

ГІСТОЛОГІЧНА СТРУКТУРА І МАСОМЕТРИЧНІ КОЕФІЦІЄНТИ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ ЩУРІВ ЗА ЗГОДОВУВАННЯ СОЇ НАТУРАЛЬНОГО ТА ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОГО СОРТІВ

О. Долайчук*, Р. Федорук, Ю. Мартин

*Інститут біології тварин НААН України
вул. В. Стуса, 38, Львів 79034, Україна
e-mail: Dolaychuk@gmail.com*

У статті проаналізовано коефіцієнти маси внутрішніх органів самок щурів, яким згодовували боби сої нативного і трансгенного сортів. Наведено результати порівняльних гістологічних досліджень тканин печінки, селезінки та нирок тварин цих груп. При дослідженні макро- і мікроструктури нирок, печінки та селезінки самок щурів дослідних груп не було встановлено суттєвих відхилень від структури цих органів у щурів контрольної групи.

Ключові слова: генетично модифікована соя, коефіцієнти внутрішніх органів, печінка, селезінка, нирки.

На відміну від традиційних методів селекції, в основі яких лежить перегрупування генів представлених у геномі батьківських форм, сучасна біотехнологія відкрила можливість переносу ознак і між біологічними видами. Запровадження у практику розробок генно-інженерно змінених живих організмів і синтезованих ними біологічно активних речовин відкриває нові перспективи для багатьох галузей виробництва, охорони здоров'я, науки [9, 12]. В останні роки особливого поширення набуло використання трансгенних рослин, що характеризуються стійкістю до гербіцидів, збудників захворювань чи комах-шкідників, хоча питання про безпечність їх впливу на організм людини і тварин залишається до кінця не з'ясованим [17]. Перш за все, ризики використання ГМО пов'язані з труднощами прогнозування метаболічних процесів унаслідок зміни геному. Наявні дані літератури свідчать як про негативний [6, 10, 14, 16, 20–23] і позитивний [4, 19] вплив раціонів, до складу яких входять ГМ рослини, на організм ссавців, так і про їх відсутність [8, 13, 18, 24]. Отже, незважаючи на багаторічний досвід використання кормів з ГМ рослин у тваринництві, залишаються не повністю з'ясовані механізми їх фізіологічного впливу. Результати проведених досліджень мають дискусійний характер, що вказує на необхідність вивчити безпечність використання конкретних трансгенів, вирощених у певних агроекологічних умовах. Однією з найпоширеніших трансгенних культур є соя, яка завдяки цінному набору поживних речовин і біологічно активних компонентів використовується у кормовиробництві, харчовій промисловості й медицині. Метою нашої роботи було вивчити вплив згодовування нативної та ГМ сої на розвиток і мікроструктуру внутрішніх органів (печінки, селезінки та нирок) самок щурів.

Матеріали та методи

Дослідження проводили в умовах віварію Інституту біології тварин НААН на сформованих 3-х групах самок щурів, по 6 тварин у кожній, аналогів за віком (3 міс.), масою тіла (120–140 г) та умовами утримання. Тварини I групи (контрольної) утримувалися на збалансованому стандартному раціоні зі згодовуванням гранульованого комбікорму впродовж усього періоду досліджень. Тварини дослідних груп одержували раціон за схемою

контрольної групи із заміною 30% за поживністю на боби нативної (II група) і трансгенної (III група) сої відповідно. Соя перед згодовуванням проходила термічну обробку протягом 2 год. при температурі 140°C для інактивації антипоживних речовин. Раціони всіх груп відповідали стандартним вимогам і прийнятим нормам. Через 60 днів після початку згодовування сої проводили декапітацію тварин для фізіологічних і гістологічних досліджень. Евтаназію здійснювали під легким ефірним наркозом, без порушень норм гуманного поводження з лабораторними тваринами, з урахуванням загальноприйнятих біоетичних норм і дотриманням міжнародних положень стосовно проведення експериментальних робіт [15]. У тварин контрольної та дослідних груп визначали коефіцієнти маси печінки, нирок і селезінки (відношення маси органа, виражене у грамах, до маси тіла, вираженої в кілограмах).

