

О.П. Долайчук, Р.С. Федорук, І.І. Ковальчук

Вплив компонентів натуральної та генетично модифікованої сої на показники імунної і репродуктивної систем у самиць щурів

Досліджено вміст глікопротеїнів та їх окремих вуглеводних компонентів, загального білка, гемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів, молекул середньої маси та циркулюючих імунних комплексів у крові самиць щурів 3-місячного віку. Проаналізовано їхню репродуктивну здатність з визначенням коефіцієнтів маси плодів за введення в раціон бобів натуральної та генетично модифікованої сої. Встановлено, що згодовування сої суттєво не впливало на гематологічні показники організму тварин дослідних груп порівняно з контролем. Показано, що додавання до раціону щурів бобів, традиційної і генетично модифікованої сої, більше впливає на вміст глікопротеїнів та їх окремих вуглеводних компонентів, фертильність самиць і співвідношення маси плода до маси самиць, але менше на показники функціонального стану їх імунної системи. Узагальнений аналіз одержаних результатів досліджень, проведених на самицях щурів, дає підстави зробити висновок про відсутність вираженого негативного чи позитивного впливу ГМ-компонентів сої на їх фізіологічний стан порівняно з тваринами, яким згодовували натуральну сою.

Ключові слова: глікопротеїни, циркулюючі імунні комплекси, молекули середньої маси, гематологічні показники, щури, генетично модифікована соя, репродуктивна функція.

ВСТУП

Глікопротеїни в організмі виконують низку імунохімічних, захисних, структурних функцій, регулюють імунобіологічні властивості крові [9, 11, 15]. До них належать білкові комплекси, що беруть участь у забезпеченні вродженого та набутого імунітету, зокрема – інтерферони, імуноглобуліни, антигенні протеїни головного комплексу гістосумісності класів I і II тощо. Вуглеводна частина здебільшого стабілізує структуру молекули глікопротеїну, обмежуючи неспецифічні білок-білкові взаємодії та захищає від дії пептидогідролаз. Разом з тим зміна структури глікану та положення окремих вуглеводних залишків визначає фізіологічну активність протеїнів, впливає на адгезію клітин, їх диференціацію та проліферацію. Зокрема, фукоза в основному займає кінцеві позиції на бічних олігосахаридних ланцюгах макромолекул [10, 14]. Її

© О.П. Долайчук, Р.С. Федорук, І.І. Ковальчук

відсутність в нативній структурі глікопротеїнів крові змінює доступність їх білкової частини для пептидгідролаз, що призводить до порушення функціонування імунної, репродуктивної, гормональної та інших систем. Вважають, що між вмістом сіалопротеїнів у сироватці крові та реактивністю організму існує пряма залежність [13]. Важливе фізіологічне значення відіграють залишки сіалових кислот і в активації В-клітин [12]. Крім того, глікопротеїновим комплексам належить провідна роль у зв'язуванні та виведенні ксенобіотиків [8], а також імуномодульовальна [6] й антиоксидантна активність [1] та здатність інгібувати протеїнази [6]. Враховуючи значення глікопротеїнів у формуванні імунобіологічного статусу організму та його функції розмноження, при дослідженні фізіологічних механізмів дії аліментарних чинників важливим є, поряд з вивченням функціонального стану імунної та репродуктивної систем, визначення і глікопротеїнових

показників, що інтегрально характеризують перебіг цих процесів. Вміст сіалових кислот, фукози, сероглікоїдів, гексоз, зв'язаних з білками, гаптоглобіну та церулоплазміну в крові тварин може виражати як імунобіологічну реакцію організму на дію антипоживних і шкідливих речовин, так і виявляти певні залежності з іншими показниками імунного захисту та репродуктивної функції. Тому метою нашого дослідження було провести порівняльну оцінку фізіологічного впливу бобів натуральної та генетично модифікованої сої на імунобіологічну та репродуктивну здатність організму самиць щурів, визначити його глікопротеїновий статус і розвиток плодів за цих умов.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили в умовах віварію Інституту біології тварин НААН на 3-місячних самицях щурів масою 120–140 г. Тварин розділили на 3 групи, по 13 у дослідних групах та 12 у контрольній. Тварин I групи (контрольної) утримували на збалансованому стандартному раціоні впродовж усього періоду досліджень. Тварини II та III груп (дослідні) одержували раціон за схемою контрольної групи із заміною 30 % за поживністю кормів раціону на боби нативної та трансгенної сої відповідно. Соя перед згодовуванням проходила термічну обробку протягом 2 год при 140 °C для інактивації антипоживних речовин (у сої містяться речовини білкової природи, які прийнято вважати антипоживними компонентами, зокрема інгібітори протеолітичних ферментів, лектини, уреаза, ліпоксигенази тощо). Раціони всіх груп відповідали стандартним вимогам та прийнятним нормам. Через 40 діб після початку згодовування сої самиці всіх груп були спаровані і утримувались у тих самих умовах. На останньому періоді вагітності (за 5–8 діб до родів) 6 тварин з групи декапітували. 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 [7]. Від кожної самиці відбирали зразки крові для фізіолого-біохімічних досліджень. Решту самиць залишали для контролю за постнатальним розвитком приплоду.

