

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН**

ЧОРНА ІРИНА ВІТАЛІВНА

УДК 577.122+577.15]:[604.6:633.34

**ВПЛИВ ГЛІФОСАТ-РЕЗИСТЕНТНОЇ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОЇ СОЇ
НА ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ ТА АНТИОКСИДАНТНУ
СИСТЕМУ ЩУРІВ**

03.00.04 – біохімія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Львів – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Чернівецькому факультеті Національного технічного університету «Харківський політехнічний інститут» та Буковинській державній дослідній сільськогосподарській станції НААН

Науковий керівник – доктор біологічних наук, професор, академік НААН України
Дроник Григорій Васильович,
Буковинська державна дослідна сільськогосподарська станція, головний науковий співробітник відділу селекції, розведення, годівлі та технології виробництва продукції тваринництва

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Воробець Наталія Миколаївна,
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, професор кафедри фармакогнозії і ботаніки;

доктор біологічних наук, професор
Юкало Володимир Глібович,
Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, професор кафедри харчової біотехнології та хімії

Захист відбудеться «27» 03 2021 р. о 14.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 35.368.01 Інституту біології тварин НААН за адресою: 79034, м. Львів, вул. Василя Стуса, 38

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту біології тварин НААН за адресою: 79034, м. Львів, вул. Василя Стуса, 38

Автореферат розісланий « » _____ 2021 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

Д. І. Мудрак

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Зростаюча кількість населення Землі потребує нових джерел харчових продуктів, одним із яких є генетично модифіковані організми. Вони набули широкого застосування, невибагливі до кліматичних умов, стійкі до шкідників і гербіцидів, мають високу врожайність. Серед генетично модифікованих рослин найпоширенішими вважають такі культури, як соя, кукурудза, картопля, ріпак, бавовник, пшениця, ячмінь. Боби сої широко використовують у харчовій промисловості для виробництва багатьох продуктів харчування, що пов'язано з високим вмістом у них протеїнів і ліпідів, а також інших корисних речовин: вуглеводів, фосфатидів і вітамінів, макро- і мікроелементів. А в сої є і антипоживні речовини: інгібітори протеаз, лектини, сапоніни, уреаза, гемаглютиніни, конгліцінін, протеїн соїн (Лисенко В. Ф., 2008).

У сільському господарстві широко використовують трансгенну сою з новою ознакою Roundup Ready. Така соя є стійкою до дії гербіциду Roundup, у якому основною діючою речовиною є гліфосат (Кузнецова Е. М., Чмиль В. Д., 2010). Вплив цієї речовини на організм людини і тварин ще досконало не вивчений, зокрема, на репродуктивну функцію та постнатальний розвиток тварин, на структуру та функціонування органів і їх систем, обмінні процеси. Гліфосат належить до фосфорорганічних сполук, є неселективним гербіцидом системної дії, який вважається найбільш малотоксичним для тварин і людини. Більшість фосфорорганічних сполук нестійкі у зовнішньому середовищі, розпадаються протягом 1-2 місяців (Vencill W. K. et al., 2012). Гранично допустима концентрація (ГДК) для різних фосфорорганічних сполук коливається від 0,02 до 0,5 мг/м³, ГДК у воді водойм – 0,02 мг/дм³ (Ляхович Р. М. зі співавт., 2017). Отруєння може настати в результаті вдихання парів гербіциду, проникнення його через травний тракт і шкіру. За хронічного впливу на організм людини і тварин більшість фосфорорганічних сполук, зокрема гліфосат, має ефект функціональної кумуляції (Ляхович Р. М. зі співавт., 2017). Окрім цього, інактивація таких сполук відбувається під час гідролізу чи взаємодії з протеїнами. Внаслідок їх окиснення утворюються активні метаболіти, що можуть взаємодіяти з біомолекулами організму тварини та людини.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана впродовж 2013–2019 років. Дослідження в межах дисертаційної роботи проводили на кафедрі біотехнології та екології Чернівецького факультету Національного технічного університету «Харківський політехнічний інститут» і в Буковинській державній сільськогосподарській дослідній станції НААН, проведені відповідно до завдання: 28.00.01.10 Ф «Вивчити біохімічні показники під час згодовування гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої у трьох поколіннях щурів» (ДР № 0116U001268). Дисертантка досліджувала вплив гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої на показники протеїнового обміну й антиоксидантну систему щурів.

