

УДК 619:615.9:577.1:604.6:633.34:636.52/58

ОЦІНКА ТОКСИКО-БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОЇ СОЇ ЛІНІЇ MON 89788 НА ОРГАНІЗМ КУРЕЙ ЗА БІОХІМІЧНИМИ МАРКЕРАМИ**Шевцова Г.М., Герілович І.О., Романько М.Є., Оробченко О.Л., Доценко Р.В.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, e-mail: toxi-lab@vet.kharkov.ua

Долецький С.П.

Національна академія аграрних наук України, м. Київ

Питання впливу генетично модифікованих рослин, у т. ч. сої, на організм тварин і людини на сьогодні залишаються актуальними і дискусійними в усьому світі.

Тому наші досліджені, викладені у статті, були спрямовані на оцінку токсико-біологічної дії генетично модифікованої сої лінії MON 89788 на організм курей за біохімічними маркерами, а саме: визначали вміст загального білка та його фракцій, вміст загального білірубину, активність аланін- та амінотрансферази, лужної фосфатази та лактатдегідрогенази у плазмі крові та печінці, також проводили облік проб Вельтмана та тимолової, визначали кількість еритроцитів, вміст загального гемоглобіну, значення протромбінового часу.

Експеримент тривав 80 діб, впродовж яких кури контрольної групи отримували раціон вільний від генетично модифікованої сої, а раціон курей дослідної групи включав 20 % трансгенної сої лінії MON 89788. При проведенні досліджень були застосовані клінічні, патологоанатомічні, гематологічні та біохімічні методи. Отримані дані оброблені методом варіаційної статистики та надані у вигляді М±т. Рівень статистичної значимості вважали вірогідним при $p \leq 0,05$.

Аналіз результатів проведеного експерименту вказує на те, що згодовування впродовж 80 діб курям генетично модифікованої сої лінії MON 89788 чинить вплив на організм птиці, який виявляється за характером змін активності аланін- та аспартатамінотрансферази, лактатдегідрогенази і лужної фосфатази як у плазмі крові, так і в печінці дослідних курей, за зменшенням рівня загального білірубину та значення протромбінового часу, наявністю позитивних реакцій проб Вельтмана та тимолової, а також за патологоанатомічними змінами тканин печінки.

Ключові слова: токсико-біологічна дія, генетично модифікована соя лінії MON 89788, організм курей, біохімічні маркери, патологоанатомічні зміни.

Соя (Glycine max (L) Merrill) – стратегічна зернобобова культура світового землеробства XXI століття – перебуває в центрі уваги світової аграрної науки та виробництва. За останні 50 років її посіви у світі збільшилися з 23,8 до 102,4 млн га. При цьому із загального обсягу виробництва сої на переробку направляється 89 %, на продовольчі цілі – 4,5 %, насіння – 3 %, кормові цілі – 3,1 %, інші – 0,4 %. При переробці з 1 т сої одержують 792 кг соєвого шроту, який використовується як основний високобілковий інгредієнт (44–48 % білка) при виробництві збалансованих комбікормів. Таким чином на кормові цілі використовується 96–98 % одержаного соєвого шроту. Відмітимо також, що, згідно зі світовою практикою, його згодовують у самих інтенсивних галузях тваринництва – птахівництві (49 %), свинарстві (25 %), м'ясному (12 %) і молочному (8 %) скотарстві [1, 2].

Останнім часом основне виробництво сої розміщено у таких країнах, як: США (35 %), Бразилія (27 %), Аргентина (19 %), Китай (6 %) та Індія (4 %), які разом виробляють 91 % світової сої. При цьому США (85 %) і Аргентина (98 %) виробляють майже виключно генетично модифіковану (ГМ) сою [1]. У цих країнах генно-інженерно-модифікована соя вирощується без обмежень і потрапляє на ринок разом із традиційними аналогами [3]. Соєвий імпорт з цих країн до нашої держави, як правило містить велику кількість ГМ зерна.

Отже **метою** нашої роботи було провести оцінку токсико-біологічної дії генетично модифікованої сої лінії MON 89788 на організм курей за біохімічними маркерами.