Для гістологічних досліджень відбирали зразки розміром 0,3–0,5 см з лівої частки печінки (*lobus hepatis sin.*), краніальної частини селезінки (*margo cran.*) та з випуклого латерального краю нирки (*margo lat.*) на межі кіркового та мозкового шарів. Зразки фіксували в 10% розчині формаліну та заливали у парафін згідно із загальноприйнятими методами заливки [1]. Виготовляли зрізи розміром 7 мкм на мікротомі HM 340E зі системою переносу зрізів та фарбували гематоксилін-еозин. Морфологічні дослідження проводили, використовуючи систему візуального аналізу гістологічних препаратів. Фотографували гістозрізи за допомогою вмонтованої в світловий мікроскоп камери з фіксацією зображення пакетом прикладних програм Med.Cam.

Результати і їхнє обговорення

Серед потенційних ризиків використання ГМО у якості кормів є токсичний вплив білків, синтезованих унаслідок активності трансгенів (або мутованих генів) та гербіциду, який може накопичуватися у рослинах, стійких до його дії [3]. Як відомо, роль детоксикаційного центру в організмі відіграє печінка, в якій містяться основні ферментні системи, що здійснюють біотрансформацію і детоксикацію як чужорідних, так і властивих організму сполук. Завдяки цим процесам печінка посідає центральне місце в підтриманні гомеостазу внутрішнього середовища організму [5, 7, 11]. Проведені морфологічні дослідження тканин печінки самок щурів як контрольної, так і дослідних груп показали, що орган щільної консистенції, червоно-бурого кольору з заокругленими частками. Його морфологічна структура відповідає нормі для даного виду і віку тварин як контрольної, так і дослідних груп. Визначення коефіцієнтів маси внутрішніх органів показало, що маса печінки щурів II та III груп вірогідно не відрізнялася від цих показників у щурів I групи. Однак спостерігалася тенденція до зниження коефіцієнтів маси печінки у тварин дослідних груп, що більше виражено у самок щурів, яким згодовували ГМ сою порівняно з контролем.

Коефіцієнти маси внутрішніх органів щурів, до раціону яких додавали нативну та трансгенну сою (г/кг, $M \pm m$; $n=6$)

Тканина	Групи тварин				
	I – контрольна	II – нативна соя	% до контролю	III – ГМ соя	% до контролю
Нирки	7,2±0,83	7,2±0,31	100	7,4±0,18	102,8
Печінка	42,6±5,14	42,3±1,07	99,3	40,5±1,51	95,1
Селезінка	4,1±0,39	4,6±0,43	112,2	4,8±0,34	117,1

Проведені гістологічні дослідження печінки показали, що структура органа збережена у тварин контрольної та дослідних груп. У паренхімі чітко видно печінкові часточки, які є її структурно-функціональними одиницями. Між ними проходять портальні тракти — судини, нерви і жовчні протоки (або тріади печінки — міжчасточкові гілки печінкової ворітної вени, печінкової артерії та міжчасточкова жовчна протока) (рис. 1).

Гепатоцити мають типову будову, з еозинофільною цитоплазмою та базофільним ядром (рис. 1, а). У центральних венах і поодиноких дрібних судинах відзначено скупчення еритроцитів у вигляді безструктурних видозмінених мас (рис. 1, б). Ядра гепатоцитів розміщені центрально, деякі частково збільшені, чітко контуровані. У тварин дослідних груп жовчні протоки звужені, відзначено незначне пошкодження клітин епітелію.