Мета і завдання дослідження. Мета дисертаційної роботи – з'ясувати вплив гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої, необробленої та обробленої гербіцидом Roundup, і вплив гербіциду на показники протеїнового обміну й антиоксидантну систему в трьох поколіннях щурів.

Для досягнення мети поставлено такі **завдання**:

- з'ясувати вплив гліфосат-резистентної сої та гербіциду Roundup на біохімічні показники протеїнового обміну в нирках, печінці, крові й сечі щурів.

- дослідити рівень молекул середньої маси в крові щурів трьох поколінь за умов впливу трансгенної сої та гербіциду Roundup.

- визначити показники азотистого обміну в крові та сечі щурів трьох поколінь за умов впливу гербіциду та генетично модифікованої сої.

- дослідити вплив генетично модифікованої сої лінії GTS 40-3-2 та гербіциду на морфологію нирок і печінки щурів трьох поколінь.

- з'ясувати вплив трансгенної сої і гербіциду Roundup на показники антиоксидантної системи та окиснювальну модифікацію протеїнів.

- оцінити вплив гліфосат-резистентної сої та гербіциду Roundup на показники народжуваності й постнатальний розвиток, а також на масометричні показники у трьох поколіннях щурів.

Об'єкт дослідження – стан антиоксидантних складових, протеїнового і азотистого обміну в тканинах та сечі щурів.

Предмет дослідження – активність ензимів антиоксидантного захисту та білкового обміну, показники азотистого обміну за впливу гліфосат-резистентної сої та гербіциду Roundup.

Методи дослідження: фізико-хімічні (визначення фізико-хімічного складу насіння традиційної і трансгенної сої); біохімічні: фотоколориметричні (концентрація гемоглобіну, протеїнових фракцій крові, активність амінотрансфераз, продуктів окиснювальної модифікації протеїнів (ОМП), сульфгідрильних груп, показники ниркових проб), спектрофотометричні (активність ензимів антиоксидантної системи, вміст молекул середньої маси); морфологічні (кількість еритроцитів); гістологічні (зрізи нирок і печінки) та гістохімічні (коефіцієнт R/B); статистичні (визначення достовірності результатів досліджень за критерієм Стьюдента).

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше досліджено окремий та комплексний вплив гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої і гербіциду Roundup на показники протеїнового й азотистого обміну, активність антиоксидантної системи та репродуктивну здатність самок щурів. Доведено негативний вплив гербіциду Roundup та здатність накопичуватися у насінні трансгенної сої, яка стійка до його дії.

Вперше показано, що досліджувані чинники можуть призводити до порушення функціонального стану печінки, прогресування синдрому ендогенної інтоксикації та ниркової недостатності.

Вперше з'ясовано, що гербіцид здатний підвищувати інтенсивність вільнорадикальних процесів в організмі щурів, що призводить до окиснення біомолекул, а довготривала його дія – до виснаження ензимів системи антиоксидантного захисту. При цьому виявлені зміни викликають порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у тканинах щурів F₁ і F₂ поколінь.

Доведено, що за вживання генетично модифікованої сої, яка була оброблена гербіцидом, та самого гербіциду призводить до зниження репродуктивної здатності самок щурів і збільшення смертності щуренят першого, а особливо другого покоління впродовж перших двох місяців.

Практичне значення отриманих результатів. Дисертаційна робота є науковим дослідженням, результати якого мають практичну цінність, оскільки

розширюють сучасні уявлення про вплив фосфорорганічних гербіцидів (зокрема й ті, що містять гліфосат) на організм тварин.

Результати досліджень можна використовувати для обґрунтування антропоecологічного ризику від забруднення фосфорорганічними гербіцидами (зокрема гліфосатом) водойм і сільськогосподарської продукції, що призводить до порушень в організмі тварин і посилення цього ефекту в наступних поколіннях.

Теоретичні положення роботи можуть бути використані в курсах лекцій з екології, агроecології, екологічної біохімії та екологічної токсикології у закладах вищої освіти. Результати роботи були включені в теми спецкурсу курсів підвищення кваліфікації вчителів біології, хімії, екології та природознавства Інституту післядипломної педагогічної освіти Чернівецької області.

