


НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси»

УТВЕРЖДАЮ

Директор

ГНУ «Институт физиологии
НАН Беларуси»


И.В. Залуцкий
«30» 01. 2015г.

ОТЧЕТ

о выполнении научно-исследовательской работы
по договору № 9X/2014

**«Проведение медико-биологической оценки эффективности
питьевой воды ИММУНОФОРС, подвергнутой обработке по технологии
Телос, на функциональный статус организма»**

(заключительный)

Научный руководитель исследования:
Заведующий лабораторией
физиологии питания и спорта ГНУ
«Институт физиологии НАН
Беларуси»


Т.М. Лукашенко
«30» 01. 2015 г.

Минск, 2015



СОДЕРЖАНИЕ

СОДЕРЖАНИЕ	2
1. ВВЕДЕНИЕ.....	3
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	5
2.1. Микробиологические методики	6
2.1.1. Бактериологическое исследование полостного содержимого толстого кишечника.....	6
2.1.2. Определение антимикробной активности питьевой воды «ИММУНОФОРС».....	7
2.2. Биохимические методики	7
2.3. Статистическая обработка результатов экспериментов.....	8
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	9
3.1. Изменения биометрических показателей.....	9
3.2. Анализ микробиологических исследований.....	10
3.2.1. Исследование микробиоциноза толстого кишечника при системном употреблении питьевой воды «ИММУНОФОРС».....	10
3.2.2. Микробиологическое исследование полостного содержимого толстого кишечника при антибиотик-ассоциированном дисбактериозе, сочетанном с употреблением питьевой воды «ИММУНОФОРС».....	11
3.2.3. Анализ антибактериальной и фунгицидной активности питьевой воды «ИММУНОФОРС»	14
3.3. Результаты биохимических исследований.....	18
3.3.1. Состояние основных метаболитов в сыворотке крови крыс после системного употребления питьевой воды ИММУНОФОРС.....	18
3.3.2. Концентрация основных метаболитов в сыворотке крови крыс при моделировании антибиотик-ассоциированного дисбактериоза с сочетанным применением питьевой воды «ИММУНОФОРС».....	19
3.3.3. Анализ результатов по изучению активности трансаминаз и реакций перекисного окисления липидов у крыс после длительного употребления питьевой воды «ИММУНОФОРС».....	21
3.3.4. Изменения активности трансаминаз и реакций перекисного окисления липидов при моделировании антибиотик-ассоциированного дисбактериоза с сочетанным применением питьевой воды	22
4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	24
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	26

1. ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в медицинской практике все более широкое применение находят методы немедикаментозного лечения, в том числе магнитотерапии. Разностороннее действие последней, ее широкое применение при многих заболеваниях, доступность и сравнительная дешевизна метода обусловили интерес к лечебным и профилактическим эффектам магнитных полей [1].

Основные механизмы воздействия магнитных полей на биологические организмы, позволяющие развивать магнитную терапию, известны: это усиление кровотока и улучшение кислородтранспортной функции крови [2–4]; изменение скорости миграции ионов кальция, в результате чего, с одной стороны, кальций быстрее поступает в поврежденную костную ткань (например, при переломах), и она быстрее восстанавливается, а с другой стороны, кальций быстрее вымывается из больного пораженного артритом сустава [5, 6]. Установлено изменение кислотно-щелочного баланса (рН) различных жидкостей в теле человека и животных (дисбаланс часто является следствием патологического процесса) [7, 8] и выработки (чаще повышение) гормонов эндокринными железами [6]. Выявлено изменение ферментной активности и скоростей различных биохимических процессов [9–12] и улучшение макро- и микрореологии крови за счет изменения ее вязкости [13, 14].

Магнитотерапия в последнее время все чаще используется для более точного и менее инвазивного введения в организм больного различных инструментов и лекарств в ходе лечебных и диагностических процедур [15, 16]. Однако все вышеперечисленные влияния происходят при воздействии на организм внешних магнитных полей с помощью целого ряда разработанных для магнитотерапии приборов.

В то же время, врачи, применяющие на практике методы магнитотерапии, уже давно обратили внимание на то, что терапевтический эффект иногда достигается при использовании воды, предварительно подвергнутой действию магнитного поля [17]. Было выдвинуто предположение, что вода обладает «памятью». Показано, что физические механизмы формирования «памяти» воды связаны с сеткой водородных связей образующих кластеры, способные поглощать кванты магнитного излучения и высвечивать их какое-то продолжительное время [18].

Очевидно, что свойства воды, подверженной воздействию магнитного поля, будут зависеть от характеристик магнитного воздействия и наличия примесей микроэлементов, например, солей магнитоактивного железа и ионов кальция, который как считают, является своеобразным «магниторецептором» [19]. Вода, изменившая свои свойства в результате магнитного воздействия, может изменять активность ферментов, гормонов, регуляторных молекул и их рецепторов, приводя к метаболическим сдвигам.

Многочисленные исследования показали, что вода представляет собой сложный объект, состояние которого зависит от целого ряда внешних физических факторов [20]. Под их воздействием она способна проявлять такие уникальные свойства, как трансформация и накопление рассеянной энергии в виде ее высокоэнергетических форм (химической, электромагнитной, магнитной, электрической и других), испускание и поглощение когерентных электромагнитных волн нетепловой природы и другие [21, 22].

Кроме того, знание физических основ энергетических процессов, протекающих в водных структурах при воздействии внешних физических факторов, позволяет определить пути управления энергетическим состоянием водных систем, а, следовательно, создавать технологии управления ее активностью [23].

Созданная на базе оригинальных российских разработок аппаратура (телос-генераторы) позволяет изменять параметры обменных, масс-энергетических процессов для самых различных технических объектов. Отличительной чертой данной технологии является бесконтактное управляющее воздействие каталитического типа на переходные неравновесные физико-химические процессы [24]. При этом воздействующие импульсные магнитные поля настолько малы, что находятся на грани чувствительности существующей измерительной аппаратуры.

Любая питьевая вода независимо от минерального или органического состава, прошедшая обработку по технологии ТЕЛОС, приобретает свойства, позволяющие использовать ее для профилактики или лечения заболеваний крови, эффективного лечения людей, пострадавших в результате аварии типа Чернобыльской и усиления общего иммунитета [25]. В зависимости от поставленных целей выпускаемая вода может быть как оздоровительная, так и лечебная. Оздоровительная вода, как правило, является профилактическим средством для поддержания в нормальном состоянии основных защитных функций организма [26]. Лечебная вода должна употребляться по рекомендации врачей для больных с различными заболеваниями. Предлагаемая питьевая вода может стать продуктом, который позволит заменить или уменьшить потребление ряда дорогостоящих профилактических и лечебных препаратов по регенерации кроветворения, иммуномодуляторов и др. Избранный подход открывает совершенно новые возможности массовой профилактики и лечения населения, страдающего иммунодефицитом и проживающего в зонах риска, связанных с радиоактивной опасностью.

Как следует из приведенного выше анализа литературных источников, изучаемый объект – вода, обработанная по технологии ТЕЛОС, – исследуется довольно давно. Однако практически отсутствуют данные о ее влиянии на метаболические показатели и микробиоциноз кишечника как при

профилактическом (оздоровительном) использовании, так и лечебном, в частности, в условиях развивающегося дисбактериоза.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 6-и группах молодых беспородных самцах крыс массой 180–200 г. Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществлялся в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» [27] и с соблюдением биоэтических норм и требований Международного комитета по науке [28].

Экспериментальные группы были сформированы следующим образом:

I группа (контроль, n=10) получала чистую воду из артезианского источника;

II группа – животные, на протяжении 30 дней потреблявшие артезианскую воду обработанную по технологии Телос (n=15);

III группа – животные, у которых формировали экспериментальную модель дисбиоза (3 суток, n=10);

IV группа – крысы, у которых формировали экспериментальную модель дисбиоза (7 суток, n=10);

V группа – животные, на протяжении 30 дней получавшие воду, обработанную по технологии Телос, с последующим формированием дисбиоза (3 сутки, n=15);

VI группа – животные, на протяжении 30 дней получавшие воду, обработанную по технологии Телос, с последующим формированием дисбиоза (7 сутки, n=15).

