

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ПО ИЗУЧЕНИЮ ЛЕПРЫ МИНЗДРАВМЕДПРОМА РФ

УТВЕРЖДАЮ



Директор НИИ по изучению лепры

*А.А. Ющенко*

А.А.Ющенко

“16”

*января*

1995

Отчет

о выполнении научно-исследовательской работы

“ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВИРОВАННЫХ

ЖИДКОСТЕЙ”

Астрахань 1995

Токсикологическое исследование активированных жидкостей (АЖ) проведено в соответствии с требованиями Фармкомитета (Методические рекомендации по экспериментальному и клиническому изучению новых антибактериальных препаратов и антибиотиков. М. 1985).

Изучали:

- 1) острую токсичность АЖ при однократном введении животным;
- 2) хроническую токсичность при ежедневном введении АЖ крысам в течение 3 месяцев;
- 3) влияние АЖ на рост и развитие молодых животных;
- 4) эмбриотоксическое действие и тератогенная активность АЖ;
- 5) влияние АЖ на способность к оплодотворению и беременности.

#### 1. Результаты изучения острой токсичности АЖ

Острую токсичность АЖ "А" и "В" изучали в опыте на 100 мышах линии СВА массой 20-25 г. Каждое вещество вводили однократно через зонд в желудок в трех дозах 0,5, 1,0 и 1,5 мл/жив (группы 1-6). Контролем служили животные, получавшие дистиллированную воду в тех же дозах (группы 7-9), а также интактные животные (группа 10). Вторая доза являлась максимальной дозой жидкости, допустимой для введения в желудок мышам. Каждая группа включала 10 животных. Наблюдение продолжалось в течение двух недель после нагрузки жидкостями. Перед началом эксперимента животные не получали пищу в течение суток. Жидкость вводили однократно медленно утром.

В момент введения жидкости и в ходе наблюдения ни в одной группе животных падежа не отмечено.

Введение АЖ "А" и "В" в дозе 0,5 мл/жив вообще никак не отражалось на общем состоянии животных. Они не отличались от контрольных, были бодрь, подвижны, имели хороший аппетит и опрятный внешний вид.

Введение АЖ "А" и "В", равно как и дистиллированной воды в дозе 1,0 мл, практически не влияло на общее состояние животных. Единственное, чем они отличались от интактного контроля, так это некоторым снижением двигательной активности в первые минуты после введения жидкости, что было, видимо, связано с неприятными ощущениями, вызванными переполнением и растяжением желудка.

У животных, получавших АЖ "А" и "В" и дистиллированную воду в объеме 1,5 мл, состояние дискомфорта было выражено в большей степени. Животные были вялыми, малоподвижными, у некоторых отмечалось учащение дыхания, выделение пены из носа. Однако, отмеченные явления быстро (в течение 5-10 минут) исчезли и в последующем животные, получавшие наибольшую загрузку жидкостью ничем от контроля не отличались.

Таким образом, при однократном введении мышам АЖ "А" и "В", включая максимально возможные объемы патогенных эффектов не отмечено.

## 2. Результаты изучения хронической токсичности АЖ

Изучение хронической токсичности активированных жидкостей (АЖ) проведено на 100 белых беспородных крысах, которых разделили на группы по 10-15 животных. 1-ая группа животных получала АЖ "А" через зонд в желудок в дозе 5 мл/жив, 2-ая - 8 мл АЖ "А" через зонд в желудок, 3-я группа получала АЖ "А" из поилки вместо питьевой воды. Группы 4-6 получали АЖ "В" по аналогичной схеме. Контролем служили животные, получавшие водопроводную воду (группа 7). Наблюдение проводилось в течение 3 месяцев. Доза 5 мл через зонд в желудок соответствовала максимальной дозе, которую можно вводить крысам одновременно. В ходе эксперимента оценивали внешний вид, поведение и аппетит животных, изучали влияние на состояние периферической крови, биохимический состав крови, проводили гистологическое исследование внутренних органов.

Было отмечено, что длительный прием АЖ "А" не отражался на внешнем виде крыс, животные не отличались от контрольных, нормально развивались, имели опрятный вид и блестящую шерстку, были активны, адекватно реагировали на внешние раздражители, сохраняли хороший аппетит. АЖ "В" тоже хорошо переносилась животными в хроническом эксперименте. Единственное, чем все же отличались опытные группы и К, было некоторое снижение двигательной активности животных.

Через 3 месяца после начала эксперимента животных забили путем декапитации. Полученную кровь исследовали с применением анализатора клеток крови фирмы SERONO (модель 9000 PLUS) и биохимического анализатора фирмы MARUBISHY модель SUPER Z-818). Результаты исследований приведены в таблицах 1-6.