Матеріали та методи. Дослідження токсико-біологічної дії трансгенної сої на організм птиці проводили на базі відділу токсикології, безпечності і якості сільськогосподарської продукції ННЦ «ІЕКВМ» в експерименті *in vivo*, що тривав 80 діб, на 40 курях м'ясо-яєчного напрямку породи Полтавська глиняста, 285-добового віку.

Птицю за принципом аналогів поділили на дві групи (по 20 тварин у кожній). Після вирівнювального періоду кури першої (контрольної (К)) групи отримували комбікорм ХЛК 1-32 (вільний від ГМО), в якому 20 % складових замінили на подрібнене, термічно оброблене зерно сої без ГМ. Кури другої групи (дослідної (Д)) отримували той же комбікорм, в якому 20 % складових замінили на подрібнене, термічно оброблене зерно трансгенної сої лінії MON 89788. Наявність або відсутність генетичної модифікації попередньо встановлювали за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з відповідними праймерами на 35S-промотор, NOS-термінатор і сою ліній 40-3-2 і MON 89788. Птиця мала вільний доступ до води.

Впродовж експерименту спостерігали за споживанням корму та загальним станом курей. Біоматеріал для дослідження відбирали на 25, 35, 45, 60 і 80 добу від початку згодовування сої.

Розділ 7. Ветеринарна фармакологія та токсикологія

Токсико-біологічні дослідження включали вивчення інтегральних (маса тіла, відносна та абсолютна маса внутрішніх органів: головний мозок, серце, легені, селезінка, печінка, м'язовий шлунок), гематологічних (кількість еритроцитів, вміст загального гемоглобіну, протромбіновий час) і біохімічних показників (у плазмі крові: вміст загального білка та його фракцій, вміст білірубину, активність ферментів: аланін- та аспартатамінотрансферази (АлАТ, КФ 2.6.1.2; АсАТ, КФ 2.6.1.1), лактатдегідрогенази (ЛДГ, КФ 1.1.1.27), лужної фосфатази (ЛФ, КФ 3.1.3.1); проби Вельтмана і тимолова; у пробах печінки: активність АлАТ, АсАТ, ЛДГ і ЛФ. Біохімічні дослідження здійснено за використання наборів реактивів виробництва НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Отримані дані оброблені методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента.

Результати досліджень. Впродовж експерименту загибелі курей в дослідній і контрольній групах не відмічали. Загальний стан птиці був задовільний. Споживання корму складало 120 г/добу на курицю. За зовнішнім виглядом, якістю покривного пера та поведінкою птиця обох груп не відрізнялась.

При патологоанатомічному розтині експериментальних курей, починаючи з 45 доби, відмічали дряблу консистенцію та зернистість печінки у птиці, яка отримувала ГМ сою.

За результатами гематологічних досліджень (табл. 1) встановлено, що кількість еритроцитів у курей обох груп статистично не відрізнялась, а її значення коливались в межах від 2,08 до 2,72 Т/л у контрольній і від 2,10 до 2,34 Т/л у дослідній групі, відповідно. Проте вміст гемоглобіну в крові птиці, що отримувала ГМ-сою, у кінці досліду (на 80 добу) був вірогідно вищим за контроль на 11,9 %.

Значення протромбінового часу в крові курей дослідної групи було вірогідно меншим на 17,8 % за контроль уже на 25 добу експерименту. Така тенденція продовжувалась: на 60 і 80 добу відмічали статистично значиме зменшення цього показника на 25,8 % і 46,3 %, відповідно.

Встановлено, що вміст загального білірубину в плазмі крові курей дослідної групи був вірогідно меншим за контроль на 45 і 80 добу досліду на 69,9 % і 56,4 %, відповідно (табл. 1).

Відмітимо, що вміст загального білка в плазмі крові курей, які, окрім основного раціону, отримували ГМ сою, впродовж перших 60 діб експерименту був статистично вищим за цей показник у контрольній птиці: на 25 добу – на 22,9 %; 45 добу – на 31,2 % і на 60 добу – на 12,4 %. Проте на 80 добу спостерігали тенденцію до зменшення цього показника відносно контролю. При цьому впродовж всього експерименту значення альбумін/глобулінового коефіцієнту в плазмі крові контрольної та дослідної птиці коливались від 0,94±0,05 до 1,22±0,07 і не мало статистично значимих відмінностей.