Особистий внесок здобувача. Авторка самостійно виконала експериментальну частину дисертаційної роботи, проаналізувала стан проблеми на основі здійсненого інформаційного пошуку, підбрала і освоїла методи досліджень, здійснила статистичну обробку отриманих результатів, які проаналізувала й узагальнила. Дисертантка спільно з науковим керівником – д.б.н. Г. В. Дроником обґрунтувала концепцію дослідження, сформулировала основні положення, мету і завдання дисертаційної роботи. З наукових праць, опублікованих у співавторстві, у дисертації використано лише ті ідеї та положення, які є результатом особистої роботи здобувача. Конкретний внесок здобувача висвітлено в наукових публікаціях.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційного дослідження апробовано на засіданнях кафедри біотехнології та екології Чернівецького факультету Національного технічного університету «Харківського політехнічного інституту». Результати досліджень були представлені й обговорені на міжнародних науково-практичних конференціях: «Актуальні проблеми гуманітарних та природничих наук» (Київ, 2016), «Сучасні тенденції розвитку науки» (Харків, 2017), «Нове слово в науці і практиці: гіпотези і апробація результатів досліджень» (Київ, 2017), «Вестник современных исследований» (Омск, 2017), «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2017), «Ветеринарні препарати: розробка, контроль якості та застосування» (Львів, 2017), «Актуальні питання сучасної науки» (Івано-Франківськ, 2017), «Актуальні питання біології та медицини» (Старобільськ, 2017), «Актуальні наукові проблеми. Розгляд, рішення, практика» (Одеса, 2017), «Теорія і практика актуальних наукових досліджень» (Запоріжжя, 2018), «Наука, технології, інновації: світові тенденції та регіональний аспект» (Одеса, 2018).

Публікації. За матеріалами дисертації опублікована 21 праця, у тому числі 9 статей, з яких 7 статей у фахових наукових виданнях України, у тому числі 1 стаття у виданні, включеному до міжнародної наукометричної бази Web of Science, 12 – матеріалів і тез конференцій.

Структура та обсяг дисертаційної роботи. Результати роботи викладені на 218 сторінках комп'ютерного тексту. Дисертація складається з анотації, списку наукових публікацій, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень і їх обговорення, розділу узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел, що містить 185 найменувань, у тому числі 32 латиницею. Дисертація ілюстрована 79 рисунками, містить 15 таблиць і 3 додатки.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Огляд літератури. Описано значення обміну протеїнів з акцентом на ключові ферменти. Висвітлено сучасні уявлення про вплив гербіциду Roundup і гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої на організм тварин. Проаналізовано дію гербіциду Roundup і трансгенної сої, обробленої цим гербіцидом, на показники азотистого обміну, а також на активність ензимів антиоксидантного захисту.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили на лабораторних щурах лінії Wistar масою 180–200 г, яких утримували на стандартному збалансованому раціоні віварію. Для роботи використано щурів, які були об'єднані в п'ять груп по 12 щурів у кожній: I – тварини, яких утримували на раціоні віварію, збалансованому за всіма нутрієнтами (інтактні тварини); II – тварини, яким близько 26 % раціону віварію замінено на традиційну сою; III – щурі, яким близько 26 % раціону віварію замінено на генетично модифіковану сою, яку не обробляли гербіцидом; IV – щурі, раціон яких містив 26 % генетично модифікованої сої, яку обробляли гербіцидом Roundup; V – щурі, які перебували на раціоні віварію та отримували разом з питною водою гербіцид (0,1 мкг/л).

Для досліджень використовували боби трансгенної сої сорту лінії GTS 40-3-2 (Monsanto Canada Inc.). Ця лінія сої стійка до дії гербіцидів, що містять гліфосат, завдяки вставці гліфосат-резистентної форми гена, ензиму 5-енолпірувілшикімат-3-фосфатсинтаза (EPSPS). У експериментальних дослідженнях використано також традиційну сою сорту Чернівецька 9, селекції Буковинської державної дослідної станції НААН. Зразки сої обох сортів (Чернівецька 9 і лінії GTS 40-3-2) досліджували на наявність генетичної модифікації в Українській лабораторії якості і безпеки продукції АПК за протоколом № 1691-Н. У зразку № 2 виявлено цільові послідовності промотора 35S вірусу мозаїки цвітної капусти (CaMV) і термінатора NOS (T-NOS) T1 плазмиди *Agrobacterium tumefaciens*. За даними лабораторних досліджень соя сорту Чернівецька 9 за хімічним складом (вологість, масова частка протеїну, жирів, елементів) еквівалентна генетично модифікованій гліфосат-резистентній сої лінії GTS 40-3-2. Виявлені за окремими показниками різниці містяться у межах біологічної норми. Раціон тварин замінювали на традиційну та генетично модифіковану сою (до 26 %), враховуючи лабораторні дані (вміст у насінні протеїнів, вуглеводів, жирів, мікро- і макроелементів).