### 2.1. Влияние АЖ "А" на гематологические показатели животных

Как видно из таблицы 1, введение жидкости "А" в дозе 5 мл не вызывало существенных отклонений гематологических показателей от контроля. Все изменения исследуемых показателей крови происходили в пределах нормы. Единственным показателем, который в этой группе значительно отличался от контроля, оказалось число тромбоцитов. Сходные результаты получены в группе животных, имевших свободный доступ к жидкости "А".

При введении АЖ "А" в дозе 8 мл отмечены достоверные отличия от контроля таких показателей как число эритроцитов, средний объем эритроцитов, средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах. Достоверно снижалось число тромбоцитов, увеличивались средний объем тромбоцитов и содержание гранулоцитов.

Таблица 1.

Влияние АЖ "А" на гематологические показатели экспериментальных животных

Исследуемый показате- ль	Доза и способ введения АЖ "А"			
	5 мл/сут ч/з зонд	8 мл/сут ч/з зонд	свободный доступ	контроль
	M ± m			
Эритро. $\times 10^{12}/л$	7,49±0,26	9,44±0,14*	7,86±0,20	7,83±0,16
Гемоглобин г/л	138,3 ± 4,4	154,0±0,2	147,6±0,2	147,7±3,2
Гематокрит	38,6 ± 1,3	43,9±0,6	40,5±0,9	41,1±1,2
Ср. объем эритро.	51,6 ± 0,6	46,6±0,1*	51,6±0,3	52,5±0,9
Ср. конц. Нв в эр.	18,5 ± 0,2	16,3±0,1*	18,8±0,3	18,8±0,4
Ср. сод. Нв в эр.	35,9 ± 0,4	35,1±0,1	36,4±0,5	35,9±0,5
Коеф. анизотроп. эритро.	23,2 ± 0,5	22,7±0,8	23,0±0,2	22,8±0,5
Тромбоциты	271 ± 4,0*	318±17*	251±46*	507±139
Ср. объем тромб.	6,9 ± 0,7	11,2±0,2*	7,2±0,6	5,9±0,3
Лейкоциты $\times 10^9/л$	8,73 ± 1,26	13,8±2,6	8,27±1,24	9,67±1,64
Лимфоциты %	80,8 ± 2,3	81,5±1,5	76,4±1,9*	84,1±2,1
$\times 10^9/л$	6,9 ± 0,8	11,3±2,3	6,2±0,9	8,2±1,6
Моноциты %	9,7 ± 1,2	8,1±0,1	11,0±1,2	7,9±0,7
$\times 10^8/л$	0,9 ± 0,2	1,1±0,2	0,9±0,1	0,7±0,1
Гранулоциты %	9,5 ± 1,7	10,5±1,4	12,6±1,9	8,0±2,2
$\times 10^8/л$	0,96± 0,3	1,4±0,1*	1,14±0,3	0,73±0,12

\* достоверные различия опыт/контроль ( $p < 0,05$ )

Таким образом, жидкость "А" в дозе 5 мл и при свободном доступе животных к ней в течение суток токсического действия на гематологические показатели при введении в течение 3 месяцев не оказала. Увеличение дозы жидкости "А" до 8 мл вызывало достоверные изменения ряда гематологических показателей. Вообще для жидкости "А" при любом введении характерно существенное влияние на число и размер тромбоцитов.

## 2.2. Влияние АЖ "А" на биохимические показатели крови у экспериментальных животных

Таблица 2.

### 2.2. Влияние АЖ "А" на биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных животных

Изучаемый показатель	Доза и способ введения АЖ "А"			
	5 мл/сут ч/з зонд	8 мл/сут ч/з зонд	свободный доступ	контроль
	M ± m			
Общий белок	7.2 ± 0.1	6.9 ± 0.1	7.4 ± 0.2	6.8 ± 0.1
Альбумин	4.4 ± 0.1	3.8 ± 0.2	4.1 ± 0.3	3.9 ± 0.1
АСГ	13 ± 1.013	102.1 ± 12	80.3 ± 14.3	126.4 ± 18.7
АЛТ	24.3 ± 1.8	30.0 ± 2.1	28.8 ± 3.9	30.5 ± 3.5
Триглицериды	0.95 ± 0.2	0.84 ± 0.1	0.93 ± 0.1	0.88 ± 0.1
Общ. холестерин	2.8 ± 0.2	2.7 ± 0.3	2.2 ± 0.2	2.4 ± 0.1
Глюкоза	10.3 ± 3.6	7.2 ± 0.3	7.1 ± 3.9	4.6 ± 0.4
Мочевина	3.2 ± 0.4	1.8 ± 0.2	2.7 ± 0.6	2.5 ± 0.3
Мочевая кислота	223 ± 30.0	157 ± 16	199 ± 27.0	150 ± 5.2
Креатинин	34.5 ± 2.5	36.1 ± 2.7	35.4 ± 2.7	31.3 ± 2.9
Билирубин общ.	28.8 ± 6.1	25.2 ± 2.8	26.7 ± 3.4	24.8 ± 3.7
Билирубин связ.	7.3 ± 2.1	6.7 ± 1.8	7.2 ± 2.5	6.3 ± 2.1

