

**МЕТАБОЛІЗМ АЗОТИСТИХ СПОЛУК У СИРОВАТЦІ КРОВІ
ЩУРІВ ТРЬОХ ПОКОЛІНЬ ЗА ЗГОДОВУВАННЯ ГЛІФОСАТ-РЕЗИСТЕНТНОЇ
ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОЇ СОЇ ТА ГЕРБІЦИДУ «ROUNDUP»**

I. В. Чорна¹, Г. В. Дроник²
chorna8@ukr.net

¹Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут»,
вул. Кирпичова, 2, м. Харків, 61002, Україна

²Буковинська державна сільськогосподарська дослідна станція НААН,
вул. Богдана Крижанівського, 21, м. Чернівці, 58026, Україна

У статті подані результати дослідження впливу традиційної, гліфосат-резистентної генномодифікованої сої та дії самого гербіциду «Roundup» на вміст загального протеїну, сечовини, сечової кислоти та креатиніну в сироватці крові щурів трьох поколінь. Фосфорорганічні добрива є токсичними речовинами, які можуть призводити до порушення обміну речовин в організмі, тому дослідження впливу генномодифікованої сої, обробленої гербіцидом, та гербіциду «Roundup» на рівень метаболітів азотистого обміну в організмі тварин є актуальними.

Дослідження проводили на щурах лінії Вістар, поділених на п'ять груп: I контроль група — інтактна; II дослідна — у раціоні щурів 20–26 % корму замінювали традиційною соєю; III дослідна — у раціоні щурів 20–26 % корму замінювали генномодифікованою соєю, яку не обробляли гербіцидом «Roundup»; IV дослідна — щури вживали генномодифіковану сою, яку обробляли гербіцидом; V група — щури отримували гербіцид з питною водою. Через 42 дні з початку згодовування добавок самиці всіх груп були спаровані і продовжували отримувати той самий раціон і гербіцид у питній воді.

Застосування раціону, який містив традиційну та генетично модифіковану сою, не оброблену гербіцидом «Roundup», призводить до незначного підвищення рівня азотистих сполук у крові. Аналіз результатів дослідження показав, що застосування генетично модифікованої сої, яка була оброблена гербіцидом, та самого гербіциду з питною водою призводить до підвищення у крові рівня протеїну, сечовини, сечової кислоти та креатиніну у всіх трьох поколінь щурів; лише у IV групі спостерігається незначне зниження концентрації сечовини як у першому, так і в наступних поколіннях.

Такі результати можуть свідчити про токсичний вплив гербіциду і трансгенної сої, обробленої гербіцидом «Roundup», на функціональну діяльність печінки і нирок щурів.

Ключові слова: ТРАДИЦІЙНА ТА ТРАНСГЕННА СОЯ, ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНІ ОРГАНІЗМИ, СЕЧОВИНА, КРЕАТИНІН, СЕЧОВА КИСЛОТА, АЗОТИСТИЙ ОБМІН, ЗАГАЛЬНИЙ ПРОТЕЇН

**METABOLISM OF NITROGEN COMPOUNDS IN THREE GENERATIONS OF RATS
UNDER THE INFLUENCE OF GLYPHOSATE-RESISTANT
GENETICALLY MODIFIED SOY AND ROUNDUP HERBICIDE**

I. V. Chorna¹, G. V. Dronyk²
chorna8@ukr.net

¹National Technical University “Kharkiv Polytechnic Institute”,
2 Kirpichova str., Kharkiv 61002, Ukraine

²Bukovyna State Agricultural Experimental Station NAAS,
21 Bohdana Kryzhanivskoho str., Chernivtsi 58026, Ukraine

The article presents the results of the study of the effect of traditional, glyphosate-resistant genetically modified soybeans and the “Roundup” herbicide on the content of total protein, urea, uric acid and creatinine in blood serum of three generations of rats. Organophosphorus fertilizers are toxic substances that can lead to a metabolic disorder; therefore the study of the influence of genetically modified soybean treated with herbicide and the “Roundup” herbicide on the level of nitrogen metabolites in the animal organism is very relevant.

The research has been conducted on the rats of the Wistar line which were divided into five groups: 1st control group — intact group; 1st experimental group — 20–26 % of the feed in the diet of rats were replaced with traditional soy; 2nd experimental group — 20–26 % of the feed in the diet were replaced with genetically modified soy which had not been treated with the “Roundup” herbicide; 3rd experimental group — rats were fed genetically modified soy which had been treated with a herbicide; 4th experimental group — the rats received “Roundup” herbicide with drinking water. 42 days after the commencement of feeding traditional and genetically modified soy, the females of all groups were mated and continued to receive the same diet and herbicide in drinking water.

