



«Утверждаю»
Директор ГУ ВНИИПБ и ВП РАСХН
академик РАСХН
Л.А. Оганесянц

**«Оценка иммуностропного действия
минеральной воды «Архыз»**

Руководитель исследования,
рук. лаб. безопасности пищевых
технологий и продуктов
член-корр. РАМН,
профессор А.Д. Дурнев

Москва 2007

СПИСОК

сотрудников лаборатории безопасности пищевых технологий и продуктов, принимавших участие в изучении иммуностропного действия минеральной воды «Архыз»

канд. мед. наук

М.В. Воронин

канд. биол. Наук

А.К. Жанатаев

Привлеченные сотрудники:

докт. биол. наук

Л.П.Коваленко

научный сотрудник

Е.В. Шипаева

РЕФЕРАТ

23 стр., табл. основных 7, в приложении 7.

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ МИНЕРАЛЬНОЙ ВОДЫ «АРХЫЗ»

Целью исследования явилась оценка иммуностропного действия минеральной воды «Архыз».

Исследование выполнено на сертифицированных лабораторных животных, полученных из питомников РАМН.

14-дневный пероральный прием минеральной воды «Архыз» не приводил к значимому изменению показателей гуморального иммунного ответа у мышей линии СВА, клеточного иммунного ответа и фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов мышей F₁(СВА х С57BL/6).

Четырехкратный прием минеральной воды «Архыз» не оказывал значимого влияния на интенсивность реакции воспаления на Кон А. При трехнедельном приеме исследованной минеральной воды происходило подавление реакции воспаления на Кон А на 27,9 %.

При 14-дневном приеме минеральной воды «Архыз» на фоне иммуносупрессии, вызванной введением циклофосфамида, наблюдалась тенденция к увеличению антителообразования по сравнению с группой животных с вторичным иммунодефицитом. После двухнедельного приема минеральной воды «Архыз» мышами с вторичным иммунодефицитом обнаружено статистически достоверное восстановление ГЗТ до показателей интактных мышей.

Результаты проведенного комплексного исследования позволяют заключить, что после курсового приема минеральной воды «Архыз» не наблюдаются нежелательные иммунотоксические эффекты. В группах животных, получавших «Архыз» выявляются противовоспалительный эффект и иммунокорректирующая активность при иммунодефиците, вызванном введением циклофосфамида.

Ключевые слова: минеральная вода «Архыз», гуморальный иммунный ответ, гиперчувствительность замедленного типа - ГЗТ, фагоцитоз, циклофосфамид.

Многие ферментативные процессы в организме человека невозможны без участия ряда минеральных веществ, таких как кальций, магний, йод и т.д. Минеральная вода «Архыз» содержит ионы магния в количестве 9,73 мг/дм³, ионы кальция - 30,46 мг/дм³. Кальций является самым распространенным макроэлементом в организме человека. В организме взрослого человека содержится около 1000 г кальция, из которых 99 % входит в состав костной ткани. Кальций участвует в поддержании нормального функционирования системы гомеостаза, является кофактором активации многих ферментов и ферментных комплексов, участвует в интеграции функций организма (1). Соли кальция обладают противовоспалительным действием. Кальций контролирует процессы антителообразования, обладает антагонистическим действием на процессы клеточной пролиферации и дифференциации (2). Магний также является одним из самых распространенных макроэлементов в организме человека - суммарное количество магния в организме около 20 г, из них 60 % находится в костях (20-30 % могут быть мобилизованы), 20 % — в мышцах, 19 % – в других энергоемких органах организма (мозг, сердце, печень, почки и др.) и 1% – во внеклеточной жидкости (3). В крови 60-75 % магния находится в ионизированной форме, также магний присутствует в виде комплексов с белками (около 30 %), липидами, АТФ, АДФ и другими нуклеотидами. Внутри клеточных структур магний на 95—98 % связан с АТФ (4). Суточная потребность человека в магнии около 300 мг; его усвояемость составляет всего 30-35 %. Магний выводится из организма почками, и интенсивность этого процесса определяется его сывороточной концентрацией, при повышении которой почечная экскреция магния существенно возрастает, тогда, как при снижении до уровня менее 1,8 мэкв/л усиливается реабсорбция этого микроэлемента (5). Магний участвует в более чем 300 различных важнейших биохимических реакциях, каждая из которых необходима для правильного функционирования организма. Магний задействован в функционировании АТФ-аз, биосинтезе белка, жирных кислот, фосфолипидов, ДНК, РНК. Без магния невозможно усвоение кальция, фосфора, калия, витаминов группы В (магний - кофактор при образовании тиаминпирофосфата), С, Е. Являясь естественным антагонистом кальция, магний участвует в процессах мембранного транспорта, способствует торможению сократительной активности гладких и поперечно-полосатых

