

УДК: 577.112.85:57.083.3:591.16:631.528.6:633.34

БІОЛОГІЧНИЙ ВПЛИВ РІЗНОЇ КІЛЬКОСТІ БОБІВ СОЇ ТРАДИЦІЙНОГО ТА ТРАНСГЕННОГО СОРТУ У РАЦІОНІ НА ОРГАНІЗМ САМОК ЩУРІВ ДРУГОГО ПОКОЛІННЯ

О. П. Долайчук, Р. С. Федорук
Dolaychuk@gmail.com

Інститут біології тварин НААН, лабораторія екологічної фізіології та якості продукції,
Україна, м. Львів, 79034, вул. В. Стуса, 38

Незважаючи на багаторічний досвід використання кормів з ГМ рослин, у тому числі соєвих, залишаються не повністю з'ясованими механізми їх фізіологічного впливу на організм, зокрема на імунобіологічний статус, репродуктивну функцію, детоксикаційні процеси, ріст і розвиток організму в динаміці поколінь, що й обумовило вибір напрямку наших досліджень. Соя як нативного, так і трансгенного сорту містить велику кількість біологічно активних речовин, вплив яких є дозозалежним, тому в завдання наших досліджень входило також вивчення впливу різної кількості сої у раціоні щурів. У статті наведені результати досліджень фізіологічного стану самок щурів другого покоління за умов згодовування їм та їхнім матерям бобів натуральної та генетично модифікованої сої у кількості 30 та 50 % за поживністю раціону. Вплив сої проявлявся підвищенням у крові рівня досліджуваних глікопротеїнових та імунологічних показників, що свідчить про активацію імунної системи і може бути пов'язано з аліментарним складом сої та

наявністю в ній біологічно активних речовин з імуностимулюючою дією. Результати визначення фракцій фенолів свідчать про напруження детоксикаційних процесів в організмі тварин дослідних груп. Згодовування бобів натуральної та генетично модифікованої сої самкам щурів (F2) негативно вплинуло на їх фертильність, що може бути зумовлено залишковою активністю ізофлавононів у насінні сої, які володіють естрогенною дією. Згодовування бобів сої самкам дослідних груп пригнічує життєздатність приплоду у перші 2 місяці життя, що більше виражено для груп тварин, яким згодовували ГМ сою, і може бути зумовлено кумуляцією в бобах та негативною дією гербіциду гліфосату в їхньому організмі.

Ключові слова: ГЛІКОПРОТЕЇНИ;
ЦИРКУЛЮЮЧІ ІМУННІ КОМПЛЕКСИ;
МОЛЕКУЛИ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ;
АМІНОТРАНСФЕРАЗНА АКТИВНІСТЬ;
СОЯ; ГМО

BIOLOGICAL EFFECTS OF DIFFERENT LEVELS OF SOYBEANS CONVENTIONAL AND TRANSGENIC VARIETIES IN THE SECOND-GENERATION FEMALE RATS RATION

O. P. Dolaychuk, R. S. Fedoruk
Dolaychuk@gmail.com

NAAS Institute of Animal Biology, Laboratory of ecological physiology and quality of
productions, Ukraine, Lviv, 79034, str. Vasyl Stus, 38

Despite many years of experience in the use of feed from GM plants, including soybean, are not fully elucidated the mechanisms of their physiological effects on the organism, particularly on the immunobiological status, reproductive function, detoxification processes, growth and

development of an organism in the dynamics of generations, and that led to choice of direction of our research. Soybean both native and transgenic varieties contains many biologically active compounds whose effects are dose-dependent, so our task was to research and study the effect of

different amounts of soy in the rats ration. The results of studies of the physiological state of the second-generation female rats under conditions of feeding them and their mothers natural and genetically modified soybeans in an amount of 30 and 50 % of the nutritional value of the ration. Effect of soy manifested an increase in blood levels of the investigated glycoprotein and immunological parameters, indicating the activation of immune system and may be caused by nutritional composition of soybean and the presence in it of biologically active compounds with the immunostimulatory effects. The results of determination of phenols fractions indicate tension of detoxification processes in the organism animals of research groups. Feeding conventional or genetically modified soybean female rats (F2)

adversely affect their fertility, which may be due to the residual activity of isoflavones in soybean having estrogenic activity. Feeding soybeans females research groups inhibits the viability of offspring in the first 2 months of life, which is more expressed for the group of animals fed GM soy and may be caused by the accumulation in beans and negative influence of the herbicide glyphosate in their body.

Keywords: GLYCOPROTEINS;
CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES;
MOLECULES OF AVERAGE WEIGHT;
AMINOTRANSFERASE ACTIVITY;
SOYBEANS; GMO

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНОГО КОЛИЧЕСТВА БОБОВ СОИ ТРАДИЦИОННОГО И ТРАНСГЕННОГО СОРТОВ В РАЦИОНЕ НА ОРГАНИЗМ САМОК КРЫС ВТОРОГО ПОКОЛЕНИЯ

О. П. Долайчук, Р.С. Федорук
Dolaychuk@gmail.com

Институт биологии животных НААН, лаборатория экологической физиологии и качества продукции, Украина, г. Львов, 79034, ул. В. Стуса, 38

Несмотря на многолетний опыт использования кормов из ГМ-растений, в том числе соевых, остаются не полностью выясненными механизмы их физиологического воздействия на организм, в частности на иммунобиологический статус, репродуктивную функцию, дезинтоксикационные процессы, рост и развитие организма в динамике поколений, что и обусловило выбор направления наших исследований. Соя как нативного, так и трансгенного сорта содержит большое количество биологически активных веществ, воздействие которых является дозозависимым, поэтому в задачи наших исследований входило также изучение влияния различного количества сои в рационе крыс. В статье приведены результаты исследований физиологического состояния самок крыс второго поколения в условиях скормливания им и их матерям бобов натуральной и генетически модифицированной сои в количестве 30 и 50 % от питательности рациона. Влияние сои проявлялось повышением в крови уровня исследуемых гликопротеиновых и иммунологических показателей, что свидетельствует об активации иммунной

системы и может быть связано с алиментарным составом сои и наличием в ней биологически активных веществ с иммуностимулирующим действием. Результаты определения фракций фенолов свидетельствуют о напряжении дезинтоксикационных процессов в организме животных опытных групп. Скармливание бобов натуральной и генетически модифицированной сои самкам крыс (F2) отрицательно повлияло на их фертильность, что может быть обусловлено остаточной активностью изофлавонов в семенах сои, обладающих эстрогенным действием. Скармливание бобов сои самкам опытных групп подавляет жизнеспособность приплода в первые 2 месяца жизни, что более выражено для групп животных, которым скармливали ГМ сою и может обуславливаться также кумуляцией в бобах и негативным действием гербицида глифосата в их организме.

