

Чегодарь Д.В., Кубышкин А.В.

Влияние раствора наносеребра на процессы неспецифического протеолиза в слизистой желудка при профилактике и лечении экспериментальной язвы желудка

Медицинская академия им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»,
295006, Республика Крым, Симферополь, бульвар Ленина 5/7

Цель исследования: изучение на модели острой язвы желудка эффектов раствора наносеребра при профилактическом и лечебном пероральном применении. **Методика.** Экспериментальное исследование было проведено на 49 белых крысах-самцах Wistar. В 1-й серии экспериментов крысы 1-й группы ($n = 10$) в течение 21 сут. поили раствором наносеребра концентрация (0,01 г/л), во 2-й группе ($n = 10$) — дистиллированной водой. Через 21 сут. в обеих группах моделировали язву желудка подкожным введением животным индометацина в дозировке 35 мг/кг массы тела после 24 ч голодовки. Во 2-й серии сначала моделировали острую язву слизистой желудка вышеописанным способом, а затем в течение 21 сут. крысы 1-й группы ($n = 10$) поили раствором наносеребра концентрация (0,01 г/л), 2-й группы ($n = 10$) — дистиллированной водой. В качестве контроля использовали группу интактных животных ($n = 9$), которых в течение 21 сут. поили дистиллированной водой. Определяли показатели эластазаподобной, трипсинаподобной и антитриптической активностей, кислотостабильных ингибиторов в сыворотке крови и супернатанте гомогената слизистой желудка с использованием энзиматических методов. **Результаты.** Установлено, что профилактический пероральный прием раствора наносеребра при моделировании острой язвы желудка способствовал менее выраженной активации неспецифических протеиназ и сохранению в слизистой желудка антипротеиназного потенциала на достаточно высоком уровне. Применение раствора наносеребра с лечебной целью при моделировании острой язвы желудка сопровождалось на местном уровне существенным повышением активности ингибиторов протеиназ на фоне снижения активности неспецифических протеиназ. Отмечено уменьшение морфологических признаков воспаления в слизистой желудка на фоне профилактического и лечебного приема раствора наносеребра. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют, что раствор наносеребра при профилактическом и лечебном применении обладает способностью блокировать развитие язвенных дефектов в слизистой желудка, что подтверждается статистически значимым снижением степени активации протеолитических ферментов с одновременным увеличением антипротеиназного потенциала, а также интенсификацией репаративных процессов в поврежденных тканях.

Ключевые слова: язва желудка, наносеребро, протеиназы, ингибиторы протеиназ, воспаление

Для корреспонденции: Кубышкин Анатолий Владимирович, e-mail: Kubyshkin_av@mail.ru

Для цитирования: Чегодарь Д.В., Кубышкин А.В. Влияние раствора наносеребра на процессы неспецифического протеолиза в слизистой желудка при профилактике и лечении экспериментальной язвы желудка. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2016; 60(2): 51–56.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках базовой части госзадания по проекту №3884.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 20.02.16

Chegodar D.V., Kybushkin A.V.

The influence of nanosilver solution on nonspecific proteolysis processes in gastric mucosa in prophylactic and treatment of experimental gastric ulcer

Medical academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Department of general and clinical pathophysiology,
295006, Republic Crimea, Simferopol, Lenin Blvd. 5/7

The purpose: studying the effects of nanosilver solution in prophylactic and therapeutic oral application in the simulation of acute gastric ulcers based on assessment of reactions of non-specific proteases and their inhibitors at a systemic and local level. **Methods.** The experimental research was carried out on 49 white male rats of «Wistar» line. In the first series of experiments, nanosilver solution at the concentration of 0.01 g/l was given to drink to the rats of the first group ($n = 10$) during 21 days, distilled water — in the second group ($n = 10$). After 21 days in both groups was performed simulation of gastric