мышц за счет расслабления отдельных клеток (миоцитов) путем блокады кальций-зависимого взаимодействия сократительных белков. Кроме того, предупреждается избыточное сокращение мышечных клеток (мышечные спазмы, спазмы сосудов при гипертонии и болях в сердце, спазмы бронхов при бронхиальной астме, спазмы кишечника и др.). Магний вступает в антагонизм с ионами кальция как на уровне мембранных каналов, так и внутри клетки. Повышенное содержание внутриклеточного магния приводит к повышенной буферизации кальция внутри митохондрий, а также препятствует истощению клеточных запасов АТФ. Магний поддерживает соли мочи в растворенном состоянии, и препятствует их осаждению, ионы магния связывают в моче до 40 % щавелевой кислоты. Магний участвует в процессах обезвреживания токсинов в печени, защищает от радиации. Магний защищает от попадания тяжелых металлов в организм (напр. свинца), и выводит их из обмена веществ. Ионы магния способны блокировать нейросинаптическую передачу, препятствуя освобождению ацетилхолина, а также уменьшать продукцию клетками мозгового слоя надпочечников катехоламинов, моделируя тем самым их физиологическую реакцию на стрессовое воздействие, потому магний, тормозя развитие процессов возбуждения в центральной нервной системе и снижая чувствительность организма к внешним раздражителям, выполняет функцию естественного антистрессового фактора. Магний обладает способностью модулировать различные этапы каскада ишемического повреждения клеток. В эксперименте ионы магния демонстрируют нейропротекторный, антиэксцитотоксический эффект — они способны подавлять высвобождение глутамата, а также вступать с ним в неконкурентный антагонизм на уровне NMDA рецепторов (4). Магний необходим для укрепления костной ткани, зубов, волос и ногтей. В настоящее время показано, что магний оказывает прямое влияние на активность остеобластов и остеокластов. Растворимые соли магния (например, магния сульфат) применяются как слабительные средства и желчегонные средства; практически нерастворимые соли и другие соединения магния (магния карбонат, магния окись, магния перекись и др.) используются как адсорбирующие и антацидные средства. Магния сульфат назначают также в качестве противосудорожного и успокаивающего средства, магния тиосульфат - в качестве гипотензивного, спазмолитического и седативного средства. Дефицит магния в популяции составляет 16-42 % (6). Наибольшее распространение он имеет

среди пожилых людей и спортсменов. Алкоголь, калий и кофеин, гиперкальциемия, прием лекарств (противозачаточные, эстрогенные, бета-блокаторы, сердечные гликозиды, противотуберкулезные, антибиотики, цитостатики, диуретики) увеличивают потерю магния через почки. Среди других причин дефицита магния следует назвать недостаточное его поступление с пищей, синдром мальабсорбции, в первую очередь при патологии тонкой кишки, эндокринные заболевания (сахарный диабет, гиперальдостеронизм, гиперфункция щитовидной железы), физическое и/или психологическое перенапряжение, беременность и лактация. Потребление большого количества сахара увеличивает потребность в магнии (возможно, поскольку он влияет на метаболизм инсулина), так же, как и увеличение потери магния с мочой. Нехватка магния влечет за собой дефицит цинка, меди, кальция, калия, кремния и дальнейшее их замещение токсичными тяжелыми металлами: свинцом, кадмием, алюминием (3).

Изучение иммуотропного действия минеральной воды «Архыз» проводили согласно «Методическим указаниям по оценке иммуотоксического действия фармакологических средств» (7) и «Методическим указаниям по оценке иммуотропной активности фармакологических веществ» М., 2005 г (8).

