

ВОЗМОЖНОСТЬ КОРРЕКЦИИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ЖИВОТНЫХ С ПОМОЩЬЮ ПОВЫШЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ АМИНОКИСЛОТЫ L-ЛИЗИН В РАЦИОНЕ

The possibility of correction of the immunological status of animals with increasing the concentration of amino acid of l-lysine in the ration

Беляева М. В., студент,
Абрамов А. В., кандидат ветеринарных наук, доцент,
Уральский государственный аграрный университет
(620075, Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 42)

Рецензент: Беспамятных Е. Н., кандидат биологических наук, доцент.

Аннотация

Приведены современные систематизированные данные о действии аминокислоты L-лизин и ее метаболитов на иммунологическую реактивность организма и жизненно важные пластические процессы в анаболизме животных. Статья отражает начальный этап с предварительными выводами клинического исследования по типу случай-контроль на крысах линии Вистер и описывает план дальнейшей обработки результатов по принципам биологической статистики.

Ключевые слова: крысы, клиническое исследование, биологическая статистика, аминокислоты, L-лизин, иммунологическая реакция, пластические процессы, анаболизм.

Summary

It gives the modern systematized data about the effect of the amino acid L-lysine and its metabolites on the immunological reactivity of the organism and vital plastic processes in the anabolism of animals. The article reflects the initial phase of a case-control clinical research in Wister rats, and an analysis of the results-based working plan with the principles of biological statistics.

Key words: rats, clinical research, biological statistics, amino acids, L-lysine, immunological reaction, synthesis, anabolism.

Синтетический лизин применяют для обогащения кормов и пищевых продуктов уже давно, так как L-лизин является незаменимой аминокислотой для основных изучаемых в ветеринарии животных. Лизин (Aminoacid K; L-lysine) в природной L-форме входит в состав практически всех белков животного и растительного происхождения [1], поэтому она обязательна для роста, восстановления тканей и должна поступать в организм извне в необходимом количестве. Систематическое наименование: 2,6-диаминогексановая кислота, рациональная формула лизина: $C_6H_{14}N_2O_2$ [2]. L-Лизин моногидрохлорид (98-99 %) способствует интенсивному усвоению кормов и активному росту животных. В основном он необходим животным с однокамерным желудком - птицам и свиньям [12]. Основные сырьевые компоненты для производства лизина: меласса, кукурузный экстракт, соляная кислота, аммиачная вода, витамины, отруби, подсолнечный шрот, рыбная мука, мясокостная мука и рапс [12]. Так же промышленности ее получают путем микробиологического синтеза [3]. В связи с широким применением **актуальным** является глубокое изучение влияния L-лизина на биохимические и органные системы животных.

По результатам одних клинических исследований, лизин отнесен к возможным показателям белкового обмена, обладающим значительным влиянием на клеточный иммунитет при травматических повреждениях [4]. Запасы лизина могут сохраняться долгое время в организме [5]. В случае осложненного течения травматической болезни сначала

повышается относительное содержание L-лизина в сыворотке крови а дальше-резко снижается, что может говорить как о активном её потреблении, так и о быстром исчерпании метаболических резервов организма в отношении аминокислоты лизин. В объединённой группе пациентов с различным течением травматической болезни уровень лизина коррелировал с содержанием лимфоцитов, преимущественно CD8+ субпопуляцией лимфоцитов, и со спонтанной продукцией интерферона. Так методом канонического корреляционного анализа установлено, что самые низкие концентрации лизина в сыворотке крови обусловлено повышением факторов клеточного иммунитета [4] а недостаточное содержание L-лизина в организме может лимитировать развитие иммунного процесса [6]. В других источниках говорится, что лизин оказывает стимулирующее действие на фагоцитарную активность нейтрофилов, без изменения специфических показателей иммунного ответа [7]. В отсутствии неспецифического митогена фитогемаглютинина *in vitro* L-лизин вызывал умеренную пролиферацию лимфоцитов здоровых доноров в реакции бласттрансформации [8]. Таким образом, аминокислота L-лизин можно назвать адьювантом, модулирующим неспецифическую клеточную пролиферацию и фагоцитоз.

В настоящее время варианты аминокислотного состава разделены на пять категорий по их воздействию на организм животного: баланс, дефицит, дисбаланс, антагонизм и токсичность [9].

Цель исследования - проследить возможные изменения в развитии иммунного ответа организма на респираторное заболевание, повышение скорости развития и регенерации организма, а так же возможные изменения связанные с токсическим действием, при ежедневном добавлении перорально с водным раствором повышенной дозы кристаллического синтетического L-лизина.

Исследования проводились с 18.01.2017. по 15.02.2017 года на базе кафедры инфекционной и незаразной патологии Уральского ГАУ.

Материалы исследования:

1. Автоматический гематологический анализатор CellDyn 3700 Abbott (США).
2. Автоматическом биохимическом анализаторе ChemWell 2910 Combi (США) с реактивами Dialab (Австрия).
3. Пробирки с ЭДТА(для забора крови на ОАК и для подсчета лейкоформулы).
4. Пробирки с литий – гепарином (для забора крови на биохимический анализ).
5. Предметные лабораторные стекла.
6. Раствор Гимзы для окраски по Романовскому, фиксатор метиловый спирт.
7. Поляризационный микроскоп.
8. Кедровое масло иммерсионное.
9. Персональный компьютер, поддерживающий программы Statistica и Exel.

Данное оборудование, при имеющихся на данный момент возможностях Уральского ГАУ, способно в полной мере описать результаты клинических испытаний биологически активной добавки, в частности синтетический кристаллический L-лизин.

