

УДК 636.4.087.72: 619: 611

К ВОПРОСУ О МЕТОДИКЕ ИЗУЧЕНИЯ ВОПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ МЫШЕЙ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КРЕМНИЙСОДЕРЖАЩИХ ДОБАВОК

*Ильинская М.А., аспирант
Дежаткина С.В., доктор биологических наук, профессор
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: кремниевая кислота, лабораторные животные, мыши, добавка.

В работе рассматривается один из путей возможного решения проблемы воспроизводства лабораторных мышей за счёт применения кремнийсодержащих добавок. Представлены материалы позволяющий подобрать методику изучения влияния кремнийсодержащих добавок на фертильность аутбредных и линейных лабораторных мышей. Выявлено положительное влияние добавки на основе активированного цеолита на морфологический состав крови крыс.

К кремнийсодержащим минералам относят такие, как кварц, слюда, полевоы шпат, диамитовая глина, базальт, аметист, горный хрусталь, опал, глина, суглинок, алюмосиликаты, цеолит клиноптилолит, монтмориллонит и другие [8-9]. Основную роль в них играет кремниевая кислота – SiO_2 , доказано [6-7], что она оказывает разнообразное действие на живой организм: её кристаллы функционируют как живые субстанции, определённый порядок их построения позволяет отдавать или присоединять различные элементы, как у живых систем; выполняет регулятивные, информационно-функциональные и лечебные функции; адсорбирует аминокислоты, углеводороды и природные соединения, органические вещества; принимает участие в синтезе ДНК, в образовании генов; способна излучать высокочастотные радиоволны вследствие определённого колебательного состояния; способность к гиратации, то есть может впитывать и выводить из соединительной ткани воду при необходимости.

В организме животного молекулы кремниевой кислоты SiO_2 , благодаря строению и свойствам способны связывать протеины и включаться в биосинтез белков. Стимулируют процессы обновления соединительной ткани, участвуют в формировании эмбриона, обеспечивая его рост [10-11].

Исходя из выше изложенного, целью работы стало изучение влияние добавок на основе кремнийсодержащих минералов (обогащённых и активированных цеолитов) на организм и воспроизводительные способности лабораторных животных.

Лабораторная мышь играет все более важную роль и представляет все больший интерес в биомедицинских и доклинических исследованиях. Благодаря мутагенезу, трансгенным и генно-таргетным технологиям число доступных моделей исследований, воспроизводимых на мышах растёт. С тем самым растёт и необходимость воспроизводства все нового и высокопродуктивного поголовья [1]. Чтобы правильно управлять воспроизводством мышей, необходимо понимание основ репродуктивной биологии мышей.

Сделаем акцент на такой показатель, как половая зрелость. Как правило, лабораторные мыши становятся половозрелыми в возрасте от пяти до восьми недель [2]. Самцы большинства линий обычно достигают половой зрелости к шести неделям. К высокопродуктивным линиям можно отнести DBA/2J (000671) и C3H/HeJ (000659), самки данных линий могут забеременеть, в возрасте 23 дней [3]. Однако мыши, выведенные так рано, обычно производят небольшие пометы. Поэтому рекомендуется спаривать мышей, когда им от шести до восьми недель.

Рассматривая параметр репродуктивной продолжительности жизни, можно пояснить, что лабораторные мыши могут размножаться около семи-восьми месяцев, производя четыре или более пометов. Однако некоторые линии производят только один или два помета, потому что специфические характеристики штамма или мутантный фенотип влияют на их плодовитость [4]. У мышей AKR/J (000648) часто развивается лейкемия, и обычно приходится заменять племенное ядро, когда им исполняется около шести месяцев. Мыши C3H/HeJ могут рано прекратить размножение, потому что у них высокая частота возникновения кист и опухолей яичников. NOD/ShiLtJ (001976) у самок может развиваться диабет в возрасте 12 недель, но их репродуктивная жизнь может быть продлена с помощью инъекций адьюванта Фрейнда [4]. Плодовитость инбредных штаммов различна. Например, в то время как почти все размножающиеся пары мышей C3HeB/FeJ (000658) фертильны, у мышей линии C57L/J (000668) яловость достигает 50 и более процентов [4, 5].

Период беременности лабораторных мышей, как правило, постоянен в пределах одной линии и составляет примерно 18-24 день [1-4].

Период генерации у лабораторных мышей составляет около 12 недель: ~три недели беременности, три-четыре недели кормления грудью и две-три недели до половой зрелости [1, 5]. Размер помета варьируется между линиями, варьируя примерно от двух до трех щенков/помет в некоторых плохо размножающихся породах, до 12 или более щенков на помет в штаммах FVB/NJ (001800) и NOD/ShiLtJ (001976). Отъем, в контексте разведения мышей, как правило, следует осуществлять в возрасте не менее 21 дня от рождения, однако может варьировать от линии [1, 4, 5].