В работе использовали самцов мышей линий СВА и гибридов F_1 (СВА х С57BL/6), полученных из питомника РАМН «Столбовая», после двухнедельного карантина в виварии института. Животных содержали в стандартных условиях со свободным доступом к корму и воде. В качестве основного корма были использованы специализированные брикетированные гранулированные корма фирмы «МЭСТ» (Россия), докорм животных осуществляли свежими овощами и творогом.

Было исследовано влияние минеральной воды «Архыз» на показатели гуморального и клеточного иммунного ответа, на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов, проведена оценка влияния минеральной воды «Архыз» на гуморальное и клеточное звено иммунного ответа на модели вторичного иммунодефицита, вызванного введением циклофосфида (9).

Влияние двухнедельного приема минеральной воды «Архыз» на гуморальный иммунный ответ

Влияние минеральной воды «Архыз» на гуморальный иммунитет изучали, используя реакцию гемагглютинации, поставленную в микротитраторе Такачи (РПГА). Реакция основана на способности антител, содержащихся в сыворотке крови иммунизированных животных, агглютинировать эритроциты барана (ЭБ), используемые в качестве антигена.

Определение антител в РПГА к ЭБ провели на мышах линии СВА. Животные опытной группы 14 дней перорально принимали минеральную воду «Архыз». Животные контрольной группы принимали водопроводную воду. Затем животных контрольной и опытной групп иммунизировали внутрибрюшинно ЭБ в дозе 5×10^6 клеток. Через 7 дней после иммунизации животных забивали декапитацией и получали сыворотку крови. Для инактивации комплемента сыворотки прогревали при температуре 56°C в течение 30 минут. Для определения титра гемагглютининов в лунки микропланшет микротитратора микропипетками закапывали физиологический раствор. В первую лунку закапывали такое же количество сыворотки и специальным дозатором, после перемешивания с физиологическим раствором, переносили разведённый образец из одной лунки в другую. Затем в каждую лунку микропипеткой добавляли ЭБ в концентрации 2×10^8 клеток. Планшеты осторожно встряхивали и ставили в термостат на 1,5-2 часа при температуре 37°C . Титр антител (наибольшее разведение сыворотки, при котором наблюдается отчётливая агглютинация ЭБ) выражали величиной $\log_2 T$, где T – титр антител исследуемой сыворотки. Результаты представляли в виде средней арифметической и её средней ошибки. Достоверность различий – по t -критерию Стьюдента.

Результаты опытов (табл. № 1) свидетельствуют, что 14-дневный пероральный прием минеральной воды «Архыз» мышам линии СВА не приводил к значимому изменению показателей гуморального иммунного ответа.

Влияние минеральной воды «Архыз» на клеточный иммунный ответ.

Влияние минеральной воды «Архыз» на клеточный иммунный ответ изучали по реакции гиперчувствительности замедленного типа в опытах на мышах гибридах F₁(СВАхС57ВL/6). Животные опытной группы в течение 14 дней перорально принимали минеральную воду «Архыз». Контрольные животные в аналогичных условиях принимали водопроводную воду. Затем мышей контрольной и опытной групп иммунизировали подкожно 1x10⁷ ЭБ в объёме 100 мкл. Разрешающую дозу антигена, 1x10⁸ ЭБ в объёме 20 мкл, вводили на 5 день после сенсibilизации под апоневротическую пластинку правой задней конечности, в контрлатеральную лапу – соответственно 20 мкл физиологического раствора. Учёт интенсивности воспалительной реакции проводили через 24 часа после разрешающей дозы антигена. Мышей забивали, обе лапы отрезали на уровне голеностопного сустава и взвешивали их на торсионных весах. Затем подсчитывали индекс реакции (I_p) по формуле:

$$I_p = \frac{P_{оп} - P_k}{P_k} \times 100\%;$$

где P_{оп} – масса стопы задней лапы, в подушечку которой вводили ЭБ;

P_к - масса стопы контрольной лапы.

Результаты обрабатывали методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты опытов представлены в таблице № 2. После 14-дневного перорального введения минеральной воды «Архыз» не обнаружено статистически достоверного изменения реакции ГЗТ по сравнению с контролем.