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 [2] та циркулюючих імунних комплексів [4]. Репродуктивну функцію самиць оцінювали за здатністю до запліднення, виражену у відсотках кількості запліднених тварин до загального числа спарованих. Цифрові результати опрацьовані статистично з використанням критерію t Стьюдента та комп'ютерної програми Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження впливу згодовування нативної та генетично модифікованої сої на організм самиць щурів свідчать про певні відмінності фізіологічного стану тварин дослідних груп, на що вказують міжгрупові різниці гематологічних показників (табл. 1). Зокрема, вміст гемоглобіну у плазмі крові щурів II і III груп був нижчим на 20,9 і 16,1 % відповідно, ніж у самиць I групи. У тварин дослідних груп відмічено характерні, але протилежно відмінні реакції клітин білої крові – зниження числа лейкоцитів на 11,5 % у щурів II групи та підвищення на 38,5 % у III групі. Відомо, що пригнічення лейкоцитозу може спостерігатися за дії низки чинників, у тому числі екологічних, аліментарних. Встановлено, що зменшення числа лейкоцитів у кров'яному руслі може відбуватися у разі інгібування гемопоетичної функції кісткового мозку, а також прискореного переходу окремих форм клітин білої крові у міжклітинний простір тканин [3]. Очевидно, дія окремих

компонентів натуральної сої зумовлювала інгібувальний вплив на функцію кровотворення в кістковому мозку самиць щурів. Підтвердженням цієї гіпотези є суттєве зниження вмісту гемоглобіну і, менш виражене, кількості еритроцитів у крові тварин дослідних груп. Однак виявлена тенденція до збільшення числа лейкоцитів у крові самиць щурів III групи, які одержували боби генетично модифікованої сої, може вказувати на переважаючий прояв у них гострої реакції клітин білої крові.

Відомо, що при патологічних процесах, особливо за їх тривалого перебігу, у біологічних рідинах організму накопичується значна кількість продуктів метаболізму, більшість з яких входить до класу речовин, що ідентифікують як молекули середньої маси (від 300–500 до 5000 Да). Ці компоненти пригнічувально впливають на метаболічні процеси і є досить точним критерієм наявності та виразності синдрому метаболічної інтоксикації [5]. Виконані дослідження вказують, що за введення до раціону щурів бобів сої спостерігалось підвищення концентрації молекул середньої маси у крові тварин дослідних груп, однак ці різниці були не вірогідні (див. табл. 1). Відзначена тенденція свідчить про можливість нагромадження шкідливих продуктів обміну і початок фор-

мування в організмі самиць дослідних груп метаболічної інтоксикації, яка виявляється на низькому фізіологічному рівні. Ця гіпотеза підтверджується також і вмістом циркулюючих імунних комплексів, який був нижчим у крові самиць обох дослідних груп порівняно з контролем, що однак більше виражено у тварин, які отримували боби генетично модифікованої сої. Очевидно компоненти сої, особливо генетично модифікованого сорту, викликають певні негативні фізіологічні зміни в організмі і, враховуючи нижчий вміст імунних молекул у крові тварин дослідних груп, проявляють незначну імунодепресивну дію на секрецію імунних глобулінів. Однак синтез білків крові у самиць дослідних груп проходить на вищому рівні, про що свідчить вищий вміст загального білка в сироватці крові.