These studies have shown that the use of a diet containing traditional and genetically modified soy which had not been treated with the “Roundup” herbicide leads to a slight increase in the nitrogen compounds level in the blood. Analysis of the results in other groups showed that using genetically modified soy which had been treated with the herbicide and watering the herbicide leads to an increase of the protein, urea, uric acid and creatinine level in three generations of rats; only in the IV group there was a slight decrease in urea in the first and subsequent generations.

Such results may indicate the toxic effects of herbicide and transgenic soybeans treated with the “Roundup” herbicide and disorders of the liver and kidney of rats.

Keywords: TRADITIONAL AND TRANSPLANTIC SOYA, GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS, SKIN, CREATININ, LAYER ACID, NITROGEN EXCHANGE, GENERAL PROTEIN

МЕТАБОЛИЗМ АЗОТИСТЫХ СОЕДИНЕНИЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ТРЕХ ПОКОЛЕНИЙ ПРИ СКАРМЛИВАНИИ ГЛИФОСАТ-РЕЗИСТЕНТНОЙ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ СОИ И ГЕРБИЦИДА «ROUNDUP»

И. В. Черная¹, Г. В. Дроньк²
chorna8@ukr.net

¹Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт», ул. Кирпичева, 2, г. Харьков, 61002, Украина

²Буковинская государственная сельскохозяйственная опытная станция НААН, ул. Богдана Крыжановского, 21, г. Черновцы, 58026, Украина

В статье представлены результаты исследования влияния традиционной, глифосат-резистентной генномодифицированной сои и самого гербицида «Roundup» на содержание общего протеина, мочевины, мочевой кислоты и креатинина в сыворотке крови крыс трех поколений. Фосфорорганические удобрения являются токсическими веществами, которые могут приводить к нарушению обмена веществ в организме, поэтому исследование влияния генномодифицированной сои, обработанной гербицидом, и гербицида «Roundup» на уровень метаболитов азотистого обмена в организме животных является очень актуальным.

Исследования проводили на крысах линии Вистар, которые были разделены на пять групп: I контрольная группа — интактная; I опытная — в рационе крыс 20–26 % корма заменяли традиционной соей; II опытная — в рационе крыс 20–26 % корма заменяли генномодифицированной соей, которую не обрабатывали гербицидом «Roundup»; III — крысы, которые употребляли генномодифицированную сою, обработанную гербицидом; IV опытная — крысы, получавшие гербицид вместе с питьевой водой. Через 42 дня после начала употребления добавок самки всех групп были спарены и продолжали получать тот же рацион и гербицид в воде.

Исследования показали, что применение рациона, который содержал традиционную и генетически модифицированную сою, обработанную гербицидом «Roundup», приводит к незначительному повышению уровня азотистых соединений в крови. Анализ результатов исследования показал, что употребление генетически модифицированной сои, обработанной гербицидом, и самого гербицида с питьевой водой приводит к повышению в крови уровня протеина, мочевины, мочевой кислоты и креатинина в трех поколениях крыс; только в IV группе наблюдается незначительное снижение концентрации мочевины как в первом, так и в последующих поколениях.

Такие результаты могут свидетельствовать о токсическом влиянии гербицида и трансгенной сои, которая была обработана гербицидом «Roundup», и нарушении функциональной деятельности печени и почек крыс.

Ключевые слова: ТРАДИЦИОННАЯ И ТРАНСГЕННАЯ СОЯ, ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ОРГАНИЗМЫ, МОЧЕВИНА, КРЕАТИНИН, МОЧЕВАЯ КИСЛОТА, АЗОТИСТЫЙ ОБМЕН, ОБЩИЙ ПРОТЕИН

Використання пестицидів і гербіцидів у великій кількості призводить до погіршення екологічного балансу і забруднення навколишнього середовища. Сьогодні у всьому світі як пестициди широко використовують фосфорорганічні сполуки. Одним з найпоширеніших гербіцидів є «Roundup» з основною діючою речовиною гліфосат (фосфорометилгліцин). За останні десять років його застосування зросло в декілька разів. Це пов'язане зі створенням генномодифікованих організмів, стійких до дії гербіциду, що дало можливість швидко знищувати бур'яни і не завдати шкоди сільськогосподарським культурам [4, 7]. Хоча гліфосат вважається малотоксичним і належить до третього класу токсичних речовин, є дані про те, що він впливає на діяльність нервової та серцево-судинної систем, а також печінки і нирок [1–3, 5]. Крім того, до кінця не з'ясовано, чи здатний гербіцид накопичуватися у насінні і як сам гербіцид впливає на обмін речовин в організмі [6, 8, 9].