Доза потребления воды составляла 20 мл/сутки и рассчитывалась исходя из физиологической нормы ее потребления этим видом экспериментальных животных. Поение исследуемой водой осуществляли на протяжении 1 месяца. В процессе хронического эксперимента проводили мониторинг массы тела: один раз в неделю животных взвешивали.

По окончании срока хронического эксперимента крысы всех групп были взяты в острый опыт. Животных наркотизировали (внутрибрюшинное введение тиопентала натрия, 70 мг/кг), декапитировали и производили забор периферической крови.

В опытах использовано 75 животных.

Экспериментальный дисбиоз моделировали введением цефалексина в дозе 20 мг/кг перорально и гентамицина сульфата 5 мг/кг внутримышечно в течение 3-х суток [29].

2.1. Микробиологические методики

2.1.1. Бактериологическое исследование полостного содержимого толстого кишечника

Исследования проводили в соответствии с инструкциями [30–32].

После забора кала в асептических условиях из навески массой 0,1 г готовили суспензию на стерильном 0,85%-ном растворе хлорида натрия в соотношении 1:10. Далее получали последовательные десятикратные разведения до 10^{-8} , из которых проводился посев материала на дифференциально-диагностические питательные среды (Таблица 1).

Таблица 1 – Схема первичного посева суспензии фекалий животных

Наименование сред, производитель	Выявляемые микроорганизмы	Фекальный микробиоценоз, разведение	Условия инкубации [40]
Лактобакагар Оболенск, РФ	лактобактерии	10^{-5}	3 суток; +37 °С, микроаэрофильные условия
Бифидум-среда Оболенск, РФ	бифидобактерии	10^{-8}	3–5 суток; +37 °С, микроаэрофильные условия
Эндо	Кишечная палочка	10^{-5}	24 ч, +37 °С, аэробные условия
Тест-салфетки Rida [®] Count E.coli			
Ттест-салфетки Rida [®] Count Enterobacteriaceae	Энтеробактерии (не учитывая <i>E. coli</i>)	10^{-5}	
Среда для культивирования стафилококков Оболенск, РФ	стафилококки	10^{-3}	48 ч, +37 °С, аэробные условия
Среда №2 ГРМ Оболенск, РФ	Дрожжеподобные и плесневые грибы	10^{-4}	48 ч, +37 °С, аэробные условия

По истечении сроков инкубации проводился количественный подсчет числа выросших колониобразующих единиц (КОЕ) с характеристикой морфологических (микроскопия) и биохимических свойств.

Число выделенных микроорганизмов определялось согласно формуле:

$$\text{КОЕ/г} = K \times 10 \times n,$$

где K – количество выросших колоний;

n – разведение суспензии;

10 – коэффициент пересчёта на 1 см³ суспензии при посеве 0,1 см³ (0,1 см³ составляет 1/10 см³).

Полученный результат переводился в десятичный логарифм числа.

Антагонистическую активность популяций бифидобактерий учитывали по способности к закислению среды культивирования путем определения величины рН при росте I генерации (пробирки бифидум-среды на 5 сутки культивирования). Интенсивность кислотообразования бифидобактерий коррелирует со степенью антагонистической активности. Критерии-пределы рН: менее 4,5 – антагонистически активные бифидобактерии; 4,6—5,1 – слабый антагонизм, более 5,1 – отсутствие антагонистической активности.

2.1.2. Определение антимикробной активности питьевой воды «ИММУНОФОРС»

Антибактериальную активность питьевой воды «Иммунофорс» определяли по степени ингибирования роста тест-штаммов *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* *in vitro* при добавлении указанной воды в питательную среду. Пробоподготовку осуществляли в серии разведений: 1 мл испытуемого образца + 9 мл тиогликолевой среды (разведение 1:10), 2 мл разведения 1:10 + 2 мл тиогликолевой среды (разведение 1:20), 1 мл разведения 1:10 + 4 мл тиогликолевой среды (разведение 1:50), 1 мл разведения 1:10 + 9 мл среды (разведение 1:100), 2 мл разведение 1:100 + 2 мл среды (разведение 1:200).

Тиогликолевая среда для контроля стерильности (Оболенск, РФ, серия 337, годен до 06.2016г.) использовалась для культивирования кандид и стафилококка. Для культивирования энтеробактерий использовали триптон-соевый бульон «Мерск», годен до 13.01.2019г.

Для получения рабочей суспензии тест-культур использовали 0,9%-ный раствор натрия хлорида. Готовили ряд разведений, используя оптический стандарт мутности. Среднее количество колоний (на трех чашках), выросших при посеве 0,1 мл суспензии тестового микроорганизма из 6-го разведения, должно составлять около 100 КОЕ.

По истечении 24–48 ч культивирования тест-культуры из жидких питательных сред соответствующих разведений пересеивались на плотные питательные среды (агар Сабуро, стафилококагар, среда Эндо) для количественной оценки колониеобразующей способности.

2.2. Биохимические методики

Для определения биохимических показателей животные декапитировались с предварительной наркотизацией тиопенталом натрия в дозе 100 мг/кг. Для анализа брали кровь объемом 4–5 мл. Взятую кровь помещали в термостат при температуре +37 °С на 10 мин, затем центрифугировали 15 мин при 4000 оборотах/мин. Готовую сыворотку объемом 500–1000 мкл помещали в стерильные пробирки.

Определение общего белка проводили биуретовым методом при помощи набора «Реагенты для определения концентрации общего белка в

биологических жидкостях биуретовым методом» согласно инструкции к набору (НТПК «Анализ Х», Беларусь).

Определение концентрации общих липидов проводилось методом сульфованилиновой реакции при помощи набора «Реагенты для определения общих липидов методом сульфованилиновой реакции» согласно инструкции фирмы-производителя (НТПК «Анализ Х», Беларусь).

Содержание глюкозы определялось ферментативным методом при помощи набора «Реагенты для определения глюкозы в биологических жидкостях (жидкий монореагент)» согласно инструкции к набору (НТПК «Анализ Х», Беларусь).

Биохимические исследования крови проводили на ИФ-анализаторе Biotek ELx-808 (США).

Об интенсивности ПОЛ судили по изменению уровня конечного продукта – малонового диальдегида (МДА), – содержание которого определяли в сыворотке крови по реакции с 2'-тиобарбитуровой кислотой [33].

Активность супероксиддисмутазы (СОД) – ключевого фермента антиокислительных систем, – определяли по степени торможения реакции окисления кверцетина [34].

Каталазная активность (предотвращение накопления перекиси водорода, образующейся при дисмутации супероксидного аниона) в сыворотке крови и гомогенатах ткани оценивалась с помощью спектрофотометрического метода, основанного на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс [35].

Активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы – показателей функциональной активности печени, – определялась кинетическим методом с помощью коммерческих наборов.

2.3. Статистическая обработка результатов экспериментов

Полученные данные статистически обрабатывали с помощью программы Statistica 6.0. Нормальность распределения показателей проверяли при помощи теста Шапиро–Уилка. Для межгруппового сравнения использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок или непараметрический тест Манна–Уитни. Данные представлены в виде средней величины и стандартной ошибки средней ($M \pm m$). Критический уровень значимости (P) при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимается равным 0,05. Необходимые математические расчеты и представление полученных результатов в виде графиков осуществлялось с помощью программы Excel 2007.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Изменения биометрических показателей

Анализ динамики изменений массы тела животных выявил следующие особенности: прирост веса контрольных особей, находившихся на рационе с добавлением артезианской воды, к концу периода эксперимента увеличился на $15,6 \pm 3,2\%$, а у экспериментальных крыс, получавших воду «ИММУНОФОРС», на $24,53 \pm 5,3\%$ относительно исходных показателей (Рисунок 1, графики 1 и 2).