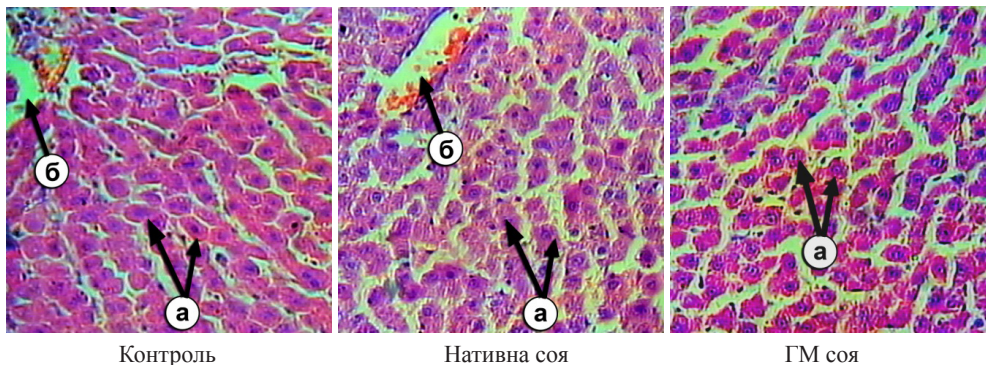


Рис. 1. Мікроструктура печінки самок щурів (гематоксилін-еозин) $\times 200$ (а – гепатоцити; б – скупчення еритроцитів у просвіті судини).

Селезінка є найбільшим органом периферичної лімфоїдної системи, де відбувається очищення циркулюючих клітинних елементів крові – місце, де різні системи організму поєднуються структурно і функціонально. Цей орган бере участь у багатьох фізіологічних процесах організму та виконує роль біологічного фільтра. Її морфофункціональний стан залежить від виду, віку, фізіологічного стану тварин і суттєво змінюється за умов метаболічних порушень в організмі [2].

Встановлено, що макроскопічно селезінка щільної консистенції, характерної випуклої форми, темно-червоного кольору. Структура органа збережена у тварин як контрольної, так і дослідних груп. Порівняння коефіцієнтів маси селезінки самок щурів контрольної та дослідних груп не показало вірогідних відмінностей цих величин (див. таблицю). Однак характерною є тенденція до підвищення маси селезінки у тварин II і III дослідних груп (на 12,2 і 17,1% відповідно) порівняно з контролем. Оскільки селезінка є важливим імунним органом периферичної лімфоїдної системи, ця відмінність може свідчити про активацію специфічної та неспецифічної імунної відповіді організму вагітних самок у період згодовування бобів як нативної, так і ГМ сої. Більше виражений цей вплив відзначається у самок, яким згодовували насіння ГМ сорту сої.

На гістологічних зрізах тканини селезінки вирізняється вузька сполучнотканинна капсула (рис. 2, а) й основні компоненти паренхіми — біла та червона пульпа (рис. 2). Капсула селезінки щурів дослідних груп дещо потовщена. Від неї до центру органа відходять незмінені у тварин контрольної та дослідних груп трабекули — тяжі колагенових еластичних і гладких м'язових волокон, що містять артерії, вени та лімфатичні судини. Чітко проглядаються фолікули, що представлені сферичним скупченням лімфоїдної тканини і локально оточують гілки артерії селезінки (рис. 2, б). Лімфатичні фолікули селезінки самок щурів дослідних груп різних розмірів. Відзначено незначне їх збільшення у тварин усіх груп.