Определение фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов

Для изучения фагоцитоза перитонеальных макрофагов были использованы частицы коллоидной туши. Через 24 часа после окончания 14-дневного перорального приема минеральной воды «Архыз» фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов оценивали по интенсивности захвата ими частиц туши, введенной животным внутрибрюшинно в виде 0,05% суспензии в объеме 2 мл. Через 10 минут после введения туши брюшную полость промывали 5 мл изотонического раствора NaCl. Полученные таким образом клетки перитонеального экссудата (КПЭ) трижды отмывали и ресуспендировали в 1 мл физиологического раствора. Затем в камере Горяева подсчитывали концентрацию ядросодержащих клеток (ЯСК) и процент фагоцитирующих клеток. Далее клетки осаждали центрифугированием, супернатант удаляли, а осадок КПЭ лизировали дистиллированной водой. Лизаты КПЭ затем помещали в плоскодонные планшеты и определяли с помощью спектрофотометра Uniscan (Финляндия) при длине волны 620 нм оптическую плотность, отражающую количество туши, поглощенной перитонеальными фагоцитами.

Результаты выражали в условных единицах, отражающих оптическую плотность лизата КПЭ соотнесенную с количеством фагоцитирующих клеток (фагоцитарный индекс). Результаты представлены в таблице № 3. Как видно из таблицы, пероральный прием минеральной воды «Архыз» не вызывал значимого изменения фагоцитарного индекса по сравнению с контролем.

Влияние минеральной воды «Архыз» на конканавалин А - индуцированную реакцию воспаления

Реакция воспаления на Кон А (псевдоаллергическая реакция) основана на способности Кон А неспецифически, т.е. без участия реагинов с аллергенами на мембранах клеток-мишеней, в результате прямого действия на рецепторы мембран тучных клеток и базофильных лейкоцитов высвободить медиаторы воспаления (гистамин, серотонин, лейкотриены и др.) (10).

Опыты были проведены на мышах самцах линии СВА. Использовали две схемы введения минеральной воды: в первой мышам вводили четырехкратно минеральную воду Архыз в дозе 10 мл/кг, последнее введение – за 60 минут до введения Кон А, животным контрольной группы вводили дистиллированную воду; во второй

схеме животные опытной группы 21 день принимали минеральную воду «Архыз», мыши контрольной группы аналогичным способом принимали водопроводную воду. Через 60 минут после последнего приема минеральной воды мыши подопытных и контрольной групп субплантарно (в подушечку задней стопы) вводили Кон А (20 мкл раствора в концентрации 5 мг/мл), в контрлатеральную конечность – тот же объем физиологического раствора.

Через 1 час мышей забивали, определяли массу лап и подсчитывали индекс реакции воспаления (I_p) по формуле:

$$I_p = \frac{P_{оп} - P_k}{P_k} \times 100 \%,$$

где $P_{оп}$ – масса стопы, в подушечку которой вводили Кон А;

P_k – масса стопы, в подушечку которой вводили физиологический раствор.

Результаты опыта представлены в таблицах № 4 и 5. Четырехкратный прием минеральной воды «Архыз» в дозе 10 мл/кг животными опытными групп не оказывал значимого влияния на интенсивность реакции воспаления Кон А. При трехнедельном приеме исследованной минеральной воды происходило подавление реакции воспаления на Кон а на 27,9 % у животных опытных групп по сравнению с контролем.

Влияние минеральной воды «Архыз» на гуморальный иммунный ответ мышей СВА с вторичным иммунодефицитом, вызванным введением циклофосфамида

Для получения вторичного иммунодефицита за 24 часа до начала двухнедельного приема минеральной воды «Архыз» мышам линии СВА контрольной и опытной группы однократно внутрибрюшинно вводили циклофосфамид (Sigma) в дозе 150 мг/кг, интактной группе животных аналогичным образом вводили соответствующий объем физиологического раствора. Далее животные опытной группы 14 дней перорально принимали минеральную воду «Архыз». Мыши интактной и контрольной групп принимали водопроводную воду. Через сутки животных интактной, контрольной и опытной групп иммунизировали внутрибрюшинно ЭБ в дозе

5×10^6 клеток. Через 7 дней после иммунизации животных забивали декапитацией и получали сыворотку крови. Далее определяли титр антител в микротитраторе Таккачи согласно методике, описанной выше.