Ключевые слова:
ГЛИКОПРОТЕИНЫ; ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ
ИММУННЫЕ КОМПЛЕКСЫ;

МОЛЕКУЛЫ СРЕДНЕЙ МАССЫ; АМИНОТРАНСФЕРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ; СОЯ; ГМО

У результаті значного прогресу у біотехнології, в останні роки все більше сільськогосподарських культур і сировини, отриманої з генетично модифікованих організмів, у тому числі сої, входять до складу кормів і продуктів харчування. Наявні дані літератури свідчать як про негативний [1, 2], так і позитивний [3, 4] вплив кормів, до складу яких входять ГМ рослини, на організм ссавців, або їх відсутність [5, 6]. Отже, незважаючи на тривале використання ГМО, їх вплив на організм тварин є неоднозначним і недостатньо вивченим. У світовій літературі розгорнулася гостра дискусія про обґрунтованість декларованих ризиків застосування ГМО. Серед можливих харчових ризиків використання ГМО виділяють: безпосередню дію токсичних і алергенних трансгенних білків, плейотропну дію трансгенних білків на метаболізм рослин, накопичення гербіцидів та їх метаболітів у стійких сортах і видах сільськогосподарських рослин, а також горизонтальне перенесення трансгенних конструкцій, у першу чергу, в геном симбіонтних для людини і тварин бактерій (*E. coli*, *Lactobacillus (acidophilus, bifidus, bulgaricus, caucasicus)*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium* та ін.). Актуальними є дослідження, що вивчають вплив кормів з ГМО на організм у динаміці поколінь, так як це дає змогу оцінити вплив експериментальних раціонів на стан як уже сформованих життєво важливих функцій організму, так і впродовж їх становлення у процесі онтогенезу, що і обумовило вибір напрямку наших досліджень.

Матеріали і методи

Для досліджень використовували боби сої генетично модифікованого сорту лінії GTS 40-3-2 («Monsanto Canada Inc.»), яка становить 2/3 від загальної площі посівів трансгенної сої [7]. Лінія сої GTS

40-3-2 стійка до дії гербіцидів, що містять гліфосат, завдяки вставці гліфосат-стійкої форми гену, ферменту 5-enolpyruvylshikimat-3-phosphate synthase (EPSPS). Гліфосат-стійка форма гену EPSPS була виділена з штаму CP4 бактерії *Agrobacterium tumifaciens* і введена в геном лінії сої A5403 [8].

Також у наших дослідженнях було використано сою традиційного вітчизняного сорту Чернівецька 9, яка не була генетично модифікованою. За даними літератури соя сорту Чернівецька 9 за хімічним, амінокислотним і жирнокислотним складом композиційно еквівалентна генетично модифікованому гліфосат-стійкому сорту сої лінії GTS 40-3-2. Виявлені за окремими показниками різниці знаходяться у межах біологічної норми [9].

Дослідження проведені у віварії Інституту біології тварин НААН на 5 групах самок білих щурів другого покоління. Самки (F2) формувались у групи у віці двох місяців (після відлучення) з приплоду відповідних груп батьківського покоління. I (контрольна) група формувалась із самок щурів другого покоління, з приплоду щурів цієї ж групи попередніх поколінь (F0 та F1) та залишалась на тому ж раціоні, що включав стандартний гранульований комбікорм із заміною 30 % його поживності насінням натурального соняшника. Тварини II та III дослідних груп залишалися на раціоні попередніх поколінь (F0 та F1), із заміною 30 % за його поживністю на боби нативної та трансгенної сої, а тварини IV та V дослідних груп із підвищенням кількості бобів сої відповідного сорту до 50 % за поживністю раціону. Перед згодовуванням соя проходила термічну обробку (сухе прожарювання) при температурі 140 °С, протягом 2 год, для знешкодження антипоживних речовин та зниження уреазної активності. Через 2 місяці після початку згодовування дослідних кормів з сої, самок (F2) всіх груп було спаровано для оцінки репродуктивної здатності та постнатального розвитку їх приплоду. На

цьому етапі проводилась оцінка репродуктивної функції за фертильністю самок, що була виражена в процентному співвідношенні запліднених самок до загальної кількості спарованих самок. Визначення плідного та постнатального розвитку організмів проводили за числом мертвих і живих плодів та динамікою росту тварин протягом перших двох місяців життя. Після відлучення приплоду самки (F2) піддавалися евтаназії та наступній декапітації для відбору крові та тканин для фізіолого-біохімічних досліджень з визначенням морфомасетричних показників їх внутрішніх органів. Евтаназію проводили під легким ефірним наркозом, без порушень норм гуманного поводження з лабораторними тваринами, з врахуванням загальноприйнятих біоетичних норм і дотримання міжнародних положень стосовно проведення експериментальних робіт на хребетних тваринах [10].

У крові досліджували кількість еритроцитів і лейкоцитів, концентрацію гемоглобіну, загального білка, вміст фукози, гексоз, зв'язаних з білками, сероглікоїдів, сіалових кислот, церулоплазміну, гаптоглобіну, молекул середньої маси [11] та циркулюючих імунних комплексів [12]. Також визначали аланін- та аспартаттрансаміназу активність крові, тканин серця і печінки. У тканинах м'язів, нирок і печінки визначали вміст фракцій фенолів для вивчення перебігу дезінтоксикаційних процесів [11]. Цифрові дані опрацьовані статистично з використанням t критерію Стьюдента та комп'ютерної програми Excel.