У крові вагітних самиць щурів, до раціону яких додавали боби натуральної і трансгенної сої, спостерігалось підвищення вмісту фукози на 18,5 і 17,4 % відповідно ($P < 0,05$) порівняно з контролем (табл. 2). Це може свідчити про вищий ступінь імунобіологічної реактивності організму тварин II і III груп, зумовленої дією компонентів сої порівняно з щурами контрольної групи, що є фізіологічно необхідним у період особливого виснаження імунних резервів під час вагітності. Вміст сіалових кислот у крові тварин II групи був

Таблиця 1. Гематологічні та імунологічні показники організму вагітних самиць щурів, до раціону яких додавали боби нативної та трансгенної сої ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Гемоглобін, г/л	Лейкоцити, 10^9 /л	Еритроцити 10^{12} /л	Загальний білок, г/л	Циркулюючі імунні комплекси, од.екстинції	Молекули середньої маси, г/л
Контроль (I група)	88,6±6,10	5,2±0,37	7,2±0,40	66,4±2,42	15,0±1,73	1,48±0,05
Тварини, які вживали боби:						
нативної сої (II група)	70,0±7,61	4,6±0,31	7,0±0,29	68,5±2,51	14,0±0,57	1,58±0,11
трансгенної сої (III група)	74,3±1,86	7,2±0,32*	7,0±0,31	66,9±0,77	12,0±1,52	1,55±0,06

Примітка. У цій та наступних таблицях * $P < 0,05$.

Таблиця 2. Вміст глікопротеїнів та їх вуглеводних компонентів у крові щурів, до раціону яких додавали боби нативної та трансгенної сої (M±m, n=6)

Група тварин	Фукоза, мг%	Сіалові кислоти, одекстинції ×1000	Гексози, зв'язані з білком, г/л	Сероглікоїди, г/л	Церулоплазмін, одекстинції × 1000	Гаптоглобін, г/л
Контроль (I група)	9,2±0,07	307,3±34,26	2,0±0,09	0,13±0,001	482,3±14,77	3,8±0,29
Тварини, які вживали боби:						
нативної сої (II група)	10,9±0,84	301,3±59,27	1,8±0,03*	0,11±0,006*	493,3±0,58	3,2±0,18*
трансгенної сої (III група)	10,8±0,52*	271,3±73,87	2,0±0,19	0,15±0,010	482,7±13,35	3,3±0,34

майже однаковим зі значеннями контрольної групи. Однак цей показник виявляв тенденцію до зниження у крові щурів III групи, що корелює зі змінами вмісту циркулюючих імунних комплексів. Вміст гексоз, зв'язаних з білками, і сероглікоїдів був вірогідно нижчим у крові тварин II групи на 10,0 і 15,4 % відповідно, тоді як у тварин III групи він залишався на рівні контролю для гексоз і зростав для сероглікоїдів на 15,4 %. Вірогідне зниження вмісту сероглікоїдів у крові тварин II групи порівняно з контролем може свідчити про порушення протеосинтетичної функції печінки. Але виявлена тенденція до збільшення вмісту сероглікоїдів у крові тварин III групи може вказувати на відмінні механізми впливу комплексів нативної та трансгенної сої на функціонування фізіологічного зв'язку між синтезом глікопротеїнових комплексів та їх окремих вуглеводних компонентів в організмі тварин. Встановлені відмінності вмісту глікопротеїнових компонентів корелюють з тенденцією змін кількості лейкоцитів у крові самиць дослідних груп, що ймовірно говорить про функціональне поєднання цих елементів у процесах прояву імунобіологічної реактивності організму.

Підвищення вмісту церулоплазміну у крові тварин II групи на 2,3 % може свідчити про незначну дію ізофлавонової сої, які мають антиоксидантну активність, на функцію ендогенних антиоксидантних ферментів. У крові

тварин II і III груп знижувався вміст гаптоглобіну в 1,2 раза порівняно з контролем. Це може бути наслідком зниження біосинтетичної функції печінки або ж посилення гемолізу еритроцитів за умов згодовування бобів сої. Враховуючи, що зниження вмісту гаптоглобіну у крові тварин дослідних груп перебувало у межах фізіологічної норми, це ймовірно свідчить про незначне посилення гемолізу еритроцитів у цих тварин.

Об'єктивним показником стану функції відтворення тварин є ефективність їх спаровування, що відображає фертильність експериментальних тварин. Проведеними дослідженнями встановлено, що згодовування традиційної та генетично модифікованої сої самицям щурів за 40 діб до спаровування та протягом вагітності призводить до незначного зниження фертильності самиць обох дослідних груп порівняно з тваринами контрольної групи (табл. 3). Так, кількість незапліднених самиць щурів у дослідних групах становила 15,4 % від загальної кількості спарованих самиць, тоді як для тварин контрольної групи цей показник був нижчим на 7,1 %. Це може свідчити про негативний вплив компонентів сої, зокрема фітоестрогенів, на фертильність цих тварин.