У той же час реакції осадових проб, що характеризують функціональний стан печінки, виявились позитивними. Так, починаючи з 35 доби і в подальші строки експерименту у курей дослідної групи реакція тимолової проби була позитивною. При постановці проби Вельтмана встановили, що у птиці, яка отримувала ГМ сою, на 25 і 35 добу відбувалось звуження коагуляційної ленти, а на 45, 60 і 80 добу, навпаки, її розширення, що може вказувати на зменшення вмісту альбуміну.

Таблиця 1 – Динаміка змін біохімічних показників у плазмі крові експериментальних курей впродовж 80 діб (M±m; n=4)

Показник	Група	Термін дослідження, доба				
		25	35	45	60	80
Протромбіновий час, сек.	К	26,75 ± 0,29	28,25 ± 1,96	29,00 ± 1,49	24,25 ± 1,09	23,75 ± 2,55
	Д	22,00 ± 0,81*	26,75 ± 2,07	27,75 ± 2,64	18,00 ± 1,49*	12,75 ± 0,87*
ЛДГ, мкмоль/год.×мл	К	1,65 ± 0,08	1,31 ± 0,17	0,86 ± 0,13	1,08 ± 0,09	0,70 ± 0,02
	Д	1,94 ± 0,06*	1,14 ± 0,09	1,05 ± 0,08	0,96 ± 0,08	0,51 ± 0,03
Лужна фосфатаза, нмоль/сек.×мл	К	1165,0 ±159,9	2667,5 ±456,0	1745,0 ±331,0	3252,0 ±226,6	3253,8 ±344,7
	Д	3520,0±209,6*	4068,8 ±909,2	1800,0 ±431,0	2485,0 ±607,2	4493,8 ±358,2*
АсАт, мкмоль/год.×мл	К	1,76 ± 0,11	1,39 ± 0,13	1,27 ± 0,09	1,55 ± 0,07	1,56 ± 0,04
	Д	2,13 ± 0,09*	1,54 ± 0,16	1,44 ± 0,07	1,59 ± 0,07	1,49 ± 0,1
АлАт, мкмоль/год.×мл	К	0,24 ± 0,03	0,27 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,18 ± 0,04	0,19 ± 0,02
	Д	0,74 ± 0,09*	0,18 ± 0,01*	0,12 ± 0,02*	0,14 ± 0,02	0,13 ± 0,02
Білірубін, мг/л	К	--- ± ---	7,63 ± 0,60	10,38 ± 1,74	13,40 ± 2,81	6,75 ± 0,29
	Д	--- ± ---	8,38 ± 1,01	3,13 ± 0,25*	9,58 ± 0,89	2,94 ± 0,41*
Загальний білок, г/л	К	47,00 ± 1,70	48,50 ± 2,69	40,13 ± 3,17	43,50 ± 0,58	43,25 ± 1,66
	Д	57,75 ± 1,66*	50,88 ± 3,77	52,63 ± 3,63*	48,88 ± 1,71*	40,75 ± 2,64
Альбуміни, г/л	К	25,73 ± 0,76	23,37 ± 0,75	22,10 ± 1,99	23,21 ± 1,08	23,62 ± 0,92
	Д	29,84 ± 0,97*	25,16 ± 1,73	27,91 ± 2,06	26,81 ± 1,15	22,43 ± 1,70
Загальні глобуліни, г/л	К	21,27 ± 1,27	25,13 ± 2,06	18,02 ± 1,20	20,29 ± 0,62	19,63 ± 0,74
	Д	27,91 ± 0,82*	25,72 ± 2,05	24,72 ± 1,75	22,06 ± 0,70	18,32 ± 1,06

Альбумін-глобуліновий коефіцієнт	К	1,22 ± 0,07	0,94 ± 0,05	1,22 ± 0,04	1,15 ± 0,09	1,20 ± 0,01
	Д	1,07 ± 0,03	0,98 ± 0,01	1,13 ± 0,06	1,22 ± 0,04	1,22 ± 0,05
Тимолова проба	К	N	N	N	+	N
	Д	N	++	++	+	+
Проба Вельтмана	К	↑	↓	↓	N	N
	Д	↑	↑	↓	↓	↓
Примітки:						
1. P ≤ 0,05; * P ≤ 0,01; * P ≤ 0,001 відносно контролю;						
2. N – норма; ↑ - зростання коагуляційної ленти Вельтмана; ↓ - розширення коагуляцій ленти Вельтмана						