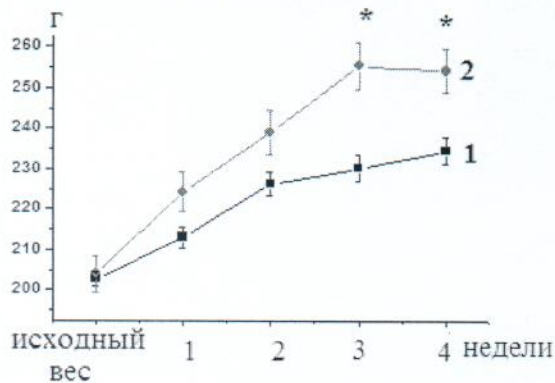


Рисунок 1 – Динамика прироста массы тела животных, получавших различный пищевой рацион.

Условные обозначения:

1 – контроль, добавка артезианской воды,

2 – эксперимент, рацион с добавлением воды «ИММУНОФОРС» в течение 4 недель;

* – достоверные различия по отношению к контролю, $p < 0.05$.

Следует указать, что прирост массы тела у экспериментальных животных, через три недели после потребления воды «ИММУНОФОРС» достоверно превышал изменения, наблюдаемые в этот период у контрольных крыс.

При анализе изменения массы тела на фоне моделирования дисбиоза как у контрольных, так и экспериментальных особей, достоверных различий не выявлено. Однако, сдвиги хотя и не являлись достоверными, но носили в каждой серии опытов определенную направленность. У контрольных крыс существенного изменения веса не отмечено (исходный вес $234,4 \pm 3,3$ г, на 7 сутки дисбиоза – $233,3 \pm 5,9$ г), тогда как у экспериментальных животных при развитии патологии вес не снижался, а продолжал незначительно возрастать ($254 \pm 5,2$ и $270,7 \pm 7,4$ г соответственно) (Рисунок 2, графики А и Б).

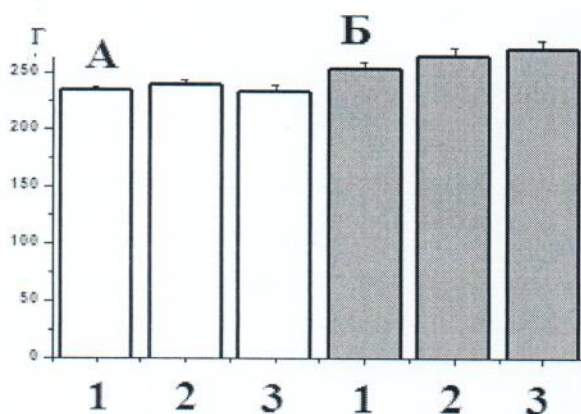


Рисунок 2 – Динамика прироста массы тела животных на фоне дисбактериоза, вызванного антибиотиками.

Условные обозначения: А – создание антибиотик-ассоциированного дисбактериоза на фоне потребления артезианской воды. Б – при добавлении в рацион воды «ИММУНОФОРС». 1 - исходный вес, 2, 3 – на 3 и 7 сутки развития дисбиоза

На основании проведенных исследований установлено, что потребление воды «ИММУНОФОРС» способствует более выраженному приросту массы тела экспериментальных крыс как в условиях нормы, так и при антибиотик-ассоциированном дисбактериозе. Объяснение выявленных изменений требует проведения дополнительных экспериментов.

3.2. Анализ микробиологических исследований

3.2.1. Исследование микробиоценоза толстого кишечника при системном употреблении питьевой воды «ИММУНОФОРС»

Микробиологический анализ полостного содержимого толстого кишечника крыс в норме (Таблица 2, группа I) показал наличие молочнокислых лактобацилл в титре $7,6 \pm 0,05$ Log КОЕ/г и бифидобактерий в титре $8,9 \pm 0,02$ Log КОЕ/г с высокой антагонистической активностью (рН среды культивирования – $3,96 \pm 0,07$ ед). Энтеробактерии были представлены кишечной палочкой *E. coli* с нормальной ферментацией в количестве $5,2 \pm 0,1$ Log КОЕ/г, а общее содержание энтеробактерий составляло $4,9 \pm 0,02$ Log КОЕ/г.

Таблица 2 – Микробиоценоз толстого кишечника крыс при применении питьевой воды «Иммунофорс» в условиях физиологической нормы

Микроорганизм, Log КОЕ/г	Группа I Интактные животные, n=10	Группа II Животные в течение 30 дней получавших питьевую воду «Иммунофорс», n=10
<i>Lactobacillus ssp.</i>	$7,6 \pm 0,05$	$7,6 \pm 0,02$
<i>Bifidobacterium ssp.</i>	$8,9 \pm 0,02$	$8,9 \pm 0,03$
<i>Enterobacteriaceae</i>	$4,9 \pm 0,02$	$5,1 \pm 0,11$
<i>E.coli</i>	$5,2 \pm 0,1$	$5,2 \pm 0,06$
<i>Staphylococcus ssp.</i>	$3,4 \pm 0,1$	$3,7 \pm 0,1$
<i>Fungi</i>	$3,5 \pm 0,05$	0

Стафилококки *Staphylococcus ssp.* в фекалиях выявлялись в титре $3,4 \pm 0,1$ Log КОЕ/г. Дрожжеподобные грибы определялись в количестве $3,5 \pm 0,05$ Log КОЕ/г.

Введение в питьевой рацион воды «ИММУНОФОРС», обработанной по технологии Телос, на протяжении 30 дней (Таблица 2, группа II) не вызвало достоверных изменений структуры микробиоценоза кишечника крыс по сравнению со значениями контрольной группы, содержащейся на стандартном питьевом рационе. В биоматериале контрольных животных и крыс, получавших питьевую воду «ИММУНОФОРС», условно-патогенных

микроорганизмов (золотистого стафилококка, эшерихий, не ферментирующих лактозу или со слабой ферментативной активностью, плесеней) не выявлено.

Применение питьевой воды «ИММУНОФОРС» в условиях физиологической нормы способствует сохранению качественного и количественного состава микрофлоры толстого кишечника крыс, поддержанию микрoэкологических связей на оптимальном уровне функционирования. При этом отмечается, что применение исследуемой воды способствует элиминации грибов.

3.2.2. Микробиологическое исследование полостного содержимого толстого кишечника при антибиотик-ассоциированном дисбактериозе, сочетанном с употреблением питьевой воды «ИММУНОФОРС»

Смесь цефалексина и гентамицина на 3 сутки (Таблица 3, III группа) развития дисбиотических нарушений вызывала падение уровня пробиотических микроорганизмов: лактобацилл на 14,5% ($p < 0,05$), а бифидобактерий – на 11,2% ($p < 0,05$). Общий удельный вес *Enterobacteriaceae* на 26,5% превышал таковой показатель в контроле ($p < 0,05$), а пул *E. coli* с положительной ферментацией увеличивался на 21,1% по сравнению с интактными особями ($p < 0,05$).

Таблица 3 – Микробиоценоз толстого кишечника крыс при моделировании экспериментального дисбиоза, вызванного антибиотиками

Микроорганизм, Log КОЕ/г	Группа I Интактные животные, n=10	Животные с дисбактериозом, вызванным смесью антибиотиков	
		Группа III (3 сутки), n=10	Группа IV (7 сутки), n=10
<i>Lactobacillus ssp.</i>	7,6±0,05	6,5±0,02*	7,3±0,05*
<i>Bifidobacterium ssp.</i>	8,9±0,02	7,9±0,02*	8,9±0,02*
<i>Enterobacteriaceae</i>	4,9±0,02	6,2±0,11*	6,0±0,04*
<i>E.coli</i>	5,2±0,1	6,3±0,03*	6,1±0,06*
<i>Citrobacter ssp.</i>	0	0	6,2±0,04
<i>R.radiobacter</i>	0	0	ед. колонии
<i>K. oxytoca</i>	0	0	4,5±0,06
<i>Staphylococcus ssp.</i>	3,4±0,1	4,7±0,03*	4,3±0,07*
<i>S. aureus</i>	0	4,7±0,05	4,2±0,03
<i>Fungi</i>	3,5±0,05	6,0±0,01*	6,2±0,02*

Примечание: * – различия достоверны относительно показателей контрольной группы

На фоне применения антибиотиков также отмечена колонизация кишечника крыс грамположительными кокками *Staphylococcus ssp.*, численность которых на 38,2% была выше по сравнению с таковым

показателем для интактных крыс ($p < 0,05$), преобладающий вид *S. aureus* в титре $4,7 \pm 0,04 \log$ КОЕ/г.