Результати й обговорення

Важливими щодо фізіологічного стану організму, але недостатньо вивченими за впливу компонентів корму трансгенних рослин є глікопротеїнові показники крові тварин і людини. Особливості функціонування глікопротеїнів у значній мірі обумовлені складом і стереохімічною конфігурацією

вуглеводної частини їх молекули. Вуглеводи, які знаходяться на поверхні клітин організму, беруть участь в їх взаємодії з бактеріями, вірусами, токсинами тощо, визначаючи тим самим їх міграцію та функціонування. Зміна структури вуглеводних компонентів глікопротеїнів може стати причиною модифікації міжклітинної взаємодії, що, в свою чергу, визначає адгезивні властивості, імуногенність клітин, рецепторний статус, доступність білків до дії протеолітичних ферментів. Глікопротеїни крові, як і глікопротеїни шлунково-кишкового тракту, відіграють важливу роль в імунній відповіді організму, що має важливе значення за умов надходження в організм антипоживних речовин, у тому числі з генетично модифікованих рослин [13, 14]. Результати наших досліджень показали вірогідне підвищення досліджуваних глікопротеїнів та їх вуглеводних компонентів у крові самок щурів (F2) III, IV та V груп, що було більш виражено для щурів, до раціону яких входила ГМ соя у кількості 50 % за поживністю раціону (табл. 1). У крові тварин II групи було відмічено вірогідно вищий вміст гексоз, зв'язаних з білками (5,1 %), гаптоглобіну (10,7 %) та церулоплазміну (7,8 %) порівняно до контролю, в той час як концентрація фукози, сіалових кислот і сероглікоїдів залишалася практично без змін. У крові тварин IV групи спостерігалися подібні зміни рівня глікопротеїнів, проте з вищою вірогідністю. Зокрема, вміст гексоз, зв'язаних з білками, зростав на 15,4 %, гаптоглобіну на 17,9 % та церулоплазміну на 20,8 % порівняно до контролю. Збільшення кількості нативної сої до 50 % за поживністю раціону для щурів IV групи викликало вірогідне підвищення і тих показників, що не прореагували на її меншу кількість, зокрема рівень сіалових кислот зростав на 8,4 % і сероглікоїдів на 33 % порівняно до контролю. Як видно з даних таблиці 1, рівень глікопротеїнів, за винятком сероглікоїдів, та їх вуглеводних компонентів за згодовування бобів

трансгенної сої зростав у крові самок щурів (F2) III та V груп, які отримували її у кількості 30 та 50 % від поживності раціону. Однак, для тварин V групи ці зміни були більше вираженими за окремими показниками. Зокрема, у крові тварин III групи зростала концентрація всіх досліджуваних вуглеводних компонентів глікопротеїнів — гексоз, зв'язаних з білками (15,4 %), фукози (4,6 %) та сіалових кислот (4,0 %). Вміст сероглікоїдів вірогідно не відрізнявся від їх рівня у крові тварин контрольної групи, в той час як вміст гаптоглобіну та церулоплазміну

зростав у 1,1 раза порівняно до контролю. За збільшення кількості трансгенної сої до 50 % за поживністю раціону для тварин V групи концентрація гексоз, зв'язаних з білками, фукози та сіалових кислот зростала на 15,4; 8,4 та 15,8 % відповідно, порівняно до контролю. Рівень сероглікоїдів, гаптоглобіну та церулоплазміну у крові самок щурів (F2), до раціону яких входила ГМ соя у кількості 50 % за поживністю раціону, перевищував ці показники крові тварин контрольної групи в 1,5; 1,2 та 1,3 раза відповідно.

Таблиця 1

Глікопротеїнові показники крові самок щурів (F2) за умов згодовування різної кількості бобів нативної та трансгенної сої (M±m, n=4)

Група	Гексози, зв'язані з білками, г/л	Фукоза, мг%	Сіалові кислоти, у.о.	Сероглікоїди, г/л	Гаптоглобін, г/л	Церулоплазмін, у.о.
I	1,3±0,02	10,7±0,07	90,7±0,80	0,12±0,008	2,8±0,01	247,7±0,67
II	1,4±0,02*	10,4±0,14	93,3±1,33	0,12±0,005	3,1±0,01***	267,0±0,58***
III	1,5±0,02**	11,2±0,15*	94,3±1,05*	0,14±0,005	3,2±0,02***	279,3±0,42***
IV	1,5±0,01***	10,8±0,16	98,3±1,03**	0,16±0,008*	3,3±0,02***	299,3±0,70***
V	1,5±0,01***	11,6±0,12***	105,0±1,08***	0,18±0,009**	3,4±0,01***	311,7±0,80***

Примітка: у цій та наступних таблицях різниця статистично вірогідна порівняно з першою (контрольною) групою * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$

Підвищення рівня глікопротеїнових показників у крові тварин дослідних груп, що було менше виражено для тварин II групи, вказує на активацію імунної системи їх організму. Зокрема, враховуючи, що глікозилізовані імунні молекули відіграють важливу роль у забезпеченні імунного захисту, вміст вуглеводних компонентів глікопротеїнів відображає реактивність організму [13–16]. Підвищення активності імунної системи, що відображає вищий рівень у крові тварин глікопротеїнових показників у межах фізіологічної норми, може бути пов'язано з компонентним складом бобів сої та наявністю в них біологічно активних речовин з імуностимулюючою дією. Серед досліджуваних показників крові найактивніше прореагували гаптоглобін і церулоплазмін. Ці глікопротеїни, окрім імунної функції, відіграють важливу роль в обміні заліза в організмі та функціонуванні антиоксидантної системи. Зокрема,

комплекс Нр-Нв володіє пероксидазною активністю та може гальмувати процеси перекисного окиснення ліпідів, а церулоплазмін, у свою чергу, проявляє цей ефект через здатність інгібувати активні форми кисню [17].

