

УДК: 619:615.9:604.6:616-007:618.3:636.085.3

ОЦІНКА ЕМБРІОТОКСИЧНИХ РИЗИКІВ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ГМ-ДЖЕРЕЛ КОРМІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ НА ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИНАХ

Куцан О. Т., Герілович І. О.

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

Балим Ю. П.

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків, Україна

У статті наведені результати дослідження ембріотоксичних властивостей генетично модифікованої сої лінії 40-3-2 на моделі білих нелінійних щурів, які отримували її з кормом впродовж 30 діб до та під час вагітності. Доведено, показники загальної, до- і постімплантаційної летальності ембріонів у контрольній та дослідній групах не мали статистично значимих відмінностей. Маса плодів на двадцяті добу вагітності коливалась в контрольній групі від 2,9 г до 4,3 г, а в дослідній – від 3,1 г до 4,2 г, при цьому середні значення цього показника в обох групах статистично не відрізнялись.

Ключові слова: *генетично модифіковані організми, ембріотоксичність, білі лабораторні щури*

Вивчення ембріотоксичних властивостей є одним з інтегральних критеріїв при гігієнічній оцінці генетично модифікованих джерел кормів, бо складність феномену репродукції робить його вразливим для несприятливого впливу на будь-якому етапі реалізації даної функції. У зв'язку з цим встановлення можливих ембріотоксичних ризиків при використанні генетично модифікованої сировини кормів рослинного походження є актуальною задачею на сьогодні, оскільки в рослинництві має місце широке застосування сучасних методів біотехнології, і в першу чергу, генної інженерії.

Мета досліджень – вивчення ембріотоксичних ризиків при використанні ГМ-джерел кормів на моделі трансгенної сої лінії 40-3-2.

Матеріали та методи. Дослідження проведені на базі відділу токсикології, якості та безпечності сільськогосподарської продукції ННЦ «ІЕКВМ». Експериментальна частина роботи виконана на білих нелінійних щурах. Статевозрілих тварин, з початковою масою 180–220 г, за принципом аналогів було поділено на дві групи. Щури першої (I), контрольної, групи (самки (n=10) і самці (n=3), що утримувались окремо) отримували зерносуміш, 40 % якої складало зерно традиційної сої (проварене впродовж 40 хв. при 100 °С). Щури другої (II), дослідної, групи (самки (n=10) і самці (n=3), що утримувались окремо) отримували таку ж зерносуміш, 40 % якої складало зерно ГМ сої лінії 40-3-2 (проварене впродовж 40 хв при 100 °С). Наявність або відсутність генетичної модифікації попередньо встановлювали за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з відповідними праймерами на 35S-промотор, NOS-термінатор і сою лінії 40-3-2. Доступ до води у всіх щурів був необмеженим. Через 30 діб після того, як тварин було переведено на експериментальний раціон, самців підсаджували до самок у співвідношенні 1:3. Перший день вагітності встановлювали на підставі виявлення сперматозоїдів у вагінальному змиві [1]. Вагітних самок утримували окремо на зазначеному вище експериментальному раціоні впродовж 20 діб, після чого проводили евтаназію тварин шляхом цервікальної дислокації з попереднім інгаляційним хлороформним наркозом.

При розтині вагітних щурів досліджували яєчники, встановлювали наявність живих та мертвих плодів, місць резорбції в рогах матки. Вимірювали краніо-каудальні розміри плодів, масу їх тіла та плаценти. На підставі результатів розтину за формулами О.М. Малащенко, М.К. Єгорової визначали наступні показники: загальна ембріональна смертність, загибель ембріонів до і після імплантації, показники внутрішньоутробної виживаємості, плодово-плацентарний індекс, кількість живих плодів на одну самку [1]. Вісцеральне дослідження органів плодів проводили за методом J.G. Wilson [2]. Стан кісткової тканини вивчали за методом Даусона [1, 3].

Отримані дані були оброблені статистично з використанням критерію Ст'юдента ($p < 0,05$), як описано в роботі Лакіна Г.Ф. [4], узагальнені та проаналізовані.

Результати досліджень. Щури контрольної та дослідної груп впродовж всього терміну вагітності добре поїдали корм, були активні, не виявляли агресивності чи знервованості під час оглядів і зважування. Введення в раціон щурів генетично модифікованої сої не позначилось на тривалості терміну вагітності, не було зафіксовано абортів та передчасних пологів. Прирости живої маси у вагітних тварин дослідної та контрольної груп не мали статистично значимих відмінностей (табл. 1).