Концентрация дрожжеподобных грибов была на 71,4% выше нормы – $6,0 \pm 0,01 \log$ КОЕ/г ($p < 0,05$).

На 7 сутки развития дисбактериоза (Таблица 3, группа IV) увеличилось содержание *Lactobacillus ssp.*, приближаясь к показателям интактных крыс, хотя отличия все еще оставались достоверными ($p < 0,05$). Титр *Bifidobacterium ssp.* соответствовал таковому в контроле.

Удельный вес представителей *Enterobacteriaceae* и *E. coli* все еще оставался повышенным и сохранял достоверность отличий от значений, фиксированных в контрольной группе ($p < 0,05$).

Общая обсемененность *Staphylococcus ssp.* снижалась на 8,5%, в том числе золотистого стафилококка – на 10,6%, однако различия оставались достоверными по отношению к интактным особям ($p < 0,05$).

В кишечнике крыс зафиксированы условно-патогенные энтеробактерии: цитробактер (*Citrobacter ssp.*) в титре $6,2 \pm 0,04 \log$ КОЕ/г, клебсиеллы (*K. oxytoca*) – $4,5 \pm 0,06 \log$ КОЕ/г, а также радиобактер (*Radiobacter spp.*), в контроле указанные виды отсутствовали.

Предварительное применение питьевой воды «Иммунофорс» перед введением антибиотиков благоприятно сказывалось на микробиоценозе кишечника и способствовало сохранению пробиотических микроорганизмов (таблица 4, группы V и VI). На 3 сутки в биологическом материале крыс V группы титр лактобацилл все еще оставался пониженным на 5,2% по сравнению с животными, получавшими в течение 30 дней питьевую воду «Иммунофорс» ($p < 0,05$; II группа) и на 10,7% превышал таковой у животных III группы ($p < 0,05$, дисбиоз на 3 сутки). Содержание *Bifidobacterium ssp.* также превышало аналогичный показатель по группе III ($p < 0,05$), однако значения все еще оставались достоверными по сравнению со II группой ($p < 0,05$). Количество энтеробактерий было выше на 23,5% значения особей II группы ($p < 0,05$) и соответствовало показателям животных III группы. Удельное содержание *E. coli* все еще превышало контрольные показатели («ИММУНОФОРС» 30 дней) на 9,6% ($p < 0,05$) и было ниже аналогичного значения, фиксируемого у особей III группы ($p < 0,05$).

Анализ грамположительной флоры стафилококков *Staphylococcus ssp.* показал, что титр их соответствовал значениям животных, которые употребляли питьевую воду «ИММУНОФОРС» в течение 30 дней, и был на 21,3% ниже ($p < 0,05$), чем аналогичный показатель у особей с дисбиозом (3 сутки).

Установлено, что питьевая вода «ИММУНОФОРС» способствовала элиминации грибов, в то время как у животных II группы он высевался.

На 7 сутки (группа VI) содержание лакто- и бифидобактерий в полной мере соответствовало таковым показателям у особей, получавших «ИММУНОФОРС» в течение 30 дней.

Таблица 4 – Микробиоценоз толстого кишечника крыс при применении питьевой воды «Имунофорс» на фоне развивающегося экспериментального дисбиоза, вызванного антибиотиками

Микроорганизм, Log КОЕ/г	Группа II Животные в течение 30 дней получавших питьевую воду «Имунофорс»	Животные с дисбактериозом, вызванном смесью антибиотиков, получавших питьевую воду «Имунофорс»	
		Группа V (3 сутки)	Группа VI (7 сутки)
<i>Lactobacillus ssp.</i>	7,6±0,02	7,2±0,04 ^{#^}	7,6±0,02 [^]
<i>Bifidobacterium ssp.</i>	8,9±0,03	8,3±0,08 ^{#^}	9,0±0,02
<i>Enterobacteriaceae</i>	5,1±0,11	6,3±0,07 [#]	4,3±0,09 ^{#^}
<i>E.coli</i>	5,2±0,06	5,7±0,09 ^{#^}	5,1±0,06 [^]
<i>Candida ssp.</i>	0	0	4,5±0,08
<i>Staphylococcus ssp.</i>	3,7±0,1	3,7±0,05 [^]	3,5±0,1 ^{#^}

Примечание: [#] – различия достоверны относительно показателей животных, находившихся на питьевом рационе водой «Имунофорс» в течение 30 дней; [^] – различия достоверны относительно показателей животных с экспериментальным дисбиозом, находившихся на стандартном пищевом рационе на соответствующие сутки протекания дисбактериоза, указанные в Таблице 1; (p<0,05)

Количество в материале энтеробактерий снижалось на 15,7 по сравнению с группой (p<0,05), употреблявших питьевую воду на протяжении 30 дней, и на 28,3% ниже (p<0,05), чем аналогичный показатель у животных IV группы (дисбиоз, 7 сутки). Титр *E. coli* соответствовал значениям, зафиксированным у особей, находившихся на питьевом рационе «ИММУНОФОРС», и на 16,4% был ниже (p<0,05), чем у животных на 7 сутки дисбиоза (IV группа).

Анализ грамположительной флоры стафилококков *Staphylococcus ssp.* показал, что титр их снижался по отношению к особям II группы («ИММУНОФОРС» 30 дней) и на 18,6% был ниже соответствующих показателей особей IV группы (дисбиоз, 7 сутки). Однако в материале верифицировались представители *Candida ssp.* в титре 4,5±0,08 Log КОЕ/г.

В фекалиях животных, употреблявших питьевую воду «ИММУНОФОРС» с последующим моделированием антибиотик-ассоциированного дисбиоза не выявлено представителей условно-патогенных энтеробактерий (*Klebsiella ssp.*, *Citrobacter ssp.*), *S. aureus*.

Введение экспериментальным животным антибиотиков сопровождалось нарушением структуры микробиоценоза кишечника и изменением условий жизнедеятельности бактерий. На фоне их длительного применения нарушаются процессы регенерации, миграции, всасывания и функциональные характеристики энтероцитов. Метаболические нарушения в организме животного увеличивают процент не всосавшихся в тонком

кишечнике субстратов, служащих питательной средой для микроорганизмов [36].

В наших экспериментах наблюдалось падение численности основных антагонистов, обеспечивающих колонизационную резистентность макроорганизма (лакто- и бифидобактерий). Высвобождающаяся экологическая ниша занимает другими, как правило, условно-патогенными бактериями. Как известно, чрезмерное размножение любого вида бактерий в ущерб другим представителям биоценоза нарушает нормальное течение физиологических процессов и ведет к развитию патологии.

Избыточная численность популяций энтеробактерий и *E. coli* может вызывать нарушение сбраживания углеводов, накопление осмотически активных веществ, ведущих к расстройству водно-солевого обмена [36].

Колонизация кишечника клебсиеллами, цитробактером, стафилококком может провоцировать воспалительные процессы слизистой оболочки кишечника, нарушение ее моторной и секреторной функций. Избыточное содержание в биотопе грибов свидетельствует о начинающихся бродильных процессах, которые поддерживают пролиферацию условно-патогенных микроорганизмов.

В целом дисбиотические нарушения приводят к утрате кишечной микрофлорой детоксикационной способности продуктов белкового обмена, ксенобиотиков, бактериальных токсинов, что увеличивает нагрузку на печень [37].

По результатам проведенных исследований можно заключить, что питьевая вода «ИММУНОФОРС» в период развития экспериментального дисбиоза, способствует элиминации условно-патогенных микроорганизмов (золотистый стафилококк, грибы и плесени), сдерживает накопление бактерий группы кишечной палочки, снижает высеваемость условно-патогенных энтеробактерий (цитробактер, клебсиеллы). При этом главенствующее положение в регуляции кишечного биотопа сохраняется за представителями *Bifidobacterium ssp.* Это свидетельствует о сохранении баланса микробных сообществ кишечника, препятствующего дальнейшему развитию бродильных процессов и защелачиванию кишечного содержимого.