Активність ЛДГ у плазмі крові дослідних курей на 25 добу була вірогідно більшою за контроль на 17,6 %, а у подальші два строки дослідження залишалась лише тенденція до збільшення, проте на 60 і 80 добу досліду цей показник наблизився до контрольних значень. У печінці дослідних курей впродовж 60 діб, навпаки, спостерігали вірогідне зменшення активності ЛДГ: 25 доба – на 32,4 %, 45 доба – на 52,3 %, 60 доба – на 27,9 %, відповідно. Проте на 80 добу експерименту активність цього ферменту в печінці курей, що отримували ГМ-сою, була вірогідно вищою за контроль на 55,9 % (табл. 2).

Значні зміни спостерігали і в рівні активності лужної фосфатази. Так в плазмі крові дослідних курей вже на 25 добу активність цього показника перевищувала контрольну в 3 рази, тенденція до збільшення активності ЛФ зберігалась і на 35 добу. Надалі значення цього показника наблизилась до контрольних, проте на 80 добу – знову підвищились на 38,1 % (p≤0,05).

Подібним чином змінювалась активність лужної фосфатази і в печінці дослідних курей. На 25 і 35 добу експерименту відмічали тенденцію до збільшення цього показника в печінці курей, що отримували ГМ сою, а на 60 і 80 добу це збільшення набуло вірогідності та дорівнювало 104,0 % і 46,0 %, відповідно до контрольних значень.

Таблиця 2 – Динаміка змін біохімічних показників печінки еспериментальних курей впродовж 80 діб (M±m; n=4)

Показник	Група	Термін дослідження, доба				
		25	35	45	60	80
АсАт, мкмоль/год.×г тканини	К	134,50 ± 13,38	144,50 ± 2,38	126,50 ± 3,00	128,25 ± 7,44	132,25 ± 1,50
	Д	131,25 ± 4,17	142,13 ± 6,16	122,63 ± 5,85	139,88 ± 4,11	148,50 ± 2,24*
АлАт, мкмоль/год.×г тканини	К	30,13 ± 6,25	11,25 ± 2,18	27,13 ± 1,64	20,38 ± 2,74	28,38 ± 1,01
	Д	31,63 ± 2,28	7,38 ± 3,09	28,75 ± 2,60	27,00 ± 5,42	40,88 ± 4,06*
ЛДГ, мкмоль/год.×г тканини	К	115,63 ± 8,03	70,63 ± 7,30	27,50 ± 4,65	39,88 ± 3,95	24,38 ± 3,20
	Д	78,13 ± 4,77*	84,38 ± 8,45	13,13 ± 1,38*	28,75 ± 1,44*	38,00 ± 2,76*
Лужна фосфатаза, нмоль/с×г тканини	К	79,13 ± 22,64	96,38 ± 15,86	110,38 ± 10,35	36,88 ± 5,26	40,75 ± 2,60
	Д	120,38 ± 15,76	88,75 ± 8,05	95,94 ± 1,52	75,25 ± 10,13*	59,50 ± 5,22*
Примітка: * P ≤ 0,05; * P ≤ 0,01; * P ≤ 0,001 відносно контролю.						

Зміни активності амінотрансфераз мали коливальний характер. У плазмі крові птиці, що одержувала трансгенну сою, рівень активності АсАТ на 25 добу був вірогідно вищим за контроль в 1,2 рази. Проте надалі активність цього ферменту в плазмі зменшувалась і наблизилась до контрольних показників (табл. 1). У печінці дослідних курей, навпаки, активність АсАТ від початку експерименту статистично не відрізнялась від цього показника в контрольній групі, проте на 80 добу була вірогідно вищою на 12,3 % (табл. 2).