Результаты опытов (табл. № 6) свидетельствуют, что введение циклофосфамида мышам СВА достоверно подавляло антителообразование на 29,2 % по сравнению с интактными животными. При 14-дневном пероральном введении минеральной воды «Архыз» на фоне иммуносупрессии, вызванной введением циклофосфамида, наблюдалось увеличение антителообразования на 20,6 % по сравнению с группой животных с вторичным иммунодефицитом, однако оно не имело значимого характера.

Влияние минеральной воды «Архыз» на клеточный иммунный ответ мышей гибридов F_1 (СВАхС57ВL/6) с вторичным иммунодефицитом, вызванным введением циклофосфамида

Для получения вторичного иммунодефицита за 24 часа до начала приема минеральной воды «Архыз» мышам гибридам F_1 (СВАхС57ВL/6) опытной и контрольной групп однократно внутрибрюшинно вводили циклофосфамид (Sigma) в дозе 150 мг/кг. Интактным животным аналогичным образом вводили соответствующий объем физиологического раствора. Далее мыши опытной группы в течение 14-ти дней перорально принимали минеральную воду «Архыз». Интактные и контрольные животные в аналогичных условиях принимали водопроводную воду. Затем мышей иммунизировали подкожно 1×10^7 ЭБ в объеме 100 мкл. Разрешающую дозу антигена, 1×10^8 ЭБ в объеме 20 мкл, вводили на 5 день после сенсibilизации под апоневротическую пластинку правой задней конечности, в контрлатеральную лапу – соответственно 20 мкл физиологического раствора. Учёт интенсивности воспалительной реакции и подсчет I_p производили аналогично описанной выше методике.

Результаты опытов представлены в таблице № 7. Вторичный иммунодефицит, вызванный введением циклофосфамида у мышей контрольной группы проявлялся в угнетении клеточного иммунного ответа на 22,9 % по сравнению с группой интактных животных ($p < 0,01$). После 14-дневного приема минеральной воды «Архыз» мышами с вторичным иммунодефицитом обнаружено статистически досто-

верное восстановление ГЗТ до показателей интактных мышей. Введение минеральной воды «Архыз» мышам с циклофосфановой иммуносупрессией вызывало статистически значимое увеличение клеточного иммунного ответа на 30,0 % по сравнению с контрольной группой животных с вторичным иммунодефицитом, получавших водопроводную воду.

Статистическая обработка данных

Подготовка к работе первичных данных и расчеты проводились в среде пакета статистических программ (PSP) STATISTICA (версия 6.0) для WINDOWS. Результаты представлены в виде средней арифметической и её средней ошибки. Достоверность различий – по t-критерию Стьюдента.

Заключение

Результаты проведенного комплексного исследования позволяют заключить, что на фоне 14-дневного перорального приема минеральной воды «Архыз» не происходит изменений антителообразования, показателей клеточного иммунного ответа и фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов у мышей. Четырехкратный прием минеральной воды «Архыз» в дозе 10 мл/кг не оказывает значимого влияния на интенсивность реакции воспаления Кон А. Трехнедельное потребление минеральной воды «Архыз» вызывает значимое снижение реакции воспаления на Кон А у мышей линии СВА. У мышей F₁(СВА х С57BL/6) с вторичным иммунодефицитом, вызванным введением циклофосфида, прием минеральной воды «Архыз» в течение 14 дней достоверно восстанавливает клеточный иммунный ответ до уровня, наблюдаемого у интактных мышей.

Полученные данные, вероятно, объясняются тем, что в минеральной воде «Архыз» стабильно присутствуют необходимые организму микро- и макроэлементы, такие как магний, кальций и др. (11). Магний поддерживает клеточный и гуморальный иммунитет, оказывает противовоспалительное и противоаллергическое действие (12, 13). Магний участвует в иммунном ответе как кофактор для синтеза иммуноглобулинов, С '3 конвертазы, при антителозависимом цитолизе, связывании лимфоцитов с IgM-антителами, ответе макрофагов на лимфокины, а также при взаимодействии Т-хелперов с В-клетками, связывании субстанции Р с лимфобла-

стами. Дефицит магния у грызунов нарушает синтез IgG-антител и клеточный иммунный ответ; осложнения при дефиците магния включают атрофию тимуса, увеличение IgE-антител, эозинофилию, увеличение концентрации гистамина (14).

