитотоксический эффект)</b>			
Кариорексис	0	0	
Кариопикноз	0,3±0,2	0,1±0,1	0,06
Кариолизис	0	0	
Два ядра	0,3±0,2	0,2±0,2	0,1
Перетяжка ядра	0,3±0,3	0,3±0,4	0,8
Примечание: расчет на 1000 клеток			

В ходе изучения воздействия ингаляций серебра на механизмы развития ХОБЛ выявлено, что у пациентов, получающих ЭРС (группа воздействия), наблюдалось существенное снижение оксидантной активности и увеличение антиоксидантного потенциала КВВ. Об этом свидетельствует статистически достоверное снижение показателей, характеризующих оксидантную активность  $I_{\max}$  (пиковая люминесценция) 14% ( $p=0,05$ ) и  $S$  (светосумма) 10% ( $p=0,008$ ), а так же увеличение показателя, характеризующего антиоксидантную активность  $tg-\alpha$  на 21% ( $p=0,01$ ).

В группе контроля не наблюдалось достоверной динамики показателей перекисной активности. Статистически достоверные различия между группой воздействия и группой контроля выявлены по показателям  $S$  ( $p=0,03$ ) и  $tg-\alpha$  ( $p=0,009$ ) (рис. 5).

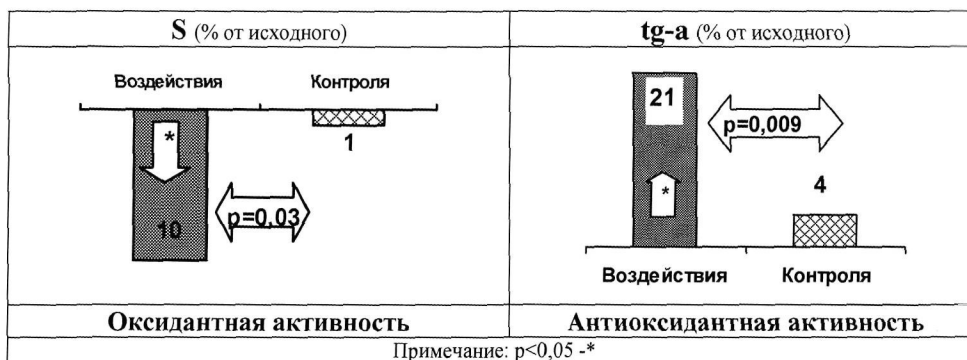


Рис. 5. Динамика перекисной активности КВВ

При исследовании динамики иммунных показателей КВВ выявлено, что у пациентов получающих ингаляции ЭРС наблюдалось увеличение концентрации секреторного иммуноглобулина А (IgA) на  $121,5 \pm 12,1$  МЕ\мл ( $p=0,03$ ), тогда как в группе контроля - всего на  $20,8 \pm 11,2$  МЕ\мл ( $p=0,06$ ) (рис. 6). Прирост данного показателя в группе воздействия был достоверно больше по сравнению с группой контроля ( $p=0,02$ ).

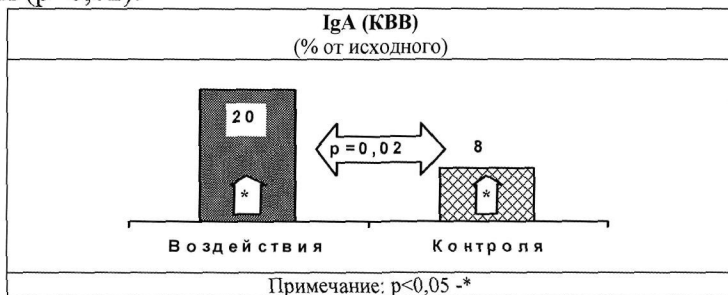


Рис. 6. Динамика показателей КВВ

При исследовании концентрации ФНО- $\alpha$  в КВВ в группе воздействия наблюдалось статистически значимое снижение данного показателя ( $p=0,03$ ). Вместе с тем, статистически значимых различий по сравнению с группой контроля не получено ( $p=0,07$ ).

При исследовании клеточного состава периферической крови в группе воздействия выявлено снижение фагоцитарной активности нейтрофилов на 7% от исходного ( $p=0,05$ ), что статистически достоверно ( $p > 0,05$ ) больше, чем в группе контроля, где снижение составило всего 3%. Вместе с тем, в проведенных нами исследованиях с использованием крови тех же больных, при добавлении к культуре

фагоцитов *in vitro* ЭРС в концентрациях 0,1 мг/л фагоцитарная активность возросла на 62% по сравнению с контрольными исследованиями, проведенными у тех же пациентов, но без добавления электролизного раствора серебра ( $p=0,001$ ). Это может свидетельствовать о снижении стимуляции нейтрофилов в сочетании с повышением эффективности фагоцитоза макрофагов.

При изучении воздействия серебра на вязкость мокроты *in vitro* выявлено, что ЭРС снижает вязкость мокроты почти в 2 раза сильнее по сравнению с раствором 0,9% NaCl, добавленным в том же объеме (рис. 7). При изучении динамики вязкости мокроты пациентов получающих ингаляции ЭРС в течении 10 дней было выявлено, что в группе воздействия вязкость мокроты после окончания курса лечения была достоверно меньше, чем в группе контроля ( $p=0,04$ ) (рис. 7).