ulcers by subcutaneous administration of indomethacin at a dosage of 35 mg/kg body weight after 24 hours of hunger. In a second series of experiments, at first was performed simulation of gastric ulcers, and then for 21 days, nanosilver solution at the concentration of 0.01 g/l was given to drink to the first group of rats ($n = 10$), distilled water — to the second group ($n = 10$). Group of intact animals ($n = 9$) which drank a distilled water within 21 day was used as a control. Parameters of elastase like activity, trypsin like activity, antitrypsin like activity, acid-stable inhibitors in serum and supernatant of gastric mucosa homogenate was determined with the help of enzymatic methods. **Results.** It has been found out that prophylactic oral application of nanosilver in modeling acute gastric ulcer contributed less pronounced activation of non-specific proteases and preservation in the gastric mucosa of the inhibitory capacity at a sufficiently high level. The therapeutic use of nanosilver solution in modeling acute gastric ulcer was accompanied by significant increase of proteinase inhibitors on the background of decreased activity of non-specific proteases at the local level. Prophylactic and therapeutic application of nanosilver solution is accompanied by decrease in morphological signs of inflammation in gastric mucosa. **Conclusion.** The results showed that nanosilver solution has the ability to block the development of ulcers in the stomach mucosa in the prophylactic and therapeutic application, which was confirmed by a statistically significant reduction in the degree of activation of proteolytic enzymes while increasing antiproteinases potential as well as the intensification of reparative processes of damaged tissue.

Keywords: gastric ulcer, nanosilver, proteinases, proteinase inhibitors, inflammation.

For correspondence: Anatoliy V. Kubyshkin, Doctor of Medical Science, Professor, Head of General and Clinical Pathophysiology Department, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU; 5/7, Lenin Blvd., Simferopol, 295006, Republic Crimea, e-mail: anatology2802@gmail.com

For citation: Chegodar D.V., Kybushkin A.V. The influence of nanosilver solution on nonspecific proteolysis processes in gastric mucosa in prophylactic and treatment of experimental gastric ulcer. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2016; 60 (2): 51–56. (in Russ).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. This work was supported by the RF Ministry of Education and Research as part of the project №3884.

Information about authors:

Kybushkin A.V., <http://orcid.org/0000-0002-1309-4005>

Chegodar D.V., <http://orcid.org/0000-0001-8067-6411>

Received 20.02.16

Введение

Наномедицина является одним из активно развивающихся научных направлений медицинской науки [1]. К числу наиболее приоритетных и перспективных задач наномедицины в настоящее время относят использование нанотехнологических подходов для трансформации структуры металлов, приобретающих в наноразмерном диапазоне выраженную биологическую активность [2—4]. В связи с этим особый интерес представляет возможность использования наночастиц серебра, обладающего среди металлов, как известно, наиболее сильным бактерицидным действием. Применение серебра в виде наночастиц имеет ряд преимуществ: во-первых, снижается в сотни раз концентрация металла при сохранении всех его бактерицидных свойств, во-вторых, увеличивается адсорбционная емкость наночастиц за счет большей удельной поверхности, что значительно усиливает способность наносеребра связываться с микроорганизмами [5].

Наносеребро обладает выраженным антибактериальным действием по отношению к широкому спектру патогенных бактерий [6], в том числе имеются указания на антихеликобактерную активность наносеребра [7]. В настоящее время продолжают исследования

по изучению противовоспалительных эффектов наносеребра, связанных, в первую очередь, с его антимикробной активностью [8, 9].

Цель исследования — изучение эффектов наносеребра при профилактическом и лечебном пероральном применении при моделировании острой язвы желудка.

Методика

Экспериментальное исследование проведено на 49 белых крысах-самцах Wistar с массой тела 180—210 г. Исследование было одобрено комитетом по биоэтике Крымского государственного медицинского университета. Проведение эксперимента осуществляли с соблюдением принципов Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Страсбург, 1985 г.).

В 1-й серии изучали эффект перорального введения наносеребра в качестве профилактики формирования язвенного дефекта слизистой желудка. Лабораторных животных опытной группы ($n = 10$) в течение 21 сут. поили раствором наносеребра (концентрация

0,01 г/л). В качестве контроля ($n = 10$) использовали животных, содержащихся при свободном доступе к дистиллированной воде. По окончании указанного периода в обеих группах моделировали язву желудка подкожным введением животным индометацина в дозировке 35 мг/кг массы после 24 ч голодания. Эвтаназию животных осуществляли через 24 ч после моделирования язвы желудка под эфирным наркозом путем декапитации с последующим забором материала.

Во 2-й серии изучали эффекты наносеребра в качестве лечебного средства при язвенном повреждении слизистой желудка. В начале эксперимента у крыс опытной и контрольной группы моделировали острую индометациновую язву желудка. Затем в течение 21 сут. животных опытной группы ($n = 10$) поили только раствором наносеребра (концентрация 0,01 г/л), контрольной ($n = 10$) — дистиллированной водой. Эвтаназию животных осуществляли по окончании указанного времени путем декапитации под эфирным наркозом с последующим забором материала. В качестве контроля в 1-й и 2-й сериях экспериментов использовали группу интактных животных ($n = 9$), которых в течение 21 сут. поили исключительно дистиллированной водой.

