

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ПЕРЕАМІНУВАННЯ У ТКАНИНАХ ЩУРІВ ДВОХ ПОКОЛІНЬ ЗА ЗГОДОВУВАННЯ СОЇ ТРАДИЦІЙНОГО ТА ТРАНСГЕННОГО СОРТІВ

О. П. Долайчук, Р. С. Федорук, А. П. Киричук

Інститут біології тварин НААН

У статті наведено результати досліджень активності амінотрансфераз у крові та тканинах печінки і серця щурів двох поколінь, яким згодували, боби сої нативного і трансгенного сортів. Активність ферментів білкового обміну зберігалася на фізіологічному рівні, що свідчить про нормальний перебіг метаболічних процесів у досліджуваних тканинах з участю амінотрансфераз при додаванні до раціону сої. Однак, відзначено вірогідно нижчу активність АсАТ у крові та тканинах печінки самців щурів першого покоління обох дослідних груп. У крові самців III групи вірогідно нижчою була й активність аланінамінотрансферази. У крові самок дослідних груп обох поколінь спостерігалася тенденція до нижчої активності трансаміназних ферментів, яка була більш вираженою для тварин, яким згодували трансгенну сою. Встановлені відмінності активності окремих ензимів за згодовування бобів сої традиційного і генетично модифікованого сортів можуть зумовлюватися наявністю біологічно активних та антипоживних речовин у насінні сої цих сортів та особливостями їхнього впливу на обмінні процеси.

Ключові слова: АМІНОТРАНСФЕРАЗИ, ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНА СОЯ, ЩУРИ, ТКАНИНИ ОРГАНІВ

На теперішній час модифікація генетичного коду вже перейшла з науково-теоретичної сфери в сферу промислово-комерційного використання. Дедалі частіше генетично модифіковані організми використовуються у сільському господарстві, харчовій промисловості, фармацевтиці та медицині. Завдяки досягненням генетики та молекулярної біології стало можливим отримання нових сортів сільськогосподарських рослин і порід тварин з ознаками, притаманними віддаленим видам. Легкість виведення таких сортів із невеликою затратою часу, порівняно з традиційними методами селекції, а також можливість науково передбачити появу нових заданих властивостей, призвело до масового вирощування ГМ рослин [1–3]. Незважаючи на значний досвід використання ГМО в тваринництві у якості кормів і зараз зберігається необхідність подальших досліджень їхнього впливу на організм тварин. У світовій літературі розгорнулася гостра дискусія про обґрунтованість декларованих ризиків застосування ГМО, що і обумовило вибір напрямку наших досліджень.

Особливої уваги заслуговують дослідження, проведені з використанням ГМ рослин, площі посіву яких займають значну частку порівняно з їх традиційними аналогами, оскільки вони використовуються не лише у кормовиробництві, але й у харчовій промисловості та медицині. У 2011 році загальна площа посіву трансгенних рослин у світі становила 160 млн га (порівняно із 148 млн га у 2010 р). До найпоширеніших ГМ рослин належить соя, станом на 2011 р. трансгенні сорти цієї культури від загальної площі посівів у світі (95 млн га), становили 79 % (75,4 млн га) [1]. Зерно сої є широко розповсюдженим харчовим і кормовим продуктом, так як містить легкозасвоюваний білок і жири з низьким вмістом холестерину [2] та високим вмістом (56–60,3 %) дієвних, зокрема лінолевої жирної кислоти [3]. Також до складу соєвих бобів входять біологічно активні речовини, дія яких на організм ссавців неоднозначна і багатогранна. Дослідження активності аспартатамінотрансферази (АсАТ) і аланінамінотрансферази (АлАТ) має суттєве значення для визначення загального фізіологічного стану організму тварин, оскільки інтенсивність перебігу біосинтетичних процесів, у тому числі синтез білкових компонентів, залежить, в основному, від швидкості біохімічних реакцій, які регулюються активністю ферментних систем. Головна ж роль амінотрансфераз в організмі тварин полягає в їх участі у проміжному перетворенні амінокислот, основного пластичного матеріалу для біосинтезу білків. Тому метою нашої роботи було дослідити вплив згодовування сої традиційного та трансгенного сортів на активність амінотрансфераз у тканинах печінки та серця щурів батьківського та першого поколінь.

