

ФІЗІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ОЗДОРОВЛЮВАЛЬНОГО НАПОЮ "ВОДА ТРУСКАВЕЦЬКА КРИШТАЛЕВА, ЗБАГАЧЕНА АЛОЄ"

В урочищі Помірки курорту Трускавець розташоване родовище води "Трускавецька", яка раніше відома як "Нафтуся № 2", проте в даний час віднесена до розряду столових. Тим не менше, наявність у неї низки рис, споріднених з "Нафтусею" (мінералізація 0,6-0,7 г/л, аналогічний спектр макроіонів та мікроелементів, присутність органічних речовин в кількості 10-12 мг/л C_{org}) в поєднанні із запасами, котрі в 4 рази перевищують такі "Нафтусі", є підставою для подальших порівняльних бальнеологічних досліджень.

УкрНДІ медичної реабілітації і курортології висунута концепція збагачення столових мінеральних вод біологічно активними добавками, передовсім рослинного походження. Його співробітниками сумісно із науково-виробничим підприємством "Віспар" (Одеса) розроблено новий оздоровлювальний напій "Трускавецька кришталева, збагачена алоє", промисловий випуск якого налагоджено ТзОВ "Акваріус" (Трускавець). За даними експериментів на щурах, цей напій стимулює антитоксичну і холеретичну функції печінки, діуретичну функцію нирок, відвертає стресові пошкодження слизової шлунка (Соловійова В.П. та ін., 2002), тобто володіє низкою ефектів, притаманних біоактивній воді "Нафтуся" (Івасівка С.В. та ін., 1999; Попович І.Л. та ін., 2000).

Позаяк спектр проявів фізіологічної активності води "Нафтуся" значно ширший, цілком доречною видається необхідність провести кількісне порівняння ефектів обох об'єктів дослідження, прийнявши "Нафтусю" в якості беззаперечного еталону.

Ми поставили перед собою мету виявити спектр фізіологічної активності нового оздоровлювального напою "Трускавецька кришталева, збагачена алоє" і порівняти з таким біоактивною води "Нафтуся" Трускавецького родовища.

Дослідження проведене згідно із парадигмою Трускавецької наукової школи бальнеології, очолюваної лауреатом премій ім. О.О. Богомольця та Т. Торосевича, д.м.н., проф. С.В. Івасівкою і включає експериментальну та клініко-фізіологічну частини.

Здійснено три експерименти. В першому з них тварини першої (контрольної) групи навантажувалися інтрагастрально через зонд водопровідною водою в дозі 1,5% від маси тіла 2 рази на день з інтервалом 5 годин впродовж 5 днів, другої (еталонної) групи - нативною водою "Нафтуся", взятої безпосередньо із свердловини 21-Н трускавецького родовища, третьої (дослідної) – комерційною водою "Трускавецька кришталева, збагачена алоє" виробництва ТзОВ "Акваріус" (Трускавець).

Фізіологічну активність об'єктів дослідження оцінювали за впливом їх курсового прийому на солевидільну функцію нирок, котра традиційно вважається головною її мішенню (Есипенко Б.Е., 1981; Івасівка С.В. та ін., 1999), а також на функцію кори наднирників – головної адаптивної залози, згідно з сучасною адаптогенною концепцією механізму лікувально-профілактичної дії біоактивної води "Нафтуся" (Попович І.Л. та ін., 2000).

При цьому в перший день після завершення курсу напоювання щурам вводили інтрагастрально водопровідну воду в дозі 20 мл/кг і поміщали їх в індивідуальні плексигласові станки на 2 години для збору сечі. Реєстрували об'єм сечі, визначали вміст в ній натрію і калію методом полум'яної фотометрії. На другий день збирали сечу впродовж 10 год, в котрій визначали вміст 17-КС спектрофотометричним методом за кольоровою реакцією з м-динітробензолом (Балаховский И.С., 1987) і 11-ОКС флюориметричним методом (Резников А.Г., 1980). На третій день брали проби периферичної крові для підрахунку вмісту лейкоцитів і оцінки лейкограми. На четвертий день щурів декапітували, збирали кров, в сироватці котрої визначали вміст альбумінів, глобулінів, сечовини, креатиніну, білірубіну, холестерину, ліпопротеїдів, молекул середньої маси, активність альфа-амілази, АлТ, АсТ уніфікованими методами (Меньшиков Б.В., 1987; Базарнова А.Г., Гетте З.П., 1994).