Для работы использовали раствор наносеребра, разработанный в Таврическом национальном университете с участием сотрудников Института биологии южных морей [10]. В состав исследуемого раствора входят: наночастицы серебра размером 10—20 нм (0,1%), альгинат натрия (0,6%) и дистиллированная вода (99,3%). Исходный раствор до начала экспериментального исследования был разведен дистиллированной водой в соотношении 1:99.

Материалом для исследований служила сыворотка крови и супернатант гомогената слизистой желудка, который получали по методике Скоупс Р. [11]. Активность компонентов протеиназ-ингибиторной системы определяли энзиматическими методами [12] на спектрофотометре «Biomat 5» (Великобритания). Метод определения трипсиноподобной активности (ТПА) основан на спектрофотометрическом измерении скорости отщепления N-бензоил-L-аргинина (БА) от синтетического субстрата N-бензоил-L-аргинина этилового эфира (БАЭЭ). Определение эластазоподобной активности (ЭПА) проводили на основании изучения скорости гидролиза синтетического субстрата N-t-ВОС-аланил-р-нитрофинилового эфира (БАНФЭ). Определение концентрации альфа-1-ингибитора протеиназ (АТА) проводили на основании торможения расщепления трипсином БАЭЭ. Аналогично определялась активность кислотостабильных ингибиторов (КСИ) после предварительной подготовки материала прогреванием в кислой

среде. Белок во всех образцах определяли методом Лоури.

Для оценки патоморфологических изменений в тканях желудка готовили парафиновые серийные срезы толщиной 4—5 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином. Просмотр и цифровые фотографии микропрепаратов осуществляли с помощью светового микроскопа «Olympus CX-41».

Статистическую обработку проводили методами вариационной статистики с оценкой статистической значимости изменений с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований представлены в табл. 1 и 2. В 1-й серии при профилактическом применении раствора наносеребра через 24 ч после моделирования язвы желудка в сыворотке крови животных существенных сдвигов в протеиназ-ингибиторной системе не наблюдалось, за исключением тенденции к повышению эластазоподобных и трипсиноподобных протеаз на фоне повышения антитриптической активности.

На местном уровне через 24 ч в супернатанте гомогената слизистой после моделирования язвенного повреждения слизистой желудка наблюдались более выраженные сдвиги показателей протеиназ-ингибиторной системы, о чем свидетельствовало статистически значимое увеличение уровней ЭПА на 160% и ТПА на 45% по сравнению с контролем. Причем на фоне роста активности протеиназ происходило значимое снижение уровня антитриптической активности и кислотостабильных ингибиторов на 40% и 33% соответственно.

Использование раствора наносеребра *per os* в течение 21 сут. в качестве профилактики приводило к менее выраженной активации протеиназ-ингибиторной системы. Причем, если на системном уровне отмечена лишь тенденция к снижению активности неспецифических протеиназ, то на местном уровне в слизистой оболочке желудка отмечалась существенно менее выраженная активация протеолитических ферментов с сохранением достаточно высокого ингибиторного потенциала. Уровень активации эластазоподобной и трипсиноподобной активностей был на 30% и 37% соответственно ниже средних показателей в группе с моделированием язвы желудка, при этом показатели трипсиноподобной активности были на уровне контрольных величин. Активность ингибиторов протеиназ сохранялись на относительно высоком уровне, о чем свидетельствовала более высокая антитриптическая активность (на 38% выше по сравнению с группой без применения наносеребра). При

этом и уровень кислотостабильных ингибиторов был на 21% выше (табл. 1).

Сдвиги в системе протеолиза в конце 1-х сут. после моделирования острой язвы желудка сопровождались выраженными воспалительно-деструктивными изменениями в слизистой оболочке. Отмечался выраженный отек, полнокровие сосудов, массивная нейтрофильная инфильтрация. Дном язвенного дефекта являлся мышечный слой, покрытый лейкоцитарно-тканевым детритом и фибринозным экссудатом.