Матеріали і методи

Дослідження провели у віварії Інституту біології тварин НААН на 3-ох групах білих щурів батьківського (F0) та першого (F1) покоління. Групи батьківського покоління формували із самок віком 3 місяці та масою тіла 130–140 г, по 12 тварин у кожній. У дослідний період щурі отримували стандартний раціон із згодовуванням впродовж всього періоду досліду гранульованого комбікорму, що не містив ГМО, із заміною 30 % за його поживністю насінням натурального соняшника (I група — контроль), бобів натуральної сої сорту Чернівецька 9 (II група, дослідна) та бобів трансгенної сої сорту GTS 40-3-2, стійкого до гербіциду гліфосату (III група, дослідна). Перед згодовуванням соя проходила термічну обробку при температурі 140 °С, протягом 2 год., для знешкодження антипоживних речовин і зниження уреазної активності. Раціони і питна вода для всіх груп відповідали вимогам норм годівлі та прийнятим стандартам. Через 40 днів після початку досліду самки всіх груп були спаровані і утримувалися в тих же умовах протягом вагітності та вигодовування приплоду. Самців і самок першого покоління формували у групи по 4 тварини у кожній після відлучення (у віці 2-ох місяців). Декапітацію самок батьківського покоління здійснювали на останньому періоді вагітності (20–22 доба), а щурів першого покоління — у віці 4-ох місяців. Евтаназію проводили 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 [4]. Для досліджень відбирали тканини серця і печінки, в яких визначали активність аланін- та аспартатамінотрансфераз і вміст розчинного білка [5]. Цифрові дані опрацьовані статистично з використанням t критерію Стьюдента та комп'ютерної програми Excel.

Результати й обговорення

Активність амінотрансфераз у крові є важливою діагностичною ознакою низки захворювань. Найбільше клініко-діагностичне значення мають власне досліджувані нами аспартат- (АсАТ) і аланінамінотрансфераза (АлАТ). Підвищення активності цих ферментів у крові дозволяє розпізнавати патологічні стани, що супроводжуються порушенням білкового обміну і тканинного метаболізму у печінці. Особливо інформативним є визначення активності АлАТ для ранньої діагностики метаболічних порушень у печінці. Дослідження впливу компонентів сої на стан білкового обміну показали, що активність амінотрансфераз у крові самок щурів II групи (F0) вірогідно не змінювалася порівняно до даного показника у контрольній групі (табл. 1). Очевидно, що введення у раціон самок щурів сої традиційного сорту не спричинює додаткового навантаження навіть в останні дні вагітності. Проте, введення корму, що містить компоненти з ГМ сої викликає зниження активності ферментів, що можна пояснити можливістю накопиченням гербіцидів і їх токсичних метаболітів у бобах сої стійкого до них трансгенного сорту [6].

Таблиця 1

Активність ферментів білкового обміну в крові самок щурів батьківського покоління за умов згодовування натуральної та трансгенної сої (M±m, n=4)

Група	АсАТ, мккат/л	АлАТ, мккат/л
I	0,659±0,046	0,472±0,012
II	0,682±0,007	0,462±0,031
III	0,560±0,055	0,372±0,042

Активність ферментів амінотрансфераз у крові молодих самок дослідних груп, одержаних від матерів, яким згодовували сою, залишалась на фізіологічному рівні (табл. 2). Однак, звертає увагу тенденція до нижчого рівня активності АлАТ у крові самок II (на 3%) і III (на 9,7%) груп, що було відзначено в попередніх дослідженнях для самок батьківського покоління. Очевидно, певна інгібуюча дія компонентів натуральної та ГМ сої на активність АлАТ у крові самок щурів виникала, однак сила впливу була не значною і не відрізнялася суттєво у тварин II і III груп.

Активність ферментів білкового обміну в крові самок щурів першого покоління за умов згодкування натуральної та трансгенної сої ($M \pm m$, $n=4$)

Група	АсАТ, мккат/л	АлАТ, мккат/л
I	0,835±0,031	0,620±0,015
II	0,759±0,017	0,601±0,032
III	0,835±0,045	0,560±0,055

За даними літератури відомо, що компоненти бобів сої зумовлюють певний фізіологічний вплив на функціонування окремих систем та органів, у тому числі печінки, селезінки та нирок, зокрема активність ензимів переамінування [7]. Дослідженнями активності ферментів переамінування у тканинах самок щурів першого покоління вірогідних змін не було відзначено (табл. 3). Активність АсАТ у печінці та серці самок щурів, яким згодували нативну та ГМ сою залишалася на рівні цього показника у тварин контрольної групи. Вірогідних змін не було виявлено і при дослідженні активності АлАТ у тканинах печінки та серця щурів дослідних груп порівняно до контролю.