Рис. 7. Воздействие серебра на вязкость мокроты

В исследовании воздействия ЭРС на мукоцилиарный клиренс слизистой носа было выявлено, что у здоровых лиц скорость очищения слизистой от сахараина достоверно не изменилось до применения серебра и после курса инстилляций электролизного раствора серебра ( $p=0,1$ ). Вместе с тем, у курящих пациентов «сахариновое время» уменьшилось с  $20,2 \pm 11,1$  до  $15,7 \pm 12,2$  (на 22%) ( $p=0,03$ ), а у пациентов имеющих хронические заболевания носоглотки с  $22,4 \pm 20,1$  до  $18,7 \pm 12$  (на 18%) ( $p=0,03$ ), что свидетельствует об активации мукоцилиарного клиренса под воздействием серебра (рис. 8).

В исследовании воздействия серебра на активность мерцательного эпителия установлено, что продолжительность биения ресничек биоптата живых клеток была наибольшей при концентрации серебра

10 мг/л и составила  $24,1 \pm 14,2$  мин. Наименьшая длительность биения наблюдалась при помещении клеток в физиологический раствор натрия хлорида (контроль)  $19,2 \pm 10,4$  мин. При концентрации серебра 500 мг/л длительность биения ресничек составила  $20,3 \pm 12,1$  мин. Вместе с тем, статистически достоверных отличий длительности биения ресничек при различных концентрациях серебра выявлено не было ( $p=0,08$ ) (рис. 8).

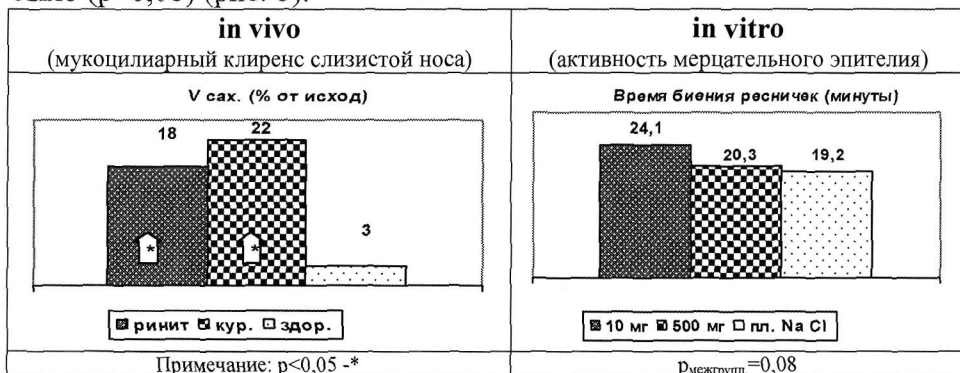


Рис. 8. Динамика показателей, характеризующих активность мерцательного эпителия

### Выявление оптимальной ингаляционной дозы серебра.

При анализе обострений ХОБЛ во всех группах, применявших небулизации ЭРС, выявлено достоверно меньшее количество и длительность обострений, назначений антибиотиков и дней нетрудоспособности, чем в группе плацебо и контроля ( $p < 0,05$ ). Вместе с тем, снижение данных показателей не имело линейной зависимости от дозы серебра. При увеличении дозы выше 2 мг профилактическая эффективность практически не возрастала. Так, в группе I (1 мг) количество и длительность обострений, а так же количество дней нетрудоспособности было достоверно больше, чем в группах II (2 мг) и III (4 мг). Между группами II (2 мг) и III (4 мг) по данным показателям статистических различий не выявлено. Количество назначений антибиотиков статистически не различалось во всех группах получающих серебро (рис. 9).

При анализе риска развития обострений ХОБЛ выявлены близкие значения отношения шансов в группе получающей 4 мг серебра — 0,11 и 2 мг — 0,14. В группе получающей 1 мг данный показатель

составил 0,37, что почти в 3 раза хуже, чем в группах I (1 мг) и II (2 мг). В группе плацебо отношение шансов составило 0,96.