При экспериментальном дефиците магния у крыс наблюдается усиление воспалительных процессов, характеризующихся активацией лейкоцитов, высвобождением провоспалительных цитокинов и белков острой фазы, чрезмерной выработкой свободных радикалов. Магний регулирует клеточные процессы, вовлеченные в воспаление, что, возможно, объясняется естественным антагонизмом с кальцием (15). Одним из механизмов противовоспалительного действия магния является его антирадикальная активность. Известно, что магний подавляет выработку свободных радикалов активированными нейтрофилами крыс (16). При экспериментальном дефиците магния у крыс установлено повышение продукции активных форм кислорода нейтрофилами, ингибируемое высокими концентрациями магния. В экспериментальных и клинических исследованиях было показано, что сульфат магния вызывает релаксантный эффект и уменьшает гистамин-индуцированную бронхоконстрикцию (17,18). Одними из потенциальных механизмов действия магния рассматриваются: активация фагоцитов, открытие кальциевых каналов и активация N-methyl-d-aspartate (NMDA) рецепторов и активация NF-kappaB. Кроме того, дефицит магния вызывает системный стрессорный ответ путем активации нейроэндокринных путей (15). Ионы магния способны блокировать нейросинаптическую передачу, препятствуя освобождению ацетилхолина, а также уменьшать продукцию клетками мозгового слоя надпочечников катехоламинов, изменяя тем самым их физиологическую реакцию на стрессорное воздействие, поэтому магний, тормозя развитие процессов возбуждения в центральной нервной системе и снижая чувствительность организма к внешним раздражителям, выполняет функцию естественного антистрессового фактора. Магний обладает также способностью модулировать различные этапы каскада ишемического повреждения клеток. В эксперименте ионы магния демонстрируют нейропротекторный, антиэксцитотоксический эффект — они способны подавлять высвобождение глутамата, а также вступать с ним в неконкурентный антагонизм на уровне NMDA рецепторов (4).

Таким образом, результаты проведенного комплексного исследования позволяют заключить, что минеральная вода «Архыз» при курсовом пероральном приеме

не проявляет иммунотоксических свойств, обладает противовоспалительным действием и иммунокорригирующей активностью при иммунодефиците, вызванном введением циклофосфида.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н.А. Коровина, И.Н. Захарова, А.Л. Заплатников, Е.Г. Обычная - Дефицит витаминов и микроэлементов у детей: современные подходы к коррекции - Москва, Медпрактика-М, 2004.
2. T. Diamantstein, M. V. Odenwald - The antagonistic action of calcium ions on cell proliferation and on cell differentiation. Control of the Immune Response in vitro by Calcium Ions – Immunology, № 27, p. 531, 1974.
3. М.А. Школьников, С.Н. Чупрунова, Л.А. Калинин и др. - Метаболизм магния и терапевтическое значение его препаратов - Москва, Медпрактика-М., 2002.
4. А.Л. Верткин, О.Б. Талибов, И.А. Измайлов - Магний и лечение инсульта - Лечащий Врач, № 04, 2003.
5. В.В. Городецкий, О.Б. Талибов - Препараты магния в медицинской практике. Малая энциклопедия магния – Москва, Медпрактика – М, с. 4-15, 2003.
6. F. Engstrom, R. Tobelmann - Nutritional consequences of reducing sodium intake - Ann. Int. Med., 92, p. 870-872, 1983.
7. Методические указания по оценке иммунотоксического действия фармакологических веществ - в Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева, М. Медицина, с.70- 86, 2005.
8. Методические указания по изучению иммуностропной активности фармакологических веществ - в Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева, М. Медицина, с. 501- 514, 2005.