Методы исследования. План мероприятий напрямую зависит от типа исследования, который в свою очередь должен сочетаться с основной гипотезой, и учитывать материальные возможности экспериментатора. В эксперименте преследовалась цель рассмотреть причинно-следственные связи иммунной и общей регенеративной реакции организма при приеме синтетического L-лизина перорально в повышенных дозировках. Следовательно, нам подошла когортная структура исследования по типу случай-контроль. Оптимальными, по доступности и показательности, выбрали три контрольные точки с интервалом в две недели, по трем основным показателям: 1) вес животных, 2) ОАК с развернутой лейкоформулой и

3) биохимические показатели крови. Так же ежедневно замерялось количество выпитой жидкости (с исследуемым раствором лизина в воде у испытуемой группы и чистой воды у контрольной группы), количество съеденного корма и температура тела животных.

Для статистического анализа биомедицинских данных в настоящий момент существуют удобные приложения, как стандартные коммерческие статистические пакеты (например, SPSS, STATISTICA, MedCalc и др.), так и бесплатное программное обеспечение (например, пакет R, HierarchicalClusteringExplorer, Dendroscpe и др.) [11]. Мы заносили данные в Excel и на основании них строили графики по типу box-plot, высчитывали медиану и T-критерий Вилкоксона в программе STATISTICA.

Данное исследование по классификации является продольным (с многократным обследованием объекта), активным (с медицинским вмешательством), проспективным (группы сформированы в начале исследования) и выдвигающее гипотезу [11].

Постановка практического исследования. В начале опыта было создано четыре группы крыс по пять особей линии Вистер (чистота 90 %), массой от 150 до 200 г самцов в возрасте 1-1,5 месяца. Группы создавались по методу стратификационной рандомизации, для расчета общих доз корма и воды на пять крыс в клетке. А именно - сначала мы разделили крыс на пять групп по весу около 200г, 180г, 170г, 160г и 150г, а затем рандомно выбрали из каждой в новые сформированные группы по одной особи в клетку.

Интенсивность и характер воздействия фактора (а именно - добавки лизина) способ отмеривания, использующаяся в ходе эксперимента посуда, помещение, не изменялись в течении 4х недель длительности эксперимента, как и источник лизина использовали на протяжении опыта одну вскрытую упаковку. Что важно для снижения количества системных ошибок. В питьевой колбе на клетку разводилась рекомендуемая максимальная дозировка L-лизина в порошке на голову, умноженная на количество особей в клетке (общая начальная масса группы: 860 г, на 500 мл воды разводился 1г сухого вещества L-лизина, что составило в среднем 0,2 г на голову).

Первый забор крови 18.01.17. производился до формирования групп рандомной выборкой от пяти особей. Результаты показали повышенные показатели АлТ, АсТ и глюкозы а так же низкие показатели мочевины по биохимическому анализу крови, что указывает на нарушение нормальной работы печени и начавшиеся патологические катаболические процессы. Анализ был произведен для дальнейшей адекватной оценки качественных изменений.

Для аналитических срезов 01.02.17. и 15.02.17., как и до создания групп, забор крови у крыс проводился из подязычной вены, что приводило к резкому снижению аппетита на следующие три дня у контрольной группы и на один день у опытной, что могло свидетельствовать о быстрой регенерации повреждений, приводящих к неприятным ощущениям во время откусывания и пережевывания твердых кормов. Хотя не исключена большая вероятность системной ошибки связанной с недостаточной квалифицированностью исследователей при взятии крови.

Библиографический список

1. Якубке Х.-Д., Ешкайт Х. Аминокислоты, пептиды, белки: пер. с нем. М.: Мир, 1985. 456 с.
2. Кан Р., Дермер О. Введение в химическую номенклатуру. М.: Химия, 1983.
3. Справочник химика 21. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://chem21.info/info/150101/> (Дата обращения: 23.02.2018)

4. Вологжанин Д.А., Калинина Н.М., Сосюкин А.Е. и др. Метаболические основы формирования иммунной недостаточности при травматической болезни [Электронный ресурс] // Рос.биомед. журн. Medline. 2005. Т. 168, N 6. С. 597-625. Режим доступа <http://www.medline.ru>
5. Flodin N. W. The metabolic roles, pharmacology, and toxicology of lysine // J. Am. Coll. Nutr. 1997. Vol. 16, N 1.-P. 7-21.
6. Северьянова Л. А., Долгинцев М. Е. Современные представления о действии аминокислоты L-лизина на нервную и иммунную регуляторные системы // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2007. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/v/sovremennye-predstavleniya-o-deystvii-aminokisloty-l-lizina-na-nervnuyu-i-immunnuyu-regulyatornye-sistemy> (Дата обращения: 21.02.2018)
7. Белокрылов Г. А., Попова О. Я., Молчанова И. В. и др. Неоднозначность действия пептидов и составляющих их аминокислот на антителогенез и фагоцитарную активность нейтрофилов у мышей // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1991. Т. 111, № 1. С. 53-55.
8. Ракитянская И. А., Кучер А. Г., Абрамова Т. В. Оценка влияния некоторых аминокислот из состава соевого изолята на функциональное состояние клеток крови, лимфо- и гранулоцитопоеза in vitro // Нефрология. 2000. Т. 4. № 1. С. 59-62.
9. Омаров М. О. Динамика содержания нуклеиновых кислот и активность РНК-аз в печени крыс при имбалансе аминокислот // Сб. науч. трудов СКНИИЖ. Краснодар, 2006. С. 127-132.
10. Бекер В. Ф. Биохимия лизина и использование его препаратов в питании животных. Рига: Зинатне, 2006. 362 с.
11. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. М., МедиаСфера, 2006.
12. http://www.xn--77-6kcdjc7ccyoak3b.xn--p1ai/goods/84133398-1_lizin_monogidrokhlid_99