Таблиця 3

Активність ферментів білкового обміну в тканинах самок щурів першого покоління за умов згодкування натуральної та трансгенної сої ($M \pm m$, $n=4$)

Тканина	Група		
	I	II	III
АсАТ, мккат/кг			
печінки	10,9±0,45	10,4±0,12	10,5±0,28
серця	12,7±0,27	12,5±0,08	13,3±0,08
АлАТ, мккат/кг			
печінки	13,4±0,16	12,9±0,16	12,3±0,88
серця	10,5±0,81	10,2±1,04	12,1±0,44

Дослідження впливу компонентів сої на стан білкового обміну у самців щурів першого покоління показали вірогідні зміни активності трансаміназних ферментів у їх крові, яка у самок як батьківського, так і першого покоління проявляла тенденцію до зниження. Зокрема, активність амінотрансфераз у крові самців щурів, яким згодували ГМ сою, вірогідно знижувалися як АлАТ (15,7 %), так і АсАТ (15,8 %) порівняно до контролю (табл. 4).

Таблиця 4

Активність ферментів білкового обміну в крові самців щурів першого покоління за умов згодкування натуральної та трансгенної сої

Групи	АлАТ, мккат/л	АсАТ, мккат/л
I	0,790±0,0308	0,897±0,0229
II	0,595±0,0752	0,770±0,0162**
III	0,666±0,0283*	0,755±0,0192**

Примітка: різниця статистично вірогідна порівняно з контролем * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$

У тварин II групи вірогідно зменшувалась лише активність аспартатамінотрансферази, тоді як активність аланінамінотрансферази проявляла тенденцію до зниження порівняно з самцями контрольної групи. Більш виражений вплив поживних та антипоживних компонентів сої на активність ферментів переамінування у крові самців щурів може бути пов'язаним з механізмами впливу на їх організм речовин, що володіють естрогенною активністю.

Результати дослідження активності амінотрансфераз у печінці самців щурів першого покоління показали вірогідне зниження активності АсАТ на 8,0 та 7,1 % ($p < 0,05$) у цих тканинах тварин II та III дослідних груп відповідно порівняно до контролю (табл. 5). Тоді як

активність аспартатамінотрансферази серцевого м'язу самців дослідних груп залишалася без змін і навіть була дещо нижчою порівняно з цим показником у щурів I групи.

Таблиця 5

Активність амінотрансфераз у тканинах самців щурів першого покоління за згодовування нативної та трансгенної сої (M±m, n=4)

Тканина	Група		
	I	II	III
АсАТ, мккат/кг			
печінки	11,2±0,17	10,3±0,26*	10,4±0,16*
серця	13,0±0,12	12,9±0,08	12,5±0,23
АлАТ, мккат/кг			
печінки	13,4±0,25	13,2±0,24	12,8±0,52
серця	10,6±0,12	11,5±0,65	11,6±0,51

Активність АлАТ у печінці тварин дослідних груп вірогідно не змінювалася і залишалася на рівні контролю. У тканинах серця теж не було зафіксовано вірогідних змін активності аланінамінотрансферази, однак спостерігалася тенденція, до її вищого рівня у тварин дослідних II і III груп до раціону яких входила соя обох сортів.

Висновки

Згодовування шурам сої традиційного і генетично модифікованого сортів не викликає значних порушень метаболізму білка, про що свідчить фізіологічний рівень активності ферментів переамінування у крові та тканинах тварин дослідних і контрольної груп материнського покоління та його потомства, проте виявляють інгібуючий вплив на активність АлАТ та АсАТ у крові самців щурів дослідних груп, який більше виражений щодо активності аспартатамінотрансферази крові. Вплив компонентів сої на показники білкового обміну у тканинах серця та печінки тварин дослідних груп проявлявся лише вірогідним зниженням активності АсАТ у тканинах печінки самців першого покоління.

Перспективи подальших досліджень. Дослідити активність окремих ензимів вуглеводного обміну під впливом згодовування бобів сої традиційного і генетично модифікованого сортів.