3.2.3. Анализ антибактериальной и фунгицидной активности питьевой воды «ИММУНОФОРС»

Судя по данным микробиологического анализа, присутствие структурированной воды в составе жидких питательных сред для выращивания микроорганизмов изменяет процессы роста микробных клеток. Внесение 0,1% воды по объему в тиогликолевую среду влечет падение колониеобразующей способности тест-штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 на 50,2% в сравнении с контролем. Более того, ингибирующий эффект сохраняется и достоверно не снижается при уменьшении концентрации воды

в ростовой среде: наличие 0,05% и 0,02% воды «ИММУНОФОРС» в тиогликолевой среде подавляет рост тест-штамма на 50,2 % и 51,5 % соответственно (Таблица 5, рисунок 3).

При исследовании влияния воды «ИММУНОФОРС» на рост грамотрицательных микроорганизмов типового вида *E. coli* не выявлено

Таблица 5 – Влияние воды «Иммунофорс» на рост условно-патогенных микроорганизмов *in vitro*

<u><i>S. aureus</i> ATCC 25923</u>				<i>КОЕ</i>	<i>КОЕ</i>	<i>КОЕ</i>	<i>Ср. кол-во</i>
(контроль, в отсутствии образца)				402			
<u><i>S. aureus</i>+ образец</u>	1:10	1:20	1:50	1:100	1:200	1:500	
<i>КОЕ</i>	200	200	195	Сплошной рост	Сплошной рост	Сплошной рост	
% подавления	50,2	50,2	51,5	0	0	0	
<u><i>E. coli</i> ATCC 8739</u>				<i>КОЕ</i>	<i>КОЕ</i>	<i>КОЕ</i>	<i>Ср. кол-во</i>
(контроль, в отсутствии образца)				203			
<u><i>E. coli</i> + образец</u>	1:10	1:20	1:50	1:100	1:200	1:500	
<i>КОЕ</i>	239	254	250	Сплошной рост	Сплошной рост	Сплошной рост	
% подавления	0	0	0	0	0	0	
<u><i>C. albicans</i> ATCC 10231</u>				<i>КОЕ</i>	<i>КОЕ</i>	<i>КОЕ</i>	<i>Ср. кол-во</i>
(контроль, в отсутствии образца)				579			
<u><i>C. albicans</i>+ образец</u>	1:10	1:20	1:50	1:100	1:200	1:500	
<i>КОЕ</i>	400	270	310	Сплошной рост	Сплошной рост	Сплошной рост	
% подавления	30,9	53,4	46,5	0	0	0	

достоверных изменений колониеобразующей способности. В присутствии воды «ИММУНОФОРС» тест-штамм *E. coli* ATCC 8739 при росте на жидкой питательной среде способности к формированию микробных тел не утрачивал (Таблица 5, рисунок 4).

Определение фунгицидной активности воды «Иммунофорс» в отношении дрожжеподобных грибов рода *Candida* показало, что сокультивирование тест-штамма *Candida albicans* ATCC 10231 с 0,05% «ИММУНОФОРСОМ» приводит к утрате формирования грибных тел на 53,4%. При возрастании концентрации воды в среде до 0,1% эффект ингибирования тест-штамма снижался до 30,9% по сравнению с контролем (Таблица 5, рисунок 5).

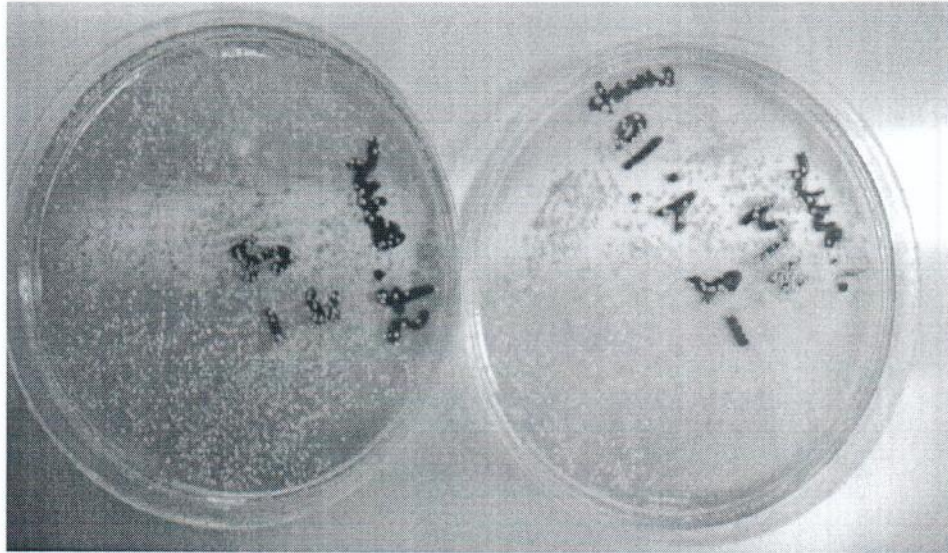


Рисунок 3 – Влияние воды «ИММУНОФОРС» на рост тест-штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *in vitro*.

На фотографии: слева – рост тест-штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, стафилококкагар, 24 ч культивирования, контроль; справа – колонии тест-штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, стафилококкагар, 24 ч культивирования, 0,1% «ИММУНОФОРС».



Рисунок 4 – Влияние воды «ИММУНОФОРС» на рост тест-штамма *E. coli* ATCC 8739 *in vitro*.

На фотографии: сверху – колонии тест-штамма *E. coli* ATCC 8739, среда Эндо, контроль; слева – тест-штамм *E. coli* ATCC 8739, среда Эндо, 0,1% «ИММУНОФОРС», 24 ч культивирования, справа – колонии тест-штамма *E. coli* ATCC 8739, среда Эндо, 0,05% «ИММУНОФОРС», 24 ч роста.



Рисунок 5 – Влияние воды «ИММУНОФОРС» на рост тест-штамма *Candida albicans* ATCC 10231 *in vitro*.

На фотографии: слева – рост тест-штамма *Candida albicans* ATCC 10231, агар Сабуро, 48 ч культивирования, контроль; справа – колонии тест-штамма *Candida albicans* ATCC 10231, агар Сабуро, 48 ч культивирования, 0,1% «ИММУНОФОРС».

Итак, экспериментальное исследование бактерицидных свойств структурированной воды «ИММУНОФОРС», произведенной по технологии ТЕЛОС, позволяет выявить выраженную биологическую активность в отношении грамположительных кокков, но не грамотрицательных бацилл. Антибактериальная активность воды выразилась в подавлении формирования микробных тел тест-штамма золотистого стафилококка от 50,2 до 51,5%. Примечательно, что уменьшение концентрации воды в среде культивирования с 0,1% до 0,02% (5 раз) не снижает эффективность ее воздействия, поскольку бактерицидный эффект 0,02% воды «ИММУНОФОРСА» снижается лишь на 1,3% по отношению к концентрации 0,1%.

Исходя из того, что биологическая активность в отношении стафилококка практически не зависит от концентрации исследуемой воды в питательной среде и не может являться следствием ее разбавления, то наблюдаемый бактерицидный эффект «ИММУНОФОРСА» всецело обусловлен свойствами самой воды.

При определении потенциальных фунгицидных свойств воды «ИММУНОФОРС» выявлено, что наивысшая противогрибковая активность

проявляется при культивировании тест-штамма *Candida albicans* ATCC 10231 в среде, содержащей 0,05% воды, в этих условиях формирование грибковых тел снижается на 53,4%. В целом, фунгицидный эффект воды может наблюдаться в концентрациях от 0,1% до 0,02% и достигать от 31% до 47% соответственно.

Таким образом установлено, что вода «ИММУНОФОРС» обладает выраженной биологической активностью против золотистого стафилококка и дрожжеподобных грибов рода кандиды, что обусловлено физическими характеристиками молекул самой воды, которая, по-видимому, вызывает нарушение энергетических и обменных процессов в клетках и препятствует формированию жизнеспособных культур.

