УДК 577.113.6:577.152

© 2007

З. Ю. Ткачук, Т. Г. Яковенко, Л. І. Семерникова, С. О. Шаповал, В. С. Артеменко

Вплив препаратів дріжджової РНК на репродуктивну здатність мишей

(Представлено академіком НАН України М. Ф. Шубою)

It is demonstrated that pellets of yeast RNA in optimal concentrations considerably increase the ability of females over 8 months to become pregnant; at the same time, the high indicators of young 5-month-old mice of BALB line are not influenced. The compound reliably increases the average number of baby mice in brood, does not influence the growth of sucker mice, and, at the same time, reliably influences the number of offsprings from young females. Various supplements in RNA pellets reliably increase the average number of baby mice in brood and the number of offsprings from young females.

Раніше нами було показано, що препарати на основі очищеної дріжджової РНК збільшують міграцію стовбурових клітин кісткового мозку у мишей [1], а також покращують показники крові у ссавців [2]. На основі дріжджової РНК нами запропоновано ряд комерційних препаратів для використання у медицині та ветеринарії [3, 4].

Останнім часом виникли проблеми з розмноженням тварин у племінних господарствах світу, що призводить до зростання собівартості тваринницької продукції.

Можна було припустити, що стимуляція міграції стовбурових клітин кісткового мозку сприятиме диференціації яйцеклітин та покращить репродуктивну активність тварин, а застосування препаратів дріжджової РНК при згодовуванні тваринам допоможе вирішити ряд проблем, які пов'язані з розмноженням тварин в індустріальних тваринницьких комплексах.

Запропоновані нами препарати очищеної дріжджової РНК були приготовлені у вигляді пелет, які забезпечують захист РНК від гідролізу та сприяють їх всмоктуванню тільки у визначеному регіоні кишечнику. Використана технологія приготування препарату очищеної дріжджової РНК забезпечує стійкість до нуклеаз при виробництві комбікормів та при травленні в шлунку. Крім того, пелетна форма РНК дає можливість отримати значний біологічний ефект при дуже низькій концентрації РНК у комбікормі, що істотно здешевлює його собівартість.

Матеріали та методи. У дослідах використовували мишей лінії BALB, вирощених у віварії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України. Було поставлено дві серії дослідів.

У першій серії досліди проводились на двох групах мишей різного віку: 5 і 8-місячних самок і самців. Кожна з цих груп була розділена на три варіанти: 1 варіант — контроль, в якому тваринам не давали препарати; у двох інших варіантах тваринам за 10 діб до схрещування перорально щодобово вводили пелети дріжджової РНК (X_1) у дозах 0,4 мг на тварину (варіант 2) і 2 мг на тварину (варіант 3), що становить відповідно 0,016 і 0,08 мг діючої речовини/г маси тварини. Через 10 діб самців підсаджували до самок у співвідношенні 1 : 4. На протязі всього досліду тваринам продовжували давати препарат X_1. На

16-ту добу вагітних самок відсаджували в окремі клітки і вели їх облік по варіантах. Після пологів підраховували кількість новонароджених мишенят у послідах. Через 20 діб після народження молодняк відсаджували від матерів, зважували і переводили на самостійне харчування. Цим мишенятам відповідно до варіанту вводили препарат X_1 у дозах 0,016 і 0,08 мг/г маси. Через 12 діб після відсадки молодняк знову зважували і визначали приріст маси за цей період.

Метою другої серії дослідів було вивчення і порівняння дії препаратів пелетів дріжджової РНК, виготовлених за різною технологією (X_1 та Y_2), на здатність до вагітності самок мишей та приріст маси молодняка. Ці препарати містять однакову діючу речовину — дріжджову РНК, але для створення оболонки пелет використовувались різні речовини. Досліди проводились на мишах лінії BALB, самці і самки 5-місячного віку. Тваринам вводили перорально вищеозначені препарати в дозі 0,08 мг діючої речовини/г маси тварини. Спостереження за тваринами і облік вагітних самок і новонароджених мишенят, а також приріст їх маси проводили аналогічно першій серії дослідів.