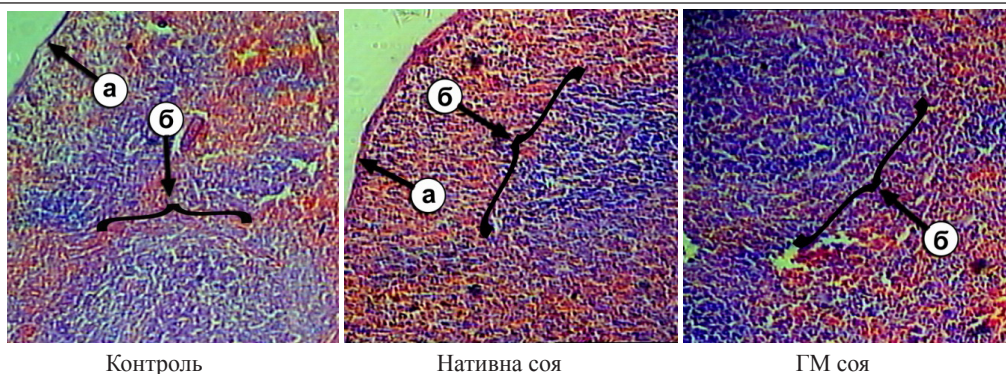


Рис. 2. Мікροструктура селезінки самок щурів (гематоксилін-еозин) $\times 100$ (а – капсула; б – лімфатичний фолікул).

Ще однією із систем, яка активно реагує на дію аліментарних чинників, є сечовидільна, зокрема такий парний орган, як нирка. Зовнішній кірковий шар нирки тварин контрольної та дослідних груп червоно-коричневого кольору, внутрішній мозковий – дещо світліший. Аналіз коефіцієнтів маси нирок тварин контрольної та дослідних груп не показав вірогідних відмінностей (див. таблицю). Мікроскопічна структура органа збережена, чітко проглядається поділ на мозковий і кірковий шари у нирках усіх груп тварин. Проведеними гістологічними дослідженнями нирок самок щурів встановлено, що паренхіма органа у тварин усіх груп має фізіологічну структуру і представлена звивистими каналцями (рис. 3, г), які побудовані з епітеліальних клітин, і судинними клубочками (рис. 3, в). Капсула клубочка утворена двома листками і має вигляд двостінної чаші (рис. 3, б). У тварин дослідних груп просвіт капсули Шумлянського-Боумана збільшений за рахунок меншого об'єму судинних клубочків. Проксимальні звивисті каналці дещо розширені. В окремих судинах відзначено скупчення формених елементів крові (рис. 3, а).

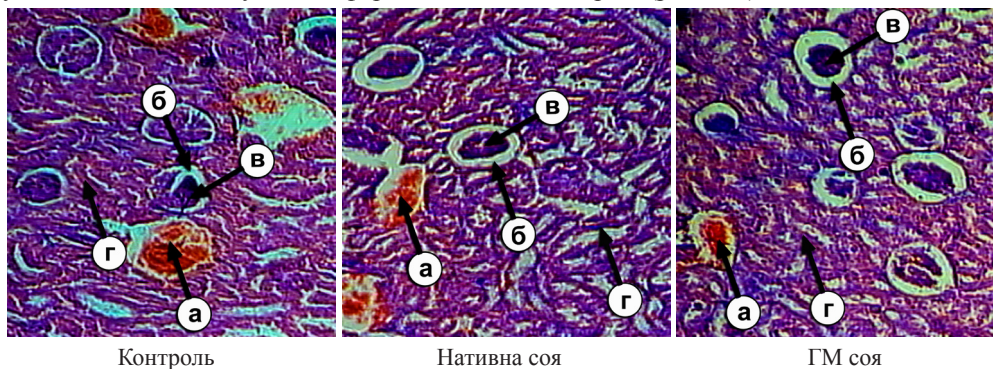


Рис. 3. Мікροструктура нирок самок щурів (гематоксилін-еозин) $\times 100$ (а – скупчення еритроцитів у просвіті судини; б – капсула Шумлянського-Боумана; в – судинний клубочок; г – звивисті каналці).

Згодкування сої нативного і трансгенного сортів самкам щурів зумовлювало певні зміни маси досліджених органів. Зокрема, коефіцієнти маси внутрішніх органів у самок II і III дослідних груп знижувалися для печінки на 0,7 та 4,9% і зростали на 12,2 і 17,1% для селезінки та на 2,8% для нирок (III група) порівняно з контролем. Відсутність вірогідних різниць між масометричними показниками органів самок щурів контрольної та дослідних

груп може бути зумовлено коротким періодом згодовування бобів сої та тривалістю досліду (60 днів).

