

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОЕ АГЕНТСТВО
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ТОКСИКОЛОГИИ**

192019, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д.1
Телефон/факс: (812) 412-91-65

e-mail: pharmtest@sp.ru
www.toxicology.ru

" У Т В Е Р Ж Д А Ю "

Директор ФГУН «Институт токсикологии»
ФМБА России
доктор медицинских наук, профессор



С. П. Нечипоренко

" 29 " 12 2009 г.

ОТЧЕТ

об экспериментальном изучении биологической активности водопроводной воды, пропущенной через фильтр «Золотая Формула ZF-2» производства ООО «Холдинг «Золотая Формула», г. Всеволожск

Научный руководитель
кандидат медицинских наук,
ведущий научный сотрудник

С.В.Степанов

г. Санкт-Петербург, 2009 г.

РЕФЕРАТ

Отчет изложен на 15 страницах машинописного текста, содержит 8 таблиц и включает 17 литературных источников.

«ЗОЛОТАЯ ФОРМУЛА ZF-2»; СИСТЕМА ОЧИСТКИ ВОДЫ;
ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ ВОДООЧИСТИТЕЛЯ.

Объект исследования – вода после фильтрации системой очистки воды «Золотая Формула ZF-2» (ТУ 3697-001-96144318-2008) производства ООО «Холдинг «Золотая Формула» (г. Всеволожск, Ленинградская область, ул. Достоевского, д. 32/53).

Цель работы – определение биологической активности воды после фильтрации.

В процессе работы проводились экспериментальные исследования биологической активности воды после фильтрации для определения ее положительного влияния на организм.

Показано, что вода после фильтрации обладает биологической активностью.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. Исследование адаптационных свойств воды после очистки установкой «Золотая Формула ZF-2»	5
1.1. Материалы и методы	5
1.2. Результаты исследования адаптогенной активности	6
1.3. Восстановление способности к прямолинейному движению после вращения .	6
1.4. Влияние на статико-силовую выносливость мышей	7
1.5. Влияние на длительность плавания мышей.....	7
1.6. Антигипоксическое действие	8
1.7. Показатели функционального состояния адаптационных систем организма ...	9
1.8. Заключение	10
1.9. Литература.....	10
2. Влияние отфильтрованной воды на устойчивость крыс к воздействию высоких температур.....	12
3. Показатели активности нервной системы крыс при употреблении отфильтрованной воды.....	13
3.1. Литература.....	13
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	14

ВВЕДЕНИЕ

ООО «Холдинг «Золотая Формула» производит системы очистки воды. Установки «Золотая Формула ZF-2» (ТУ 3697-001-96144318-2008) с йодистым серебром существенно улучшают потребительские свойства воды: прозрачность, цветность, вкус, запах. Удаляют из воды соли тяжелых металлов, органические примеси, радионуклиды.

Технология обработки воды в установках «Золотая Формула ZF-2» позволяет предполагать появление у очищенной воды биологически-активных свойств. В этом случае вода может повышать адаптационные возможности организма и способствовать восстановлению нарушенных функций при заболеваниях.

Поэтому целью настоящего исследования являлось сравнение влияния воды после фильтрации фильтром «Золотая Формула ZF-2» с влиянием водопроводной нефильтрованной воды на состояние организма экспериментальных животных.

Исследования были выполнены в соответствии с нормативным документом «Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище». МУК 2.3.2.721-98. МЗ РФ. М., 1999, 87 с.

Работа выполнена по заказу ООО «НПФ «БИОС» (198099, г. Санкт-Петербург, ул. Калинина, д. 13) в ФГУН «Институт токсикологии» ФМБА России, г. Санкт-Петербург.

1. ИССЛЕДОВАНИЕ АДАПТАЦИОННЫХ СВОЙСТВ ВОДЫ ПОСЛЕ ОЧИСТКИ УСТАНОВКОЙ «ЗОЛОТАЯ ФОРМУЛА ZF-2»

1.1. Материалы и методы

Выбор направлений изучения биологической активности воды после фильтрации фильтром «Золотая Формула ZF-2» определялся предполагаемыми показаниями к ее применению, главным из которых является адаптация организма к неблагоприятным и экстремальным факторам окружающей среды.