В группе с пероральным профилактическим применением раствора наносеребра также обнаруживался язвенный дефект с воспалительной гиперемией и отеком, однако глубина язвы и выраженность лейкоцитарной инфильтрации были существенно менее выражены.

Во 2-й серии изучали лечебный эффект наносеребра при язвенном повреждении слизистой желудка. Результаты показали, что через 21 сут. после моделирования язвы желудка наиболее существенные сдвиги в системе протеолиза были отмечены только на местном уровне. В сыворотке крови наблюдались статистически незначительные колебания показателей активности протеиназ-ингибиторной системы, с тенденцией к повышению уровня антитриптической активности, что говорит об усилении на системном уровне ингибиторного потенциала.

На местном уровне в супернатанте гомогената слизистой желудка при моделировании язвы желудка, наблюдалась, как было отмечено выше, более существенная активация компонентов системы протеолиза, о чем свидетельствовало статистически значи-

мое увеличение эластазаподобной (на 115%) и трипсиноподобной (на 45%) активности по сравнению с контролем. Ингибиторный потенциал при этом характеризовался снижением показателей ниже уровня контроля, что проявлялось уменьшением антитриптической активности и уровня кислотостабильных ингибиторов на 44% и на 30% соответственно.

Следует отметить, что если моделирование язвы желудка приводило к существенной активации компонентов протеиназ-ингибиторной системы, то на фоне перорального применения раствора наносеребра при язвенном повреждении слизистой желудка активация системы протеолиза была менее выражена. В сыворотке крови существенной активации системы протеолиза не выявлено, средние значения показателей активности неспецифических протеиназ и их ингибиторов в группе с пероральным применением наносеребра практически не отличались от контроля.

На местном уровне в супернатанте слизистой желудка при пероральном лечении язвенного повреждения слизистой желудка раствором наносеребра, наблюдалось статистически значимое снижение степени активации протеолитических ферментов с одновременным увеличением ингибиторного потенциала. Об этих изменениях свидетельствовало снижение эластазаподобной активности на 30% и трипсиноподобной активности на 25% по сравнению с группой без применения наносеребра, причем значения трипсиноподобной активности соответствовали группе контроля. Показатели, характеризующие ингибиторный потенциал, при этом, напротив, повышались, о чем свидетельствовало статистически значимое увеличение ан-

Таблица 1

Изменение показателей протеиназ и их ингибиторов в супернатанте гомогената слизистой желудка при профилактике язвы желудка перорально раствором наносеребра

Показатели		Контроль	Язва желудка	Наносеребро + язва
Эластазаподобная активность, мкмоль/мг мин	n	9	10	10
	M ± m	29,60 ± 3,47	76,94 ± 7,34	54,00 ± 2,76
	p ₁		<0,001	<0,01
Трипсиноподобная активность, мкмоль/мг мин	p ₂			<0,001
	M ± m	29,09 ± 3,32	42,35 ± 6,25	26,72 ± 5,58
	p ₁		<0,05	>0,5
Антитриптическая активность, ИЕ/мг	p ₂			<0,05
	M ± m	78,74 ± 4,14	46,97 ± 6,94	65,06 ± 5,71
	p ₁		<0,001	<0,05
Кислотостабильные ингибиторы, ИЕ/мг	p ₂			<0,05
	M ± m	21,01 ± 2,66	14,07 ± 0,23	17,10 ± 1,03
	p ₁		<0,01	>0,25
	p ₂			<0,05

Примечание. p₁ — статистически значимые различия по отношению к контролю; p₂ — по отношению к группе с моделированием язвы желудка

титриптической активности (на 129%) по сравнению с группой с моделированием язвы желудка без применения наносеребра и на 27% в сравнении с контрольной группой. Значение показателей кислотостабильных ингибиторов оставалось на уровне контроля, вместе с тем, по сравнению с группой без применения наносеребра уровень кислотостабильных ингибиторов достоверно был выше на 33% (табл. 2).

Результаты биохимических методов исследования коррелировали с выраженностью морфологических изменений в тканях желудка. В контрольной группе через 21 сут. после моделирования язвы слизистая оболочка желудка крыс демонстрировала не резко выраженные изменения воспалительно-деструктивного характера. Определялся отек, очаговая нейтрофильная инфильтрация, полнокровие сосудов. В поверхностных отделах слизистой оболочки выявлялась неглубокая эрозия, покрытая лейкоцитарно-тканевым детритом и фибринозно-гнойным экссудатом.