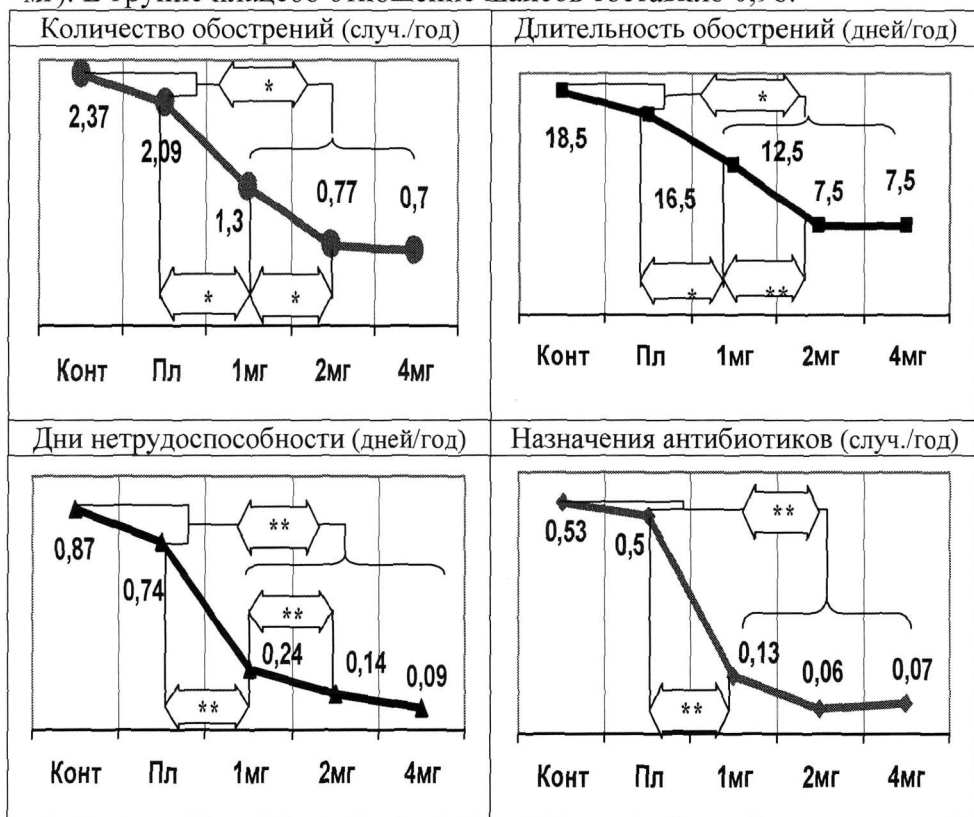


Рис. 9. Обострения ХОБЛ в группах, получавших различные дозы серебра

Анализ динамики клинической симптоматики показал, что во всех группах, получавших серебро, наблюдалась статистически достоверная положительная динамика (по сравнению с исходными результатами и группами плацебо и контроля) таких показателей, как выраженность одышки, кашля, толерантность к физической нагрузке (тест 6-минутной ходьбы), характер, количество и отхождение мокроты. Уменьшение одышки и увеличение толерантности к физической нагрузке наблюдалось на протяжении всего курса ингаляций. Динамика выраженности кашля, количества, отхождения и характера мокроты имела две фазы: увеличение к 15 дню лечения с последующим снижением к 180 дню. Динамика большинства

показателей не имела линейной зависимости от дозы серебра, вместе с тем, в группах, принимавших более высокие дозы серебра, эффект развивался быстрее, а после прекращения приема серебра обратная динамика была менее выражена. В группе I (1 мг) наблюдалась менее выраженная положительная динамика, чем в других группах, получавших серебро. Статистически достоверные отличия с группами II (2 мг) и III (4 мг) были получены по следующим показателям: выраженность одышки, выраженность кашля, количество и отхождение мокроты (рис. 10).

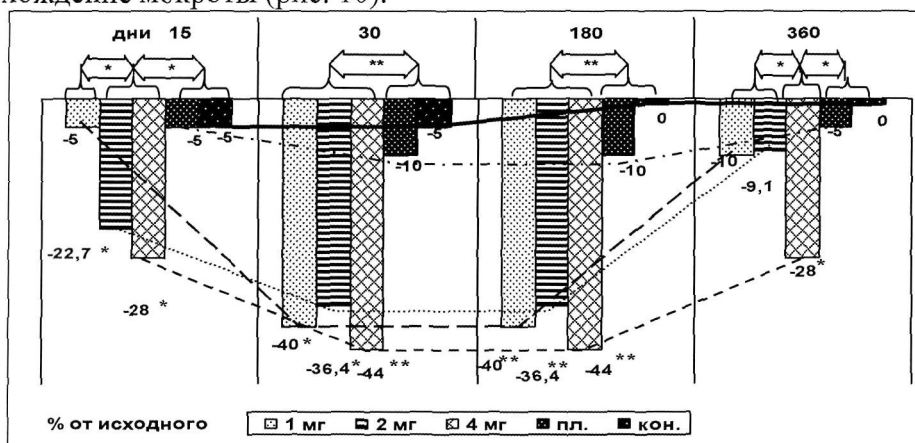


Рис. 10. Динамика одышки

Анализ динамики ФВД показал, что во всех группах, получавших серебро, наблюдалась положительная динамика таких показателей, как ФЖЕЛ, ОФВ<sub>1</sub>, СОС<sub>25-75</sub>, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ, ЖЕЛ, ООЛ, R-ex, ООЛ/ОЕЛ. Все показатели ФВД статистически значимо отличались от групп плацебо и контроля на 180 день исследования. Вместе с тем, статистически достоверные отличия по сравнению с исходными результатами на 30-180 день исследования были выявлены только по двум показателям (ООЛ и ООЛ/ОЕЛ) ( $p < 0,01$ ). Динамика показателей ФВД в группах, принимавших небулизацию электролизного раствора серебра, не имела линейной зависимости от дозы серебра, вместе с тем, в группах, принимавших более высокие дозы серебра (2 и 4 мг), эффект развивался быстрее (к 15 дню), а после прекращения приема серебра обратная динамика была менее выражена (рис. 11).