Результати та обговорення. Репродуктивна здатність тварин залежить від багатьох факторів і в першу чергу від генетичного статусу, якості кормів, сезону і особливо від їх віку. Тому на першому етапі ми визначали здатність до запліднення контрольних самок різного віку в умовах нашого досліду. Ми взяли в дослід самок 5-місячного віку, коли вони повинні максимально вступати в спарювання, і самок 8-місячного віку, коли ця здатність починає гальмуватись. Згідно з результатами досліду (табл. 1), самки мишей лінії BALB різного віку значно відрізняються здатністю до вагітності. Так, з двадцяти самок 5-місячного віку завагітніло 16 тварин, або 83%, а 8-місячного віку — лише 9 тварин, або 45%. У той же час середня кількість мишенят з розрахунку на одну самку у 5- і 8-місячних мишей майже однакова (див. табл. 1). Отже, з віком у мишей знижується їх здатність до вагітності, але не змінюється кількість мишенят у посліді.

У подальшому ми вивчали вплив дріжджової РНК X_1 у вказаних вище концентраціях на здатність до вагітності у самок мишей 5- і 8-місячного віку, тим самим нами визначені найбільш оптимальні концентрації препарату. Результати цієї серії дослідів (див. табл. 1) показали, що препарат РНК X_1 в обох застосованих дозах не впливає на здатність до вагітності молодих 5-місячних самок. Але у 8-місячних самок цей показник підвищується залежно від концентрації препарату: при концентрації 0,016 мг/г маси тварини — на 22% у порівнянні з контролем, при збільшенні концентрації до 0,08 мг/г маси тварини — на 42%.

Наступним кроком було вивчення впливу різних концентрацій препарату РНК X_1 на плодючість самок мишей різного віку. Показано (див. табл. 1), що у контрольному варіанті

Таблиця 1. Вплив препарату РНК X_1 на здатність до вагітності та плодючість мишей лінії BALB різного віку

Варіант	Вік самки, міс.	Кількість самок у варіанті	Кількість самок, що народили		Кількість новонароджених мишенят			
			шт.	%	усього	живих	мертвих	на самку ($M \pm m$)
Контроль	5	20	16	83	136	136	0	$8 \pm 0{,}51$
	8	20	9	45	70	70	0	$7{,}8 \pm 1{,}9$
РНК X_1, 0,016 мг/	5	22	18	82	160	144	16	$9 \pm 0{,}54$
г маси тварини	8	20	8	67	56	56	0	$7 \pm 1{,}2$
РНК X_1,0,08 мг/	5	19	16	84	163	155	8	$10 \pm 0{,}45$
г маси тварини	8	23	20	86	140	140	0	$7 \pm 0{,}62$

кількість новонароджених мишенят у групі молодих самок була вдвічі більшою, ніж у групі старих самок. Аналогічний результат отримано в групі мишей, яким давали в комбікорм препарат РНК X_1 у концентрації 0,016 мг/г маси тварин. При збільшенні концентрації препарату в п'ять разів (0,08 мг/г маси тварини) кількість мишенят відрізнялась менш ніж на третину (з розрахунку на 20 самок 171 мишеня для молодих та 121 мишеня для старих самок). Однак у групі молодих самок при різкому збільшенні народжених мишенят збільшувалась кількість мертвих мишенят: на 11% за дії низької концентрації препарату та на 5,1% за дії високої концентрації препарату. Таким чином, при введенні дріжджової РНК X_1 у концентрації 0,08 мг/г маси тварини істотно збільшувалась кількість живих мишенят як у молодих, так і старих самок.