Про стан ліпопероксидації судили за вмістом в плазмі крові її продуктів: дієнових кон'югатів (ДК) ліпідів, який визначали шляхом спектрофотометрії гептанової фази їх екстракту (Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И., 1983), і малонового діальдегіду (МДА), який визначали в тесті з тіобарбітуровою кислотою (Андреева Л.И. и др., 1988), та активністю ферментів антиоксидантного захисту: супероксиддисмутази (СОД) еритроцитів, оцінюваною за ступенем гальмування відновлення нітросинього тетразолію в присутності N-метилфеназонію метасульфата і НАД*Н (Макаренко Е.В., 1988; Дубинина Е.Е. и др., 1988), і каталази сироватки, оцінюваною за швидкістю

розкладання перекису водню (Королюк М.А. и др., 1988).

Для оцінки лімфопроліферативного ефекту вирізали селезінку і за грудинний лімфовузол, зважували їх, готували мазки-відбитки для підрахунку сплено- та лімфоцитограми.

В другому експерименті було задіяно 24 щурі-самки лінії Wistar, з них 9 отримували щоденно впродовж 3 тижнів через зонд біоактивну воду "Нафтуса" (св. 21-Н) в дозі 15 мл/кг при вільному доступі до неї ж, налітої в поїлки. 9 тварин вживали досліджуваний напій. Решта 6 щурів служили контролем, отримуючи за аналогічною схемою водопровідну воду. Після завершення курсу збирали добову сечу, брали пробу крові із хвоста, визначали в обидвох біорідинах концентрацію креатиніну і сечової кислоти. Потім під уретановим наркозом робили лапаротомію, канюлювали жовчевивідну протоку для збору жовчі і перфузували дуодено-сюнальний відрізок тонкої кишки дистильованою водою для визначення її абсорбції, як це описано Івасівкою С.В. та ін. (1999). Концентрацію в жовчі холестерину та холатів визначали уніфікованими методами (Меньшиков В.В., 1987). Після завершення 30-хвилинного гострого досліду щурів декапітували з метою забору печінки і перфузованої петлі тонкого кишківника для зважування.

В третьому експерименті використано 28 щурів обох статей. Дизайн експерименту був аналогічним. На другий день після завершення 3-тижневого курсу брали проби крові для оцінки стану ліпопероксидації, потім під нембуталовим наркозом (30 мг/кг внутрішньоочеревинно) накладали лігатуру на воротаря шлунку. Через 4 год щурів декапітували, після перев'язки стравоходу видаляли шлунок, вміст якого через надріз переміщали в градуйовану пробірку та центрифугували для отримання чистого шлункового соку. Вимірювали об'єм соку, його рН, вміст пепсину (за перетравленням білків людської плазми). Шлунок розрізали по великій кривизні і оцінювали ерозивно-виразкові пошкодження його слизової (Попович І.Л. та ін., 2000).

Цифровий матеріал оброблено на PC Pentium II-200 MMX за програмою "Excell" методом варіаційної статистики.

В першому експерименті встановлено, що в групі порівняння водний діурез суттєво не змінюється відносно контрольної, при цьому концентрація в 2-годинній порції сечі калію зростає на 131%, натрію – на 234%, відповідно калійурез зростає на 127%, натрійурез – на 226%.

Спонтанний 10-годинний діурез вірогідно зростає лише в еталонній групі, тоді як досліджуваний напій спричиняє лише тенденцію до зростання. Вміст у зібраній порції сечі 17-КС перевищує контрольний на 78%, натомість в еталонній групі приріст складає 169%. Екскреція 11-ОКС, навпаки, гальмується, при цьому в еталонній групі закономірно, а в групі порівняння – лише у вигляді тенденції.

З огляду на те, що у щурів 11-ОКС відображують, в основному, секрецію кортикостерону, який володіє як глюко-, так і мінералокортикоїдними властивостями, зменшенням екскреції перших можна пояснити салуретичний ефект в обох групах.