O. P. Dolaychuk, R. S. Fedoruk, A. P. Kirichuk

TRANSAMINATION ENZYME ACTIVITY IN BLOOD AND TISSUES OF TWO-GENERATIONS OF RATS FED DIET WITH ADDED CONVENTIONAL AND GM SOYBEAN

S u m m a r y

In the article presents results of studies aminotransferase activity in blood and tissues of the liver and heart of two-generations of rats fed diet with added conventional and GM soybean. Activity of enzymes of protein metabolism persisted at a physiological level, indicating that the normal course of metabolic processes in tissues involving aminotransferases adding soy to the diet. However, the observed significantly lower AST activity in blood and liver tissues of male rats of the first generation both experimental groups. The activity of alanine aminotransferase in the blood males of III group was significantly lower. In the blood of females research groups of both generations tended to lower the activity of transaminase enzymes, which was more pronounced for animals fed transgenic soybeans. Differences of activity of some enzymes by feeding soybeans traditional and genetically modified varieties may be made conditional upon the presence of biologically active substances and antinutrients in soybean seeds of these varieties and characteristics of their effects on metabolism.

O. P. Dolaychuk, R. S. Fedoruk, A. P. Kirichuk

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ПЕРЕАМИНИРОВАНИЯ В ТКАНЯХ КРЫС ДВУХ ПОКОЛЕНИЙ ПРИ СКАРМЛИВАНИИ СОИ ТРАДИЦИОННОГО И ТРАНСГЕННОГО СОРТОВ

А н н о т а ц и я

В статье приведены результаты исследований активности аминотрансфераз в крови и тканях печени и сердца крыс двух поколений, которым скармливали бобы сои нативного и трансгенного сортов. Активность ферментов белкового обмена сохранялась на физиологическом уровне, что свидетельствует о нормальном протекании метаболических процессов в исследуемых тканях с участием аминотрансфераз при добавлении в рацион сои. Однако, отмечено достоверное снижение активности АсАТ в крови и тканях печени самцов крыс первого поколения обеих опытных групп. В крови самцов III группы достоверно ниже была и активность аланинаминотрансферазы. В крови самок опытных групп двух поколений наблюдалась тенденция к низшей активности трансаминазных ферментов и была более выраженной у животных, которым скармливали бобы сои трансгенного сорта. Установленные различия активности отдельных ферментов при скармливании бобов сои традиционного и генетически модифицированного сортов могут быть обусловлены присутствием биологически активных и антипитательных веществ в семенах сои этих сортов и особенностями их влияния на обменные процессы.

1. *Aumaitre A.* New feeds from genetically modified plants: Substantial equivalence, nutritional equivalence, digestibility, and safety for animals and the food chain / A. Aumaitre, K. Aulrich, A. Chesson, G. Flachowsky, and G. Piva. // *Livestock Production Science*. — 2002. — Vol. 74. — P. 223–238.

2. *Beever D. E.* Safety issues associated with the DNA in animal feed derived from genetically modified crops. A review of Scientific and regulatory procedures / D. E. Beever, C. F. Kemp // *Nutr. Abstracts and Reviews, Series B: Livestock Feeds and Feeding*. — 2000. — Vol. 70. — P. 175–182.

3. EFSA panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Scientific opinion on guidance on selection of comparators for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed // *EFSA Journal*. — 2011. — Vol. 9, № 5. — P. 2149–2171.

4. GM material in animal feed (April 2012). Интернет ресурс: <http://www.food.gov.uk/gmfoods/gm/gmanimal>

5. *Бабич А. О.* Проблема білка і виросування зернобобових на корм / А. О. Бабич. — 3-е вид. перероб. — К.: Урожай, 1993. — 192 с.

6. *Макрушина Є.* Утилізація ліпідів при проростанні насіння кукурудзи та сої залежно від його морфологічної будови / Є. Макрушина // *Вісн. Львів. ДАУ. — Агрономія*. — Львів, 2001. — № 5. — 617 с.

7. European convention for the protection of vertebrate animals used for experim. and other scientific purposes // *Coun. of Europe, Strasbourg*, 1986. — 53 p.

8. Лабораторные методы исследования в клинике / под. ред. В. В. Меншикова. — М.: Медицина, 1987. — 428с.

9. *De Roos A. J.* Integrative assessment of multiple pesticides as risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men / De Roos A. J., Zahm S. H., Cantor K. P. et. all. // *Occup. Environ. Med.* — 2003. — Vol. 60. — P.49–54

10. *Рыжкова Г. Ф.* Белковый обмен у коров при введении в рацион сои / Г. Ф. Рыжкова, М. В. Милукова, С. А. Левантовский, М. И. Рецкий // *Ветеринария*. — № 11— 2004. — С. 45–48

11. *Василаки А. Ф.* Соя в лечебном питании при заболеваниях печени / А. Ф. Василаки // *Актуальные вопросы гематологии*. — Кишинев, 1986. — С. 84–89.

Рецензент: провідний науковий співробітник лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії, доктор сільськогосподарських наук, с. н. с. Остапів Д. Д.