На кількість новонароджених мишенят в перерахунку на одну самку препарат РНК X_1 в концентрації 0,016 мг/г маси тварини не впливав як у групі 5-, так і у групі 8-місячних мишей, такий же показник на рівні контролю відзначено і при застосуванні препарату в концентрації 0,08 мг/г маси тварини у 8-місячних самок. Однак середня кількість мишенят у посліді достовірно збільшилась у групі молодих самок при введенні препарату в концентрації 0,08 мг/г маси тварини. Отже, за показником середньої кількості мишенят у посліді оптимальною була концентрація РНК 0,08 мг/г маси тварини.

У цьому ж досліді вивчали вплив пелетів X_1 на приріст маси мишенят з народження до 32-добового віку. У табл. 2 подані результати зміни в масі підсисних мишенят віком до 20 діб і приріст маси через 12 діб після переведення їх на самостійне харчування із застосуванням препарату у вищеозначених дозах відповідно до варіанта. Аналіз даних табл. 2 показує, що препарат X_1 не впливав на приріст маси підсисних мишенят у порівнянні з контролем. Введення препарату молодняку, народженого 5-місячними самками, у дозі 0,08 мг/г маси мишеняти дало достовірне збільшення приросту на 1,5 г. В інших варіантах цей показник залишався на рівні контролю.

Таблиця 2. Вплив пелетів РНК X_1 на приріст маси підсисних мишенят і молодняка, $M \pm m$

Варіант	Вік самки, міс.	Маса новонароджених мишенят, г	Маса мишенят віком 20 діб, г	Приріст маси за 20 діб, г	Маса мишенят віком 32 доби, г	Приріст маси молодняка після відсадки (за 12 діб), г
Контроль	5	$1{,}54 \pm 0{,}02$	$8{,}6 \pm 0{,}46$	$7 \pm 0{,}7$	$13{,}5 \pm 0{,}62$	$4{,}9 \pm 0{,}17$
	8	$1{,}56 \pm 0{,}06$	10 ± 1	$8{,}18 \pm 0{,}71$	$15{,}3 \pm 0{,}53$	$5{,}34 \pm 0{,}42$
РНК X_1, 0,016 мг/	5	$1{,}49 \pm 0{,}03$	$7{,}2 \pm 0{,}42$	$6{,}1 \pm 0{,}2$	$12{,}5 \pm 0{,}67$	$5{,}4 \pm 0{,}62$
г маси тварини	8	$1{,}59 \pm 0{,}04$	$2{,}8 \pm 0{,}64$	$6{,}7 \pm 0{,}47$	$13{,}1 \pm 0{,}8$	$5{,}0 \pm 0{,}62$
РНК X_1, 0,08 мг/	5	$1{,}53 \pm 0{,}03$	$9 \pm 0{,}5$	$7{,}6 \pm 0{,}7$	$15{,}3 \pm 0{,}9$	$6{,}4 \pm 0{,}61$
г маси тварини	8	$1{,}61 \pm 0{,}04$	$8{,}6 \pm 0{,}35$	$7{,}04 \pm 0{,}3$	$13{,}7 \pm 0{,}38$	$6{,}0 \pm 0{,}69$

Таблиця 3. Вплив препаратів Y_2 і X_1 на здатність до вагітності самок мишей лінії BALB і середню величину приплоду

Препарат	Кількість самок у варіанті	Кількість самок, що народили		Кількість новонароджених мишенят			
		шт.	%	усього	живих	мертвих	на самку ($M \pm m$)
Контроль	20	19	95	142	142	0	$6{,}8 \pm 0{,}68$
РНК Y_2, 0,08 мг/г маси тварини	19	18	95	168	166	2	$9 \pm 0{,}8$
РНК X_1, 0,08 мг/г маси тварини	20	18	90	166	165	1	$10 \pm 0{,}51$

Таблиця 4. Вплив препаратів Y_2 і X_1 на приріст маси підсисних мишенят і молодняка, г, $M \pm m$