Інтегральний індекс активності, обчислений як середнє геометричне окремих ефектів із врахуванням їх фізіологічної скерованості, складає для досліджуваного напою 1,610 проти 1,984 для біоактивної води "Нафтуса", тобто 81%.

При вивченні білково-азотистого обміну, констатовано, що на вміст в сироватці глобулінів обидва бальнеочинники впливають однаково стимулювально, що, очевидно, є підґрунтям добре відомої імунотропної дії води "Нафтуса" (Флюнт І.С., 2002) і дає підстави сподіватися на наявність такої у досліджуваному напої. Разом з тим, стосовно вмісту альбумінів виявлено суттєві розбіжності між ефектами порівнюваних чинників: тоді як еталон спричиняв гіпоальбумінемію, "Трускавецька з алоє" викликала тенденцію до приросту рівня альбумінів.

Рівень досліджуваних ферментів суттєво зростав в обидвох групах, без суттєвих розбіжностей. Подібні ефекти отримано раніше, і вони інтерпретуються як прояв активації синтезу їх *de novo*, тобто анаболічної дії "Нафтусі", опосередкованої, зокрема, андрогенами (Івасівка С.В. та ін., 1998, 1999; Попович І.Л. та ін., 1997).

Нами констатовано також дворазовий приріст вмісту в сироватці молекул середньої маси. Цитованими авторами підвищення рівня МСМ пов'язується із активацією гастро-ентеро-панкреатичної ендокринної системи (ГЕПЕС), регуляторні поліпептиди якої мають молекулярну масу в аналогічному діапазоні.

Одночасно із активацією анаболічних процесів за умов курсового вживання обидвох напоїв має місце підвищення рівня азотистих речовин, що свідчить за одночасну активацію катаболізму, опосередковану, мабуть, ерготропними чинниками.

В цьому ж руслі слід інтерпретувати виявлене нами підвищення рівня загальних ліпідів, очевидно, за рахунок тригліцеридів і неестерифікованих жирних кислот, позаяк рівень загального

холестерину підвищується невірогідно. При цьому вміст холестерину в складі ЛП НДНЩ зростає дещо в більшій мірі, ніж в складі ЛП ВЩ. Це можна інтерпретувати як результат зміщення естрогено-тестостеронового балансу в бік останнього, що узгоджується з активізацією анаболізму. Вірогідних розбіжностей між ліпотропними ефектами порівнюваних бальнеочинників не виявлено.

Нами підтверджено виявлені трускавецькою науковою школою бальнеології антиоксидантні властивості “Нафтусі”, які проявляються у активізації СОД еритроцитів та зниженні в сироватці рівня продуктів ліпопероксидації.

В даному відношенні досліджуваній напій лише в незначній мірі поступається перед еталоном. Вважають (Івасівка С.В. та ін., 1998), що антиоксидантний ефект опосередкований стероїдними гормонами і поліпептидами ГЕПЕС. Він же лежить в основі стреслімітуючої дії води “Нафтуса” (Попович І.Л. та ін., 2000), тому є підстави передбачити притаманність останньої і досліджуваному напою.

При вивченні імунотропних ефектів встановлено, що досліджуваній напій вірогідно знижує відносний вміст в крові паличкоядерних нейтрофілів, підвищує загальний вміст лейкоцитів, абсолютний вміст сегментоядерних нейтрофілів та лімфоцитів, не впливаючи суттєво на решту параметрів лейкограми. Перші три ефекти аналогічні таким “Нафтусі”. Разом з тим, остання підвищувала також відносний вміст сегментоядерних нейтрофілів, абсолютний вміст великих грануловмісних лімфоцитів (ВГЛ) – натуральних кіллерів, не підвищуючи суттєво абсолютного вмісту лімфоцитів, та знижувала вірогідно відносний вміст моноцитів.

Під впливом напою “Трускавецька кришталева, збагачена алоє” фагоцитарна ємність нейтрофілів крові, тобто вміст в ній мікрофагів, підвищується на 38,7%, тоді як ефект води “Нафтуса” складає 46,5%. Мікробна ємність нейтрофілів, тобто кількість поглинутих ними *Staph. aureus*, зростає невірогідно (на 10,8%), натомість еталон чинить суттєвий ефект (31,2%). Бактерицидна здатність мікрофагів вірогідно не змінювалася в обидвох групах порівняння.