Тому метою роботи було дослідити вміст загального протеїну, сечовини, сечової кислоти та креатиніну в сироватці крові щурів трьох поколінь за згодовування традиційної і генно модифікованої сої, не обробленої та обробленої гербіцидом «Roundup», а також впливу самого гербіциду.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на щурах лінії Вістар, які були поділені на п'ять груп по 10 щурів у кожній. I контрольна група отримувала стандартний комбікорм з віварію; I та II дослідні групи — стандартний комбікорм, в якому 20–26 % раціону було замінено на традиційну та генномодифіковану сою, не оброблену гербіцидом (вся соя пройшла термічну обробку), III — генномодифіковану сою, яку обробляли гербіцидом, IV група отримувала гербіцид разом з питною водою (0,1 мг/л), що є допустимою концентрацією в межах Європейського Союзу. Через 42 дні щурів спаровували і за 22–25 днів одержали наступне покоління.

Усіх щурів масою 180–220 г утримували в умовах віварію з дотриманням нормативів Європейської конвенції про захист тварин. Ма-

ніпуляції з піддослідними тваринами проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Для досліджень використовували сироватку крові тварин, отриману центрифугуванням цільної крові — без антикоагулянта, після звертання фібрину за 1500 об/хв протягом 15 хв. Визначення вмісту загального протеїну, сечовини, сечової кислоти та креатиніну в сироватці крові тварин проводили за загальноприйнятими методиками з використанням стандартних наборів реактивів фірми «Філіст-Діагностика». Статистичну обробку результатів проводили за допомогою стандартного пакету програм *Microsoft Excel*, використовуючи *t*-критерій Стьюдента. Різниця між величинами вважали статистично вірогідними: * — $P \leq 0,05$; ** — $P \leq 0,01$; *** — $P \leq 0,001$.

Результати й обговорення

За згодовування традиційної та трансгенної сої спостерігали незначне збільшення рівня протеїну у крові щурів — в 1,1 ($P \leq 0,001$) та в 1,2 рази ($P \leq 0,05$) як у першому (батьківському) (F_0), так і в другому (F_1) та третьому поколіннях (F_2) щурів. У III та IV групах спостерігали підвищення рівня протеїну в 1,2 та 1,1 рази, як у (F_0 , F_1), хоча у III групі третього покоління вміст загального протеїну збільшився у 1,4 рази.

Результати досліджень креатиніну показали, що у крові щурів I дослідної групи його вміст збільшився в 1,2 рази ($P \leq 0,01$), у II групі — в 1,1 рази, у III — в 1,3 та у IV групі — в 1,6 рази порівняно з контролем. Визначення концентрації креатиніну в крові є важливим показником функції нирок. У наступному поколінні також спостерігали збільшення вмісту креатиніну у сироватці крові щурів. Так, його рівень у крові I дослідної групи підвищився в 1,3 рази порівняно з контролем ($P \leq 0,001$), в II дослідній групі щурів — не змінився, у III та IV групах — збільшився, відповідно, в 1,4 та 1,6 рази порівняно з аналогічним показником контрольної групи. У третьому поколінні концентрація креатиніну в крові тварин підвищилася у I та II дослідній групах в 1,1 та 1,4 рази ($P \leq 0,001$), а III і IV гру-

пах — у 2,4 ($P \leq 0,001$) та 2,8 разу ($P \leq 0,05$) відповідно.

Отримані результати показали, що в крові щурів I та II груп, порівняно з контролем, вміст сечовини збільшився в 1,2 разу ($P \leq 0,001$), у III групі — в 1,6 разу ($P \leq 0,001$). У наступному поколінні (F_1) спостерігається така ж картина; у третьому (F_2) концентрація підвищилась в 1,4 разу ($P \leq 0,001$). Це свідчить про посилення інтенсивності синтезу аміаку в печінці, відповідно, синтез сечовини теж збільшується. Осо-

бливо це спостерігається за згодовування тваринам ГМ-сої, обробленої гербіцидом, а при задаванні самого гербіциду разом з питною водою спостерігається порушення цього процесу у печінці, про що свідчить зменшення вмісту сечовини у крові тварин IV дослідної групи. Саме сечовина є кінцевим продуктом метаболізму протеїнів в організмі, печінка є основним місцем утворення сечовини, яка виводиться через нирки. Тому зміна рівня сечовини у крові може свідчити про порушення діяльності цих органів.