Препарат	Маса новонароджених мишенят	Маса мишенят віком 20 діб	Приріст маси за 20 діб	Маса мишенят віком 32 доби	Приріст маси молодняка після відсадки (за 12 діб)
Контроль	$1{,}5 \pm 0{,}05$	$6{,}4 \pm 0{,}55$	$4{,}9 \pm 0{,}12$	$11{,}5 \pm 0{,}7$	$5{,}1 \pm 0{,}5$
РНК Y_2, 0,08 мг/г маси тварин	$1{,}5 \pm 0{,}09$	$7{,}0 \pm 0{,}69$	$5{,}5 \pm 0{,}43$	$14 \pm 0{,}41$	$7{,}0 \pm 0{,}34$
РНК X_1, 0,08 мг/г маси тварин	$1{,}6 \pm 0{,}09$	$6{,}8 \pm 0{,}54$	$5{,}2 \pm 0{,}33$	$14{,}1 \pm 0{,}85$	$7{,}3 \pm 0{,}7$

У другій серії дослідів проводили порівняння дії мікрокапсульованих форм дріжджової РНК препаратів Y_2 і X_1 на ті ж показники, що і в першій серії. Встановлено, що препарати Y_2 і X_1 у дозі 0,08 мг/г маси тварини не впливають на здатність 5-місячних самок мишей до вагітності, але обидва препарати достовірно збільшують кількість мишенят у приплоді (табл. 3). Середня кількість новонароджених у приплоді в контрольному варіанті становила 6,8 мишенят на одну самку, тоді як у варіанті з препаратом Y_2 — 9, а у варіанті з препаратом X_1 10 мишенят на самку.

Середня маса підсисних мишенят (з народження до 20-добового віку) у контролі і в досліді майже не відрізнялась (відповідно 6,4; 7,0 і 6,8 г). Після переведення мишенят на самостійне харчування із застосуванням препаратів Y_2 і X_1 маса молодняка достовірно збільшилась в порівнянні з контролем у обох варіантах (табл. 4).

Проаналізувавши одержані результати дослідів можна зробити висновок, що препарат X_1 у дозах 0,016 і 0,08 мг/г маси тварини не впливає на здатність до вагітності самок мишей лінії BALB 5-місячного віку, але істотно впливає на цей показник у самок 8-місячного віку. Він достовірно підвищує середню кількість мишенят у посліді і не впливає на приріст маси підсисних мишенят, але достовірно впливає на приріст маси молодняка, народженого 5-місячними самками. Препарат Y_2 у дозі 0,08 мг/г маси тварини не впливає на здатність 5-місячних самок мишей до вагітності, але достовірно підвищує середню кількість мишенят у приплоді, не впливаючи на приріст маси підсисних мишенят, але збільшуючи приріст маси молодняка, отриманого від 5-місячних самок.

Таким чином, на основі одержаних експериментальних даних можна припустити, що препарати дріжджової РНК можуть бути використані в тваринництві для продовження репродуктивного віку цінних порід тварин і збільшення приплоду у багатоплідних видів.

Автори висловлюють вдячність М. М. Тимченко за допомогу в отриманні пелетів РНК X_1 та О. М. Беккерману за допомогу в отриманні пелетів Y_2.

1. *Ткачук З. Ю., Яковенко Т. Г.* Вплив препаратів дріжджової РНК на проліферацію стовбурових клітин кісткового мозку мишей при сингенній трансплантації // Доп. НАН України. – 2006. – № 12. – С. 161–166.
2. *Tkachuk Z.* Method of protecting erythrocytes, in particular for improvement of blood cytopenia // US Patent. – 2006. – № US 7, 153, 839. – P. 1–42.
3. *Нуклеїнат.* Реєстраційне посвідчення на лікарський засіб. № UA/2885/01/02 від 17.03.2005. – № 112.
4. *Кислота* рибонуклеїнова. Реєстраційне посвідчення на лікарський засіб. № UA/2810/01/01 від 14.03.2005. – № 106.

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ
ДП "БіоСел", Київ

Надійшло до редакції 21.02.2007