Обчислення інтегрального індексу антибактеріальної активності як середньгеометричного індексів зміни п’яти параметрів дає для досліджуваного напою величину 1,166, що складає 93,6% від такої води “Нафтуса” (1,246). Виявлена здатність напою узгоджується із нашими попередніми даними про підвищення під його впливом вмісту в крові глобулінів.

Антибактеріальна активність напою підтверджена в паралельних клінічних дослідженнях (Ільницька-Рибчич Т.О., 2003).

Нами підтверджено здатність БАВН спричинити гіперплазію селезінки. Цей ефект супроводжується підвищенням відносного і абсолютного вмісту в селезінці моноцитів еозинофілів і абсолютного (але не відносного) вмісту нейтрофілів за відсутності суттєвих змін з боку макрофагів, фібробластів, ретикулоцитів, плазмоцитів і лімфоцитів. Разом з тим, виявлено зниження абсолютного і відносного вмісту лімфобластів. Досліджуваній напій вірогідно не відрізняється від БАВН як за її ефектами на одні параметри, так і за відсутністю ефектів - на інші параметри спленоцитограми. Разом з тим, констатовано відчутнішу лімфоцитопенію за відсутності вірогідного зниження масового індексу лімфобластів селезінки.

Нами вперше виявлено збільшення під впливом БАВН маси загрудинного лімфовузла, яке супроводжується підвищенням відносного вмісту в ньому плазмоцитів і лімфобластів, зниженням - ендотеліоцитів і ретикулоцитів за відсутності змін решти компонентів клітинного складу. Напій спричиняє лише тенденцію до гіперплазії лімфовузла, як і тенденцію до зниження вмісту в ньому ретикулоцитів. Він, як і БАВН, знижує вміст ендотеліоцитів, неефективний стосовно вмісту макрофагів, епітеліоцитів і пролімфоцитів. Натомість, на відміну від БАВН, вірогідно знижує вміст лімфоцитів, а також відчутніше підвищує вміст в лімфовузлі плазмоцитів.

Вплив біоактивної води Нафтуса (БАВН) на холерез вважається класичним проявом її бальнеоактивності (Есипенко Б.Е., 1981). Аксентійчуком Б.І. (2002,2003) розвивається концепція про урикозотропну дію БАВН як ланку механізму її лікувальної дії. Викладене дало нам підстави використати для порівняльної оцінки бальнеоактивності нового оздоровлювального напою “Трускавецька кришталева, збагачена алоє” холеретичний і урикозотропний тести.

В нашому експерименті відтворено жовчегінну дію БАВН. Так, абсолютний холерез зростає на 58%, а розрахований на 1 г печінки - на 46%, що зумовлено тенденцією до збільшення її маси. Екскреція з жовчю холатів зростає на 96% (абсолютних) і на 79% (на 1 г печінки), що сприятливо для поліпшення травлення, екскреція холестерину – на 85% і 71% відповідно, що сприяє підтриманню нормального його вмісту в плазмі. Разом з тим, холато-холестериновий коефіцієнт жовчі підвищується лише на 7%, що відображує лише тенденцію до зниження її літогенності.

Досліджуваний напій теж чинить холеретичний ефект, але менш виражений. Так, швидкість жовчеплину досягає 94% (абсолютна) і 95% (відносна) такої порівняно з еталоном, концентрація в жовчі холатів - 92% за аналогічної концентрації холесерин, екскреція холатів - 85% і 86%, холестерину - 94% і 95%.

Швидкість абсорбції води в кишківнику вірогідно не змінюється в жодній дослідній групі порівняно з контрольною.

Обидві досліджувані рідини в однаковій мірі збільшують добовий діурез і екскрецію з сечею уратів, при цьому сечова концентрація останніх не підвищується. Паралельно збільшується екскреція креатиніну.