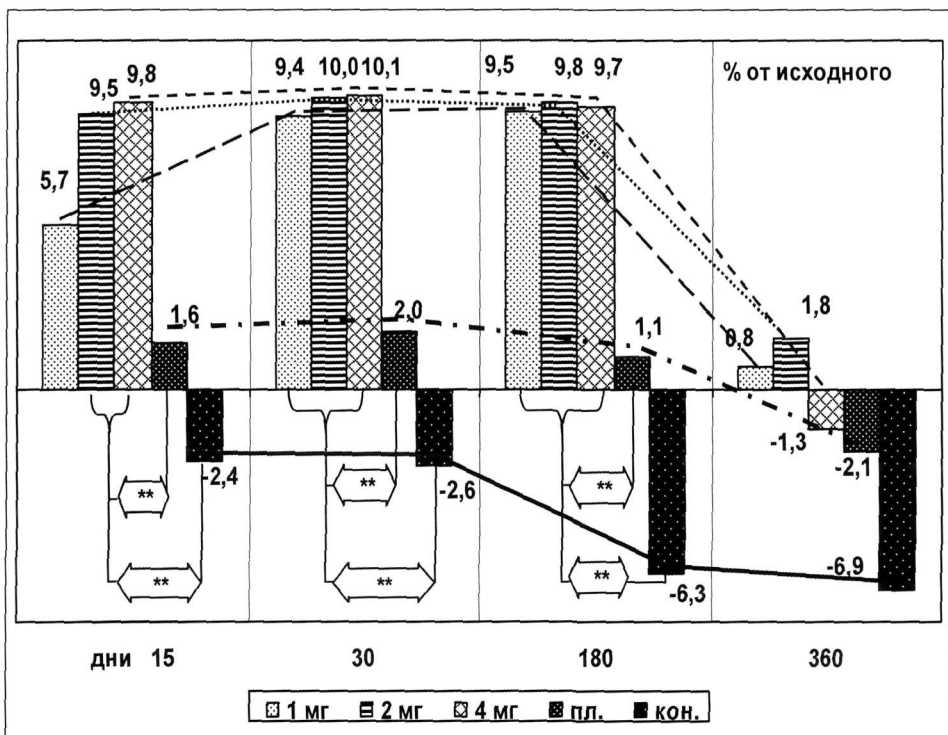


Рис. 11. Динамика ОФВ<sub>1</sub>

Анализ динамики показателей качества жизни выявил положительную, статистически значимую динамику, (по сравнению с исходными результатами и группами плацебо и контроля) показателей «общее здоровье» и «роль физических проблем в ограничении жизнедеятельности» в группах II (2мг) и III (4мг) и показателя «физическая активность» во всех группах, получавших серебро. Динамика данных показателей не имела статистически достоверных отличий между группами, принимавшими серебро, ни в одной точке контроля.

### Сравнения эффективности препаратов серебра.

При анализе обострений ХОБЛ выявлено, что во всех группах, получавших препараты серебра, наблюдалось достоверно меньшее количество обострений ХОБЛ, чем в группе контроля ( $p < 0,01$ ). Наименьшее количество обострений наблюдалось в группе I (получавших небулизацию электролизного раствора серебра) (ЭРС) в дозе 2 (мг) составило 0,77 случ. в год. Далее по убыванию в группе II

(ИС) — 1,0 случ. в год; в группе III (МЧ) — 1,87 случ. в год, в группе контроля — 2,3 случ. в год. Между группами I (ЭРС) и II (ИС) статистически достоверных различий не выявлено, в то время как количество обострений в данных группах было достоверно меньше, чем в группе III (МЧ) ( $p=0,001$ ) (рис. 12). Такие показатели, как длительность обострений и количество обращений, имели достоверно меньшие значения в группе I (ЭРС) по сравнению с группами II (ИС) и III (МЧ). Количество дней нетрудоспособности и случаев назначений антибиотиков было наименьшим в группе I (ЭРС) и достоверно отличалось от групп II (ИС) и III (МЧ) ( $p=0,001$ ), где значения данных показателей были идентичны (рис. 12).

