

УДК 618.11-091.8-092.4:612.621.31:602.6:582.763.3

© Коллектив авторов, 2012.

## ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПОЛОВОЙ ФУНКЦИИ И ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЯИЧНИКОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ В ПИЩУ ГМО-СОИ

**Т. В. Горбач, И. Ю. Кузьмина, Г. И. Губина-Вакулик, Н. Г. Колоусова**

*Кафедра патологической анатомии (зав. – профессор В. Н. Марковский); кафедра акушерства и гинекологии. №1 (зав. – профессор Н. А. Щербина), Харьковский национальный медицинский университет; Харьковский областной клинический перинатальный центр, г. Харьков.*

### HORMONAL REGULATION OF SEXUAL FUNCTION AND OVARIAN HISTOLOGICAL FEATURES IN THE EXPERIMENT WITH GMO-SOYA USE IN FOOD

T. V. Gorbach, I. U. Kuzmina, G. I. Gubina-Vakulik, N. G. Kolousova

#### SUMMARY

Hormonal and histological changes in a tissue of ovaries of rats are studied at long introduction in nutrition GMO. Introduction in nutrition within 6 months of the GMO-soya to practically healthy rats Vistar leads to an acceleration of ageing of ovaries.

### ГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ СТАТЕВОЇ ФУНКЦІЇ Й ГІСТОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЯЄЧНИКІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ ПРИ ВИКОРИСТАННІ В ЇЖУ ГМО-СОЇ

Т. В. Горбач, І. Ю. Кузьміна, Г. І. Губіна-Вакулик, Н. Г. Колосова

#### РЕЗЮМЕ

Вивчено гормональні й гістологічні зміни в тканині яєчників пацюків при тривалому введенні у їжу ГМО. Введення в їжу протягом 6 місяців ГМО-сої практично здоровим пацюкам Вістар приводить до прискорення старіння яєчників.

**Ключевые слова:** ГМО-соя, яичники, крысы.

Генномодифицированные организмы растительного происхождения в настоящее время все шире используются в качестве пищи животных и человека.

Громко высказывается мнение о том, что ГМО-продукты спасут мир от голода, а негативные последствия для здоровья отрицаются. Эта точка зрения в большинстве случаев исходит из лабораторий, принадлежащих концернам, производящим ГМО [3]. Наиболее существенным методическим дефектом при постановке эксперимента по изучению последствий для здоровья при питании ГМО-продуктами в этих лабораториях является короткий период наблюдения за животными – всего 3 месяца, вероятно, поэтому метаболические и гистологические изменения в органах не удавалось обнаружить. С другой стороны, независимые исследователи сообщали о нефротоксическом и гепатотоксическом эффектах при употреблении в пищу ГМО-кукурузы [3]. Повреждение гистоструктуры печени выявили авторы настоящей статьи, используя для питания крыс ГМО-сою; результаты опубликованы ранее [1]. Еще одним моментом, которого редко касаются исследователи, является особенность реакции на ГМО-продукт особей во втором поколении. Кроме того, поскольку изучается возможное повреждающее действие пищи, в настоя-

щем эксперименте сделана попытка изучить действие ГМО-продукта не только на здоровых животных, но и на фоне смоделированного хронического энтерита. Особо важным вопросом для изучения последствий при использовании в пищу ГМО-содержащих продуктов является вопрос морфофункционального состояния репродуктивной системы, что является одним из интегральных критериев при гигиенической оценке факторов внешней среды.

Цель – изучить гормональные и гистологические изменения в ткани яичников животных первого и второго поколений в связи с продолжительным введением в пищу ГМО-сои здоровым животным и животным с хроническим энтеритом.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения эксперимента было сформировано 5 групп животных в возрасте 3 месяцев – самок крыс линии Вистар по 6 особей в каждой: группа Инт – интактные животные, получавшие стандартную пищу вивария; группа Соя – группа крыс, которым скармливали обычную, немодифицированную сою сорта «Рядова» в количестве, покрывающем 50% потребности в белках; группа ГМО – животные потребляли пищу с аналогичным дополнением генномодифицированной сои (сорт «Roundup Ready»)

линии 40-3-2, которая содержит трансгены *ср4ерспс* и регуляторные элементы – промотер *E35S* и терминатор *NOS*); группа Э+Сою – у животных предварительно смоделировали хронический энтерит путем дачи *рег ос* раствора каррагенена [4], а затем скармливали немодифицированную сою; группа Э+ГМО – у животных смоделировали каррагеноновый хронический энтерит и скармливали ГМО-сою.

Кормление проводили в течение 6 месяцев. Через 2 месяца после начала эксперимента самок подсадили к самцам, получили потомство: группа Инт – 20 крысят, группа Сою – 19 крысят, группа ГМО – 25 крысят. После перехода на самостоятельное питание крысята получали такой же рацион, как и их матери, то есть были сформированы следующие группы животных 2-го поколения, которые принимали участие в «пищевом» эксперименте: группа Инт, группа Сою, группа ГМО, группа Э+Сою, группа Э+ГМО.