Однією із недавно відкритих властивостей БАВН є її здатність захищати слизову шлунка від ерозивно-виразкових пошкоджень, спричинених стресом чи перев'язкою воротаря (Попович І.Л. та ін., 2000). В нашому експерименті використано останню модель ульceraції, яка дозволяє разом оцінити секреторну функцію шлунка. Відтворено гастропротективну дію БАВН: суттєво знижувалася частість пошкоджень слизової, в тому числі частість ульceraції, зменшувалась кількість виразок з розрахунку на одного щура, як і загальна їх довжина. Груповий індекс ульceraції склав 2,20 проти 5,60 в контрольній групі. Досліджуваний напій виявився навіть дещо ефективніший в цьому плані, проте незначуще.

При дослідженні антиоксидантної компоненти механізму гастропротективного ефекту виявлено визначальну роль підвищення активності супероксиддисмутази, але не каталази. Певну роль відіграє зниження вмісту продуктів ліпопероксидації, а аткож виявлене в першому експерименті збільшення екскреції метаболітів андрогенів і зменшення - глюкокортикоїдів.

Разом з тим вірогідних змін, порівняно з контролем, параметрів секреторної функції шлунка не виявлено, за винятком незначного збільшення дебіту шлункового соку під впливом напою.

Отримані експериментальні дані стали підставою для проведення клініко-фізіологічних спостережень. У звіті УкрНДІ МРІК є вказівка на імуномодулювальну дію досліджуваного напою у людей, проте імунний статус оцінений застарілими методами розеткоутворення, повз увагу дослідників пройшли фагоцитарна ланка імунітету та гемостаз як невід'ємні компоненти контактних захисних систем організму. З огляду на це продовження досліджень у вказаному напрямку залишається актуальним.

Об'єктом наших клінічних спостережень були 69 ліквідаторів аварії на ЧАЕС, котрі лікувалися на курорті Трускавець від хронічних захворювань органів травлення (гастрит, дуоденіт, холецистит, коліт) та сечовиділення (уролітіаз, піелонефрит), що протікали на тлі імунодисфункції. Проведено порівняння імуномодулювальних ефектів стандартного бальнеотерапевтичного комплексу: щоденне пиття біоактивної води "Нафтуса" (12-13 мл/кг за добу, 18-20°C, тричі на день, за 1 год до їжі); мінеральні купелі (концентрація $Cl-SO_4-Na-Mg$ солі 20-30 г/л, t° - 36-37°C, тривалість 8-10 хв) через день, 8 процедур; аплікації озокериту на поперекову ділянку чи у вигляді "трусів" (45°C, експозиція 30 хв, через день, 8-10 процедур); дієта №5, ЛФК (РР - II-III) із апробуванням, в якому вода "Нафтуса" була замінена водою "Трускавецька кришталева, збагачена алоє".

Імунний статус оцінювали за тестами I і II рівнів згідно з меморандумом ВООЗ (1988) та методичних рекомендацій по обстеженню потерпілих від наслідків чорнобильської катастрофи, користуючись уніфікованими методиками.

З метою інтегральної оцінки окремих ланок імунітету обчислювали індекс I_D – середнє геометричне відношень середньогрупових показників до нормальних, отриманих в результаті обстеження 20 донорів.

При первинному тестуванні ліквідаторів констатовано наявність у них вираженої імунодисфункції. Це проявлялося, передовсім, в депресії фагоцитарної ланки імунітету, інтегральний індекс якої складав 0,697-0,674. I_D Т-клітинної ланки виявився дещо вищим (0,773-0,769), а кіллерної ланки - ще нижчим (0,423-0,484). Це поєднувалося із активізацією В-клітинної ланки імунітету: I_D складає 1,297-1,312. Наші дані узгоджуються із такими інших авторів.

Під впливом стандартного бальнеотерапевтичного комплексу вираженість депресії фагоцитарної ланки зменшилась до 0,788, кіллерної – до 0,619, Т-клітинної – до 0,839, а

активізація В-клітинної ланки зменшилась до 1,179, так що інтегральний індекс імунного статусу, обчислений за 24 параметрами, зріс в контрольній групі від 0,698 до 0,797 при нормі 1. У ліквідаторів основної групи, котрі вживали апробований напій, сприятливі зміни кілерної та Т-клітинної ланок виявилися майже такими ж, як і в контрольній: I_D досягав відповідно 0,625 і 0,867, натомість вираженість депресії фагоцитарної ланки і активізації В-клітинної ланки зменшувалися менш відчутно – до 0,712 та 1,278 відповідно. Інтегральний індекс імунного статусу зріс від 0,701 до 0,772.