Подібно змінювалась і активність АлАТ у печінці дослідних курей і на 80 добу була вірогідно вищою за контроль на 44,1 %. У плазмі крові птиці, що одержувала ГМ-сою, активність АлАТ у перший строк забою перевищувала цей показник у контрольній групі в 3 рази, проте вже на 35 добу знижувалась на 33,3 %, а на 45 – на 42,9 % (p≤0,05). Тенденція до зниження активності АлАТ у плазмі крові дослідної птиці зберігалась до кінця експерименту.

Таким чином, можна стверджувати, що тривале (впродовж 80 діб) згодовування курям трансгенної сої лінії MON 89788 призводило до змін показників як функціонального, так і структурного стану печінки, що виявлялось за характером активності АлАТ, АсАТ, ЛДГ і ЛФ, зменшенням рівня загального білірубину та значення протромбінового часу, наявністю позитивних реакцій проб Вельтмана та тимолової, а також за патологоанатомічними змінами тканини (дрябла консистенція, зернистість).

Висновок. Встановлено, що тривале (протягом 80 діб) згодовування ГМ сої лінії MON 89788 курям м'ясо-яєчного напрямку чинить вплив на організм, який виявляється:

– змінами біохімічних показників, які характеризують функціональний стан печінки (за динамікою змін активності АлАТ, АсАТ, ЛДГ і ЛФ, зменшенням рівня загального білірубину та значення протромбінового часу, наявністю позитивних проб Вельтмана та тимолової);

– патологоанатомічними змінами в печінці (за дряблою консистенцією та наявністю зернистості у 31,0 % випадках).

Список літератури

1. Бабич А.О. Світові та вітчизняні тенденції розміщення виробництва і використання сої для розв'язання проблеми білка [Текст]/ А.О. Бабич, А.А. Бабич-Побережна// Корми і кормо виробництво: Виробництво та використання сої у тваринництві і птахівництві: Міжвідомчий тематич. науковий збірник. – Вінниця. – 2012. – Вип. 71. – С. 12-26
2. Тимченко В.Н. Стан і перспективи розвитку виробництва сої в Україні [Текст]/ В.Н. Тимченко, А.В. Пилипенко// Корми і кормо виробництво: Виробництво та використання сої у тваринництві і птахівництві: Міжвідомчий тематич. науковий збірник. – Вінниця. – 2012. – Вип. 71. – С. 27-33
3. Domingo J.L. Health risks of genetically modified foods: Many opinions but few data// Science. – 2000. – Vol. 288. – P. 1748–1749.

EVALUATION OF TOXICO-BIOLOGICAL EFFECTS OF GENETICALLY MODIFIED SOYBEAN LINE MON 89788 ON CHICKEN'S ORGANISM BY BIOCHEMICAL MARKERS

Shevtsova G.M., Gerilovych I.O., Roman'ko M.E., Orobchenko O.L., Dotsenko R.V.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkov

Doletsky S.P.

National Academy of Agrarian Sciences, Kyiv

Problem of the influence of genetically modified plants, including soybean, on animals and humans remains relevant and discussion throughout the world today.

Therefore, our studies outlined in the article were aimed at assessing the toxico-biological effects of genetically modified soybean line MON 89788 on chicken's organism by biochemical markers: determine the total protein and its fractions, content of the total bilirubin, the activity of alanine and aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase and cholinesterase in the plasma and liver samples, also carried the Veltman's and thymol statements, and the amount of red blood cells, content of total hemoglobin and the prothrombin time.

The experiment lasted 80 days, during which chickens from the control group received a diet free from genetically modified soybeans and chickens diet of the experimental group comprised 20 % of the transgenic soybean line MON 89788. During the studies were used, clinical, haematological, biochemical and pathological methods. The obtained data were processed by the method of variation statistics and are given as $M \pm m$. Level of statistical significance was considered significant at $p \leq 0,05$.

Analysis of the results of this experiment indicate that the feeding for 80 days chickens genetically modified soybean line MON 89788 affects poultry organism, which is determined by the changes in the activity of alanine and aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase in the blood plasma, and in liver, to reduce the level of total bilirubin and values of prothrombin time, the presence of positive reactions Veltman's and thymol statements, and to the pathologoanatomy changes in the liver tissue.

Keywords: toxico-biological effects, genetically modified soybean line MON 89788, chicken's organism, biochemical markers, pathologjanatomy changes.