9. Л.П. Коваленко - Особенности оценки иммунотоксических и иммунофармакологических свойств различных групп фармакологических веществ - Автореф. докт. дисс., М., 2003.
10. В.А. Адо, Л.А. Горячкина - Подавление аллергических реакций низкомолекулярными соединениями – Минск, с. 40, 1971.
11. Р.И. Елагин - Все ли мы знаем о воде - Популярная медицина Т.1, № 2, 2002.
12. McCoy H, Kenney MA - Magnesium and immune function: recent findings - *Magnesium Res. Dec*, 5(4), p. 281-293, 1992.
13. M Tam, S Gomez, M Gonzalez-Gross, A Marcos - Possible roles of magnesium on the immune system - *European Journal of Clinical Nutrition* 57, p. 1193-1197, 2003.
14. Galland L. - Magnesium and immune function: an overview. – *Magnesium*, 7(5-6), p. 290-299, 1988.
15. A. Mazur, J.A. Maier, E. Rock, et al - Magnesium and the inflammatory response: potential physiopathological implications - *Arch Biochem Biophys.* Feb 1;458(1), p. 48-56, 2007.
16. F.I. Bussiere, E. Gueux, E. Rock, et al - Increased phagocytosis and production of reactive oxygen species by neutrophils during magnesium deficiency in rats and inhibition by high magnesium concentration. - *Br J Nutr.* Vol.87.N.2.p.107-113, 2002.
17. H. Okayama, T. Aikawa, M. Okayama, et al - Bronchodilating effect of intravenous magnesium sulfate in bronchial asthma – *JAMA*, Feb 27. Vol.257. N.8. p.1076-1078, 1987.
18. K Hirota, T. Sato, Y. Hashimoto, et al - Relaxant effect of magnesium and zinc on histamine-induced bronchoconstriction in dogs - *Crit Care Med*, Jun Vol.27, N 6, p.1159-1163, 1999.

Таблица № 1

Влияние минеральной воды «Архыз» на гуморальный иммунный ответ (РПГА) при пероральном приеме в течение 14-ти дней мышам СВА

Группа	Величина иммунного ответа при антигенной нагрузке 5×10^7 ЭБ	Уровень значимости
Контроль	$6,6 \pm 0,7$ n=10	
Минеральная вода «Архыз»	$6,7 \pm 0,4$ n=10	p>0,05

Примечание: В таблице представлены средние величины титра антител в \log_2 ; n – количество животных в группе.

Таблица № 2

Влияние минеральная вода «Архыз» на клеточный иммунитет (ГЗТ) при пероральном приеме в течение 14-ти дней мышам гибридам F_1 (СВАхС57BL/6)

Группа	Индекс реакции: $I_p = \frac{P_{оп} - P_k}{P_k} \times 100 \%$	Уровень значимости
Контроль	$44,5 \pm 6,0$ n=10	
Минеральная вода «Архыз»	$45,1 \pm 2,0$ n=10	p>0,05

Примечание: n – количество животных в группе.

Таблица № 3

Влияние 14-дневного перорального приема минеральной воды «Архыз» на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов мышей гибридов F₁(СВАхС57BL/6)

Группы	Фагоцитарный индекс (усл.ед.)	Уровень значимости
Контроль (n=10)	6,5 ± 1,5	
Минеральная вода «Архыз» (n=10)	6,3 ± 0,7	p>0,05

Примечание: n – количество животных в группе.

Таблица № 4

Влияние 4-кратного введения per os минеральной воды «Архыз» на реакцию воспаления на Кон А

Группа	Число животных в группе	Индекс реакции
Контроль	10	21,2 ± 2,2
Минеральная вода «Архыз»	10	21,7 ± 0,9 p>0,05

Таблица № 5

Влияние 21-дневного приема минеральной воды «Архыз» на реакцию воспаления на Кон А

Группа	Число животных в группе	Индекс реакции
Контроль	10	12,9 ± 0,8
Минеральная вода «Архыз»	10	9,3 ± 0,5 p<0,01

Таблица № 6

Влияние минеральной воды «Архыз» на гуморальный иммунный ответ (РПГА) при пероральном приеме в течение 14 дней мышами СВА с иммунодефицитом, вызванным введением циклофосфамида

Группа	Величина иммунного ответа при антигенной нагрузке 5 x 10⁶ ЭБ	Количество животных в группе
Интактные	4,8 ± 0,4	10
Контроль Циклофосфамид 150 мг/кг	3,4 ± 0,3*	10
Минеральная вода «Архыз» Циклофосфамид 150 мг/кг	4,1 ± 0,2	10

Примечание: В таблице представлены средние величины титра антител в log₂.
*- разница различий с интактной группой с уровнем значимости p<0,01.