На фоне перорального применения раствора наносеребра морфологическая картина характеризовалась присутствием неглубоких эрозий с сохранением части слизистой оболочки на фоне отека и полнокровия сосудов. В воспалительном инфильтрате обнаруживались лимфоциты, единичные эозинофилы, плазматические клетки и макрофаги, что говорит об усилении пролиферативных процессов в слизистой желудка.

Таким образом, противовоспалительные эффекты раствора наносеребра при моделировании острой язвы желудка проявлялись как при профилактическом, так и при лечебном применении наносеребра.

Показано, что моделирование острой язвы слизистой желудка, помимо характерных морфологических изменений, сопровождается активацией компонентов системы протеолиза на местном уровне с увеличением эластазаподобной и трипсиноподобной активности при одновременном снижении антитриптической активности и уровня кислотостабильных ингибиторов. Изменения проявлялись уже к концу 1-х суток и сохранялись в течение 21 сут. после моделирования язвы.

Превентивное использование раствора наносеребра в качестве профилактического средства снижало выраженность язвенного повреждения слизистой желудка по сравнению с группой контроля. Менее выраженной была активация неспецифических протеиназ, напротив, ингибиторный потенциал сохранялся на достаточно высоком уровне, что сопровождалось более выраженным противовоспалительным эффектом. Более высокий уровень ингибиторов протеиназ на местном уровне сопровождался снижением активности неспецифических протеиназ. Причем как при профилактическом, так и при лечебном применении наносеребра признаки воспалительной альтерации были менее выражены.

Следует отметить, что в предложенной композиции определенное влияние на формирование язвенного повреждения может оказывать и альгинат натрия. Известно, что фармацевтические препараты, имеющие в своем составе альгинат натрия, такие, как гевискон, гевискон форте, нашли широкое применение в гастроэнтерологической практике для купирования изжоги и лечения гастроэзофагеальной

Таблица 2

Изменение показателей протеиназ и их ингибиторов в супернатанте гомогената слизистой желудка при лечении язвы желудка перорально раствором наносеребра

Показатели	n	Контроль	Язва желудка	Язва + наносеребро
		9	10	10
Эластазаподобная активность, мкмоль/мг мин	M ± m	29,60 ± 3,47	63,79 ± 8,67	44,54 ± 5,64
	p ₁		<0,001	<0,001
	p ₂			<0,05
Трипсиноподобная активность, мкмоль/мг мин	M ± m	29,09 ± 3,32	42,28 ± 5,57	31,72 ± 1,66
	p ₁		<0,05	>0,5
	p ₂			<0,05
Антитриптическая активность, ИЕ/мг	M ± m	78,74 ± 4,14	43,68 ± 7,30	100,10 ± 7,32
	p ₁		<0,001	<0,01
	p ₂			<0,001
Кислотостабильные ингибиторы, ИЕ/мг	M ± m	21,01 ± 2,66	14,63 ± 0,76	19,52 ± 2,40
	p ₁		<0,001	>0,5
	p ₂			<0,001

Примечание. p₁ — статистически значимое по отношению к контролю; p₂ — статистически значимое по отношению к группе с моделированием язвы желудка.

References

рефлюксной болезни. Эффекты альгината натрия связывают, прежде всего, с антирефлюксным действием, который заключается в формировании механического барьера-плота, предупреждающего заброс содержимого желудка в пищевод, и ликвидации кислотной агрессии путем образования так называемого геля, который предохраняет слизистую оболочку пищевода [13—15]. Кроме того, ректальные суппозитории на основе альгината натрия, такие как альгинатол, натальсид, обладающие репаративным, гемостатическим, противовоспалительным действием, применяют при хроническом кровоточащем геморрое, анальных трещинах, проктосигмоидитах, воспалительных явлениях, присутствующих в прямой кишке после операции.

В любом случае, комплексный раствор на основе наночастиц серебра в матрице альгината натрия способствует формированию менее выраженных проявлений воспалительного процесса при профилактике формирования язвенного дефекта и лечения острой язвы желудка, что обосновывает возможность его использования для профилактики и лечения язв гастродуоденальной зоны.

Выводы

1. Превентивное пероральное использование раствора наносеребра уменьшает выраженность язвенных повреждений слизистой желудка при моделировании язвы желудка и низкий уровень активации неспецифических протеиназ с сохранением высокого ингибиторного потенциала по сравнению с группой без применения наносеребра.