Для того щоб знешкодити антипоживні речовини та знизити уреазну активність соєвих бобів, їх перед додаванням до кормів термічно обробляли упродовж 2 год за температури 140 °С.

Після початку вживання сорту Чернівецька 9 і генетично модифікованої сої лінії GTS 40-3-2 самки та самці досліджуваних груп через 42 дні були спаровані й перебували на тому ж раціоні, відповідно до дослідної групи. Через 24–28 днів отримано наступне покоління (F₁), які були на тому ж раціоні, що й покоління F₀, відповідно до дослідної групи. У віці 12 місяців самок і самців (покоління F₀) декапітовано.

Під час дослідження дотримувались принципів біоетики, законодавчих норм і вимог згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин,

що використовуються для дослідних і наукових цілей» (Страсбург, 1986), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001).

Декапітацію тварин проводили під легким ефірним наркозом. Для морфологічних досліджень матеріал забирали в попередньо зважених тварин усіх груп. Зразу ж після видалення нирок і печінки ці органи зважували й відбирали проби товщиною близько 0,5 см для гістологічних досліджень.

Матеріалами біохімічних досліджень були: сеча, плазма крові, сироватка крові, гістологічні зрізи нирок та печінки, гомогенат нирок, гомогенат печінки. Оцінку екскреторної функції нирок здійснювали за показниками концентрації креатиніну, сечової кислоти, сечовини та вмісту загального протеїну в сироватці крові й сечі.

Оцінку функції печінки та нирок проводили за визначенням активності аланінамінотрансферази (АлаТ, ЕС 2.6.1.2) і аспартатамінотрансферази (АсаТ, ЕС 2.6.1.1.) за методом Рейтмана – Френкеля і їх співвідношення (коефіцієнт де Рітіса), гамма-глутамілтрансферази (ГГТ, ЕС 2.3.2.2.; Dimov D. M., Kulhanek V., 1967) та вмістом молекул середньої маси (ароматичних CM_{280} і аліфатичних CM_{254} ; Габриелян Н. И, 1984) і протеїнових фракцій (Горячковский А. М., 2005), які визначали в гомогенаті тканин і сироватці крові.

Ступінь дисфункції ниркової та печінкової тканини при вживанні гліфосат-резистентної сої та гербіциду Roundup разом з питною водою оцінювали за активністю ензимів протеолізу (Веремеєнко К. М., 1988). Активність каталази (САТ – ЕС 1.11.1.6.; Королюк М. А. и соавт., 1988) і СОД визначали спектрофотометрично (SOD – ЕС 1.15.1.1.; Брусова О. С. зі співавт., 1976). Активність глутатіонпероксидази (GPO – ЕС 1.11.1.9.), глутатіонтрансферази (GST – ЕС 2.5.1.18), відновленого глутатіону оцінювали спектрофотометрично (Геруш І. Г., Мецишен І. Ф., 1998; Habig W. H. et al., 1974; Горячковський А. М., 1994). Уміст продуктів ОМП визначали у тканині нирок за реакцією з 2,4-динітрофеніл-гідразином із утворенням гідразонів характерного спектра поглинання (Дубініна О. Ю., 2001), уміст сполук із SH-групами в гомогенаті тканин – за вказаною методикою (Мецишен І. Ф., Яремій І. М., 2002), уміст протеїну в гомогенатах тканин – за методом Лоурі.

Для гістологічних досліджень проби нирок і печінки фіксували 48 год у 10% розчині нейтрального формаліну. Парафінові гістологічні зрізи тканини нирок товщиною 5–7 мкм виготовляли на санному мікротомі МС-2, після депарафінізації зрізи фарбували гематоксиліном та еозином і переглядали у світловому мікроскопі за оптичного збільшення 200 і 600 разів. Фотографії оптичного зображення отримували за допомогою цифрового фотоапарата Olympus SP550UZ. Копії аналізували й підраховували, застосовуючи ліцензійну копію комп'ютерної програми ImageJ (версія 1.48v, вільна ліцензія, W. Rasband, National Institute of Health, USA, 2015). Ця комп'ютерна програма, серед інших можливостей, дозволяє підраховувати відсоток клітин у різному стані маркуванням їх з нумерацією.