Таблиця 1

Показники азотистого обміну в сироватці крові щурів першого покоління (F_0) ($M \pm m$, $n=10$)
Blood serum parameters of nitrogen exchange in 1st-generation rats ($M \pm m$, $n=10$)

Показники Parameters	Групи / Groups				
	Контрольна Control	I дослідна 1 st experimental	II дослідна 2 nd experimental	III дослідна 3 ^d experimental	IV дослідна 4 th experimental
Загальний протеїн, г/л Total protein, g/L	66,0±0,08	75,0±0,40***	73,6±1,85	79,3±0,10**	72,2±0,60***
Сечова кислота, мкмоль/л Uric acid, μmol/L	68,4±1,20	108,7±0,30***	149,5±5,80***	171,0±1,50**	191,9±1,08***
Сечовина, ммоль/л Urea, mmol/L	7,2±0,07	8,7±0,04***	8,4±0,36	11,5±0,03***	6,9±0,35***
Креатинін, мкмоль/л Creatinine, μmol/L	57,9±3,72	69,95±0,85**	61,29±4,29	76,9±2,14**	90,9±3,10***

Таблиця 2

Показники азотистого обміну в сироватці крові щурів другого покоління (F_1) ($M \pm m$, $n=10$)
Blood serum parameters of nitrogen exchange in 2nd-generation rats ($M \pm m$, $n=10$)

Показники Parameters	Групи / Groups				
	Контрольна Control	I дослідна 1 st experimental	II дослідна 2 nd experimental	III дослідна 3 ^d experimental	IV дослідна 4 th experimental
Загальний протеїн, г/л Total protein, g/L	66,9±1,46	75,8±0,50***	72,79±0,68***	79,4±0,12***	70,9±0,64**
Сечова кислота, мкмоль/л Uric acid, μmol/L	66,5±0,80	153,27±1,5***	180,0±4,40***	186,1±0,80***	233,58±7,97**
Сечовина, ммоль/л Urea, mmol/L	7,3±0,02	9,45±0,05***	8,5±0,21***	11,7±0,40**	6,5±0,22***
Креатинін, мкмоль/л Creatinine, μmol/L	58,6±1,40	75,28±0,9***	59,0±2,00***	81,6±1,08***	95,38±5,25**

Таблиця 3

Показники азотистого обміну в сироватці крові щурів третього покоління (F_2) ($M \pm m$, $n=6$)
Blood serum parameters of nitrogen exchange in 3rd-generation rats ($M \pm m$, $n=6$)

Показники Parameters	Групи / Groups				
	Контрольна Control	I дослідна 1 st experimental	II дослідна 2 nd experimental	III дослідна 3 ^d experimental	IV дослідна 4 th experimental
Загальний протеїн, г/л Total protein, g/L	64,0±0,39	74,5±0,42***	71,6±0,73**	89,8±3,20***	74,5±4,60***
Сечова кислота, мкмоль/л Uric acid, μmol/L	66,35±1,27	102,7±3,60***	107,8±5,40	194,7±1,75***	213,6±1,25***
Сечовина, ммоль/л Urea, mmol/L	7,8±0,28	8,0±0,14	8,4±0,13*	11,0±0,20***	6,9±0,075***
Креатинін, мкмоль/л Creatinine, μmol/L	61,9±5,60	65,3±3,20	88,36±3,8***	149,0±13,45***	178,8±5,80*

Рівень сечової кислоти у крові щурів I, II, III та IV дослідних груп підвищився, відповідно, в 1,6 ($P \leq 0,001$), 2,2 ($P \leq 0,001$), 2,5 та у 2,8 разу порівняно з контролем.