Изучение влияния АЖ "А" на биохимические показатели крови экспериментальных животных показало, что хотя и не отмечалось существенных отклонений от контроля, тем не менее имелась тенденция к росту концентрации глюкозы и мочевой кислоты во всех группах животных, получавших исследуемое вещество. Тенденции в изменениях концентрации мочевины в сыворотке крови у опытных животных не были однонаправленными. Так, при введении АЖ "А" в дозе 5 мл имелась тенденция к росту, а при введении АЖ "А" в дозе 8 мл - к снижению концентрации мочевины (таблица 2).

### 2.3. Влияние АЖ "В" на биохимические показатели крови животных

В таблице 3 обобщены данные изучения длительного введения АЖ "В" на гематологические показатели животных. При анализе полученных результатов ка-

ких-либо существенных отклонений от нормы при введении АЖ "В" у животных выявлено не было.

Единственные достоверные отклонения от контроля отмечены в содержании в крови тромбоцитов.

Таблица 3.

Влияние АЖ "В" на гематологические показатели экспериментальных животных

Изучаемый показатель	Доза и способ введения АЖ "А"			
	5 мл/сут ч/з зонд	8 мл/сут ч/з зонд	свободный доступ	контроль
	M ± m			
Эритроциты $\times 10^{12}/л$	7.53 ± 0.28	9.13 ± 0.73	7.94 ± 0.35	7.83 ± 0.16
Гемоглобин г/л	138.9 ± 0.5	153.0 ± 0.6	150.4 ± 5.6	147.7 ± 3.2
Гематокрит	38.6 ± 1.2	44.1 ± 2.4	41.6 ± 1.6	41.1 ± 1.2
Ср.объем эритр.	51.3 ± 0.9	48.5 ± 1.3	52.5 ± 0.8	52.5 ± 0.9
Ср.конц. Нв в эр.	18.5 ± 0.4	16.8 ± 0.7	19.3 ± 0.5	18.8 ± 0.4
Ср.сод. Нв в эр.	36.0 ± 0.3	34.7 ± 0.6	36.7 ± 0.6	35.9 ± 0.5
Коеф.анизотроп. эритроцитов	22.6 ± 0.4	23.7 ± 0.4	21.2 ± 1.7	22.8 ± 0.5
Тромбоциты	472 ± 92	192 ± 46*	225 ± 39*	507 ± 58
Ср.объем тромб.	6.7 ± 0.3	10.3 ± 1.7	6.9 ± 0.9	5.9 ± 0.3
Лейкоциты $\times 10^9/л$	12.7 ± 2.7	10.4 ± 3.4	7.36 ± 1.4	9.67 ± 1.64
Лимфоциты %	74.6 ± 3.1	86.4 ± 0.3	83.9 ± 2.2	84.1 ± 2.1
$\times 10^9/л$	9.3 ± 1.8	9.0 ± 2.9	6.0 ± 1.1	8.2 ± 1.6
Моноциты %	13.4 ± 2.0	6.8 ± 0.1	8.3 ± 0.9	7.9 ± 0.7
$\times 10^9/л$	1.9 ± 0.7	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.1
Гранулоциты %	11.9 ± 1.5	6.8 ± 0.3	7.8 ± 1.4	8.0 ± 2.2
$\times 10^9/л$	1.6 ± 0.4	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.1

\* достоверные различия опыт/контроль ( $p < 0,05$ )

При длительном введении животным АЖ "В" отмечена большая вариабельность биохимических показателей по сравнению с АЖ "А" (таблица 4). Хотя отклонения от контроля и не были статистически достоверными и однонаправленными, не зависели от дозы или способа введения жидкости "В", тем не менее очевидно большее влияние исследуемого вещества на метаболические процессы, чем АЖ "А"

## 2.4. Влияние АЖ "В" на биохимические показатели крови животных

Характерно, что и АЖ "А" и "В" вызывают увеличение концентрации глюкозы в крови. Отмечаются изменения в содержании мочевины, мочевой кислоты и креатинина, свидетельствующие о влиянии на функциональное состояние почек.

Жидкость "В", кроме того, приводит к изменениям в активности АЛТ и АСТ. Изменение активности АЛТ в комплексе с большой подвижностью концентрации билирубина в крови животных, получавших АЖ "В", свидетельствует о влиянии на функциональное состояние печени.

Таблица 4.