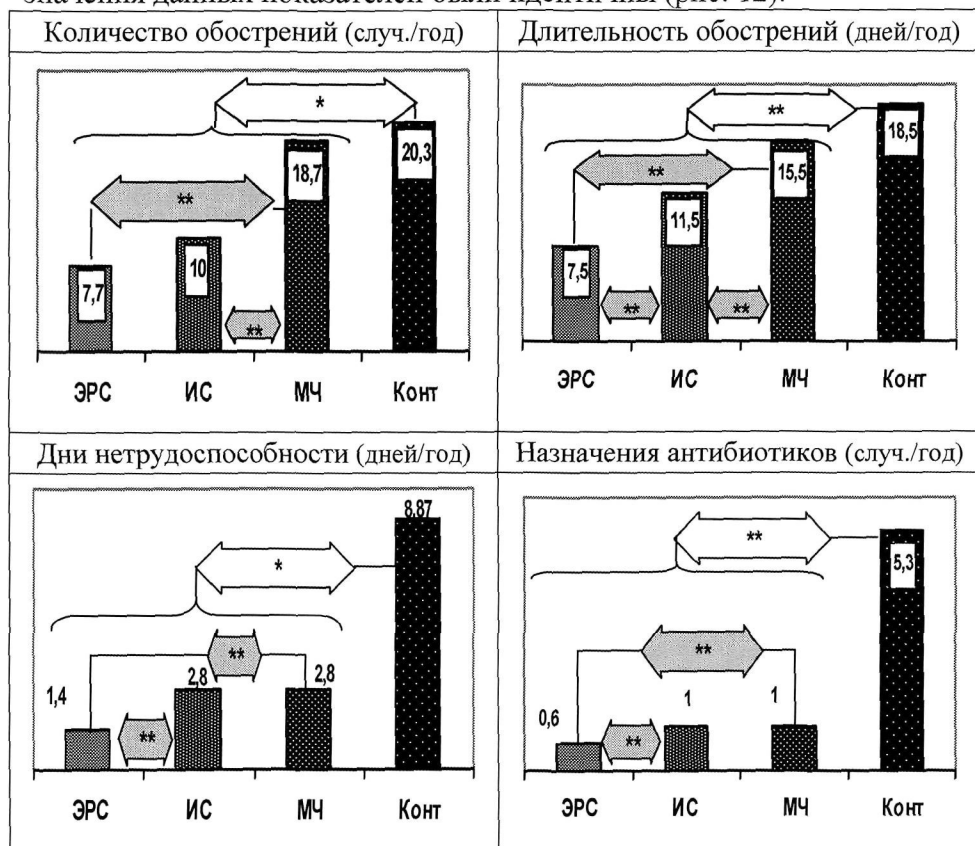


Рис. 12. Обострения ХОБЛ в группах, получавших различные формы серебра

При анализе риска развития обострений ХОБЛ отношение шансов в группе получающей ЭРС составило — 0,14 в группе ИС — 0,23, в группе МЧ — 0,57.

При анализе динамики клинической симптоматики во всех группах, получавших препараты серебра, получены статистически достоверные различия по сравнению с исходными значениями и группой контроля (с 15 по 180 день). Наибольшая положительная динамика наблюдалась в группе II (ИС) и группе I (ЭРС). Вместе с тем, через 6 месяцев после прекращения ингаляций наилучшие значения показателей клинической симптоматики наблюдались в группе III (МЧ).

Особенности воздействия различных препаратов серебра в наибольшей мере проявились в динамике результатов теста 6-минутной ходьбы (6-MWD) и количества мокроты. Так при анализе динамики результатов 6-MWD выявлено, что прирост данного показателя по сравнению с исходными значениями достиг уровня статистической значимости в группах I (ЭРС) и II (ИС) на 15 день, а в группе III (МЧ) только на 180 день ( $p < 0,05$ ). В группе II (ИС) наблюдались не только наилучшие значения показателя, но и были выявлены статистически достоверные различия по сравнению с группой III (МЧ) на 15 день лечения. Вместе с тем, на 360 день в группе III (МЧ) значения данного показателя были достоверно выше, чем в группе I (ЭРС) и II (ИС) (рис. 13).

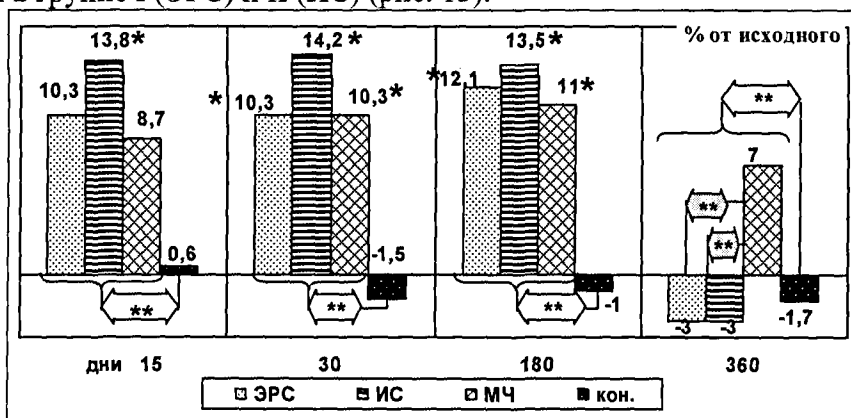


Рис. 13. Динамика толерантности к физической нагрузке (тест 6-минутной ходьбы)

При анализе количества мокроты выявлено, что динамика данного показателя имела двухфазную кривую изменений во всех группах. В первую фазу (до 15 дня) происходило увеличение отхождения мокроты с последующим выраженным уменьшением суточного количества. Наибольшее увеличение количества мокроты в первую фазу статистически достоверно не различалось в группах I (ЭРС) и II (ИС). Наибольшее снижение данного показателя во вторую фазу наблюдалось в группе I (ЭРС). Группа II (ИС) отличалась от группы I (ЭРС) меньшим снижением количества мокроты, а группа III (МЧ) меньшим увеличением данного показателя. Через 6 месяцев после окончания лечения количество мокроты было равным в группах I (ЭРС) и II (ИС) и статистически значимо отличалась от меньшего количества мокроты в группе III (МЧ) ( $p=0,05$ ) (рис. 14).