Кількість плодів на одну самицю контрольної та дослідних груп була в межах фізіологічної норми і коливалася від 7 до 13 плодів. Для самиць III групи цей показник був

Таблиця 3. Характеристика репродуктивної функції самиць шурів, до раціону яких додавали боби нативної та трансгенної сої (M±m, n=6)

Група тварин	Фертильність самиць			Середня кількість плодів на одну самицю	Середня маса плода, г	Загальна маса плодів на одну самицю, г	Коефіцієнт маси плода до маси самиці, г/кг
	Кількість спарованих	Кількість незапліднених	Відсоток заплідненості				
Контроль (I група)	12	1	91,7	9,0±0,68	1,9±0,07	16,4±2,10	6,5±0,46
Тварини, які вживали боби:							
нативної сої (II група)	13	2	84,6	9,2±0,40	1,9±0,17	17,2±1,92	8,1±0,76
трансгенної сої (III група)	13	2	84,6	8,8±0,60	2,2±0,19	18,2±2,64	8,3±0,50

нижчим порівняно з тваринами I та II груп, проте ці зміни не були вірогідні. Середня маса одного плода була найвищою у самиць III групи і перевищувала значення цього показника у тварин I та II груп на 15,8 %. Вищими для тварин III групи були і загальна маса плодів на одну самицю і коефіцієнт відношення маси плода до маси самиці. Однак ці зміни були не вірогідними і можуть бути пов'язані з незначними різницями (1–2 доби) у терміні вагітності.

ВИСНОВКИ

Дослідженнями встановлено, що згодовування самицям шурів бобів сої трансгенного та нативного сортів не викликає вірогідних змін досліджених гематологічних показників їхньої крові порівняно з контролем. Однак зниження вмісту зв'язаних з білками гексоз, сероглікоїдів та гаптоглобіну ($P < 0,05$) у крові тварин II групи, які отримували боби натуральної сої, може свідчити про її інгібувальний вплив на глікопротеїнсинтетичну функцію печінки. У крові тварин, яким згодовували боби натуральної і генетично модифікованої сої вірогідно зростає вміст фукози, що, очевидно, є результатом активації імунної системи організму. Згодовування сої впливає на репродуктивну функцію організму самиць шурів, знижуючи фертильність тварин у дослідних групах і підвищуючи

коефіцієнт маси плода до маси самиці.

Отже, додавання до раціону шурів соєвих бобів натурального та генетично модифікованого сортів більше впливає на вміст таких глікопротеїнів, як сероглікоїди і гаптоглобін та їх окремих вуглеводних компонентів (фукоза, зв'язані з білками гексози), а також на функцію відтворення тварин, проте менше на показники стану імунної системи. Узагальнений аналіз одержаних результатів досліджень, проведених на самицях шурів, дає підстави зробити висновок про відсутність вираженого негативного чи позитивного впливу ГМ-компонентів сої на їх фізіологічний стан порівняно з тваринами, яким згодовували натуральну сою.

О.П. Долайчук, Р.С. Федорук, І.І. Ковальчук

ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ НАТУРАЛЬНОЙ И ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ СОИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ИМУННОЙ И РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМ У САМОК КРЫС

Исследовали содержание гликопротеинов, а также их отдельных углеводных компонентов, общего белка, гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, молекул средней массы и циркулирующих иммунных комплексов в крови самок крыс 3-месячного возраста. Проанализировали их репродуктивную функцию и коэффициентов массы плодов при введении в рацион бобов натуральной и трансгенной сои. Исследованиями установлено, что скормливание сои не оказывало существенного влияния на гематологические показатели организма самок крыс опытных групп

в сравнении с контрольной. Показано, что добавление в рацион крыс бобов, традиционной и генетически модифицированной сои, более существенно влияет на содержание гликопротеинов и их отдельных углеводных компонентов, фертильность самок и соотношения массы плода и массы самки, и менее выражено это воздействие на показатели функционального состояния иммунной системы организма самок. Обобщенный анализ полученных результатов исследований, проведенных на самках крыс, позволяет сделать вывод об отсутствии выраженного отрицательного или положительного влияния ГМ-компонентов сои на их физиологическое состояние по сравнению с животными, которым скармливали традиционную сою.

Ключевые слова: гликопротеины, циркулирующие иммунные комплексы, молекулы средней массы, гематологические показатели, крысы, генетически модифицированная соя, воспроизводительная функция.