Из сравнительных нагрузочных тестов использовались модели антагонизма с гексеналом (антинаркотическое действие) по продолжительности гексеналового сна [1], учет длительности восстановления способности к прямолинейному движению после вращения по К.Г. Васильеву [2], максимальной длительности статической работы (удержание белыми мышцами своего тела на вертикальной сетке), длительности плавания мышцей с грузом (динамической работы) [3]. Из моделей экстремальных факторов использовали моделирование гипоксии в замкнутом объеме («баночная гипоксия») [4].

Воду наливали в поилки на протяжении одного месяца белым нелинейным мышам, которые находились в садках по 5 особей одного пола при свободном доступе к воде.

Динамику веса животных определяли на весах ВЛР-500.

Содержание восстановленного глутатиона в печени определяли иодометрически [5], сульфгидрильных групп сыворотки крови — амперометрическим титрованием по Н.С. Рубиной [6], содержание гликогена — методом Самодьи [7].

Кровь для биохимических исследований получали после декапитации животных.

Содержание общего белка и липидов, холестерина, билирубина сыворотки крови определяли с помощью наборов Био-Лат-Тест Чешской фирмы «Лахема». Уровень глюкозы в крови и гомогенатах органов определяли ортотолуидиновым методом.

Интенсивность тканевого дыхания в гомогенатах органов определяли манометрическим методом Варбурга [8, 9]. Содержание АТФ — хроматографически [10].

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили по Стьюденту-Фишеру.

1.2. Результаты исследования адаптогенной активности

1.2.1. Антагонизм с гексеналом

Антагонизм профильтрованной воды с гексеналом определялся после месяца ее ежедневного употребления мышами. Контрольная группа животных получала водопроводную воду. Гексенал вводился подкожно в дозе 70 мг/кг. Результаты теста представлены в таблице 1.

Таблица 1

Продолжительность гексеналового сна мышей после употребления фильтрованной воды ($M \pm m$)

Группы животных	Длительность сна, мин
Контроль (водопроводная вода)	25.2 ± 1.4
Фильтрованная вода	20.1 ± 1.7*

* — достоверные отличия от контроля при $P < 0.05$

Полученные данные свидетельствуют о достоверном наличии у профильтрованной воды антинаркотического действия (длительность гексеналового сна сократилась), т.е. регулярное употребление воды повышает детоксицирующую функцию печени (она быстрее обезвреживает гексенал).

1.3. Восстановление способности к прямолинейному движению после вращения

Тест учета длительности восстановления способности к прямолинейному движению после вращения демонстрирует эффективность воды повышать адаптацию вестибулярного препарата к перегрузкам. Радиальное ускорение создавалось путем вращения мышей в центрифуге продолжительностью 15 секунд со скоростью 600 об/мин. Мыши при этом помещались в цилиндрические пластмассовые пробирки, закрытые с наружной стороны проволочной сеткой. Обычно после вращения извлеченные из центрифуги мыши вращались вокруг продольной оси туловища или совершали маневренные движения (перемещались по кругу).

В эксперименте использовали группы животных после ежедневного употребления на протяжении месяца исследуемой и водопроводной воды. Каждую группу составляли 10 особей мужского пола. Одновременно вращали равное количество животных

из каждой группы. Результаты представлены в таблице 2. Они свидетельствуют о том, что отфильтрованная вода достоверно уменьшала длительность восстановительного периода после вращения, т.е. улучшала способность вестибулярного аппарата к адаптации к радиальному ускорению.

Таблица 2

Длительность восстановления способности к прямолинейному поступательному движению мышей после вращения в центрифуге 15 сек со скоростью 600 об/мин ($M \pm m$)

Группы животных	Время восстановления, сек
Контроль (водопроводная вода)	213.4 ± 7.2
Отфильтрованная вода	161.4 ± 6.2*

* — достоверные отличия от контроля при $P < 0.05$

1.4. Влияние на статико-силовую выносливость мышей

Влияние воды на статико-силовую выносливость изучали, регистрируя время висения мышей опытных и контрольной групп на вертикальной сетке. Животных тестировали после месячного ежедневного употребления отфильтрованной и водопроводной воды. Критерием истощения статической силы считали время, когда мышь уже не могла удерживать вес своего тела и падала с сетки вниз (собственный вес мышей составлял в среднем 28 г). Результаты эксперимента представлены в таблице 3. Они демонстрируют увеличение статической физической выносливости под воздействием отфильтрованной воды.