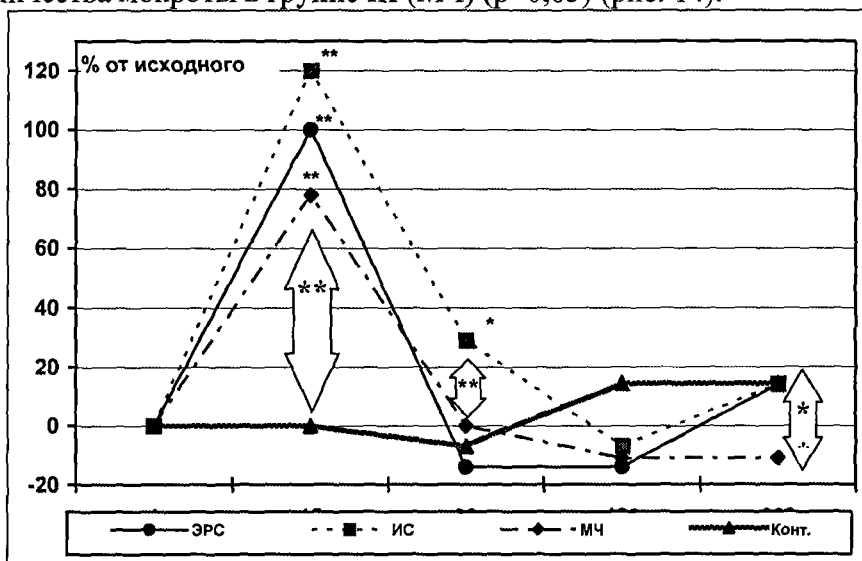


Рис. 14. Динамика количества мокроты

При анализе динамики ФВД выявлено, что во всех группах, получавших препараты серебра, показатели ФВД были статистически достоверно лучше, чем в группе контроля (с 30 по 180 день).

Вместе с тем уровень статистической значимости различий по сравнению с исходными результатами был достигнут только в группе I (ЭРС), где наблюдалось снижение ООЛ, и в группе II (ИС), где было выявлено достоверное увеличение СОС<sub>25-75</sub>. Через год после начала

исследования наименьшее снижение показателей ФВД наблюдалось в группе III (МЧ).

При анализе динамики качества жизни было выявлено, что во всех группах, принимавших препараты серебра, по сравнению с группой контроля наблюдалась статистически достоверная положительная динамика показателей «физическая активность» (ФА), «общее здоровье» (ОЗ), «роль физических проблем в ограничении жизнедеятельности» (РФ). Выявлены так же статистически значимые различия между группами, получавшими препараты серебра, в большинстве точек контроля. Наиболее выраженная положительная динамика по данным показателям наблюдалась в группе II (ИС), а наиболее выраженный положительный эффект после окончания лечения в группе III (МЧ).

За весь период наблюдений в группах, получающих ингаляции серебра ни у одного пациента не выявлено симптомов аргиррии, аллергии на серебро, впервые возникшей соматической патологии связанной с ингаляциями серебра. Единственным побочным эффектом являлся кашель после ингаляции. Причем частота возникновения данного симптома была равной в группах плацебо и контроля, чаще встречалась при применении сухих аэрозолей и не превышала 7,8% от численности группы.

## ВЫВОДЫ

1. При ингаляционном введении содержание серебра в легких животных (крыс) в 70-90 раз выше, чем при пероральном приеме. Не происходит депонирование серебра в тканях при однократном и курсовом приеме (30 дней). Микрочастицы серебра накапливаются избирательно в месте повреждения слизистой, где их содержание в 1,6 раза выше, чем на неповрежденном участке.
2. Ингаляционное введение серебра (1000 мг/сут, 30 суток) не приводит к гибели, бесплодию или развитию аномалий у животных (крыс) в 2-х поколениях и не оказывает цитотоксический, канцерогенный и мутагенный эффект на клетки мерцательного эпителия человека (500 мг/литр, 10 суток).
3. Серебро (ЭРС) у больных хронической обструктивной болезнью легких оказывает положительное воздействие на мукоцилиарный клиренс, способствует уменьшению вязкости мокроты, снижению перекисной активности, увеличению содержания

иммуноглобулина А в конденсате выдыхаемого воздуха, повышению фагоцитарной активности моноцитов.

4. Ингаляционное применение аэрозолей серебра (электролизного раствора, импрегнированного серебра, пластинчатых микрочастиц) снижает частоту, длительность и риск обострений хронической обструктивной болезни легких, улучшает показатели функции внешнего дыхания, клиническую симптоматику, повышает толерантность к физической нагрузке и качество жизни по сравнению с плацебо и контролем.
5. Оптимальной ингаляционной суточной дозой для профилактики обострений хронической обструктивной болезни легких, является 2 мг серебра.
6. При использовании небулизаций электролизного раствора серебра (ЭРС) наблюдается наиболее выраженное снижение частоты, длительности и риска обострений хронической обструктивной болезни легких, (по сравнению с другими аэрозолями серебра).
7. Применение аэрозоля импрегнированного серебра (ИС), обеспечивает наибольшую положительную динамику клинической симптоматики: кашля, одышки, отхождения мокроты, толерантности к физической нагрузке у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких.
8. Ингаляции сухого аэрозоля микрочастиц серебра (МЧ) обеспечивают наиболее выраженное положительное действие после окончания курса лечения, что проявляется меньшим снижением показателей клинической симптоматики и качества жизни спустя 6 месяцев после прекращения приема данного препарата у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких.
9. Ингаляционное применение аэрозолей серебра (ЭРС, ИС, МЧ) не вызывает аргирию у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких при приеме 1-4 мг/сут. в течение 6 мес. Побочные эффекты заключаются в возникновении кашля после ингаляции, имеют равную, с группой плацебо, частоту возникновения, чаще встречаются при применении сухих аэрозолей и не превышают 7,8% от численности группы.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