## Влияние АЖ "В" на биохимические показатели крови животных

Изучаемый показатель	Доза и способ введения АЖ "А"			
	5 мл/сут ч/з зонд	8 мл/сут ч/з зонд	свободный доступ	контроль
	M ± m			
Общий белок	7.2 ± 0.1	6.7 ± 0.1	7.4 ± 0.3	6.8 ± 0.1
Альбумин	4.3 ± 0.1	3.8 ± 0.1	4.5 ± 0.2	3.9 ± 0.1
АСТ	96.8 ± 4.5	141 ± 11	70.7 ± 29	126.4 ± 18
АЛТ	21.8 ± 3.0	43.3 ± 2.9	39.3 ± 7.0	30.5 ± 3.5
Триглицериды	1.08 ± 0.1	0.94 ± 0.1	0.71 ± 0.1	0.88 ± 0.1
Общий холестерин	2.9 ± 0.1	2.7 ± 0.1	2.6 ± 0.1	2.4 ± 0.1
Глюкоза	7.2 ± 0.3	5.2 ± 0.1	4.8 ± 2.2	4.6 ± 0.4
Мочевина	3.7 ± 0.3	1.8 ± 0.1	3.4 ± 0.2	2.5 ± 0.3
Мочевая кислота	192 ± 17.0	149 ± 11.0	180 ± 32.0	149 ± 5.2
Креатинин	31.8 ± 2.2	48.0 ± 2.0	30.3 ± 1.9	31.3 ± 2.9
Билирубин общ.	15.8 ± 3.1	9.0 ± 1.9	20.1 ± 4.4	24.8 ± 3.7
Билирубин связ.	4.6 ± 1.4	5.3 ± 0.4	16.9 ± 1.5	6.3 ± 1.1

## 2.5. Результаты морфологического исследования внутренних органов животных, получавших АЖ.

Проводилось гистологическое изучение внутренних органов (сердце, печень, почки, желудок, тонкий кишечник) животных: контрольной и опытной групп. Материал, взятый для исследования, фиксировали в 10% нейтральном формалине с последующей заливкой в парафин. Гистологические срезы толщиной 5-8 мкм изготавливали по общепринятым методикам и окрашивали гематоксилин-эозином.

Морфологическое исследование тканей сердца, желудка и тонкого кишечника выявило сходную гистологическую картину у опытной (АЖ "А") и контрольной групп животных. При исследовании тканей сердца животных обеих групп было установлено, что структура мышечных волокон сохранялась. Строма представлена тонковолокнистой соединительной тканью, сосуды которой умеренно кровенаполнены.

Структура слизистого слоя желудка животных, употреблявших АЖ "А", не изменена. В собственном слое желудка отмечалась незначительная диффузная полиморфноклеточная инфильтрация. В подслизистом, мышечном и серозном слоях патологических изменений обнаружено не было. Слизистая тонкого кишечника также была сохранена, эпителий ее ворсинок хорошо воспринимал окраску. Ядра эпителия были одинаковой формы и величины. В собственном слое слизистой отмечалась незначительная диффузная инфильтрация из лимфоидных элементов, зернистых лейкоцитов и тканевых базофилов. Подслизистый, мышечный и серозный слои не были изменены. Сосуды кишечной стенки умеренно полнокровны.

При изучении лимфатических образований тонкого кишечника отмечено, что в опытных группах животных, получавших АЖ "А", гистологическая картина была несколько отличной от контрольной. У животных, получавших АЖ "А" из поилки и через зонд в дозе 5 мл и 8 мл, лимфоидные фолликулы тонкой кишки были гиперплазированы.

Микроскопическое исследование почек животных, получавших АЖ "А", не выявило патологических изменений. Клубочки коркового слоя были одинаковой формы и величины. Просвет канальцев свободный. Эпителий извитых канальцев хорошо воспринимал окраску, ядра его были одинаковы. В мозговом слое прямые канальцы были без изменений. Сосуды слабо кровенаполнены.

При гистологическом изучении тканей печени у животных, получавших АЖ "А", в 10% случаев отмечены небольшие структурные изменения печени. У животных, получавших АЖ "А" из поилки, сохранялось дольчатое строение печени. Большая часть гепатоцитов была с одинаковыми округлыми ядрами. Наряду с этим, отмечалась очаговая вакуольная дистрофия центральных гепатоцитов печеночных долек. У животных, получавших АЖ "А" в дозе 5 и 8 мл, в ткани печени наблюдалась аналогичная гистологическая картина: часть центральных гепатоцитов была дистрофически изменена. В остальном структура печени была сохранена. Зависимости степени дистрофических изменений печеночных клеток от дозы вводимой АЖ "А" выявлено не было. В селезенке животных, получающих АЖ "А" из поилки, в дозе 5 мл и 8 мл, наблюдается пролиферация и гиперплазия лимфоидных образований В-зависимых зон при функциональном "спокойствии" Т-зон.