Таблица 3

Физическая выносливость мышей в тесте статической силовой нагрузки собственным весом ($M \pm m$)

Группы животных	Длительность висения, мин
Контроль (водопроводная вода)	21.6 ± 0.5
Отфильтрованная вода	25.8 ± 0.5*

* — достоверные отличия от контроля при $P < 0.05$

1.5. Влияние на длительность плавания мышей

Плавание является тяжелой физической динамической нагрузкой, позволяющей оценить эффективность адаптогенов [11]. Оно осуществлялось с грузом (свинцовая

трубка на резиновом кольце, прикрепляемая к корню хвоста), равным 5% от веса тела, при температуре воды 38°–39°С. Критерием утомления и прекращения плавания считали первое «ныряние» с погружением носовых ходов в воду. В большой ванне одновременно плавали по 5 животных из каждой наблюдаемой группы. Тестирование мышей проводили через месяц после ежедневного употребления воды (таблица 4).

Таблица 4

Длительность плавания мышей с грузом после употребления воды ($M \pm m$)

Группы животных	Длительность плавания, мин
Контроль (водопроводная вода)	26.9 ± 4.9
Отфильтрованная вода	46.4 ± 6.8*

* — достоверные отличия от контроля при $P < 0.05$

Они показывают, что при применении отфильтрованной воды увеличивается продолжительность плавания.

1.6. Антигипоксическое действие

Дыхание из замкнутого пространства — рересперация — является достаточно адекватной и простой моделью острой гипоксии [12, 13]. Животное, поглощая кислород из замкнутого пространства вследствие дыхания, вызывает развитие его дефицита — гипоксическую гипоксию, что позволяет оценивать исследуемый адаптоген по интегральным показателям летальности за определенное время наблюдения и устойчивости к дефициту кислорода (максимальной продолжительности жизни).

Животные помещались в банку объемом 250 мл, плотно закрытую стеклянной крышкой, смазанной герметиком. Фиксировали с помощью секундомера максимальную продолжительность жизни и симптомы танатогенеза. Банки с животными во время исследования находились в кондиционере, обеспечивающем постоянство условий эксперимента (температура + 20°С, влажность — 65–70%, атмосферное давление). Контролем служили животные, употреблявшие водопроводную воду.

После гибели у каждого животного *ex tempore* получали головной мозг, проводили его гомогенизацию (400 об/мин, 10 ходов пестика) [14] и определяли в гомогенате активность каталазы, уровень диеновых конъюгатов и гидроперекисей липидов [15,

16]. Эти показатели позволяют оценивать антиоксидантные свойства употребления отфильтрованной воды. Результаты исследования представлены в таблице 5.

Таблица 5

Эффективность отфильтрованной воды в тесте «баночной гипоксии» ($M \pm m$)

Группы животных	Показатель			
	Продолжительность жизни, мин	Малоновый диальдегид, нмоль/мг белка	Каталаза, мкмоль H_2O_2 /мг мин	Гидроперекиси липидов, ед. опг. плотности при 480 нм
Интактные	–	2.82 ± 0.31	9.42 ± 0.63	0.12 ± 0.01
Контроль (водопроводная вода)	33.6 ± 2.2	4.56 ± 0.62	3.42 ± 0.54	0.48 ± 0.02
Отфильтрованная вода	$47.3 \pm 0.9^*$	3.67 ± 0.58	$5.08 \pm 0.71^*$	0.41 ± 0.03

* — достоверные отличия от контроля при $P < 0.05$

Оказалось, что отфильтрованная вода достоверно увеличивает время жизни мышей, при этом стабилизировались показатели перекисного окисления липидов (снижались уровни малонового диальдегида и гидроперекисей липидов мозга) и восстанавливалась антиокислительная (каталазная) активность, что свидетельствует об увеличении резервной антиокислительной активности мозга.

1.7. Показатели функционального состояния адаптационных систем организма

Показатели, характеризующие энергетический обмен, обмен липидов и антиоксидантную активность организма, представлены в таблице 6.