Отримані результати щодо вмісту глікопротеїнів підтверджуються також вищою концентрацією циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), молекул середньої маси (МСМ) та загального білка у крові самок щурів (F2) дослідних груп порівняно до контролю (табл. 2). Тенденція до вищого рівня ЦІК спостерігалася у крові тварин усіх дослідних груп, проте вірогідними міжгрупові різниці були для тварин, яким згодовували 50 % ГМ сої. У той час як рівень молекул середньої маси зростав на 17,1 % ($p < 0,001$) у крові тварин III та V груп і на 8,6 % ($p < 0,01$) у крові тварин IV групи. Як і при дослідженні глікопротеїнових показників, зростання вмісту ЦІК, МСМ та загального білка було

більш вираженим для груп із вищим вмістом сої обох сортів у раціоні (50 %). Відмінний вплив нативної та трансгенної сої у кількості як 30 %, так і 50 % від поживності раціону, на перебіг обмінних та окисних процесів, а також на функціонування імунної системи, може бути зумовлений як вищою алергенністю трансгенного білка та залишковою кількістю гербіциду, за стійкістю до якого модифікована соя, так і відмінною концентрацією в цих бобах фітоестрогенів, які за літературними даними можуть накопичуватися в рослинах за дії гліфосату [18].

Дослідження гематологічних показників показало вірогідні різниці лише

у зниженні концентрації гемоглобіну та кількості еритроцитів у крові тварин, до раціону яких входила ГМ соя у кількості 50 % за поживністю раціону (табл. 2). Тенденція до нижчого рівня цих показників спостерігалася і при дослідженні крові тварин III групи. У той час як у II–IV групах самок щурів (F2) кількість еритроцитів невірогідно зростала як за згодовування 30 %, так і 50 % сої за поживністю раціону, а концентрація гемоглобіну лише за додавання 30 % нативної сої. З літературних джерел відомо, що додавання до раціону щурів сої у кількості 30 % за поживністю раціону дещо підвищує рівень гемоглобіну та еритроцитів у їх крові [19, 20].

Таблиця 2

Фізіолого-біохімічні показники крові самок щурів (F2) за умов згодовування різної кількості бобів нативної та трансгенної сої (M±m, n=4)

Група	Циркуючі імунні комплекси, 3,5 % опт. густ., у.о.	Молекули середньої маси, г/л	Загальний білок, г/л	Гемоглобін, г/л	Еритроцити, Т/л	Лейкоцити, Г/л
I	28,0±1,15	0,35±0,005	57,5±1,76	146,6±4,30	5,9±0,40	4,5±0,02
II	29,0±1,31	0,36±0,002	58,9±2,87	149,4±1,57	6,2±0,47	4,5±0,02
III	30,7±0,88	0,41±0,003***	61,6±1,39	137,2±4,74	5,8±0,04	4,6±0,03
IV	31,4±1,90	0,38±0,003**	61,6±0,90	141,0±2,68	6,0±0,32	4,8±0,02
V	32,0±1,08*	0,41±0,003***	63,5±1,79	137,6±0,47***	4,2±0,51*	4,8±0,01

Інтенсифікація шляхів метаболізму рослинних і тваринних естрогенів, підвищує енергопластичні витрати, у тому числі потребу у додатковому кисні [21], що, в свою чергу, призводить до посилення окиснювальних процесів та до зміни стану червоної крові, а саме збільшення кількості гемоглобіну, що дозволяє підвищити кисневу ємність крові [22]. З іншого боку, підвищений рівень естрогенів у крові дещо пригнічує еритропоез [23, 24]. Очевидно, введення сої до раціону щурів у кількості 50 % за поживністю раціону призводить до зниження еритропоетичної функції завдяки пригніченню синтезу еритропоетину і прямого інгібуючого впливу на клітинні мішені кісткового мозку. Дослідженнями інших авторів показано, що заміна сої традиційного сорту на боби трансгенної сої, за тривалого згодовування (14 тижнів)

призводить до зниження концентрації гемоглобіну та кількості еритроцитів [19].

Відомо, що соя проявляє гіпохолестеринемічний ефект за рахунок зниження кишкової абсорбції холестерину та підвищення фекальної екскреції жирних кислот, таким чином зменшуючи печінковий вміст холестерину та покращуючи виведення ліпопротеїнів низької щільності [25, 26]. Експериментальними дослідженнями інших авторів показано, що введення сої до раціону, за додаткового навантаження холестерином, знижує активність таких ензимів як лактатдегідрогеназа, аспартат- та аланінамінотрансфераза і γ-глутамілтранспептидази крові та тканин печінки, серця і нирок, які є маркерами ушкодження тканин печінки [25, 27]. Зниження рівня активності цих ферментів у крові та тканинах печінки були також

зафіксовані за ураження печінки тетрахлоретаном [28], за цукрового діабету [29] та за індукованого канцерогенезу [30]. Значно менше проведено досліджень з вивчення активності цих ферментів за впливу сої під час різних фізіологічних станів. Проведені нами дослідження показали вірогідне зниження аспартатамінотрансферазної активності крові щурів (F2) усіх дослідних груп, порівняно із цим показником у тварин контрольної групи (табл. 3). У той час як аланінтрансаміназна активність крові вірогідно знижувалася на 9,2 % тільки у щурів IV дослідної групи, які отримували нативну сою у кількості 50 % за поживністю раціону, а у крові тварин II і III груп спостерігалася тенденція до її зниження. Протилежний ефект на аланінтрансаміназну активність крові мала трансгенна соя, яку згодовували у кількості 50 % від поживності раціону — зростала на 7,7 % порівняно до контролю. Не показало вірогідних змін дослідження активності аспартатамінотрансферази тканин серця у самок щурів дослідних груп, в той час як спостерігалася тенденція до вищої