Однако повышение качества потомства, его количество и выживаемость остается актуальной проблемой зоотехнии лабораторных мышей и по сей день. В отечественной и зарубежной литературе, встречаются упоминания о благотворном влиянии кремнийсодержащих добавок на организм сельскохозяйственных животных [6-12], однако малоизученно влияние добавок на основе этих минералов на организм и функцию воспроизводства у лабораторных мышей, поэтому данная тематика является благоприятной зоной для исследования. Нами разработана схема-дизайн испытания кремнийсодержащих добавок на лабораторных мышах (таблица 1).

Для установления влияния кремнийсодержащих добавок, как на организм половозрелых животных, так и на их щенков, предлагаем произвести манипуляции, согласно таблице 2.

Проведение данного спектра исследований, позволит нам установить влияние кремнийсодержащих добавок на фертильность мышей.

Нами проведены предварительные испытания по изучению влияния кремнийсодержащей добавки на основе активированного цеолита на гематологические параметры лабораторных крыс. Для этого организовали физиологический опыт и сформировали две группы крыс-аналогов по 10 в каждой. Добавку вводили в их суточный рацион в количестве 2 % от массы корма. Первая группа – контроль получала только суточный рацион, второй группе дополнительно в рацион включали кремнийсодержащую добавку.

Анализируя полученные данные, можно отметить, что в группе с применением добавки общее состояние лабораторных животных было стабильным. Выявлено положительное влияние добавки на основе активированного цеолита на морфологический состав крови крыс (таблица 3). Это проявилось повышением показателей красной крови: числа эритроцитов на 6,1 % и содержания гемоглобина на 4,7 % по сравнению с контролем. В целом, говорит об улучшении дыхательной функции крови.

Таблица 1 – Схема-дизайн эксперимента

| № группы | Количество животных | | Объект для введения | Способ и схема введения | Число животных | | |
|----------|---------------------|--------|----------------------|--|--|--|--|
| | Самцы# | Самки* | | | Эвтаназия самцов по окончании периода спаривания | Эвтаназия самок на 20-21-й день беременности | Роды и наблюдения за развитием потомства |
| 1 | 10 | – | Контрольное вещество | Внутрижелудочное введение – ежедневно в течение 48 дней до спаривания. самки – ежедневно в течение 15-ти дней до спаривания. | 10 | – | – |
| | – | 20 | | | – | 10 | 10 |
| 2 | 10 | – | Тестируемый препарат | | 10 | – | – |
| | – | 20 | (интактные) | | – | 10 | 10 |
| 3 | 10 | – | Тестируемый препарат | | 10 | – | – |
| | – | 20 | (интактные) | | – | 10 | 10 |
| 4 | 10 | – | (интактные) | | – | – | – |
| | – | 20 | Тестируемый препарат | | – | 10 | 10 |
| 5 | 10 | – | (интактные) | | – | – | – |
| | – | 20 | Тестируемый препарат | | – | 10 | 10 |

Примечания:

– по окончании периода спаривания интактные самцы мышей групп №№ 4 и 5 будут переданы в ветеринарную службу;

* – число оплодотворенных самок в эксперименте, а также число животных на каждый из этапов (эвтаназия и роды) может отличаться от указанного в таблице в силу естественных причин. Неоплодотворенные самки мышей групп № 1, 2 и 3 будут переданы в ветеринарную службу.

Таблица 2 – График манипуляций

| Манипуляции | Дни эксперимента |
|--|--|
| Введение тестируемого препарата | с 1-го по 48-й дни – самцам, с 34-го по 48-й дни – самкам |
| Регистрация массы тела животных, получающих тестируемый препарат | Еженедельно |
| Клинический осмотр животных, получающих тестируемый препарат | Еженедельно |
| Клиническое наблюдение за животными, получающими тестируемый препарат | с 1-го по 48-й день (самцы) с 34-го по 48-й дни (самки) |
| Процедура спаривания | 49-62-й дни |
| Определение дня беременности | с 50-го по 62-й дни |
| Взвешивание беременных самок мышей | 1-3-й, 10-11-й и 16-19-й дни беременности |
| Эвтаназия самцов групп №1, 2 и 3 | 63-й день |
| Анализ спермограммы самцов групп №1, 2 и 3 | 63-й день |
| Оценка индивидуального поведения беременных самок перед эвтаназией | 18–19-й день беременности |
| Эвтаназия 50% беременных самок каждой группы и оценка эффективности оплодотворения | 20–21-й день беременности |
| Наблюдение за потомством | 71–120-й дни |
| Эвтаназия потомства | 121-й день эксперимента |