3.3. Результаты биохимических исследований

3.3.1. Состояние основных метаболитов в сыворотке крови крыс после системного употребления питьевой воды ИММУНОФОРС

При исследовании уровня основных показателей метаболизма (общих липидов, белка, глюкозы), а также содержания эссенциальных микроэлементов – железа и кальция в сыворотке крови крыс после системного употребления питьевой воды, подвергнутой обработке по технологии Телос, в сравнении с водой артезианской, были получены следующие результаты.

Показано достоверное увеличение содержания общего белка (на 12,6%) в сыворотке крови у экспериментальных животных по сравнению с крысами контрольной группы (Таблица 6). Это может быть связано с изменением вязкости крови вследствие модуляции водно-солевого баланса, что подтверждается данными литературы [38].

В сыворотке крови животных, длительно употреблявших обработанную воду, была выявлена тенденция к возрастанию уровня глюкозы (повышение на 11,9%).

Не установлено достоверных различий между содержанием общих липидов, железа и кальция в крови у животных экспериментальной и контрольной групп.

Необходимо отметить, что в клинико-диагностической практике отклонения содержания метаболических показателей в пределах 10% считается нормой. Это позволяет сделать предположение о благоприятном воздействии постоянного употребления питьевой воды «ИММУНОФОРС» на основные обменные процессы в организме.

Анализ основных метаболитов сыворотки крови крыс в модели экспериментального дисбиоза на фоне потребления артезианской воды (Таблица 7, серия 2) выявил достоверное увеличение концентрации белка по сравнению с контрольной группой на 3 сутки на 20,7%, что, вероятно, связано с нарушением водно-солевого баланса (обезвоживанием в результате

дисбиоза). Установлено так же статистически значимое уменьшение концентрации общих липидов на 24,2%, по-видимому, за счет активации липолитической патогенной микрофлоры. Содержание глюкозы и железа не показало значимых отличий от контроля, хотя и проявило тенденцию к росту.

Таблица 6 – Концентрация основных метаболитов, железа и кальция в сыворотке крови крыс при системном употреблении питьевой воды «ИММУНОФОРС»

Серия / Показатель	Вода артезианская	Вода, обработанная по технологии «Телос»
Белок (г/литр)	84,26971±3,25399	94,9161±3,50932*
Глюкоза (ммоль/литр)	8,43904±0,48072	9,43102±0,44821
Общие липиды (г/литр)	3,33951±0,21672	3,47813±0,1953
Железо (мкмоль/дм ³)	25,28046±1,4673	23,88046±1,91272
Кальций (ммоль/дм ³)	2,44791±0,04171	2,39441±0,03046

Примечание: * – достоверные отличия от контрольной группы ($p < 0.05$)

3.3.2. Концентрация основных метаболитов в сыворотке крови крыс при моделировании антибиотик-ассоциированного дисбактериоза с сочетанным применением питьевой воды «ИММУНОФОРС»

На 7 сутки развития патологии (Таблица 7, серия 3) уровень общего белка оставался повышенным по сравнению с контролем, а концентрация липидов – достоверно пониженной на 12,7%. В этот же период установлено статистически значимое снижение ионов железа в кровяном русле (на 23,4%). Выявленные изменения дополняют «картину» развития нарушений микробиоциноза в результате антибиотик-ассоциированной патологии, поскольку железо является необходимым элементом для усиленной пролиферации патогенной микрофлоры.

При употреблении воды, приготовленной по технологии «ТЕЛОС», на 3 сутки дисбиоза (Таблица 7, серия 4), уровень белка значимо не отличался от контроля, но был статистически достоверно ниже на 15,1% по сравнению с серией 2. Остальные изучаемые показатели, хотя и претерпевали

незначительные изменения по отношению к контролю, степень их выраженности не носила достоверный характер.

Таблица 7 - Концентрация основных метаболитов и железа в сыворотке крови крыс при употреблении питьевой воды «ИММУНОФОРС» в модели антибиотик-ассоциированного дисбиоза

Показатель \ Серия/№	Вода артезианская контроль	Дисбактериоз на фоне потребления воды артезианской.		Дисбактериоз на фоне потребления воды «ИММУНОФОРС»	
		3 сутки	7 сутки	3 сутки	7 сутки
		1	2	3	4
Белок (г/литр)	84,26971± 3,25399	101,9337± 2,30695*	92,46341± 2,6165	88,54355± 5,05313•	83,74358± 3,73444
Глюкоза (ммоль/литр)	8,43904± 0,48072	9,45781± 0,69869	8,55308± 0,51178	9,0405± 0,47396	8,33767± 0,42714
Общие липиды (г/литр)	3,33951± 0,21672	2,4922± 0,22203*	2,6314± 0,16225*	3,02357± 0,23836	3,02321± 0,1673
Железо (мкмоль/дм)	25,28046± 1,4673	26,49885± 1,17984	20,54713± 1,44165*	23,23372± 1,14866	26,27126± 2,03493

Примечание: * – отличия достоверны относительно контрольной группы ($p < 0,05$);
• – отличия достоверны относительно группы получавшей комплекс антибиотиков (3-е суток) ($p < 0,05$).

К 7 суткам развития патологии, протекающей на фоне потребления воды «ИММУНОФОРС», уровни всех определяемых метаболитов не имели статистических достоверных отличий от значений контрольной группы (Таблица 7, серия 5).

Представленные экспериментальные данные позволяют констатировать, что системное длительное употребление воды «ИММУНОФОРС» (в нормальных физиологических условиях) существенно не изменяет уровень анализируемых метаболитов (глюкоза, общие липиды, железо) в сыворотке крови крыс, но достоверно увеличивает содержание общего белка.

В то же время установлено, что при развитии антибиотик-ассоциированного дисбиоза на фоне потребления воды, приготовленной по технологии «ТЕЛОС», уровень основных метаболитов к 7 суткам развития патологии стабилизируется до контрольных значений. При протекании дисбактериоза в условиях введения в рацион обычной воды концентрация белка, общих липидов и железа в сыворотке крови крыс как на 3-и, так и на 7-е сутки достоверно отличается от контроля.

Проведенные исследования позволяют заключить, что «ИММУНОФОРС» оказывает положительное влияние на состояние основных метаболитов в крови при развитии антибиотик-ассоциированного дисбиоза.

3.3.3. Анализ результатов по изучению активности трансаминаз и реакций перекисного окисления липидов у крыс после длительного употребления питьевой воды «ИММУНОФОРС»

В проведенных исследованиях не установлено достоверных отличий между содержанием малонового диальдегида, активностями основных ферментов антиоксидантной защиты (каталазы и супероксиддисмутазы) в крови животных как при потреблении артезианской воды, так и той же воды, обработанной по технологии «ТЕЛОС» (Таблица 8, показатели МДА, каталаза, СОД).

Таблица 8 – Активность ферментов аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), каталазы, супероксиддисмутазы (СОД) и содержание малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови экспериментальных животных.

Серия / Показатель	Вода артезианская	Вода, обработанная по технологии «ТЕЛОС»
АСТ (мкат/л)	0,688±0,054	0,649±0,061
АЛТ(мкат/л)	0,33±0,033	0,167±0,029
МДА (нмоль/л)	20,510±1,094	20,590±0,781
Каталаза (мкат/л)	19,05±0,722	18,78±0,546
СОД (U/мл)	2,32±0,023	2,59±0,030

Не выявлено статистически достоверных отличий между активностью трансаминаз – аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) (оба фермента являются показателями функциональной активности печени), – в крови экспериментальных животных после приема как артезианской воды, так и той же воды, обработанной по технологии «ТЕЛОС» (Таблица 8, показатели АСТ, АЛТ).

3.3.4. Изменения активности трансаминаз и реакций перекисного окисления липидов при моделировании антибиотик-ассоциированного дисбактериоза с сочетанным применением питьевой воды

Установлено, что при развитии дисбиоза в условиях потребления обычной воды достоверно усиливается активность трансаминаз (как на 3, так и на 7 сутки, по отношению к норме). Активность АСТ на 3 сутки была на 79,39%, а на 7 сутки – на 187,44% выше нормальных величин, а АЛТ – на 68,78% и 106,06% соответственно (Таблица 9, показатели АСТ, АЛТ).