аланінтрансаміназної активності тканин серця з вірогідними різницями для тварин IV групи. Аспартатамінотрансферазна активність тканин печінки вірогідно зростала на 3,8 % у самок щурів, до раціону яких входила нативна або трансгенна соя у кількості 50 % за поживністю раціону із тенденцією до її вищого рівня для тварин II і III груп порівняно до контролю. Активність аланінамінотрансферази печінки вірогідно зростала лише для самок щурів (F2) IV групи на 6,8 % порівняно до контролю. Вища трансаміназна активність ферментів тканин серця та печінки зі зниженням їх активності у крові, може свідчити про позитивний вплив сої на клітини печінки, зокрема на цілісність мембран та вищу інтенсивність білкового обміну у тварин дослідних груп. Однак вірогідно вища аланінамінотрансферазна активність крові за введення до раціону трансгенної сої у кількості 50 % за поживністю раціону на тлі відсутності змін у тканинах серця та печінки вказує на можливу токсичну дію гербіциду, що не проявлялась за нижчого рівня соєвих бобів у раціоні щурів.

Таблиця 3

Трансаміназна активність крові та тканин самок щурів (F2) за умов згодовування різної кількості бобів нативної та трансгенної сої (M±m, n=4)

Група	Досліджуваний матеріал		
	кров	тканина	
		серця	печінки
<i>АсАТ, мккат/л</i>			
I	0,82±0,005	12,6±0,10	10,4±0,10
II	0,77±0,001***	12,8±0,13	10,5±0,13
III	0,75±0,001***	12,6±0,15	10,4±0,09
IV	0,72±0,007***	12,4±0,19	10,8±0,15*
V	0,74±0,009***	12,3±0,12	10,8±0,11*
<i>АлАТ, мккат/л</i>			
I	0,65±0,009	10,6±0,11	13,2±0,15
II	0,62±0,0075	11,1±0,21	13,8±0,25
III	0,64±0,183	10,8±0,15	13,5±0,15
IV	0,59±0,001**	11,5±0,27*	14,1±0,16*
V	0,70±0,013*	10,9±0,11	13,5±0,16

Дослідження фракційного складу фенолів у тканинах самок щурів (F2) показало вірогідно вищий їх вміст за згодовування сої нативного та трансгенного сорту, що входила до раціону

у кількості 30 та 50 % за його поживністю (табл. 4). Більш вираженими ці зміни були для груп із вищою кількістю сої в раціоні. Зокрема, у групах II і III концентрація вільних фенолів у тканинах печінки самок

щурів (F2) була вищою на 10,6 та 13,9 % відповідно за згодовування сої нативного та трансгенного сорту. В той час як для груп із заміною 50 % раціону за поживністю на боби натуральної та ГМ сої цей показник зростав на 18,9 та 22,2 % порівняно до контролю. Подібні результати, але з нижчою вірогідністю були отримані при визначенні рівня вільних фенолів у тканинах нирок. Як видно з даних таблиці 4 вміст вільних фенолів у тканинах нирок тварин III, IV та V груп зростав на 10,8; 19,0 та 22,1 % відповідно, порівняно з цим показником для тварин контрольної групи. У досліджуваних тканинах нирок та печінки самок щурів (F2) відмічено також вищий вміст фенолсульфатів і фенолглюкуронідів, що вказує на активний перебіг в організмі цих тварин процесів знешкодження токсичних вільних фенолів. Більш вираженими були ці зміни у тварин з вищою кількістю сої у раціоні. Зокрема, підвищення концентрації фенолів,

зв'язаних із сірчаною кислотою, становило 30,7 і 38,1 % у тканинах печінки та 25,2 і 28,9 % у тканинах нирок самок щурів (F2) IV та V груп відповідно порівняно до контролю. Визначення рівня фенолглюкуронідів показало, що кон'югація вільних фенолів у більшій мірі проходить з глюкуроною кислотою порівняно зі сірчаною, на що вказує їх вищий вміст у досліджуваних тканинах, що може зумовлюватися різною їх фізіологічною активністю. З джерел літератури відомо, що фенолсульфати доволі легко розщеплюються в тканинах тварин і людини та володіють більшою біологічною активністю порівняно із глюкуронідами [31]. Концентрація фенолів, зв'язаних з глюкуроною кислотою, у тканинах печінки була вищою на 12,4 і 14,2 % у групах із згодовуванням 30 та 50 % нативної сої за поживністю раціону, та на 10,3 і 16,5 % за згодовування таких же кількостей трансгенної сої.

Таблиця 4

Фракційний склад фенолів тканин самок щурів (F2) за умов згодовування різної кількості бобів нативної та трансгенної сої (M±m, n=4)

Група	Фракції фенолів, мкмоль/л		
	вільні	зв'язані з сірчаною кислотою	зв'язані з глюкуроною кислотою
<i>Тканина печінки</i>			
I	63,5±2,23	60,9±0,96	176,7±2,81
II	70,2±1,44*	68,2±1,16**	198,6±2,73**
III	72,3±1,35*	74,0±1,59***	195,0±3,11**
IV	75,5±0,85**	79,6±1,59***	201,8±2,38***
V	77,6±2,11**	84,1±0,99***	205,8±2,33***
<i>Тканина нирок</i>			
I	61,6±2,62	61,8±1,59	165,1±2,73
II	67,7±2,38	68,5±1,77*	183,2±2,73**
III	68,3±1,29*	71,9±1,93**	184,5±4,70**
IV	73,3±0,43**	77,4±1,52***	185,9±1,62***
V	75,2±1,00**	79,7±0,67***	199,9±3,11***

У тканинах нирок самок щурів (F2) усіх дослідних груп рівень фенолглюкуронідів зростав порівняно до цього показника у тварин контрольної групи. Більше вираженими були ці зміни за згодовування як нативної, так і трансгенної сої в кількості 50 % від поживності раціону. Вищий рівень як вільних, так і зв'язаних фенолів вказує на напруження дезінтоксикаційних процесів у тканинах печінки та нирок тварин дослідних груп,