Таблиця 1 – Прирости живої маси вагітних щурів, що отримували традиційну і ГМ сою 30 діб до і під час терміну вагітності ($M \pm m$, г)

Доба вагітності	Контрольна група (n=10)	Дослідна група (n=10)
8-ма	19,92 ± 8,61	14,70 ± 7,02
14-та	36,86 ± 8,82	32,20 ± 10,32
20-та	63,77 ± 18,30	64,37 ± 21,25

При проведенні макроскопічного огляду плодів як в контрольній, так і в дослідній групі на двадцятий день вагітності не було виявлено відставання їх розвитку відносно строку вагітності (рис. 1). Плодові оболонки були правильно сформованими, амніотична рідина прозора, плацента повнокровна. При розсіканні плодових оболонок та перерізуванні пуповини плоди починали дихати самостійно. Шкіра мала рожеве забарвлення і дещо зморшкуватий вигляд. В усіх ембріонів контрольної та дослідної групи були відсутні помітні вади у будові черепа та тулуба. Спина була випрямлена. Череп мав овально-подовгасту форму. Вушна раковина та повіки очей були закриті. Передня черевна стінка зрощена, без ознак пупкової грижі. Хвіст був звичайної довжини. Кінцівки мали добре розвинуте плече, передпліччя, кисть, стегно, гомілку та стопу. Положення, форма кінцівок, кількість пальців у дослідних та контрольних ембріонів знаходились у межах норми.



Рис. 1. Тотальний препарат ембріонів щурів на 20 добу вагітності

За результатами дослідження встановлено, що показники ембріогенезу щурів дослідної групи відповідали аналогічним показникам контрольних тварин (табл. 2).

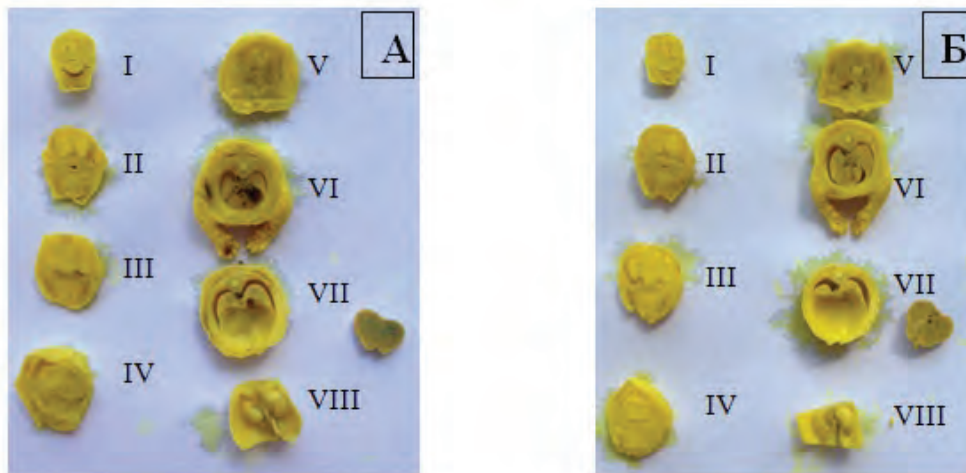
Таблиця 2 – Показники ембріогенезу щурів, які отримували зерно традиційної та ГМ сої (лінія 40-3-2) за 30 діб до та під час вагітності

Показник	Контрольна група (n=7)	Дослідна група (n=7)
Кількість жовтих тіл	73	69
Кількість живих плодів	69	65
Кількість живих плодів на одну самку	9,86 ± 1,68	9,29 ± 2,14
Кількість мертвих плодів	0	0
Кількість місць резорбції	4	4
Загальна ембріональна летальність, %	5,48	5,80
Доімплантаційна ембріональна летальність, %	0	0
Післяімплантаційна ембріональна летальність, %	5,48	5,80
Показник внутрішньоутробної виживаємості, %	94,52	94,20
Маса плода, г	3,8 ± 0,40	3,55 ± 0,29
Краніокаудальний розмір плода, мм	36,27 ± 2,41	35,24 ± 3,33
Маса плаценти, г	0,86 ± 0,17	0,86 ± 0,12
Плодово-плацентарний індекс	0,26 ± 0,04	0,24 ± 0,05

Маса плодів на двадцять добу вагітності коливалась в контрольній групі від 2,9 г до 4,3 г, а в дослідній – від 3,1 г до 4,2 г, при цьому середні значення цього показника в обох групах статистично не відрізнялись.