Микроскопическое исследование желудка и тонкого кишечника животных, получавших АЖ "В", позволило установить раздражающее действие АЖ "В". У большей части животных, получавших АЖ "В" слизистая оболочка желудка была инфильтрирована лейкоцитами, были обнаружены дистрофические изменения клеток эпителия. У животных, получавших АЖ "В" в дозе 5 и 8 мл, также были обнаружены признаки раздражения слизистой желудка: инфильтрация слизистой лейко-



цитами, вакуолизация поверхностного эпителия. При гистологическом исследовании тонкого кишечника животных, получавших АЖ "В", отмечались отек и воспалительная инфильтрация слизистого и подслизистого слоев, гиперплазия бокаловидных клеток.

В группе животных, получавших АЖ "В" в дозе 5 и 8 мл, при изучении ткани тонкого кишечника выявлена сходная с группой животных, получавших АЖ "В" из поилки, гистологическая картина (отек и воспалительная инфильтрация слизистого и подслизистого слоев, гиперплазия бокаловидных клеток).

Как в опытной группе животных, получавших АЖ "В" из поилки, так и в опытных группах животных, получавших АЖ "В" в дозе 5 и 8 мл, обнаружены структурные изменения печени. Изменением, характерным для крыс, получавших АЖ "В" во всех наблюдениях, была выраженная вакуольная дистрофия гепатоцитов I и II зон ацинуса. Обращало внимание наличие в строме печени сосудистых воспалительных изменений в виде усиленного кровенаполнения и периваскулярного отека.

При гистологическом исследовании почек животных, получавших АЖ "В" из поилки, в дозе 5 и 8 мл, отмечалась зернистая дистрофия эпителия извитых канальцев проксимальной части нефрона.

Результаты исследования ткани селезенки животных, получавших АЖ "В", показали сокращение диаметра Т-зависимых зон, преобладание в фолликулах малых лимфоцитов, отсутствие в некоторых фолликулах светлых центров. Наличие признаков снижения функциональной активности В- и Т-зависимых зон позволяет предположить возможность иммунодепрессивного действия АЖ "В".

### 3. Исследование влияния АЖ на рост и развитие молодых животных

Эксперимент проведен на 30 беспородных крысах-самках, подобранных по весу. Всех животных разделили на 3 группы: 1-я получала АЖ "А", 2-я - АЖ "В", 3-я - питьевую воду (К). Доступ к жидкостям был свободный. Эксперимент продолжался в течение 6 недель. Взвешивание животных производили 1 раз в 2 недели. Результаты приведены в таблице (5).

## Влияние АЖ на массу тела молодых животных

Сроки взвешивания	Показатели массы тела у животных, получавших					
	питьевую воду (К)		АЖ "А"		АЖ "В"	
	М±m	%	М±m	%	М±m	%
Исходный вес	124,0±2,5	100	120,0±8,4	100	120,0±3,2	100
2 недели	180,0±9,5	145,2	158,0±5,8	131,7	148,0±4,9	123,3
4 недели	194,0±6,0	156,5	106,0±6,0	171,7	166,6±6,0	138,8
6 недель	234,0±11,7	188,7	252,0±11,1	210	222,0±5,8	185,0

Наблюдение за животными, получавшими в ходе эксперимента АЖ, показало, что АЖ "А" на общее состояние, поведение и внешний вид крыс отрицательного влияния не оказывало. Животные были активны, имели опрятный внешний вид, адекватную реакцию на внешние раздражители. Животные, получавшие АЖ "В", были менее активны и подвижны, сохраняли опрятный вид. Вес животных в каждой группе в начале эксперимента был принят за 100%. Через 2 недели эксперимента наибольшая прибавка в весе отмечена в контрольной группе, наименьшая - у животных, получавших АЖ "В". При последующих взвешиваниях животные, получавшие АЖ "А", стабильно превышали по приросту массы тела контрольных. Животные, получавшие АЖ "В", через 4 недели эксперимента продолжали по массе тела отставать от К, а через 6 недель практически от него не отличались (табл.5).

Таким образом, установлено, что введение жидкости "А" молодым животным не оказывает отрицательного влияния на них, вызывает стабильную устойчивую прибавку в массе тела. По этому показателю животные, получавшие АЖ "А", несколько опережают К. Так, в конце эксперимента прибавка в массе тела животных, получавших АЖ "А", составила 110%, а К - 88,7%.

Жидкость "В" вызывает у животных снижение двигательной активности и реакции на внешние раздражители. Масса тела животных, получавших АЖ "В", вначале отставала от показателей в К, а через 6 недель эксперимента приблизилась к нему. Прибавка массы тела в К составила 88,7%, а у животных, получавших АЖ "В" - 85%. Можно предположить, что АЖ "В" вызывает замедление развития молодых животных, а по мере их взросления задерживающий эффект снижается, в результате чего обмен веществ нормализуется.