- 1) Ингаляции серебра (ЭРС, ИС, МЧ) могут быть использованы у больных ХОБЛ (легкой и средней степени тяжести) для снижения количества и длительности обострений, уменьшения выраженности клинических симптомов (одышка, отхождение мокроты), увеличения толерантности к физической нагрузке.
- 2) Небулизации электролизного раствора серебра (ЭРС) наиболее эффективны у пациентов с высокой частотой обострений ХОБЛ.
- 3) Ингаляции сухого аэрозоля натрия хлорида, импрегнированного серебром (ИС) предпочтительно назначать пациентам ХОБЛ с выраженными нарушениями бронхиального дренажа.
- 4) Ингаляции сухого аэрозоля микрочастиц серебра (МЧ) наиболее обоснованно использовать у пациентов с очагами хронической бронхиальной инфекции.
- 5) Ингаляции ЭРС могут проводиться с использованием как струйных, так и ультразвуковых небулайзеров 1 раз в сутки в дозе 2 мгAg/сут. Для 1 ингаляции используется 4 мл ЭРС (в концентрации 400 мг/л.), приготовленного на 0,9% растворе NaCl. Ингаляции сухих аэрозолей ИС и МЧ проводятся с использованием устройства «Ксеролайзер» 1 раз в день в дозе 2 мгAg/сут.

## **ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

- 1 Лобанов А.А., Кочкин Р.А., Андронов С.В. Профилактика обострений ХОБЛ с помощью ингаляций препарата МЧ у рабочих промышленных предприятий Ямала // Пульмонология. - 2008. - № 4. - С. 52-55.
- 2 Лобанов А.А., Шустиков И.А. Эффективность небулизаций электролизного раствора серебра у больных ХОБЛ // Пульмонология. - 2008. - № 2. - С. 58-61.
- 3 Патент РФ № 62525. Индивидуальное устройство для ингаляций сухого аэрозоля/ Лобанов А.А., Буганов А.А., Саламатина Л.В., Лобанова Л.П., Шустиков И.А. /Россия/.-ф. Заяв. № 2006137938: 10.10.2006; Оpubл. 27.04.07. Бюл. № 43 – 2 с.
- 4 Лобанов А.А., Шустиков И.А. Небулизации электролизного раствора серебра — новый метод профилактики обострений ХОБЛ // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.М. Мечникова. - 2008. - № 1. - С. 80-84.

- 5 Лобанов А.А., Шустиков И.А., Кочкин Р.А., Андронов С.В. Оптимальная ингаляционная доза серебра для снижения риска обострений ХОБЛ // Вестник новых медицинских технологий. - 2008. - № 4. - С. 42-43.
- 6 Лобанов А.А., Шустиков И.А. Эффективность профилактики обострений ХОБЛ с помощью ингаляций сухого аэрозоля натрия хлорида импрегнированного серебром // Вестник новых медицинских технологий. - 2008. - № 4. - С. 28-32.
- 7 Лобанов А.А., Чернова С.Н., Андронов С.В., Кочкин Р.А. Воздействие металлического серебра на фагоцитарную активность нейтрофилов у больных хронической обструктивной болезнью легких // Вестник новых медицинских технологий. - 2009. - № 2. - С. 43-44.
- 8 Лобанов А.А., Чернова С.Н., Андронов С.В., Кочкин Р.А. Антиоксидантная активность металлического серебра при ингаляционном введении у больных ХОБЛ // Вестник новых медицинских технологий. - 2009. - № 1. - С. 141-142.
- 9 Лобанов А.А., Чернова С.Н., Андронов С.В., Кочкин Р.А. Иммуностропное действие металлического серебра при ингаляционном введении у больных ХОБЛ // Вестник новых медицинских технологий. - 2008. - № 4. - С. 65-66.
- 10 Лобанов А.А., Чернова С.Н., Шустиков И.А., Кочкин Р.А., Андронов С.В. Эффективность небулизаций электролизного раствора серебра у больных бронхиальной астмой в стадии обострения // Здравоохранение Ямала. - 2007. - № 2. - С. 20-25.
- 11 Лобанов А.А., Чернова С.Н., Шустиков И.А., Кочкин Р.А., Андронов С.В. Эффективность длительного, ингаляционного применения электролизного раствора серебра у больных хронической обструктивной болезнью легких // Здравоохранение Ямала. - 2007. - № 4. - С. 10-14.
- 12 Лобанов А.А., Шустиков И.А. Ингаляционное применение препаратов металлического серебра у больных с заболеваниями органов дыхания // Здравоохранение Ямала. - 2006. - № 2. - С. 12-18.
- 13 Lobanov A.A., Shustikov I.A. Prophylaxis and treatment of chronic obstructive respiratory diseases in the far north// Материалы Международного конгресса по приполярной медицине. - С. 72.