O.P. Dolaychuk, R.S.Fedoruk, I.I. Kovalchuk

THE IMPACT OF COMPONENTS CONVENTIONAL AND GENETICALLY MODIFIED SOYBEANS ON PARAMETERS OF THE IMMUNE AND REPRODUCTIVE SYSTEMS FEMALE RATS

The article presents results of research of the content of glycoproteins and their specific carbohydrate components, total protein, hemoglobin, erythrocyte, leucocytes molecules of average mass and circulating immune complexes in the blood of female rats under conditions feeding of conventional and transgenic soybeans. Also the reproductive function and mass coefficient of fetus of the studied animals was analyzed. The studies were conducted in three groups of female rats aged 3 months. Animals of I group (control) were kept on a balanced diet during the study period. Animals of groups II and III (research) received a diet according to the scheme of the control group with the addition of 30% from the nutritional value diet native or transgenic soybean, respectively. We found that soy feeding had no significant effect on hematological data in the second and third experimental groups versus control. However, addition to the diet of soybeans, including genetically modified, has a significant impact on the content of glycoproteins and their specific carbohydrate components, female's fertility and less pronounced impact on the data of functional status of their immune system. A generalized analysis of the results of research leads to the conclusion that there is no definite negative or positive impact of GM soy components on their physiological state compared with animals fed native soybeans. Key words: glycoproteins, circulating immune complexes, molecules of average weight, hematological data, rats, genetically modified soybeans, reproductive function.

Institute of Animal Biology, Lviv

Ин-т біології тварин НААН України, Львів
E-mail: dolaychuk@gmail.com

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ващенко В.И., Ващенко Т.Н. Церулоплазмин – от метаболита до лекарственного средства // Психофармакология, биология, наркология. – 2006. – 6, № 3. – С. 1254–1269.
2. Влізлю В.В., Федорук Р.С., Рагич І.Б. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. – Л.: СПОЛЮМ, 2012. – с. 764.
3. Гематология: руководство для врачей / Под ред. Н.Н. Мамаева, С.И. Рябова. – СПб.: СпецЛит, 2008. – С. 543.
4. Гриневич Ю.А. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лаб. дело. – 1981. – №8. – С. 493–496.
5. Громашевская Л. Л. Средние молекулы как один из показателей метаболической интоксикации в организме // Лаб. диагностика. – 1997. – №1. – С. 11–16.
6. Зорин Н.А., Зорина В.Н., Зорина Р.М. Роль альфа-2-макроглобулина при онкологических заболеваниях // Вопр. онкологии. – 2004. – 50, № 5. – С. 515–519.
7. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasbourg, 1986. – 53 p.
8. Fournier T. Medjoubi N., Porquet D. Alpha-2-acid glycoprotein // Biochem. Biophys. Acta. – 2000. – 1482, № 1–2. – P. 157–171.
9. Huntoon K., Wang Y., Epplito Ch. The acute phase protein haptoglobin regulates host immunity // J. Leukocyte Biol. – 2008. – 84, № 1. – P. 170–181.
10. Küster B., Hunter A.P., Wheeler S.F., Dwek R.A., Harvey D.J. Structural determination of N-linked carbohydrates by matrix-assisted laser desorption/ionization-mass spectrometry following enzymatic release within sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide electrophoresis gels: application to species-specific glycosylation of alpha-acid glycoprotein // Electrophoresis. – 1998. – 19, № 11. – P. 1950–1959.
11. Lowe J.B. Glycosylation, immunity and autoimmunity // Cell. – 2001. – 104, № 6. – P. 809–812.
12. Naito Y. Activation-dependent change in sialic acid species in mouse B cells // Trends Glycosci. and Glyc. – 2009. – 21, № 120. – P. 237–246.
13. Sato C. Chain length diversity of sialic acids and its biological significance trends in glycoscience and glycotecology // Ibid. – 2004. – 16, № 91. – P. 331–344.
14. Thompson G.M., Cantwell J., Cornell C., Turner G.A. Abnormally fucosylated haptoglobins a cancer marker from tumor burden but not gross liver metastasis // Brit. J. Cancer. – 1991. – 64, № 2. – P. 386–390.
15. Wei H., Bowen R., Cai Q., Barnes S., Wang Y. Antioxidant and antipromotional effects of soybean isoflavone genistein // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1995. – 208, № 1. – P. 124–132.

*Матеріал надійшов
до редакції 04.10.2012*