При вивченні розвитку внутрішніх органів за методом Вільсона було встановлено, що всі переглянуті плоди як в контрольній, так і в дослідній групі не мали патологічних відхилень, і їх розвиток відповідав строкам вагітності (рис. 2).

Так, у всіх переглянутих ембріонів нижня і верхня щелепи були без патологій, язик вільно містився у роті. Тверде піднебіння не мало ознак розщеплення (рис. 2, I зріз). Нюхові бульбочки, розташовані в лобовій частині головного мозку, були великі, на розрізі мали довгасто-овальну форму. Очні орбіти та яблука – парні, розташовані на одному рівні, без патології (рис. 2, II зріз). У всіх ембріонів, як контрольної, так і дослідної групи, відділи головного мозку були пропорційно розвинуті. На розрізах простежувалися півкулі, таламус (проміжний мозок), мозочок, шлуночки головного мозку. Бічні шлуночки головного мозку мали вигляд вузької щілини (рис. 2, III і IV зрізи).



А – контрольна група, Б – дослідна група; I – зріз за вібрисами для розглядання стану твердого піднебіння, носових порожнин; II – зріз через очі для розглядання стану розвитку очей; III – зріз через великі півкулі головного мозку для оцінки їх стану; IV – зріз через мозочок для оцінки його стану; V – зріз, що відсікає шию від тулуба, видно стравохід, трахею, спинний мозок; VI – зріз через серце та верхівки легень для оцінки їх стану; VII – зріз через печінку для оцінки стану печінки та діафрагми; VIII – зріз для оцінки стану кишечника та нирок.

Рис. 2. Фотографії стандартних зрізів ембріонів щурів за методикою Вільсона

Стравохід на всьому протязі був вільний, без ознак стенозу, кільця трахеї – добре розвинуті (рис. 2, V зріз). Серце розвинене, у порожнині перикарду у частини ембріонів як у дослідній, так і в контрольній групах визначали наявність крові. Тканина легень мала добре виражену коміркову структуру (рис. 2, VI зріз). Печінка складалася із шести часток, була звичайної консистенції і кольору. Діафрагмальна перегородка мала куполоподібну форму, цілісність її не була порушена (рис. 2, VII зріз). Петлі кишечника мали звичайну топографію. Нирки у всіх ембріонів були розташовані майже симетрично і не мали ознак гідронефрозу. Досить великі наднирники були овальної форми (рис. 2, VIII зріз).

Таким чином, результати морфанатомічного вивчення ембріонів щурів дослідної групи показали відсутність у 20-денних плодів вірогідних змін порівняно з контролем у стані розвитку та топографії внутрішніх органів і тканин.

При дослідженні кісткової системи ембріонів у нащадків щурів обох груп не відмічено атипової будови і розташування кісток скелету (рис. 3).

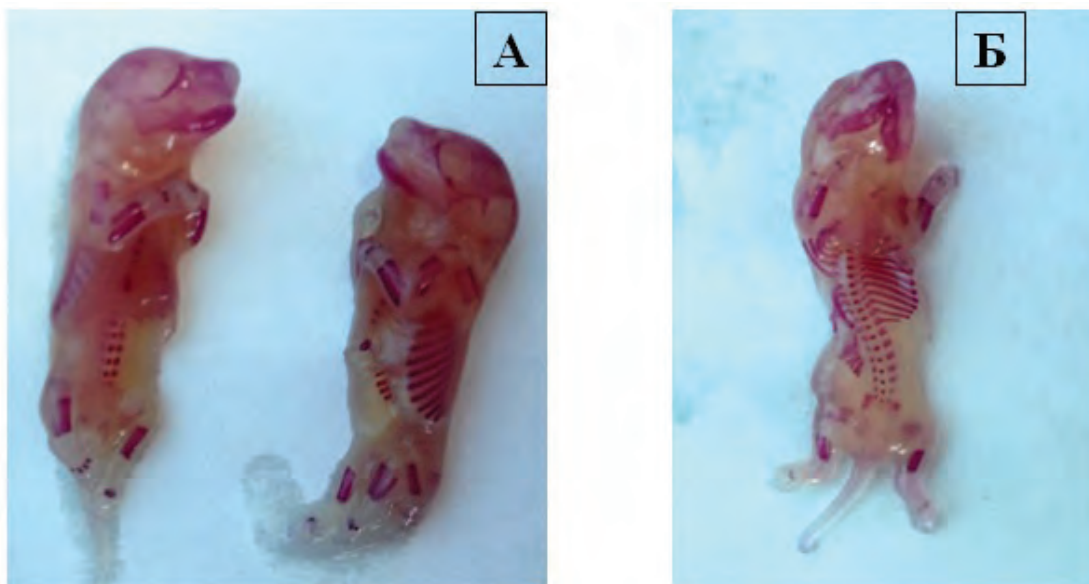


Рис. 3. Фотографії препаратів ембріонів щурів, забарвлених алізарином червоним за методом Доусона для вивчення стану кісткової системи: А – контрольна група; Б – дослідна група