- 14 Лобанов А.А., Воинов А.Ю., Сторожева Т.М. Применение электролизного раствора серебра в лечении ХОБЛ // Материалы 13-го национального конгресса по заболеваниям органов дыхания. – Санкт-Петербург, 2003 – XXIX - С. 120
- 15 Лобанов А.А., Шустиков И.А. Порошок для ингаляций «Неней» // Материалы 16-го национального конгресса по заболеваниям органов дыхания. - Санкт-Петербург, 2006 - XX.- С. 80
- 16 Лобанов А.А., Шустиков И.А. Порошок для ингаляций «Сэратетто» // Материалы 16-го национального конгресса по заболеваниям органов дыхания - Санкт-Петербург, 2006 - XX.-С. 81
- 17 Лобанов А.А., Шустиков И.А. Применение электролизного раствора серебра в ультразвуковых увлажнителях воздуха для профилактики ОРВИ // Материалы 16-го национального конгресса по заболеваниям органов дыхания - Санкт-Петербург, 2006 - XX.-С. 81.
- 18 Лобанов А.А., Шустиков И.А. Эффективность длительного применения небулизаций электролизного раствора серебра у больных ХОБЛ // Материалы 16-го национального конгресса по заболеваниям органов дыхания - Санкт-Петербург, 2006 - XX.-С. 82.
- 19 Лобанов А.А., Шустиков И.А. Сухой аэрозоль натрия хлорида импрегнированного серебром «Неней» – новое средство для профилактики обострений ХОБЛ // Материалы 16-го национального конгресса по заболеваниям органов дыхания.- Санкт-Петербург, 2006 - XX. - С. 82.
- 20 Лобанов А.А., Чернова С.Н., Кочкин Р.А. Воздействия небулизаций электролизного раствора серебра на иммунный и оксидантный статус больных бронхиальной астмой // Материалы 18-го национального конгресса по заболеваниям органов дыхания - Екатеринбург, 2008 - С. 72.
- 21 Лобанов А.А., Андронов С.В., Кочкин Р.А. Профилактика обострений ХОБЛ с помощью небулизаций электролизного раствора серебра // Материалы 18-го национального конгресса по заболеваниям органов дыхания.- Екатеринбург, 2008 - С. 76.
- 22 Лобанов А.А., Андронов С.В., Кочкин Р.А. Применение электролизного раствора серебра в лечении ХОБЛ // Материалы 18-го национального конгресса по заболеваниям органов дыхания.- Екатеринбург, 2008.- С. 76

- 23 Лобанов А.А., Андронов С.В., Кочкин Р.А. Воздействие электролизного раствора серебра на вязкость мокроты // Материалы 18-го национального конгресса по заболеваниям органов дыхания.- Екатеринбург, 2008 - С. 78
- 24 Лобанов А.А., Андронов С.В., Кочкин Р.А. Профилактика обострений ХОБЛ с помощью ингаляций микрочастиц металлического серебра // Материалы 18-го национального конгресса по заболеваниям органов дыхания.- Екатеринбург, 2008 - С. 78
- 25 Лобанов А.А., Андронов С.В., Кочкин Р.А. Аэрозоли серебра // Сборник трудов ГУ НИИ МПКС РАМН . - 2006. С. 20-21
- 26 Лобанов А.А., Андронов С.В., Кочкин Р.А. Клеточные механизмы действия ионов серебра// Сборник трудов ГУ НИИ МПКС РАМН - 2006. С. 22-21
- 27 Лобанов А.А., Шустиков И.А. Аэродинамические свойства пластинчатых частиц серебра при различной скорости потока воздуха// Сборник трудов ГУ НИИ МПКС РАМН - 2006. С. 23-24

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АО	— анализ обострений
БПГ	— бодиплетизмография
ЖЕЛ (VC)	— жизненная емкость легких
ИС	— импрегнированное серебро
КВВ	— конденсат выдыхаемого воздуха
КЖ	— качество жизни
МЧ	— микрочастицы серебра
МЦК	— мукоцилиарный клиренс
ОЕЛ (TLC)	— общая емкость легких
ОЗ	— общее здоровье
ООЛ (RV)	— остаточный объем легких
ОФВ <sub>1</sub> (FEV <sub>1</sub> )	— объем форсированного выдоха за первую секунду
ПЭ	— побочные эффекты
РФ	— роль физических проблем в ограничении жизнедеятельности
СГ	— спирография
СОС <sub>25-75</sub> (FEF <sub>25-75</sub> )	— средняя объемная скорость выдоха между 25% и 75% ФЖЕЛ
ФА	— физическая активность
ФВД	— функция внешнего дыхания
ФЖЕЛ (FVC)	— форсированная жизненная емкость легких
ХОБЛ	— хроническая обструктивная болезнь легких
ЭРС	— электролизный раствор серебра
ВОДЕ	— интегральный показатель тяжести ХОБЛ
6-MWT	— тест 6 минутной ходьбы
R-ex	— экспираторное аэродинамическое сопротивление дыхательных путей
ЯНАО	Ямало - Ненецкий автономный округ

ЛОБАНОВ А.А. Профилактика обострений хронической обструктивной болезни легких с помощью аэрозолей содержащих серебро (клинико-экспериментальное исследование). Автореф. дисс. док. мед. наук.: 14.01.25. – СПб, 2010, 39 с.

---

ЛР № 040819 от 18.11.09.

Подписано в печать с оригинал макета 18.11.09. Объем 2 условных и.л. Тираж 100 экземпляров.