Таблица 3 – Морфологический состав крови крыс при использовании добавки на основе активированного цеолита

| Показатели | Группа лабораторных крыс | |
|-------------------------|--------------------------|--|
| | I – контроль (OP) | 2 – опыт (OP+ добавка активированного цеолита) |
| Эритроциты, $10^{12}/л$ | $7,37 \pm 0,09$ | $7,82 \pm 0,09$ |
| Гемоглобин, г/л | $145,6 \pm 2,46$ | $152,4 \pm 1,21^*$ |
| Лейкоциты, $10^9/л$ | $9,62 \pm 0,20$ | $9,62 \pm 0,21$ |

Примечание: * – ($p < 0.05$) по сравнению с соответствующим показателем в контроле

Таким образом, не выявлено отрицательного влияния кремний-содержащей добавки основе активированного цеолита на организм

и морфологический состав крови лабораторных животных, что даёт основание для дальнейшего изучения, вследствие достижения новых целей.

Библиографический список:

1. Макарова М.Н., Ильинская М.А. Зоотехнические особенности воспроизводства мышей линии balb/c //Лабораторные животные для научных исследований, 2020. № 1. С. 29-41.
2. Sarsani V. K., Raghupathy N., Fiddes I.T, Armstrong J., Thibaud-Nissen F., Zinder O., Reinholdt L.G. The genome of C57BL/6J “Eve”, the mother of the laboratory mouse genome reference strain //Genes, Genomes, Genetics, 2019. V. 9. №. 6. P. 1795-1805.
3. Mc Kerchar T. L., Zarcone T.J., Fowler S.C. Use of a force-plate actometer for detecting and quantifying vertical leaping induced by amphetamine in BALB/cJ mice, but not in C57BL/6J, DBA/2J, 129X1/SvJ, C3H/HeJ, and CD-1 mice //Journal of neuroscience methods, 2006. V. 153. №. 1. P. 48-54.
4. Zhu Y., Lin Y., He Y., Wang H., Chen S., Li Z., Sun F. Deletion of lncRNA5512 has no effect on spermatogenesis and reproduction in mice //Reproduction, Fertility and Development, 2020. T. 32. №. 7. С. 706-713.
5. Gougoula C, Bielfeld A.P., Pour S.J., Krüssel J.S., Götte M., Benten W.P.M., Baston-Büst D.M. Physiological and anatomical aspects of the reproduction of mice with reduced Syndecan-1 expression //Reproductive Biology and Endocrinology, 2019. V. 17. №. 1. P. 1-12.
6. Дежаткина С., Шаронина Н., Зялалов Ш. Диатомит – источник легкодоступного кремния //Животноводство России, 2021. № 2. С. 41-42.
7. Hecht K. Heilung von Natur und Tierwelt durch die Anwendung des Naturzeoliths. Spurbuchverlag: Baunach, 2017. 162 p.
8. Shlenkina T.M., Lyubin N.A., Dezhatkina S.V., Sveshnikova E.V., Fasahutdinova A.N., Dezhatkin M.E. The use of sedimentary zeolite for fattening pigs. Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences, 2019. N 12 (96). С. 287-292.
9. Любин Н.А., Ахметова В.В. Цеолиты Сиуч-Юшанского месторождения в улучшении физиологических функций и повышении продуктивных качеств молочных коров: монография. Ульяновск: УлГАУ, 2018. 170 с.
10. Ахметова В.В. Изменение интенсивности белкового обмена у поросят в период дорастивания под влиянием цитратцеолитовой подкормки // Всероссийская (национальная) научная конференция:

Роль аграрной науки в устойчивом развитии сельских территорий. Новосибирск, 2017. 186-189.

11. Шленкина Т.М., Любин Н.А., Ахметова В.В., Пульчеровская Л.П. Изменение индексов макроморфометрии бедренной кости свиньи под воздействием минеральных добавок //Ученые записки Казанской Государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана, 2019, Т. 240. №4. С. 214–219.
12. Фролов А.И., Филиппова О.Б., Лобков В.Ю. Влияние глауконитового концентрата на рост, эритропоз и вывод тяжелых металлов при выращивании телят //Вестник АПК Верхневолжья, 2011. № 3. С. 32-38.

ON THE QUESTION OF THE METHOD OF STUDYING THE PRODUCTIVE ABILITIES OF MICE WHEN USING SILICON-CONTAINING ADDITIVES

Ilynskaya M.A., Dezhatkina S.V.

Key words: *silicic acid, laboratory animals, mice, additive.*

The paper considers one of the ways to solve the problem of reproduction of laboratory mice by using silicon-containing additives. Materials are presented that allow us to choose a method for studying the effect of silicon-containing additives on the fertility of outbred and linear laboratory mice. The positive effect of the additive based on activated zeolite on the morphological composition of rat blood was revealed.