Дослідження закладок лицьового черепа плодів не виявило аномалій розвитку. В усіх ембріонів були добре розвинуті нижня та верхня щелепи, носові перегородки та очні орбіти. У ході дослідження хребта ембріонів також не виявлено вірогідних порушень осифікації у плодів дослідних груп порівняно з плодами контрольних груп. Процес звапнення помітно практично в усіх відділах хребта, виключення складав хвостовий відділ, скостеніння більшості хребців якого в період внутрішньоутробного розвитку не відбувається [5, 6].

Висновок. Доведено, що за умов згодовування ГМ сої лінії 40-3-2 (40 % від загального раціону) щурам за 30 діб до та під час вагітності вона не чинить ембріотоксичної дії: показники загальної, до- і постімплантаційної летальності ембріонів у контрольній та дослідній групах не мали статистично значимих відмінностей. Маса плодів на двадцяті добу вагітності коливалась у контрольній групі від 2,9 г до 4,3 г, а в дослідній – від 3,1 г до 4,2 г, при цьому середні значення цього показника в обох групах статистично не відрізнялись. Стан розвитку вісцеральних органів і кісткової системи плодів відповідав фізіологічній нормі.

Список літератури

1. Методические рекомендации по изучению эмбриотоксического действия химических веществ при обосновании их регламентации в водных объектах [Электронный ресурс]/ Г.Н. Красовский и др. – Адрес документа: <http://www.law.rufox.ru/view/9/5163.htm>
2. Шаторна, В.Ф. Методика визначення ембріотоксичності та тератогенності в морфологічних експериментах [Текст] / Шаторна В.Ф., Гарець В.І., Колосова І.І. та ін. // Вісник проблем біології. – 2014. – Вип. 3, Том 3 (112). – С. 235-240.
3. Утембаева, Н.Т. Оценка влияния генно-инженерно-модифицированных источников пищи на репродуктивную систему крыс и их потомство [Текст] – М. – 2011. – 86 с.
4. Лакин, Г.Ф. Биометрия: учебное пособие для вузов [Текст]. / Под ред. Г.Ф. Лакина. – М.: Высшая школа. – 1990. – 352 с.
5. Таблицы физиологических, биохимических, гематологических и других показателей и констант, характеризующих норму у лабораторных животных, используемых в токсикологическом эксперименте [Электронный ресурс]// Путь доступа: <http://normy-toksikologii.ru/>
6. Reproduction and Breeding. Chapter 6: The Laboratory rat [Text]// Jeffrey J. Lohmiller, Sonya P. Swing; EDITED BY Mark A. Suckow Steven H. Weisbroth Craig L. Franklin. – UK. – 2006. – P. 147-164.

EVALUATION OF EMBRYOTOXICITY RISKS OF USING GM-RAW FEED IN EXPERIMENTAL ON LABORATORY ANIMALS

Kutsan O. T., Gerilovych I. O.

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkov, Ukraine

Balym Yu. P.

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

Currently, it is widely used methods of modern biotechnology, particularly genetic engineering in crop production. In this regard, the study of embryotoxic risks, as a one of the integral criteria for the hygienic assessment of genetically modified feed, is an urgent question.

The aim of this work was to study embryotoxic risks in using transgenic soybean lines 40-3-2 in feeding .

Investigations were carried out on the model of the nonlinear white rats. It is proved that under the conditions of feeding of genetically modified soybean line 40-3-2 (40% of total diet) to rats for 30 days before and during pregnancy, it does not have embryotoxic effects: general, pre- and postimplantation mortality of embryos in the control and experimental groups had no statistically significant differences. Weight of fetus on the twentieth day of pregnancy in control group ranged from 2.9 g to 4.3 g, and in test - from 3.1 g to 4.2 g, and the average value of this index was not statistically different. Status of visceral organs and skeleton system of the fetus consistent with the physiological norm.

Keywords: *genetically modified organisms, embryotoxicity, laboratory animals*