Отже, підсумовуючи аналіз отриманих даних, можна стверджувати, що морфологічні та гістологічні дослідження внутрішніх органів самок не показали суттєвих вірогідних відмінностей між контрольною та дослідними групами. Враховуючи, що структура органів була збережена і відповідала нормі для тварин даного виду та віку, у самок щурів як I групи, так і II та III груп, можна зробити висновок про відсутність вираженого негативного чи позитивного впливу ГМ компонентів сої на гістологічну структуру тканин печінки, селезінки і нирок. Масометричні показники досліджених внутрішніх органів цих тварин за умов нетривалого згодовування бобів сої змінювалися, що більше виражено у тварин, яким згодовували ГМ сою, але вірогідних різниць не відзначено.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Волкова О. В., Елецький Ю. К. Основы гистологии с гистологической техникой. М.: Медицина, 1982. 303 с.
2. Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І., Клименко О. М. Гістоморфологія та морфометричні показники імунних органів овець та великої рогатої худоби // Проблеми екології ветеринарної медицини Житомирщини: наук. статті міжнар. наук.-виробн. конф. (Житомир, 2005). С. 83–87.
3. Кузнецов В. В., Куликов А. М. Генетически модифицированные риски и полученные из них продукты: реальные и потенциальные риски // Росс. хим. журн. 2005. Т. 69. № 4. С. 70–83.
4. Маннанов А. Г., Забал А. М., Ларионова О. С., Лебедев В. Г. Влияние пыльцы трансгенной груши на пчел // Пчеловодство. 2011. № 5. С. 20–22.
5. Маршалл В. Дж. Клиническая биохимия / Пер. с англ.; Под ред. Н. И. Новикова. М.: Санкт-Петербург, 1999. 368 с.
6. Медико-биологические исследования трансгенного картофеля, устойчивого к колорадскому жуку // Отчет Ин-та питания РАМН. М.: Ин-т питания РАМН, 1998. 63 с.
7. Мудрый И. В., Короленко Т. К. Тяжелые металлы в окружающей среде и их влияние на организм // Врачебное дело. 2002. № 5–6. С. 6–9.
8. Тутельян В. А., Кравченко Л. В., Лашнева Н. В. Медико-биологическая оценка безопасности белкового концентрата, полученного из генетически модифицированной сои // Вопросы питания. 1999. № 5–6. С. 9–12.
9. Bouis H. E., Chassy B. M., Ochanda J. O. Genetically modified food crops and their contribution to human nutrition and food quality // Trends in Food Sci. Technol. 2003. Vol. 14. P. 191–209.
10. Brake J., Vlachos D. Evaluation of transgenic event 176 «Bt» corn in broiler chickens // Poult. Sci. 1998. Vol. 77. P. 648–653.
11. Brechignac F. Protection of the environment: haf to position radioprotection in on ecological risk assesment perspective // Sci. Total Environ. 2003. Vol. 307. P. 35–54.
12. Cases I., de Lorenzo V. Genetically modified organisms for the environment: stories of success and failure and what we have learned from them // Int. Microbiol. 2005. Vol. 8. N 3. P. 213–222.
13. Denise G., Thaler B. R., Evenson D. P. Evaluation of Bt (Bacillus thuringiensis) Corn on Mouse Testicular Development by Dual Parameter Flow Cytometry // J. Agric. Food Chem. 2004. Vol. 52. P. 2097–2102.
14. Ermakova I. Influence of genetically modified soya on the birth-weight and survival of rat pups // Proceedings «Epigenetics, Transgenic Plants and Risk Assessment». 2006. P. 41–48.