У наступному поколінні також спостерігали збільшення концентрації сечової кислоти у сироватці крові щурів. Концентрація сечової кислоти у крові тварин I дослідної групи підвищувалася у 2,3 разу порівняно з контролем ($P \leq 0,001$), а в щурів II, III та IV груп її вміст збільшився, відповідно, у 2,7, 2,8 та 3,5 разу порівняно з контрольною групою. Сечова кислота — це продукт обміну пуринових нуклеозидів, які входять до складу нуклеїнових кислот; може утворюватися як з продуктів, що надходять з кормом, так і в результаті розпаду власних нуклеїнових кислот організму. Сечова кислота з печінки транспортується плазмою в нирки, де фільтрується і виділяється з організму. Основні причини накопичення сечової кислоти в організмі — надмірне руйнування нуклеїнових кислот, масова загибель клітин або її недостатнє виведення нирками з організму.

Висновки

1. Згодовування щурам традиційної та трансгенної сої, не обробленої гербіцидом, призводить до підвищення рівня протеїну, сечовини, сечової кислоти та креатиніну у сироватці крові трьох поколінь щурів. Збільшення вмісту сечовини та протеїну може бути пов'язане з порушенням обміну соєвих протеїнів, а збільшення концентрації сечової кислоти у крові може бути зумовлене надходженням з кормом продуктів, які містять багато пуринів (бобові), що призводить до змін у роботі печінки та нирок.

2. У сироватці крові щурів, які вживали генномодифіковану сою, оброблену гербіцидом «Roundup», спостерігали підвищення рівня метаболітів азотистого обміну у декілька разів, причому у наступних двох поколіннях це явище посилювалося. Таке підвищення свідчить про накопичення гербіциду в насінні сої. Ймовірно, що гербіцид «Roundup», будучи ксенобіотиком, біотрансформується системою цитохрому P450 печінки у потенційно токсичні метаболіти, які здатні порушувати функцію гепатоцитів.

3. Застосування гербіциду «Roundup» разом з питною водою призводить до підви-

щення концентрації протеїну у сироватці крові щурів трьох поколінь, розпад протеїну проходить з порушенням знешкодження кінцевих продуктів їх обміну, що призводить до зниження концентрації сечовини у сироватці крові. Також спостерігали підвищення концентрації сечової кислоти та креатиніну у сироватці крові трьох поколінь щурів, що може свідчити про порушення функції нирок або печінки.

Перспективи подальших досліджень.

Провести подальше вивчення інших показників білкового обміну (трансаміназ, фракцій протеїну крові), дослідити гістологічну структуру органів для виявлення зміни в будові та діяльності клітин печінки і нирок за згодовування трансгенної сої та гербіциду.

1. Ermakova I. V. GM soybeans revisiting a controversial format. *Nature Biotechnology*, 2007, vol. 25, no. 12, pp. 1351–1354. DOI: 10.1038/nbt1207-1351.

2. Ermakova I. V. Most offspring of rats fed Roundup Ready soy died within three weeks. In: *Genetic Roulette. The Documented Health Risks of Genetically Engineered Foods*. USA, Fairfield, IOWA, 2007, pp. 48–50.

3. Ermakova I. V. New data on the influence of GMOs on the physiological state and higher nervous activity of mammals. 2nd All-Russian Symposium “Physiology of Transgenic Plants and Problems of Biosafety”, Moscow, 2007, pp. 38–39. (in Russian)

4. Fedketik K. *Biochemistry and physiology of action of herbicides*. Moscow, 1985, 223 p.

5. Gorbach T. V., Gubina-Vakulik G. I., Denisenko S. A. Influence of genetically modified soya in the diet of white rats on the metabolism and histology of the liver and kidneys from parents and descendants. *Problems of aging and longevity*, 2016, vol. 25, no. 1, pp. 80–86.

6. Natarajan S. Proteomic and genetic analysis of glycinin subunits of sixteen soybean genotypes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2007, vol. 45, issue 6–7, pp. 436–444. DOI: 10.1016/j.plaphy.2007.03.031.

7. Saliha N. O., Snitinsky V. V. Genetically modified plants and their influence on the organism of animals. *The Animal Biology*, 2010, vol. 12, no. 2, pp. 61–74. (in Ukrainian)

8. Séralini G.-E., Clair E., Mesnage R., Gress S., Defarge N., Malatesta M., Hennequin D., de Vendôme J. S. Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, no. 50, pp. 4221–4231. DOI: 10.1016/j.fct.2012.08.005.

9. Vecchio L., Cisterna B., Malatesta M., Martin T. E., Biggiogera M. Ultrastructural analysis of testes from mice fed on genetically modified soybean. *European Journal of Histochemistry*, 2003, vol. 48, no. 4, pp. 449–453. DOI: 10.4081/920.