Таблица 9 – Изменение активности ферментов аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), каталазы, супероксиддисмутазы (СОД) и содержания малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови экспериментальных животных, употреблявших обычную воду, на фоне развития дисбиоза кишечника.

Серия / Показатель	Контроль (норма)	Создание дисбиоза на фоне потребления обычной воды	
		(3-е сутки)	(7-е сутки)
АСТ, мккат/л	0,733±0,071	1,315±0,137# ↑79,39%	2,107±0,250 # ↑187,44%
АЛТ, мккат/л	0,330±0,033	0,557±0,036# ↑68,78%	0,680±0,104# ↑106,06%
МДА, нмоль/л	15,58±0,868	18,099±1,190# ↑16,84%	14,929±1,060
Каталаза, мкат/л	26,68±0,422	22,896±1,083# ↓15,19%	24,396±0,978
СОД, U/мл	2,03±0,187	5,766±0,703# ↑184,03%	2,294±0,353# ↑13,00%

Примечание : # – отличия достоверны относительно контроля, $p \leq 0,05$

При исследовании изменений в активности ферментов антиоксидантной защиты – каталазы и супероксиддисмутазы, – в условиях дисбиоза кишечника (на фоне потребления обычной воды), выявлено падение активности каталазы на 3 сутки на 15,19%, по сравнению с нормой. Активность СОД в этот же период возрастала на 184,03%. К 7 суткам развития патологии активность каталазы оставалась в пределах контрольных значений, а СОД – увеличена на 13,00% (Таблица 9, показатели каталаза и СОД).

Такая направленность изменений связана с явлением перекрёстной регуляции, что находит отражение в отрицательной корреляции между активностями СОД и каталазы при дисбиозе. Это характерно для состояния гипоксии, о чем свидетельствуют литературные данные, полученные при

исследовании крови больных с ишемическим и геморрагическим инсультом [39].

При анализе окислительных реакций, в частности, перекисного окисления липидов (по содержанию в крови конечного продукта – малонового диальдегида), было установлено достоверное возрастание концентрации МДА к 3 суткам (пик развития патологии) на 16,84% по сравнению с нормой, а на 7 сутки отмечена тенденция к снижению количества исследуемого показателя (Таблица 9, показатель МДА).

В серии исследований по созданию антибиотик-ассоциированного дисбактериоза на фоне длительного потребления воды «ИММУНОФОРС» установлено, что активность как АСТ, так и АЛТ на 3 сутки развития патологии достоверно не изменялась как по отношению к контролю, так и при сравнении с соответствующей группой (3 сутки дисбиоза при потреблении обычной воды). На 7 сутки выявлено снижение активности процесса переаминирования по сравнению со значениями, установленными при потреблении обычной воды. Активность АСТ и АЛТ в крови крыс достоверно уменьшалась на 41,01 и на 30,89% соответственно (Таблицы 9 и 10, показатели АСТ и АЛТ, 3 и 7 сутки дисбиоза).

Таблица 10 – Изменение активности ферментов аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), каталазы, супероксиддисмутазы (СОД) и содержания малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови экспериментальных животных, употреблявших воду «ИММУНОФОРС», на фоне развития дисбиоза кишечника.

Серия Показатель	Контроль (норма)	Создание дисбиоза на фоне потребления воды «Иммунофорс»	
		(3-е сутки)	(7-е сутки)
АСТ, мккат/л	0,733±0,07	1,286±0,118	1,243±0,131* ↓41,01%
АЛТ, мккат/л	0,330±0,03	0,557±0,020	0,470±0,071* ↓30,89%
МДА, нмоль/л	15,58±0,86	16,175±0,597* ↓20,64%	11,414±0,379* ↓23,55%
Каталаза, мкат/л	26,68±0,42	18,375±1,070* ↓19,75%	16,569±1,030* ↓32,09%
СОД, U/мл	2,03±0,187	4,562±0,894* ↓20,89%	2,339±0,304

Примечание: * – достоверные отличия от соответствующей группы с дисбиозом $p \leq 0,05$ (см. таблицу 9)

Выявлено, что при дисбиозе, развивающемся на фоне потребления воды «ИММУНОФОРС», содержание МДА в сыворотке крови достоверно

уменьшалось как на 3, так и на 7 сутки (20,64 и 23,55% соответственно); активность каталазы снижалась на 19,75 и 32,09%, (3 и 7 сутки соответственно); а активность СОД возрастала на 3 сутки (на 20,89%), а на 7 – оставалась в пределах контрольных значений по отношению к соответствующей группе с дисбиозом на фоне обычной воды (Таблицы 9 и 10, показатели МДА, каталаза, СОД, 3 и 7 сутки дисбиоза).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что употребление артезианской воды, приготовленной по технологии «ТЕЛОС», способствует подавлению окислительных процессов в нормальных физиологических условиях. Кроме того установлено, что длительное употребление воды «ИММУНОФОРС» оказывает позитивное влияние на физиологические процессы, сохраняя гомеостатическое равновесие между реакциями перекисного окисления липидов и активностью системы антиоксидантной защиты в организме при развитии патологических состояний. При этом положительным физиологическим эффектом является снижение активности ферментов переаминирования в сыворотке крови, что свидетельствует о максимальной интенсивности использования аминокислот в процессе биосинтеза белков и снижения их катаболизма и указывает на благоприятное воздействие воды «ИММУНОФОРС» на функциональное состояние печени.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволяют заключить, что применение питьевой воды «ИММУНОФОРС» в условиях физиологической нормы способствует сохранению качественного и количественного состава микрофлоры толстого кишечника крыс, поддержанию микробиологических связей на оптимальном уровне функционирования.

Установлено, что длительное употребление артезианской воды, приготовленной по технологии «ТЕЛОС», в период развития экспериментального дисбиоза способствует элиминации условно-патогенных микроорганизмов (золотистый стафилококк, грибы и плесени), сдерживает накопление бактерий группы кишечной палочки, снижает высеваемость условно-патогенных энтеробактерий (цитробактер, клебсиеллы). При этом главенствующее положение в регуляции кишечного биотопа сохраняется за представителями *Bifidobacterium ssp.* Это свидетельствует о сохранении баланса микробных сообществ кишечника, препятствующего дальнейшему развитию бродильных процессов и защелачиванию кишечного содержимого.

Экспериментальные исследования бактерицидных свойств структурированной воды «ИММУНОФОРС» позволяют констатировать наличие выраженной биологической активности в отношении грамположительных кокков, но не грамотрицательных бацилл. Биологическая активность в отношении стафилококка практически не

зависит от концентрации исследуемой воды в питательной среде и не может являться следствием ее разбавления. Выявленный бактерицидный эффект «ИММУНОФОРСА» всецело обусловлен свойствами самой воды.

Проведенные определения потенциальных фунгицидных свойств воды «ИММУНОФОРС» свидетельствуют, что наивысшая противогрибковая активность проявляется при культивировании тест-штамма *Candida albicans* ATCC 10231 в среде, содержащей 0,05% воды. В этих условиях формирование грибковых тел снижается на 53,4%, в целом, фунгицидный эффект воды может наблюдаться в концентрациях от 0,1% до 0,02% и достигать от 31% до 47% соответственно.

Комплексный анализ антибактериальной и фунгицидной активности питьевой воды, приготовленной по технологии «ТЕЛОС», позволяет заключить, что вода «ИММУНОФОРС» обладает выраженной биологической активностью против золотистого стафилококка и дрожжеподобных грибов рода кандиды, что обусловлено физическими характеристиками молекул самой воды, которая, по-видимому, вызывает нарушение энергетических и обменных процессов в клетках и препятствует формированию жизнеспособных культур.

Полученные экспериментальные данные позволяют констатировать, что системное длительное употребление воды «ИММУНОФОРС» (в нормальных физиологических условиях) существенно не изменяет уровень анализируемых показателей (глюкоза, общие липиды, железо и кальций) в сыворотке крови крыс, но достоверно увеличивает содержание общего белка.