Подводя итоги данного эксперимента можно сказать, что АЖ "А" отрицательным действием на рост и развитие молодых животных не обладает. АЖ "В" вызывает замедление роста молодых животных и снижение их двигательной активности.

#### 4. Изучение эмбриотоксического действия активированных жидкостей

Исследование проведено в соответствии с утвержденными Фармкомитетом МЗ РФ "Методическими указаниями по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию (1986).

Опыты поставлены на 100 половозрелых крысах-самках, содержащихся отдельно от самцов в оптимальных условиях вивария. Самцов подсаживали к самкам из расчета 1 самец на 2 самки, утром брали мазки и изучали под микроскопом. Наличие в мазке сперматозоидов считали оплодотворением и первым днем беременности. Тестируемое вещество беременные самки получали вместо питьевой воды через поилки.

1-я группа животных получала АЖ "А" с 1 по 6 день беременности, 2-я - с 6 по 16 день, 3-я - с 16 по 20 день, 4-я - в течение всей беременности. Контролем служили животные, получавшие питьевую воду.

В программу исследования входило:

1. выявление первого дня беременности;
2. подсчет мест имплантаций оплодотворенных яйцеклеток;
3. подсчет желтых тел;
4. подсчет резорбций и мертвых плодов;
5. внешний осмотр каждого плода;
6. определение пола;
7. измерение краниокаудального размера;
8. взвешивание;
9. осмотр каждой плаценты;
10. взвешивание общей плацентарной массы каждого помета;
11. статистическая обработка и анализ полученного материала.

Животных вскрывали на 21 день беременности под эфирным наркозом. Величину доимплантарной гибели определяли по разнице между количеством желтых тел (принимали за 100%) и мест имплантации.

Величину постимплантарной гибели определяли по разнице между количеством живых плодов и числом имплантированных зародышей (принимали за 100%). Плоды, освобожденные от зародышевых оболочек, а также плаценту тщательно изучали под лупой с целью выявления внешних уродств.

Общие сведения по данным эмбриотоксического действия АЖ  
для разных сроков введения

Показатели	Контроль	Значение показателей по дням введения		
		1 - 6 день	6 - 16 день	16 - 20 день
Число беремен- ных самок	25	25	25	25
Число желтых тел ( $M \pm m$ )	$12 \pm 1,1$	$11,5 \pm 0,9$	$11,5 \pm 0,9$	$12,5 \pm 1,1$
Число мест им- плантаций ( $M \pm m$ )	10,9	10,9	10,9	11,5
Число живых плодов ( $M \pm m$ )	$9,8 \pm 1,0$	$10,1 \pm 0,8$	$10,1 \pm 0,8$	$10,8 \pm 1,3$

Общие сведения по исследованию эмбриотоксического действия АЖ на трех разных сроках беременности представлены в табл.6. По числу участвующих беременных самок в опыте и контроле все группы репрезентативны.

При введении АЖ "А" независимо от срока беременности число желтых тел на одну самку, число мест имплантации и число живых плодов не имело существенных отличий от контроля.

Таблица 7.

Результаты изучения эмбриотоксического действия АЖ

Показатели	Контроль	Значение показателей по дням введения		
		1 - 6 день	6 - 16 день	16 - 20 день
Число резорбций ( $M \pm m$ )	$1,1 \pm 0,7$	$0,8 \pm 0,5$	$0,8 \pm 0,5$	$0,64 \pm 0,5$
% предимплантационной смерт- ности	$9,0 \pm 1,6$	$5,1 \pm 1,3$	$5,1 \pm 1,3$	$8,0 \pm 1,6$
% постимплантационной смерт- ности	$10,2 \pm 1,8$	$7,6 \pm 1,6$	$7,3 \pm 1,6$	$8,5 \pm 1,8$
% живых плодов из числа желтых тел	80	88	88	86

Другие показатели (табл.7) эмбриотоксичности (число резорбций, процент предимплантационной и постимплантационной смертности) в опытной и контрольной группах также оказались статистически равнозначными. Результаты, приведенные в таблице 8 также демонстрируют отсутствие патогенного эффекта АЖ "А"

при беременности у крыс. Все изученные показатели животных, получавших АЖ "А", сопоставимы с К. При введении АЖ "А" в сроки с 16 по 20 день беременности отмечено некоторое увеличение массы плодов по сравнению с К, что согласуется с результатами, полученными в эксперименте с исследованием влияния АЖ "А" на рост и развитие молодых животных. Эти данные подтверждают наш вывод о том, что это вещество благотворно влияет на крыс в раннем возрасте, вызывая более ускоренный прирост массы тела. Таким образом, проведенный эксперимент показал, что АЖ "А" не проявляет эмбриотоксического и тератогенного эффекта.