15. European convention for the protection of vertebrate animals used for experim. and other scientific purposes // Coun. of Europe, Strasbourg, 1986. 53 p.
16. Ewen W. B. Effect of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine / W. B. Ewen, A. J. Pusztai // *The Lancet*. 1999. Vol. 354. P. 1353–1354.
17. Flachowsky G., Chesson A., Aulrich K. Animal nutrition with feeds from genetically modified plants // *Arch. Anim. Nutr.* 2005. Vol. 59. N 1. P. 1–40.
18. Hashimoto W., Momma K., Yoon H. J. et al. Safety assessment of transgenic potatoes with soybean glycinin by feeding studies in rats // *Biosci Biotechnol Biochem.* 1999. Vol. 63. P. 1942–1946.
19. Kilic A. A., Akay M. T. Three generation study with genetically modified Bt corn in rats: Biochemical and histopathological investigation // *Food and Chemical Toxicol.* 2008. Vol. 46. P. 1164–1170.
20. Malatesta M., Biggiogera M., Manuali E. et al. Fine structural analyses of pancreatic acinar cell nuclei from mice fed on GM soybean // *Eur. J. Histochem.* 2003. Vol. 47. P. 385–388.
21. Malatesta M., Caporalony C., Gavaudan S. et al. Ultrastructural, morphometrical and immunocytochemical analysis of hepatocyte nuclei from mice fed on genetically modified soybean // *Cell Struct. Funct.* 2002. Vol. 27. P. 173–180.
22. Prescott V. Transgenic Expression of Bean α -Amylase Inhibitor in Peas Results in Altered Structure and Immunogenicity // *J. Agricultural Food Chem.* 2005. Vol. 53. N 23. P. 9023–9030.
23. Pusztai A., Bardocz G. G., Alonso R. et al. Expression of the insecticidal bean α -amylase inhibitor transgene has minimal detrimental effect on the nutritional value of peas fed to rats at 30 % of the diet // *J. Nutr.* 1999. Vol. 129. N 8. P. 1597–1603.
24. Teshima R., Akiyama H., Okunuki H. et al. Effect of GM and non-GM soybeans on the immune system of BN rats and B10A mice // *J. Food Hygienic Society of Japan.* 2000. Vol. 41. N 3. P. 188–193.

Стаття: надійшла до редакції 30.03.12

прийнята до друку 27.04.12

HISTOLOGICAL STRUCTURE AND MASOMETRICAL INDICATORS OF INTERNAL ORGANS OF RATS UNDER THE INFLUENCE OF CONVENTIONAL AND TRANSGENIC VARIETIES OF SOYBEANS

O. Dolaychuk*, R. Fedoruk, Y. Martyn

*Institute of Animal Biology NAAS of Ukraine
38, Vasyl Stus St., Lviv 79034, Ukraine
e-mail: Dolaychuk@gmail.com*

In the article presents analyzes the masometrical indicators of internal organs of female rats, which fed soy bean conventional and transgenic varieties. The results of comparative histological investigations of tissues of liver, spleen and kidneys of animals of these groups. In the study of macro- and microstructure of the kidneys, liver and spleen female rats of experimental groups were not found significant deviations from structure of these organs in the control group rats.

Keywords: genetically modified soy, the masometrical indicators of internal organs, liver, spleen, kidneys.

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И КОЭФФИЦИЕНТЫ МАССЫ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС ПРИ СКАРМЛИВАНИИ СОИ НАТУРАЛЬНОГО И ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОГО СОРТОВ

О. Долайчук*, Р. Федорук, Ю. Мартин

*Институт биологии животных НААН Украины
ул. В. Стуса, 38, Львов 79034, Украина
e-mail: Dolaychuk@gmail.com*

В статье проанализированы коэффициенты массы внутренних органов самок крыс, которым скармливали бобы сои нативного и трансгенного сортов. Приведены результаты сравнительных гистологических исследований тканей печени, селезенки и почек животных этих групп. При исследовании макро- и микроструктуры почек, печени и селезенки самок крыс опытных групп не были установлены существенные отклонения от структуры этих органов у крыс контрольной группы.

Ключевые слова: генетически модифицированная соя, коэффициенты массы внутренних органов, печень, селезенка, почки.