що пов'язано з високим вмістом у сої речовин фенольної природи. За умов надходження в організм тварин з кормом підвищеної кількості фенольних сполук, що спостерігається в період згодовування сої, в організмі посилюються фізіологічно налагоджені механізми їх знешкодження, зокрема естрогенно активні сполуки піддаються метилюванню і окисненню, зв'язуванню з кислоторозчинними компонентами тканини, або ж утворенню

парних сполук з сірчаною чи глюкуроною кислотами. Фенольні сполуки є одним з найбільш поширених і чисельних класів вторинних метаболітів у рослин з різною біологічною активністю. Ці сполуки неоднорідні за хімічною будовою і зустрічаються в рослинах у вигляді мономерів, димерів та полімерів, з яких особливу групу становлять ізофлавоноїди, що в значній кількості містяться у бобових, зокрема в насінні сої. Дослідженням коефіцієнтів маси внутрішніх органів самок щурів, яким згодовували різну кількість сої, було встановлено вірогідне зниження їх маси у тварин IV та V груп, які отримували відповідно нативну та трансгенну сою у кількості 50 % від раціону (табл. 5). Вірогідно нижчі показники також були зафіксовані при визначенні коефіцієнтів маси нирок, печінки та селезінки у самок щурів II і III груп, які отримували 30 % від раціону бобів сої обох сортів. Ці дані узгоджуються з нашими результатами, що були отримані у дослідженнях на щурах

першого та батьківського покоління, проте у тварин F2 покоління різниці виявляються у більшій мірі, що пов'язано, очевидно, з тривалістю впливу згодовування бобів сої. Характерно, що серед досліджених органів найменших змін зазнавали коефіцієнти маси серця, які не відрізнялись у тварин II і III груп від їх величини у контролі, що вказує на відсутність вираженого впливу згодовування 30 % сої в раціоні на розвиток цього органу. Однак, збільшення кількості сої до 50 % від поживності раціону зумовлювало вірогідне зниження коефіцієнтів маси серця у тварин як IV, так і V груп. У той час як нирки та печінка, що в першу чергу реагують на дію аліментарних факторів, а також селезінка характеризувались нижчим значенням цих коефіцієнтів в усіх дослідних групах порівняно до контролю. Введення сої як нативного, так і трансгенного сорту самкам щурів (F2) протягом трьох поколінь викликало вірогідне зменшення маси цих органів.

Таблиця 5

Коефіцієнти маси внутрішніх органів самок щурів (F2) за згодовування різної кількості нативної та трансгенної сої ($M \pm m$, $n=4$) (г/кг маси тіла)

Група	Серце	Нирки	Печінка	Селезінка
I	3,5±0,03	7,2±0,03	42,5±0,11	3,8±0,03
II	3,5±0,02	6,9±0,04**	40,1±0,15***	3,5±0,09*
III	3,5±0,08	6,8±0,03**	38,3±0,16***	3,4±0,07*
IV	3,3±0,06*	6,7±0,09**	38,8±0,14***	3,2±0,09**
V	3,2±0,09*	6,5±0,05***	35,8±0,24***	3,1±0,02***

Проведеними дослідженнями встановлено, що згодовування самкам щурів традиційної та ГМ сої супроводжується незначним зниженням фертильності самок дослідних груп порівняно з тваринами контрольної групи (табл. 6). Зокрема, кількість незапліднених самок щурів III, IV та V дослідних груп становила 25 %, порівняно з 100 % їх плідністю у I та II групах. Це може свідчити про негативний комплексний вплив компонентів сої, зокрема фітоестрогенів та інших антипоживних речовин на фертильність тварин. Характерно, що негативний їх вплив проявляється вже при вмісті 30 %

трансгенної сої у раціоні, тоді як боби традиційного сорту (II група) такого впливу не виявляли. Очевидно, застосований режим термічної обробки бобів сої більш ефективний для інактивації антипоживних речовин у насінні традиційного сорту, ніж генетично модифікованого.

Оцінка постнатального розвитку тварин з підрахуванням числа живих і мертвороджених плодів, а також контролюванням життєздатності, фізіологічного стану та живої маси щурят протягом перших двох місяців росту і розвитку свідчить про різний вплив згодовування бобів нативної та ГМ сої на ці показники (табл. 6). Вживаність приплоду

була найвищою у щуренят контрольної групи і становила 95,7 %. Для груп щурів, які отримували 30 % нативної та ГМ сої від поживності раціону, цей показник становив 89,5 та 81,5 %, а для груп з вмістом 50 % сої в раціоні — 88,5 та 76,0 % відповідно.

Це свідчить про негативний вплив бобів сої як натурального, так і ГМ сортів на життєздатність приплоду самок дослідних груп, що є більш виражено у тварин, які поїдали 50 % сої від поживності раціону.

Таблиця 6

Постнатальний розвиток приплоду самок щурів (F2) за згодовування різної кількості нативної та трансгенної сої (M±m, n=4)

Група	Фертильність самок, %	К-ть приплоду у гнізді в перший день після народження, тварин	Життєздатність приплоду	
			к-ть приплоду, що загинула, тварин	% живих від народження у 2-місячному віці
I	100	9,4±0,68	2	95,7
II	100	9,5±1,55	4	89,5
III	75	9,0±1,15	5	81,5
IV	75	8,7±0,33	3	88,5
V	75	8,3±2,70	6	76,0

Зважування щуренят при народженні не показало достовірних міжгрупових відмінностей за показниками маси тіла, яка відповідала фізіологічним нормам молодняку щурів у цьому віці (табл. 7). Проте середня маса однієї новонародженої тварини усіх дослідних груп була меншою порівняно до контролю, що було більше виражено у тварин, яким

згодовували 50 % сої від раціону. Подібна різниця, але на вищому рівні, зберігалася і на 20 день життя тварин, що свідчить про тенденцію до вираженого негативного впливу нативної та трансгенної сої на молочність самок дослідних груп. Визначення маси тіла щурів у 2-місячному віці вказує на відмінні від попередніх періодів міжгрупові різниці цих показників.