Таблица 8

## Результаты изучения тератогенного действия АЖ

Показатели	Контроль	Значение показателей по дням введения		
		1 - 6 день	6 - 16 день	16 - 20 день
Масса плодов, г	3,7±0,1	3,4± 0,1	3,3± 0,1	3,6± 0,1
Краниокаудальный размер, мм	35,8± 0,4	36,5± 0,3	36,5 ±0,3	35,6± 0,8
Масса плацент, г	0,55± 0,1	0,54±-0,02	0,54±0,02	0,52± 0,02
Число эмбрионов-самцов на 1 самку	5,1± 1,0	5,5 0±,9	5,5± 0,9	5,6± 0,8
Число эмбрионов-самок на 1 самку	4,7± 1,2	4,7± 1,0	4,7± 1,0	5,4 ±0,7

Таблица 9

## Общие данные по аномалиям развития эмбрионов и плацент

Показатели	Контроль	Значение показателей по дням введения		
		1 - 6 день	6 - 16 день	16 - 20 день
Число гематом в %	1,66	1,79	1,69	1,2
Число эмбрионов с резкими отклонениями по весу в %	1,3	1,5	1,4	1,1
Изменения плаценты (отек, белесые ободки) в %	5,6	7,1	5,6	3,7
Мертворождения, %	-	-	-	-

Какого-либо заметного влияния на развитие эмбрионов и состояние плацент АЖ "А" не оказала. Все показатели в опытных группах сравнимы с контролем (таблица 9).

## 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ НА СПОСОБНОСТЬ К ОПЛОДОТВОРЕНИЮ И БЕРЕМЕННОСТИ

Исследование проведено на 60 белых беспородных крысах-самках и 30 самцах массой 200-250 г. Животных разделили на 3 группы: 1-ая - вместо питьевой воды получала АЖ "А", 2-ая - АЖ "В", 3-я - обычную воду (такое разделение было как среди самок, так и среди самцов). Через два месяца воздействия активированными жидкостями к самкам подсаживали самцов из аналогичных групп. Совместное содержание продолжалось в течение 7 дней, все это время животные получали АЖ. Затем самцов отсадили, а самок продолжали наблюдать для определения факта наступления беременности. В таблицах 10-11 приведены результаты этого исследования.

Таблица 10.

Данные о влиянии АЖ "А" и "В" на способность к оплодотворению и беременности

Показатели	Значение показателей у животных		
	Контрольной группы	Получавших АЖ "А"	Получавших АЖ "В"
Число беременных самок (абс. значение)	18	19	18
Число желтых тел ( $M \pm m$ )	$11,3 \pm 1,0$	$11,7 \pm 0,7$	$12,2 \pm 0,7$
Число мест имплантации ( $M \pm m$ )	$9,5 \pm 1,5$	$10,7 \pm 1,0$	$11,1 \pm 1,1$
Число живых плодов ( $M \pm m$ )	$8,7 \pm 1,1$	$9,9 \pm 0,8$	$10,6 \pm 1,1$
Число резорбций ( $M \pm m$ )	$0,8 \pm 1,4$	$0,8 \pm 0,7$	$1,1 \pm 0,2$
Предимплантационная смертность %	$8,0 \pm 1,6$	$8,1 \pm 1,9$	$9,4 \pm 1,6$
Постимплантационная смертность %	$8,5 \pm 1,8$	$7,8 \pm 1,9$	$4,4 \pm 1,2$

Данные о влиянии применения АЖ "А" и "В" до спаривания на состояние плодов и плацент у крыс

Показатели	Значение показателей в группах		
	Контроль	АЖ "А"	АЖ "В"
Масса плодов (г)	3,3±0,04	3,5±0,1	3,4±0,1
Краниокаудальный размер (мм)	36,1±0,3	37,03±0,5	36,3±0,7
Масса плаценты (г)	0,55±0,1	0,54±0,04	0,52±0,02
Число эмбрионов-самцов (M±m)	4,3±0,8	4,8±0,8	5,2±0,7
Число эмбрионов-самок (M±m)	4,4±1,2	5,1±1,0	5,4±0,8
Число гематом в плацентах %	0,46	0,42	0,66
Число эмбрионов с резкими отклонениями в весе (%)	0,46	-	0,63

Как видно из таблиц, (19, 11), число забеременевших животных во всех группах было примерно одинаковым, резких отклонений от контроля не отмечено. Все другие показатели, характеризующие способность к беременности, ее развитие и плодовитость, в группах, получавших АЖ, также существенно от контроля не отличались.