Таблица 6

Показатели функционального состояния адаптационных систем организма

Показатели	Группы животных	
	Контроль (водопроводная вода)	Отфильтрованная вода
1	2	3
Масса тела, г	26.5 ± 1.5	27.2 ± 1.1
Общие липиды, сыворотка, г/л	3.7 ± 0.3	$3.1 \pm 0.1^*$
Холестерин, сыворотка, ммоль/л	1.72 ± 0.44	1.63 ± 0.22
Билирубин общий, сыворотка, ммоль/л	3.0 ± 0.3	3.0 ± 0.1

1	2	3
-SHгp, сыворотка, мг%	1650 ± 90	1748±40
Восстановленный глутатион, печень, мг%	160 ± 8	172 ± 12
Гликоген, печень, мг%	2500±100	2600±200
Глюкоза, сыворотка, мг%	90 ± 10	91 ± 9
Глюкоза, мышцы, мг%	140 ± 30	150 ± 40
АТФ, сердце, мкмоль/г	2.4 ± 0.2	4.4 ± 0.1*
АТФ, мышцы, мкмоль/г	5.1 ± 0.2	7.2 ± 0.3*
Интенсивность тканевого дыхания, сердце, мкл O ₂ /100 мг/час	60 ± 5	72 ± 4*
Интенсивность тканевого дыхания, мышцы, мкл O ₂ /100 мг/час	20 ± 4	26 ± 4*

* — достоверные отличия от контроля при $P < 0.05$

Представленные результаты свидетельствуют об адаптационной направленности действия отфильтрованной воды.

1.8. Заключение

Проведенные исследования показали, что ежедневное месячное употребление мышами отфильтрованной воды увеличивает адаптационные возможности организма, в том числе способность к антирадикальной защите.

На моделях фармакологических (гексенал) и физиологических нагрузок (радиальное ускорение, статико-силовая выносливость, динамическая работа — плавание с грузом) были продемонстрированы общие адаптогенные свойства воды: активация центральной нервной системы, улучшение вегетомоторной и психомоторной саморегуляции, увеличение физической выносливости и работоспособности экспериментальных животных.

Адаптогенные свойства отфильтрованной воды были подтверждены на модели острой гипоксии.

1.9. Литература

1. Кудрин А.Н. — Физиол. жур. СССР, 1953, т. 39, № 3, с. 309–318.
2. Васильев К.Г. — Гиг. труда и проф. забол., 1957, № 2, с. 19–24.
3. Брехман И.И. Женьшень. Л.: 1957, с. 30–33.

4. Руководство по физиологии. Адаптация человека к экстремальным условиям среды. Под ред. О.Г. Газенко. М., «Наука», 1979, с. 333–336.
5. Ellouk-Achard S. et al. Ex vivo and in vitro models in acetaminophen hepatotoxicity studies. Relationship between glutathione depletion, oxidative stress and disturbances in calcium homeostasis and energy metabolism. — Archives of Toxicology. Supplement. 1995, 17, 209–214.
6. Тимер М., Гедрих И. — Фармакология и токсикол., 1969, № 5, с. 602–604.
7. Кигель Г.Б. Харабаджахьян А.В. Показатели биологической нормы для лабораторных животных. Ростов-на-Дону, 1978, 95 с.
8. Клиническая оценка лабораторных тестов. Под ред. Н.У. Тица, М., «Медицина», 1986, 480 с.
9. Умбрейт В.В., Буррис Р.Х. и др. Монометрические методы изучения тканевого обмена. М., 1957, 356 с.
10. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник под ред. В.В. Меншикова. М., «Медицина», 1987, 365 с.
11. Рылова М.Л. Методы исследования хронического действия вредных факторов среды в эксперименте. М.: «Медицина», 1964, 228 с.
12. Руководство по физиологии. Экологическая физиология человека. Адаптация человека к экстремальным условиям среды. Под ред. О.Г.Газенко. М., «Наука», 1979, с. 333–336.
13. Руководство к практическим занятиям по патологической физиологии. Под ред. О.М. Павленко. М., «Медицина», 1974, с. 174–175.
14. Tyson C.A., Luman K.D., Stephens R.J Age-related differences in G-SH-shuttle enzymes in NO₂- or O₃-exposed rat lungs — Arch. O₃. Env. Health, 1982, Vol. 37., No 3, p. 167–176.
15. Методы исследований в профпатологии. Под ред. О.Г. Архиповой. М., 1988, с. 156–158.
16. Современные методы в биохимии. Под ред. В.Н. Ореховича. М., «Медицина», 1977, с. 62–64.