Животных выводили из эксперимента путем декапитации: 1-е поколение – в возрасте 9 месяцев (потребляли особый рацион в течение 6 месяцев), 2-е поколение – в возрасте 3 месяцев. Измеряли массу тела животных, отмечали степень развития жировых депо.

Для биохимических исследований использовали сыворотку крови. Определяли содержание в сыворотке крови эстрадиола, прогестерона, тестостерона, фолликулостимулирующего (ФСГ), лютеинизирующего (ЛГ) гормонов и пролактина, используя иммунохимические наборы.

Морфологическое исследование яичников самок в возрасте 9 месяцев и потомков в возрасте 3 месяцев проведено на микроскопе *Axiostar-plus* (Zeiss, ФРГ) с использованием микропрепаратов, полученных путем парафиновой заливки и окрашенных гематоксилином-еозином, пикрофуксин по Ван Гизону, галоцианином по Эйнарсону.

Статистический анализ проведено методом вариационной статистики по методу Стьюдента.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У самок поколения F0 из всех исследованных яичниковых и гипофизарных гормонов наблюдали изменение концентрации только эстрадиола и ФСГ в группах крыс, получавших в пищу ГМО-сою, тогда как наличие в пище немодифицированной сои не ведет к изменению концентрации этих гормонов (табл. 1).

Таблица 1

**Содержание половых гормонов, гонадотропинов и пролактина в сыворотке крови экспериментальных животных 1-го поколения**

Группы животных	Эстрадиол пкг/мл	Прогестерон нМ/л	Тестостерон нМ/л	ФСГ нМ/л	ЛГ мМЕ/мл	Пролактин нг/мл
Инт	12,75±1,08	0,45±0,03	0,71±0,05	32,47±2,55	8,64±0,73	35,44±2,67
Сою	13,14±1,02 p>0,05	0,50±0,05 p>0,05	0,75±0,06 p>0,05	34,11±2,81 p>0,05	8,00±0,67 p>0,05	37,24±1,68 p>0,05
ГМО 6 месяцев	7,34±0,62 p<0,01	0,48±0,02 p>0,05	0,68±0,05 p>0,05	44,68±3,25 p<0,01	7,93±0,69 p>0,05	32,48±2,69 p>0,05
Э+Сою 2 месяца	11,32±1,01 p>0,05	0,40±0,04 p>0,05	0,68±0,06 p>0,05	30,16±2,13 p>0,05	7,94±0,73 p>0,05	34,65±3,0 p>0,05
Э+ГМО 6 месяцев	5,32±0,47 p<0,001	0,59±0,03 p<0,02	0,55±0,03 p<0,01	28,16±2,03 p<0,05	6,32±0,48 p<0,02	48,22±3,79 p<0,02

Если ГМО-соей питались практически здоровые животные, то наблюдается достоверное снижение уровня эстрадиолемии при достоверном повышении концентрации ФСГ, что указывает на «скомпрометированность» яичников, на уменьшение морфофункциональной активности гранулезы яичниковых фолликулов и, в связи с этим, гипофизарную стимуляцию этой функции яичников без достижения нормального уровня эстрадиопродукции.

У животных, имеющих каррагеноновый энтерит в качестве фонового заболевания, уровень эстрадиолемии снижен еще в большей степени. При этом концентрация ФСГ оказалась также сниженной, что может быть проявлением истощенности этой функции гипофиза. Возможно, в более ранние сроки гиперпродукция ФСГ аденогипофизом позволяла

нормализовать эстрадиолпродукцию яичниками по принципу обратной связи, но через 6 месяцев питания самок крыс Вистар ГМО-соей, вероятно, количество гонадотропоцитов аденогипофиза, продуцирующих ФСГ, уменьшилось вследствие форсированного апоптоза части из них. У этих же животных (группа Э+Сою) отмечается гиперпрогестеронемия также периферического генеза (может быть надпочечникового, поскольку животные этой серии уже не молодые) при сниженной продукции ЛГ. Кроме того, наблюдается гипотестостеронемия и гиперпролактинемия. Общая гормональная картина половой функции самок в группе Э+ГМО – ускоренное «затухание» функции.

Гистологическое исследование яичников самок-матерей, то есть 1-го поколения, показало,

что питание немодифицированной соей в течение 6 месяцев стимулирует образование многочисленных белых тел из прекративших развитие растущих фолликулов и развитие склероза яичника; растущих фолликулов меньше, чем у интактных животных, но клетки их гранулезы имеют заметно более крупное ядро, что объясняет благополучное соотношение концентрации в сыворотке крови эстрадиола и ФСГ. В группе Э+Соя те же патологические изменения и компенсаторная морфофункциональная активация гранулезной клетки выражены еще в большей степени. В группе ГМО количество растущих фолликулов и общее количество клеток гранулезы также прогрессивно уменьшается, склероз усиливается. Питание крысы ГМО-соей на фоне наличия хронического энтерита привело к формированию немногочисленных фолликулярных кист, выраженному склерозу яичниковой ткани и опустошению интерстициальной гормонально активной ткани, что объясняет выше описанные гормональные осо-

бенности, оцененные как ускоренное «затухание» функции.