Данные, приведенные в таблицах, позволяют судить о влиянии введения АЖ "А" и "В" животным до спаривания на последующее развитие плодов и состояние плаценты. Проведенный анализ не выявил существенной разницы в результатах, полученных в контроле и в группах, подвергавшихся до наступления беременности воздействию АЖ. В этом эксперименте также отмечено, что масса плодов у животных, получавших АЖ "А", несколько превосходит этот показатель в К. Таким образом, АЖ "А" и "В" какого-либо отрицательного влияния на способность к оплодотворению и беременности у крыс не оказывают.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований позволяют сделать следующее заключение. Активированная жидкость "А" биологически активна. Патологических изменений в организме животных при длительном введении АЖ "А" не отмечено. Но при ее длительном введении в организме животных наблюдаются изменения гематологических и биохимических показателей, не выходящие за пределы тенденций.

Морфологические изменения во внутренних органах носят характер функциональной перестройки и свидетельствуют об активации обменных процессов. Активированная жидкость "А" не оказывает отрицательного влияния на процесс беременности у животных, способность к оплодотворению и беременности, не вызывает тератогенного эффекта, положительно влияет на рост и развитие молодых животных.

Для того, чтобы судить о значении изменений гематологических и биохимических показателей, перестройке, происходящей во внутренних органах у животных, отмеченных в ходе хронического токсикологического опыта, необходимо изучить влияние АЖ "А" на состояние соответствующих систем организма на экспериментальных моделях различных заболеваний.

АЖ "В" вызывает более выраженные изменения в организме животных, что подтверждается результатами морфологического исследования внутренних органов.

АЖ "В" не оказывает отрицательного влияния на процесс беременности у животных, способность к оплодотворению и беременности, вызывает некоторое отставание в росте и развитии молодых животных.

Кроме того, АЖ "В" вызывает снижение двигательной активности животных. Судя по изменениям в желудочно-кишечном тракте АЖ "В" не пригодна для применения *per os*, так как вызывает симптомы местного раздражающего действия.



## ОТЗЫВ

на программу «Разработка и использование новых методов лечения  
на основе экологически чистых технологий»

Поиск новых подходов к созданию высокоэффективных препаратов для лечения и предупреждения различных заболеваний и патологических состояний является актуальной проблемой медицинской науки.

В настоящее время активно разрабатываются как традиционные лекарственные средства, так и альтернативные препараты для лечения различных заболеваний с использованием новых технологий.

Одним из таких технологических подходов к созданию новых лечебных средств является разработанный

электромагнитогравитационный метод обработки дистиллированной воды (патент № \_\_\_\_\_ заявка

\_\_\_\_\_), позволяющий получить жидкость с измененной энергетической активностью за счет образования в ней стойких структурных изменений в молекулярных связях. Экологическая чистота произведенного продукта, а также самого процесса производства, являются неоспоримым преимуществом данной технологии.

В НИИ по изучению лепры проведены токсикологические исследования активированной воды (АВ) (в рамках требований Фармакологического комитета России). Установлено, что АВ биологически активна как при краткосрочном, так и при длительном введении в

организм животных. Патологических изменений в организме животных при длительном введении АВ не выявлено. Структура внутренних органов свидетельствует об их функциональной перестройке и об активации обменных процессов. Активированная вода не оказывает отрицательного влияния на процессы оплодотворения, беременности, и вынашивания плода в эксперименте, положительно влияет на рост и развитие молодых животных.

Определена биологическая активность и лечебная эффективность данного препарата при отравлениях, вызванных поражением печени, легких и других внутренних органов. Применение АВ при остром экспериментальном токсическом гепатите у мышей показало перспективность её использования в качестве лечебного средства. У мышей с острым гепатитом, получавших АВ, нарушения со стороны печени были выражены в значительно меньшей степени, чем у животных с гепатитом, не получавших АВ. Было установлено, что введение АВ животным с экспериментальным поражением легких способствует более быстрому процессу нормализации изменений, возникающих в легких, печени и почках. Показано, что применение АВ ускоряет восстановление массы тела у животных с экспериментальной кахексией, не стимулирует экспериментальной хронической инфекции у мышей, в экспериментах *in vitro* проявляет антибактериальную активность в отношении ряда быстрорастущих бактерий.

Таким образом, проведенные исследования показывают большую перспективность использования АВ в лечении различных заболеваний и дают основания для проведения клинических испытаний. Предлагаемая программа дальнейших исследований «Разработка и использование новых методов лечения на основе экологически чистых технологий» включает создание перспективных способов лече-

ния широкого круга тяжелых заболеваний (эндокринные, опухолевые, инфекционные болезни, заболевания, связанные с нарушением обмена веществ, а также и другие, обусловленные экологией), выяснение механизмов действия активированной жидкости.

Директор

по из-



д.м.н., проф. А.А. Ющенко