Отже, вода “Трускавецька кришталева, збагачена алоє” володіє фізіологічними властивостями, які лише в незначній мірі поступаються перед такими води “Нафтуса”. Це дозволяє нам рекомендувати її для імунореабілітації осіб чорнобильського контингенту.

Група клінічної бальнеології і фітотерапії Інституту фізіології ім О.О. Богомольця НАН України, біологічний факультет Дрогобицького державного педагогічного університету ім. І.Я. Франка

Дата поступлення: 10.12. 2004 р.

Л.Н. ПРОКОПОВИЧ, А.Я. БУЛЬБА
ОСОБЛИВОСТІ ІМУНОТРОПНОЇ ДІЇ БАЛЬНЕОЧИННИКІВ КУОРТУ
ТРУСКАВЕЦЬ У ЛІКВІДАТОРІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС З РІЗНОЮ ФАКТОРНОЮ
СТРУКТУРОЮ ІМУНОДИСФУНКЦІЇ

Згідно із сучасною парадигмою трускавецької наукової школи бальнеології, однією із атрибутивних властивостей бальнеотерапевтичного комплексу курорту Трускавець є його імунотропна дія. Остання спричинена, очевидно, його кардинальною компонентою - біоактивною водою Нафтуса, позаяк відтворюється нею за умов монотерапії, експерименту та *in vitro*. Імунотропна дія лежить в основі лікувальної та метафілактичної дії стосовно хронічних запальних захворювань, зокрема пієлонефриту, холециститу та стану після радикального лікування онкопатології.

Разом з тим, конкретні дані про імунотропну дію бальнеотерапії неоднозначні і суперечливі. Слід гадати, це зумовлено специфікою патологічного процесу і/або його фазою, які накладають свій відбиток на імунологічну реактивність. Ставши на цю позицію, ми задалися метою провести порівняльний аналіз імунотропних ефектів на однорідних групах пацієнтів - ліквідаторах аварії на ЧАЕС з поєднаною хронічною патологією органів травлення і сечовиділення. Формування однорідних груп реалізовано методами факторного і кластерного аналізів. На першому етапі методом факторного аналізу проведена селекція показників, які тісно ($|r| > 0,7$) корелюють із першими двома головними компонентами. Із 40 визначуваних такими виявилися: відносний вміст $CD3^+$ -лімфоцитів, концентрація Igg G,A,M, титр неповних гетерофільних антитіл (ТНГАТ), індекс альтерації нейтрофілів нирковим антигеном, загальна антипротеазна та початкова протамінрозщеплювальна активності плазми, пов'язані із першою головною компонентою, а також відносний вміст нейтрофілів, котрі експресують поверхневі рецептори до C_{3b} -компонента комплементу і Fc-фрагмента IgG, їх фагоцитарна активність, показники спонтанного і активованого зимозаном тесту з нітросинім тетразолієм (НСТТ), які корелюють із другою головною компонентою. На другому етапі обстежений контингент методом k-means clustering було розділено на 4 кластери. Евклідові віддалі 52 членів I кластеру до його респективного центру склали 0,56-7,61; 4 членів II кластеру – 1,93-1,95; 66 членів III кластеру – 0,47-6,32 і 18 членів IV кластеру – 1,18-3,89. Натомість дистанції між цетрами I-II – 18,3; I-III – 4,5; I-IV – 9,4; II-III – 22,9; II-IV – 25,5; III-IV – 5,0. Отже, кластеризація проведена цілком коректно. Коефіцієнти F для параметрів, пов'язаних з першою головною компонентою, знаходяться в межах 3,9-5,1 ($p=0,013-0,004$), а з другою головною компонентою – в межах 106-135 ($p < 10^{-6}$).

З метою інтегральної оцінки використано розроблену трускавецькою науковою школою трирівневу методику.

На основі отриманих індексів побудовано профілі окремих ланок імунітету, які дозволяють виявити особливості образів-кластерів.

Виявлено, що характерною рисою імунного образу осіб I кластера, яка вирізняє їх з-поміж інших кластерів, є розміщення в середній зоні норми параметрів Т-супресорів і Т-кіллерів.