Взрослые самки-потомки (поколение F1), выношенные в условиях потребления матерями немодифицированной сои и сами после грудного периода питавшиеся немодифицированной соей, не имеют достоверных различий с группой интактных животных в обоих вариантах – и здоровые (группа Соя), и больные энтеритом (группа Э+Соя). А вот питание ГМО-соей здоровых животных приводит к аналогичному в материнской группе изменению в паре эстрадиол-ФСГ: концентрация эстрадиола понижается, а ФСГ – повышается. Если же животное имеет нарушенный эпителиальный барьер в кишечнике, то есть болеет энтеритом (группа Э+ГМО), то патологические сдвиги в продукции эстрадиола и ФСГ еще более выражены. Снижена концентрация прогестерона в крови в паре с повышенной концентрацией ЛГ, что, скорее всего, свидетельствует о снижении продукции прогестерона в яичниках 3-месячных животных.

Таблица 2

Содержание половых и гонадотропных гормонов в сыворотке крови самок-потомков

Группы крыс	Эстрадиол пкг/мк	Прогестерон нмоль/л	Тестостерон нмоль/л	ФСГ нм/л	ЛГ мМЕ/мл
Инт	8,45±1,08	0,29±0,02	0,45±0,03	26,34±2,45	6,08±0,53
Соя	9,06±0,72 p>0,05	0,31±0,03 p>0,05	0,47±0,04 p>0,05	24,62±1,78 p>0,05	5,79±0,48 p>0,05
ГМО	5,49±0,37 p<0,01	0,27±0,02 p>0,05	0,42±0,03 p>0,05	30,48±1,75 p<0,05	5,83±0,05 p>0,05
Э+соя	8,79±0,67 p>0,05	0,26±0,02 p>0,05	0,39±0,03 p>0,05	28,15±2,00 p>0,05	6,33±0,47 p>0,05
Э+ГМО	4,42±0,37 p<0,001	0,11±0,01 p<0,001	0,51±0,05 p>0,05	34,62±2,05 p<0,01	12,30±6,00 p<0,001

В целом, у животных второго поколения группы Э+ГМО в молодом возрасте также формируется картина яичниковой недостаточности.

Гистологическое исследование яичника самок во втором поколении показало аналогичное первому поколению ускоренную гибель фолликулов и истощенность их в группе ГМО и группе Э+ГМО, что означает атрофию гранулезы. Кроме того, гормонально активная интерстициальная ткань становится разреженной, а количество желтых тел также резко уменьшено, что подтверждает развитие яичниковой недостаточности у животных в молодом возрасте.

Данное исследование несет в себе две существенные методические новизны. Во-первых, осуществлено не 3-месячное кормление экспериментальных животных ГМО, как обычно выполняется в большей части исследований по ГМО, а 6-месячное, то есть загрузка ГМО оказалась более длительной. Вероятно, потому казахские исследователи не обнаружили различий в содержании по-

ловых гормонов крыс, питавшихся ГМО-кукурузой и немодифицированной кукурузой [2]. Кроме того, была сформирована группа животных со смоделированным каррагененовым энтеритом, на фоне которого изучались последствия кормления ГМО-соей. Хронический энтерит – это очень частое состояние кишечника среди населения. При энтерите в кишечнике имеются многочисленные участки слизистой, лишенные эпителия, то есть эпителиальный барьер поврежден, что делает его более проницаемым для содержимого кишечника.

#### ВЫВОДЫ

Введение в пищу в течение 6 месяцев ГМО-сои практически здоровым крысам Вистар приводит к ускорению старения яичников. Тот же рацион у крыс с фоновым хроническим энтеритом усугубляет этот процесс. Питание ГМО-соей животных двух поколений обуславливает более быстрое и раннее старение яичника. Полученные факты требуют дальнейшего углубленного исследования для понимания механизма выявленных повреждений яичника.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Колоусова Н. Г. Патоморфологические изменения в печени крыс при употреблении генномодифицированной сои / Н. Г. Колоусова, Г. И. Губина-Вакулик, Т. А. Иваненко [и др.] // Актуальні проблеми онкоморфології : матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю та 3 конференції Українського дивізіону інтернаціональної академії патології, 12-13 травня 2011 р., Харків, Україна / Харківський нац. мед. університет. – Харків, 2011. – С. 100.
2. Утембаева Н. Т. Оценка влияния генно-инженерно-модифицированных источников пищи

на репродуктивную систему крыс и их потомство : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.02.01 / Утембаева Н. Т. ; Научно-исследовательский институт питания РАМН. – Москва, 2010. – 25 с.

3. A comparison of the effects of three G M Corn varieties on mammalian health / G. S. de Vendomois, F. Roullier, D. Cellier [et al.] // Int. J. Biol. Sci. – 2009. – № 5 (7). – P. 706–726.

4. Effects of lambda-Carrageenan induced experimental enterocolitis on splenocyte function and nitric oxide production / V. E. Pricolo, M. D. Shirley, M. Madhere [et al.] // Journal of Surgical. Research. – 1996. – № 66. – P. 6–11.