Таблица № 7

Влияние минеральной воды «Архыз» на клеточный иммунитет (ГЗТ) при пероральном приеме в течение 14-ти дней мышами гибридам F₁(СВАхС57BL/6) с иммунодефицитом, вызванным введением циклофосфамида

Группа животных	Индекс реакции: $I_p = \frac{P_{оп} - P_k}{P_k} \times 100 \%$	Количество животных в группе
Интактные	53,7 ± 1,9	11
Контроль Циклофосфамид 150 мг/кг	41,4 ± 1,8*	9
Минеральная вода «Архыз» Циклофосфамид 150 мг/кг	53,8 ± 2,9 [#]	9

Примечание: *- разница различий с интактной группой с уровнем значимости $p < 0,01$; [#] - разница различий с контрольной группой с уровнем значимости $p < 0,01$.

Приложение

Протоколы опытов

Влияние минеральной воды «Архыз» на гуморальный иммунный ответ (РПГА) при пероральном приеме в течение 14-ти дней мышам СВА

№	Контроль	Минеральная вода «Архыз»
1	7	7
2	8	8
3	8	8
4	8	8
5	7	7
6	7	5
7	1	5
8	7	6
9	6	7
10	7	6

Влияние минеральная вода «Архыз» на клеточный иммунитет (ГЗТ) при пероральном приеме в течение 14 дней мышам гибридам F₁(СВАхС57ВL/6)

№	Контроль	Минеральная вода «Архыз»
1	40,5	38,5
2	45,3	51,8
3	45,0	40,2
4	49,6	51,1
5	0,61	38,9
6	38,8	53,2
7	62,7	36,4
8	73,7	50,5
9	42,6	43,0
10	46,5	47,7

Влияние 14-дневного перорального приема минеральной воды «Архыз» на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов мышей гибридов F₁(СВАхС57BL/6)

№	Контроль	Минеральная вода «Архыз»
1	2,4	4,1
2	13,6	6,1
3	6,8	6,2
4	8,8	10,7
5	1,4	9,7
6	15,4	5,6
7	1,9	4,5
8	5,2	5,8
9	5,0	6,1
10	4,7	4,0

Влияние 4-кратного введения per os минеральной воды «Архыз» на реакцию воспаления на Кон А

№	Контроль	Минеральная вода «Архыз»
1	21,4	17,6
2	31,8	22,1
3	15,7	18,1
4	24,5	21,3
5	25,4	22,8
6	12,1	25,2
7	30,5	24,8
8	12,0	24,5
9	20,4	20,5
10	18,6	19,9

Влияние 21-дневного приема минеральной воды «Архыз» на реакцию воспаления на Кон А

№	Контроль	Минеральная вода «Архыз»
1	12,3	10,5
2	12,7	9,3
3	12,7	6,4
4	18,91	8,5
5	9,5	9,1
6	10,6	8,7
7	12,5	9,5
8	14,2	12,7
9	13,0	9,8
10	12,8	8,8

Влияние минеральной воды «Архыз» на гуморальный иммунный ответ (РПГА) при пероральном приеме в течение 14 дней мышами СВА с иммунодефицитом, вызванным введением циклофосфамида

№	Интактные	Контроль Циклофосфамид 150 мг/кг	Минеральная вода «Архыз» Циклофосфамид 150 мг/кг
1	7	4	3
2	6	3	5
3	4	5	5
4	3	4	4
5	4	4	4
6	5	3	3
7	5	2	5
8	5	3	4
9	4	2	4
10	5	4	4

Влияние минеральной воды «Архыз» на клеточный иммунитет (ГЗТ) при пероральном приеме в течение 14-ти дней мышами гибридам F₁(СВАхС57ВL/6) с иммунодефицитом, вызванным введением циклофосфамида

№	Интактные	Контроль Циклофосфамид 150 мг/кг	Минеральная вода «Архыз» Циклофосфамид 150 мг/кг
1	48,8	35,4	48,6
2	49,7	34,2	49,3
3	50,7	41,2	43,8
4	60,6	48,0	69,6
5	55,8	46,0	47,9
6	62,0	36,1	61,7
7	64,1	40,0	45,8
8	53,3	48,5	59,3
9	54,1	43,5	58,0
10	47,1	-	-
11	44,0	-	-