В то же время установлено, что при развитии антибиотик-ассоциированного дисбиоза на фоне потребления воды, приготовленной по технологии «ТЕЛОС», уровень основных метаболитов к 7 суткам развития патологии стабилизируется до контрольных значений. При развитии дисбактериоза в условиях введения в рацион обычной воды концентрация белка, общих липидов и железа в сыворотке крови крыс как на 3, так и на 7 сутки достоверно отличается от контроля.

Полученные результаты по изучению активности трансаминаз и реакций перекисного окисления липидов свидетельствуют о том, что употребление артезианской воды, приготовленной по технологии «ТЕЛОС» способствует подавлению окислительных процессов в нормальных физиологических условиях. Кроме того, установлено, что длительное употребление воды «ИММУНОФОРС» оказывает позитивное влияние на физиологические процессы, сохраняя гомеостатическое равновесие между реакциями перекисного окисления липидов и активностью системы антиоксидантной защиты в организме при развитии патологических состояний. При этом положительным физиологическим эффектом является снижение активности ферментов переаминирования в сыворотке крови, что свидетельствует о максимальной интенсивности использования аминокислот в процессе биосинтеза белков и снижения их катаболизма и указывает на

благоприятное воздействие воды «ИММУНОФОРС» на функциональное состояние печени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Савостьяник С.А., Спас В.В., Якубцевич Р.Э. Магнитные поля и современная медицина // Мед. новости. – 2010. – № 12. С. 10–16.
2. Спас В.В., Якубцевич Р.Э. Респираторный дистресс-синдром взрослых. – Минск, 2007. – С. 187–228.
3. Чураков А.В. Лечение тяжелой черепно-мозговой травмы с использованием комбинированной экстракорпоральной аутогемомангнитотерапии: автореф. дис. ...канд. мед. наук: 14.00.37, 14.00.28. – Минск, 2009. – 23 с.
4. Якубцевич Р.Э., Спас В.В., Плетнев С.В. // Мед. новости. – 2003. – № 3. – С. 72–74.
5. Григорян Г.Е. Магниторецепция и механизмы действия магнитных полей на биосистемы // – Ереван, 1999. – 79 с.
6. Остапенко В.А., Плетнев С.В. // Эфферентная терапия. – 2004. – Т. 10, № 4. – С. 21–24.
7. Спас В.В., Якубцевич Р.Э. Респираторный ди-стресс-синдром взрослых – Минск, 2007. – С. 187–228.
8. Якубцевич Р.Э., Спас В.В., Плетнев С.В. // Мед. новости. – 2003. – № 3. – С. 72–74.
9. Bawin S.M., Satmary W.M., Jones R.A. et al. // Bioelectromagnetics. – 1996. – N 17. – P. 388–395.
10. Byus C.V., Lundak R.L., Fletcher R.M. et al. // Bioelectromagnetics. – 1984. – № 15. – P. 217–238.
11. Litovitz T., Krause D., Penafiel M. et al. // Bioelectromagnetics. – 1993. – N 14. – P. 395–404. Luben R.A.,
12. Cain C.D., Chen M.-Y. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1982. – N 79. – P. 4180–4183.
13. Кручинский Н.Г., Остапенко В.А., Тепляков А.И. и др. // Эфферентная терапия. – 2005. – Т. 11, № 3. – С. 28–32.
14. Шишко Е.И., Шолохова И.И., Мохорт Т.В. // Материалы 4-й Белорус. науч.-практ. конф. «Проблемы разработки и внедрения в клиническую практику методов эфферентной терапии». – Минск, 2003. – С. 101–103.
15. Улащик В.С. // Здоровоохранение. – 2009. – № 2. – С. 4–10.
16. Улащик В.С. // Здоровоохранение. – 2009. – № 6. – С. 29–34.
17. Девятков Н.Д., Кислое В.Я. Кислое В.В. и др. // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – 1996. – №8. – С.65-69.
18. Гапочка Л.Д., Гапочка М.Г., Королев А.Ф. и др. // Вестник МГУ. Сер. Физика, Астрономия. – 1994. – Т.3. – № 4.

19. Григорян Г.Е. Магниторецепция и механизмы действия магнитных полей на биосистемы. – Ереван, 1999. – 79 с.
20. Зацепина Г.Л. Физические свойства и структура воды. — М.: Изд-во Московского университета. — 1998. — 185 с.
21. Кузнецов Д.М., Гапонов В.Л., Смирнов А.Н. О возможности исследования кинетики фазовых переходов в жидкой среде методом акустической эмиссии // Инженерная физика – 2008. – № 1. – С. 16-20.
22. Смирнов А.Н. Структура воды: новые экспериментальные данные. // Наука и технологии в промышленности – 2010. – № 4. – С. 41-45.
23. Смирнов А. Н., Сыроешкин А. В. Супранадмолекулярные комплексы воды // Российский химический журнал. — М.: Рос. хим. об-во им. Д. И. Менделеева – 2004. – Т. 48. – № 2: – С. 125—135.
24. Солодилов А.И., Кравчук М.А., Волин А.В. Опыт работы с применением технологии "ТЕЛОС" для задач сокращения загрязняющих веществ в окружающую среду и экономии энергоносителей // Энергонадзор и энергосбережение сегодня. - 2000. - № 3.
25. Солодилов А.И., Пичугин В.Ю., Энговатов В.В. Модифицирующее влияние слабых импульсных магнитных полей на свойства питьевой воды. В сб. Проблемы противолучевой защиты. – Москва. – 1998.
26. Солодилов А.И. Борисов В.А., Пичугин В.Ю., Кравчук М.А. Обработка воды сверхслабыми импульсными магнитными полями (по технологии Телос) для профилактических и медицинских целей // Доклад на 6-м Международном конгрессе: вода: экология и технология. – 2004. – Москва.
27. Санитарные правила норм 2.1.2.12-18 – 2006. Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев). Утверждено Постановлением Главного государственного санитарного врача Респ. Беларусь 31 окт. 2006 № 131; Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г., № 755.
28. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimentation and other Scientific Purposes, N 123 of 18 March 1986
29. Чичерин И.Ю. и др. Микрофлора кишечника белых мышей и морских свинок при экспериментальном антибиотикоассоциированным дисбактериозе и возможность ее коррекции пребиотиком «Стимбифиб» // Журнал инфектологии. – 2012. – Том 4, № 1. – С. 75-80.
30. Бактериологическая диагностика дисбактериоза кишечника: Методические рекомендации // МЗ РСФСР Гл. упр. НИИ и координации науч. исслед.; Сост. Р.В. Эпштейн, Литвак, Ф.Л. Вильшанская. М.: Б.и., 1977. – 20 с.;
31. Методические рекомендации. Методы бактериологического исследования условно-патогенных микроорганизмов в клинической микробиологии. МЗ РСФСР от 19.12.91г.

32. Шабан Ж.Г., Слизень В.В., Канашкова Т.А., Крылов И.А. Методы исследования в микробиологии: уч.-мет. пособие.–Минск: БГМУ. 158 с.
33. Bartosz G. Оxy-radical metabolism and control of tumour growth // Xenobiotika, 2003. – Vol. 21. – P. 1041-1052.
34. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Кислородные радикалы в химии, биологии и медицине. Рига. - 1990. - С.45-54.
35. Королюк М.А, Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы //Лабораторное дело. – 1988, №1. С.16-18.
36. Данилевская Н.В. Лекарственные дисбактериозы: причины и последствия / Н.В. Данилевская, В.В. Субботин // Журнал «Ветеринар». – 2003. – № 1. – С. 34–40.
37. Григорьев П.Я. Нарушение нормального состава кишечной микрофлоры, клиническое значение и вопросы терапии. Методическое пособие / П.Я. Григорьев, Э.П. Яковенко. – М., 2000. – 20 с.
38. Теплякова Д.В., Тепляков А.И., Кручинский Н.Г. и др. // Эфферентная терапия. – 2000. – Т. 6, № 1. – С. 32–35.
39. Доценко О. И., Доценко В. А., Мищенко А. М. Активность супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах и некоторых тканях мышц в условиях низкочастотной вибрации// Физика живого. – 2010. – №1. – С.13-17.
40. Костенко, Т.С. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии / Т. С. Костенко, В. Б. Родионова, Д. И. Скородумов. – Москва : Колос, 2001. - 344 с.