2. ВЛИЯНИЕ ОТФИЛЬТРОВАННОЙ ВОДЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ КРЫС К ВОЗДЕЙСТВИЮ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР

Воздействие температурного фактора традиционно используется для оценки адаптогенных свойств препаратов и позволяет провести комплексную оценку влияния средств на метаболические системы, устойчивость функционирования которых в условиях гипертермии определяет выживаемость особей.

Для оценки устойчивости крыс в условиях гипертермии группы по 6 животных в клетке (одна экспериментальная группа) помещали в вентилируемый термостат и выдерживали при температуре 60 °С. До этого животные в течение одного месяца имели свободный доступ к отфильтрованной и водопроводной воде. Устройство термокамеры позволяло обеспечить адекватный газообмен, достаточный для предупреждения кислородной недостаточности, и предусматривало наблюдение за животными через смотровое застекленное отверстие. В ходе наблюдения регистрировали развитие симптоматики поражения и отмечали время манифестации судорожного синдрома и время гибели особей. Результаты экспериментов приведены в таблице 7.

Таблица 7

Влияние отфильтрованной воды при четырехнедельном употреблении на устойчивость крыс к воздействию высоких температур ($M \pm m$, $n=6$)

Экспериментальная группа	Контролируемый показатель	
	Начало судорог, мин	Время гибели, мин
Водопроводная вода (контроль)	33.2 \pm 1.6	40.0 \pm 2.2
Отфильтрованная вода	40.8 \pm 1.7	44.7 \pm 1.9

Данные, приведенные в таблице 7, свидетельствуют о том, что отфильтрованная вода при четырехнедельном употреблении оказывает положительное влияние на устойчивость крыс к гипертермии. Скорость развития судорожного синдрома у животных, получавших отфильтрованную воду, имела отчетливую тенденцию к снижению, а продолжительность жизни животных опытной группы в условиях гипертермии увеличивалась.

3. ПОКАЗАТЕЛИ АКТИВНОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС ПРИ УПОТРЕБЛЕНИИ ОТФИЛЬТРОВАННОЙ ВОДЫ

В данном эксперименте изучалось состояние нервной системы по методу «открытого поля» через месяц после свободного спаивания крысам-самцам отфильтрованной и водопроводной воды. При этом оценивалась интегральная активность в условиях свободного поведения [1].

Результаты изучения двигательной активности крыс представлены в таблице 8.

Таблица 8

Показатели поведенческих реакций белых крыс по методу «открытого поля» (регистрация в течение 5 минут)

Группа, n=6	Горизонтальная активность	Вертикальная активность	Норковый рефлекс	Болюсы	Интегральная активность
Контроль (водопроводная вода)	35±3	15±4	13±1	5±2	68±2
Отфильтрованная вода	40±4	18±3	12±1	8±1*	78±4*

* — достоверные отличия от контроля при $P < 0.05$

Данные опыта свидетельствуют о том, что отфильтрованная вода повышает активность животных за счет горизонтальной, вертикальной активности и норкового рефлекса (исследовательской деятельности).

3.1. Литература

1. Буреш Я., Бурешова О., Дж.П. Хьюстон. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М., Высшая школа, 1991, 450 с.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные экспериментальные исследования показали, что профилактическое употребление очищенной с помощью установок типа «Золотая Формула ZF-2» (ТУ 3697-001-96144318-2008) водопроводной воды повышает адаптационные возможности организма животных.

У животных на фоне употребления очищенной воды повышаются физическая работоспособность и выносливость, устойчивость к гипоксии и гипертермии. Это связано с улучшением метаболических процессов в организме, снижением уровня продуктов перекисного окисления липидов, активацией процессов тканевого дыхания и увеличением запасов внутриклеточной энергии (АТФ). Кроме этого, увеличивается активность антирадикальных систем организма, что положительно сказывается на регенераторной активности клеток.

Полученные результаты позволяют рекомендовать очищенную воду с помощью установок типа «Золотая Формула ZF-2» (ТУ 3697-001-96144318-2008) с йодистым серебром производства ООО «Холдинг «Золотая Формула» (г. Всеволожск, Ленинградская область, ул. Достоевского, д. 32/53) для использования в качестве профилактической столовой воды в условиях экстремальных ситуаций.