2. Лечебное применение раствора наносеребра характеризуется выраженным противовоспалительным действием, статистически значимым снижением активности протеолитических ферментов с одновременным увеличением ингибиторного потенциала, а также интенсификацией репаративных процессов в поврежденных тканях.

3. Наносеребро в матрице альгината натрия обладает способностью блокировать развитие язвенных дефектов в слизистой желудка, что свидетельствует о его потенциальной эффективности в профилактике и лечении язвенных повреждений желудка.

Сведения об авторах:

Чегодарь Денис Владимирович, ассистент кафедры общей и клинической патофизиологии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»

Кубышкин Анатолий Владимирович, доктор мед. наук, проф., зав. кафедрой общей и клинической патофизиологии Медицинской академии имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»

1. Zharasova Zh.S., Kononets I.E. Perspectives of nanotechnology in medicine. *Vestnik KGMA im. I.K. Akunbaeva*. 2011; 2: 97-9. (in Russian)
2. Chen X., Schlusener H.J. Nanosilver: nanoparticle in medical application. *Toxicol. Lett.* 2008; 176(1): 1-12.
3. Zhang L, Gu F.X., Chan J.M. Nanoparticles in medicine: therapeutic applications and developments. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2008; 83(5): 761-9.
4. Egorova E.M., Kubatiev A.A., Shvec V.I. *Biological effects of metal nanoparticles [Biologicheskie efekty nanochastits metallov]*. Moscow: Nauka Publ.; 2014. (in Russian)
5. Chekman I.S., Movchan B.A., Zagorodnyj M.I., Gaponov Ju.V., Kurapov Ju.A., Krushinskaja L.A., Kardash M.V. Nanosilver: technologies of production, pharmacological properties, indications to application. *Iskusstvo lechenija*. 2008; 5(51): 32-4. (in Russian)
6. Bukina Ju.A., Sergeeva E.A. The antibacterial properties and mechanism of bactericidal action of silver nanoparticles and ions. *Vestnik Kazanskogo tehnologicheskogo universiteta*. 2012; 14: 170-2. (in Russian)
7. Amin M., F. Anwar, M. Ramzan Saeed Ashraf Janjua et al. Green Synthesis of Silver Nanoparticles through Reduction with Solanum xanthocarpum L. Berry Extract: Characterization, Antimicrobial and Urease Inhibitory Activities against *Helicobacter pylori*. *Int. J. Mol. Sci.* 2012; 13: 9923-41.
8. Nadworny P., Wang J.F., Tredget E., Burrell R. Anti-inflammatory activity of nanocrystalline silver-derived solutions in porcine contact dermatitis. *Journal of Inflammation*. 2010; 7(13): 1-20.
9. Seung-Heon S., Mi-Kyung Y. The Effect of Nano-Silver on Allergic Rhinitis Model in Mice. *Clinical and experimental otorhinolaryngology*. 2012; 5(4): 222-7.
10. Babanin A.A., Kubyshevskiy A.V., Ermola Yu.A., Chegodar D.V., Yurkova I.N., Fedosov M.I. Changes of nonspecific proteinases and free-radical oxidation processes in treatment of experimental peritonitis with the nanobiosilver solution. *The New Armenian Medical Journal*. 2014; 8(1): 46-51.
11. Skoups R. Protein purification. [*Metody ochistki belkov*] Москва: Mir; 1985. (in Russian)
12. Kubyshevskiy A.V., Fomochkina I.I. Elastolytic activity in bronchoalveolar lavage fluid in acute lung inflammatory injury. *Ukrain'skiy Biokhim. Zhurnal*. 2008; 80(1): 89-95 (in Russian)
13. Uspensky Yu.A., Baryshnikova N.V. Heartburn and gastroesophageal reflux disease in the pregnant: urgency of alginates use. *Lechachshiy vrach*. 2012; 11: 17-20. (in Russian)
14. Uspensky Yu.P., Baryshnikova N.V., Pakhomova I.G. Clinical prospects of application of alginate-based agents in the treatment of gastroesophageal reflux disease. *RZhGGK*. 2009; 2: 79-84. (in Russian)
15. Khasina E.I., Krivonogova A.S. The protective effect of sodium alginate against damage of the stomach induced by emotional stress, indomethacin and pesticide. *Agrarnyy vestnik Urala*. 2009; 11(65): 92-4. (in Russian)