Таблиця 7

Динаміка маси приплоду самок щурів покоління F2 у перші 2 місяці росту й розвитку за згодовування різної кількості нативної та трансгенної сої, г (M±m, n=4)

Група	Динаміка маси тіла однієї тварини					
	при народженні		у віці 20 днів		у віці 2 місяці	
	г	% до контролю	г	% до контролю	г	% до контролю
I	5,9±0,14	100	24,7±1,44	100	89,0±1,19	100
II	5,7±0,58	96,6	22,4±0,24	90,7	92,9±3,99	104,4
III	5,5±0,19	93,2	22,1±1,47	89,5	94,3±5,70	106,0
% до II групи	96,5	—	98,7	—	101,5	—
IV	5,2±0,64	88,1	22,0±0,98	89,0	88,0±0,99	98,9
V	5,1±0,52	86,4	20,5±1,95	83,0	82,3±3,70	92,5
% до IV групи	98,1	—	93,2	—	93,5	—

Зокрема, маса щурів II групи в цей період була вищою за масу тварин I (контрольної) групи на 4,4 %, а III — на 6,0 %. Середня маса щуреняти IV групи була меншою порівняно з контролем лише на 1,1 %, тоді як у V групі різниця становила 7,5 %. Враховуючи, що у цьому віці щури уже самостійно поїдають корм, ці зміни свідчать про безпосередній, але позитивний вплив компонентів сої за вмісту її 30 % в раціоні на інтенсивність росту приплоду в II та III групах і

збереження нижчої інтенсивності росту у щуренят IV та V груп. Оскільки ріст щуренят після 20–25 діб після народження в незначній мірі опосередкований організмом матері, можна вважати, що вищі показники інтенсивності росту приплоду в дослідних II та III групах у віці 2 місяці зумовлені відмінною від насіння соняшника, біологічною цінністю білка та жиру бобів сої. Тоді як за умови збільшення кількості цих компонентів у раціоні самок IV і V груп зберігалась

тенденція попередніх періодів щодо нижчої маси тіла щуренят у віці 2 місяців, що вказує на можливий інгібуючий вплив антипоживних речовин бобів обох сортів сої, активність яких могла зберігатися і після термічної обробки.

Висновки

Згодовування нативної та ГМ сої у кількості як 30 %, так і 50 % за поживністю раціону самкам щурів (F2) призводило до зростання рівня у крові тварин дослідних груп глікопротеїнових показників і молекул середньої маси, а також до появи тенденції до вищого рівня циркулюючих імунних комплексів у межах фізіологічної норми. Встановлено, що введення до раціону самок щурів (F2) 30 % за поживністю раціону сої нативного та трансгенного сорту суттєво не впливало на гематологічні показники їх організму. Однак у крові щурів (F2), яким згодовували боби ГМ сої у кількості 50 % за поживністю раціону, вірогідно знижувалась кількість еритроцитів і концентрація гемоглобіну. Результати досліджень показали нижчу аспартатамінотрансферазну активність крові щурів усіх дослідних груп порівняно до контролю. Тоді як аланінамінотрансферазна активність крові нижчою була лише для самок щурів IV групи і зростала у самок V групи порівняно із цим показником у контрольній групі. Однак активність АсАТ та АлАТ тканин печінки самок щурів IV і V груп вірогідно зростала порівняно до контролю. У тканинах серця щурів вищою була лише аланінтрансаміназна активність за згодовування нативної сої у кількості 50 % від поживності раціону. Згодовування різної кількості бобів сої нативного та трансгенного сортів спричиняє напруження дезінтоксикаційних процесів у тканинах печінки та нирок тварин дослідних груп, на що вказує вищий рівень як вільних, так і кон'югованих з кислотами фенолів у цих тканинах. Встановлено, що додавання до раціону щурів нативної та ГМ сої у кількості 30 % та 50 % за поживністю раціону призводило до зниження маси нирок, печінки та селезінки усіх дослідних груп та зниження маси серця щурів IV і V дослідних груп порівняно до контролю. Згодовування щурам бобів сої як натурального, так і ГМ сортів, негативно

впливало на фертильність самок дослідних груп та життєздатність їх приплоду, що було більш виражено у тварин, які поїдали 50 % сої від поживності раціону.

Перспективи подальших досліджень. Дослідити біологічний вплив згодовування бобів сої нативного та трансгенного сорту на організм самок щурів у четвертому поколінні.

1. Malatesta M., Biggiogera M., Manuali E., Rocchi M.B.L., Baldelli B., Gazzanelli G. Fine structural analyses of pancreatic acinar cell nuclei from mice fed on GM soybean. *Eur. J. Histochem.*, 2003, 47 (4), pp. 385–388.

2. Prescott V. E., Campbell P. M., Moore A., Mattes J., Rothenberg M. E., Foster P. S., Higgins T. J., Hogan S. P. Transgenic expression of bean α -amylase inhibitor in peas results in altered structure and immunogenicity. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 2005, 53 (23), pp. 9023–9030.

3. Brake J., Vlachos D. Evaluation of transgenic event 176 «Bt» corn in broiler chickens. *Poult. Sci.*, 1998, 77 (5), pp. 648–653.

4. Mannapov A. G., Zabal A. M., Larionova O. S., Lebedev V. G. Vliyaniye pyltsey transgennoy grushi na pchel [Effect of pollen of transgenic pear on bees]. *Pchelovodstvo — Beekeeping*, 2011, no. 5, pp. 20–22. (in Russian)

5. Świątkiewicz S., Świątkiewicz M. Second generation of genetically modified plants in animal nutrition. *Medycyna Wet.*, 2009, 65 (7), pp. 460–465.

6. McNaughton J., Roberts M., Rice D., Smith B., Hinds M., Delaney B., Iiams C., Sauber T. Nutritional equivalency evaluation of transgenic maize grain from event DP-O98140-6 and transgenic soybeans containing event DP-356043-5: laying hen performance and egg quality measures. *Poultry Science*, 2011, 90 (2), pp. 377–389.

7. Padgett S. R., Taylor N. B., Nida D. L., Bailey M. R., MacDonald J., Holden L. R., Fuchs R. L. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. *J. Nutr.*, 1996, 126 (3), pp. 702–716.

8. Patrushev M. V., Voznyak M. V. Geneticheski modifitsirovannyye istochniki: kharakteristika nekotorykh GM-liniy, ikh detektsiya [Genetically modified sources: characteristics of some GM lines, their detection]. *Partnery i konkurenty — Partners and Competitors*, 2004, no. 10, pp. 19–26. (in Russian).

9. Paranyak R. P., Vudmaska V. I., Paranyak M. R., Kulchyts'kyuj V. V. Otsinka kompotsyziyjnoji ekvivalentnosti henetychno

modyfikovanoji (GTS 40-3-2) ta nemodyfikovanoji soji za aminokyslotnym ta zhyrnokyslotnym skladom [Amino and fatty acids substantial equivalence of genetically modified (gts 40-3-2) and traditional soybeans]. *Zdobutky klinichnoji i eksperymental'noji medytsyny — Achievements of Clinical and Experimental Medicine*, 2009, vol. 10, no. 1, pp. 117–120. (in Ukrainian).

10. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experim. and other scientific purposes*. Coun. of Europe, Strasbourg, 1986, pp. 53.

11. Vlizlo V. V. *Laboratorni metody doslidzen u biologiyi, tvarynnystv ta veterynarniy medytsyni* [Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine]. Lviv, SPOLOM, 2012. pp. 355–368 (in Ukrainian).

12. Grinevich Yu. A. Opredeleniye imunnykh kompleksov v krovi onkologicheskikh bol'nykh [Determination of immune complexes in the blood of cancer patients]. *Lab. delo. — Lab. Business*, 1981, no. 8, pp. 493–496 (in Russian)

13. Huntoon K. M., Wang Y., Eppolito C. A., Barbour K. W., Berger F. G., Shrikant P. A., Baumann H. The acute phase protein haptoglobin regulates host immunity. *J. Leukocyte Biol.*, 2008, 84 (1), pp. 170–181.

14. Lowe J. B. Glycosylation, immunity and autoimmunity. *Cell*, 2001, 104(6), pp. 809–812

15. Naito Y. Activation-dependent change in sialic acid species in mouse B cells. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, 2009, 21 (120), pp. 237–246.

16. Dube D. H., Bertozzi C. R. Glycans in cancer and inflammation—Potential for therapeutics and diagnostics. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2005, 155 (4), pp. 477–488.

17. Shevchenko O. P. Belki ostroy fazy vospaleniya [Acute-phase proteins]. *Laboratoriya — Lab*, 1996, no. 1, pp. 3–6 (in Russian).

18. Sandermann H., Wellman E. Bundesministerium fur Forschung und Technologie (Hrsg). *Biologische Sicherheit*, 1988, 1, pp. 285–292.

19. Appenzeller L. M., Munley S. M., Hoban D., Sykes G. P., Malley L. A., Delaney B. Subchronic feeding study of herbicide-tolerant soybean DP-356043-5 in Sprague–Dawley rats. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46 (16), pp. 2201–2213.

20. Qi X., He X., Luo Y., Li S., Zou S., Cao S., Tang M., Delaney B., Xu W., Huang K. Subchronic feeding study of stacked trait genetically-modified soybean (305423 × 40-3-2)

in Sprague–Dawley rats. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50 (9), pp. 3256–3263.

21. Yepifanova O. I. Mekhanizm deystviya estrogenov na kletochnyy metabolism [The mechanism of action of estrogen on cellular metabolism]. *Uspekhi sovr. Biologii — Success of contemporary biology*, 1964, vol. 58, no.4, pp.33–51. (in Russian)

22. Korzuev P. A. *Gemoglobin* [Hemoglobin]. Moskow, Science, 1964. 287 p. (in Russian)

23. Leonova Ye. V. *Patologicheskaya fiziologiya sistemy krovi* [pathological physiology of the blood system]. Minsk, Belarusian State Medical University Publ., 2005. 154 p. (in Russian)

24. Malyk O. H., Kotsyumbas I. Ya. *Fiyooestrogeny* [Phytoestrogens]. Lviv, Dobra sprava, 2006, 140 p. (in Ukrainian)

25. Oluba O. M., Onyeneke E. C., Ojeh G. C., Eidangbe G. O. Effects of soy protein on selected enzymes in tissues of rats fed a cholesterol diet. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2009, 1 (9), pp. 400–406

26. Zhan S., Ho S. C. Meta-analysis of the effects of soy protein containing isoflavones on the lipid profile. *J. Am. Clin. Nutr.*, 2005, 81 (2), pp. 397–408.

27. Lin C. Y., Tsai C. Y., Lin S. H. Effects of soy components on blood and liver lipids in rats fed high-cholesterol diets. *Gastroenterol*, 2005, 11 (35), pp. 5549–5552.

28. Ying F., Changqing W., Fei W., Shujia Y., Weishuai L., Min Y. Protective effect of whey protein and polypeptide from small black soybean on acute liver injury in mice. *Food science*, 2013, 34 (5), pp. 238–241.

29. Ali A. A., Velasquez M. T., Hansen C. T., Mohamed A. I., Bhatena S. J. Modulation of carbohydrate metabolism and peptide hormones by soybean isoflavones and probiotics in obesity and diabetes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 200516 (11), pp. 693–699.

30. Aiad F., El-Gamal B., Al-Meer J., El-Kerdasy Z., Zakhary N. El-Aaser A. Protective Effect of Soybean against Hepatocarcinogenesis Induced by DL-Ethionine. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2004, 37 (3), pp. 370–375.

31. Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*, 2004, 79 (5), pp. 727–747.

Стаття надійшла до друку 10.06.2013 р.