Для того щоб мати змогу оцінити й порівняти ступінь ушкоджень нирок та печінки, застосовували морфометричні методики. Дослідження проведено за допомогою програм ImageJ (версія 1.48v, вільна ліцензія, W. Rasband, National Institute of Health, USA, 2015) і Microsoft Excel на персональному комп'ютері.

Статистичну обробку отриманих кількісних даних проводили за допомогою програмного забезпечення Excel і STATISTICA 6.0 із використанням параметричних методів. Для всіх показників обчислювали значення середнього арифметичного (M), похибки середнього арифметичного (m) і стандартне відхилення (σ). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за t-критерієм Стюдента. Достовірними вважаються відмінності при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Постнатальний розвиток і масометричні показники щурів, яким згодовували гліфосат-резистентну сою, оброблену гербіцидом Roundup. На першому етапі дослідження вивчали вплив гербіциду Roundup та генетично модифікованої сої на народжуваність і постнатальний розвиток щурів F_1 і F_2 поколінь. Смертність щуренят від самок IV і V дослідних груп становила 12,3 і 23,9 %. Основну смертність приплоду в цих дослідних групах спостерігали в перші доби життя, що може свідчити про народження ослабленого та менш життєздатного потомства. Середня маса новонароджених тварин II і III дослідних груп була менша на 1,5 і 3,5 % порівняно з контрольною. Таку тенденцію ми простежували й на 20-й день життя тварин – 3,8 і 8,3 %. У IV і V групах щуренята під час народження мали меншу масу на 8,7 і 29 % порівняно з контролем, а на 20-й день спостерігали, зменшення маси щуренят на 6,9 і 22,3 % порівняно з інтактною групою. Через два місяці маса щуренят у IV групі збільшилася на 5 % за рахунок поживності сої, у V групі була менша на 27 % порівняно з контрольною групою. Смертність щуренят у поколінні F_2 при народженні в IV і V дослідних групах становила 19 і 27 %. Однак смертність щуренят протягом перших п'яти діб від самок IV і V дослідних груп склала 28,75 і 43,75 % порівняно з інтактною групою. Вимірюючи коефіцієнт маси органів, простежуємо зменшення маси внутрішніх органів у IV і V дослідних групах несуттєво у F_0 поколінні та значно більше у двох наступних поколіннях.

Особливості протеїнового й азотистого обміну у щурів, яким згодовували трансгенну сою та гербіцид Roundup. На другому етапі дослідження вивчали показники протеїнового й азотистого обміну у щурів F_0 , F_1 і F_2 поколінь. Для виявлення впливу трансгенної сої та гербіциду на печінку щурів у сироватці крові визначали ензимну активність амінотрансфераз, які є внутрішньоклітинними ензимами та беруть участь у обміні амінокислот, і коефіцієнт де Рітиса (АсАт/АлАт).

Аналіз результатів показав, що у IV групі щурів, які отримували сою, оброблену Roundup, за умов моноведення цього гербіциду, коефіцієнт де Рітиса був менше 0,8 у другому поколінні, а в першому становив 0,61 (рис.1), що свідчить про вплив гербіциду на зміни функціонального стану печінки.

У F_2 поколінні спостерігаємо ще більше зменшення коефіцієнта де Рітиса – до 0,51 у IV групі, до 0,91 у V групі. У F_0 поколінні V групи це значення становило 0,61, а у F_1 – близько 0,79, що свідчить про ушкодження клітин печінки та вихід амінотрансфераз у кров. Результати досліджень показали, що у F_0 поколінні ензимна активність ГГТ в сироватці крові найбільше підвищувалася у V групі – у 2,2 разу, у

IV групі – у 1,8 разу порівняно з контролем (рис. 2). У наступному поколінні таке підвищення виражене ще більшою мірою: за дії Roundup ензимна активність ГГТ підвищувалася у 2,5 разу, за умов споживання трансгенної сої, обробленої гербіцидом, – у 2,1 разу порівняно з контролем. У F₂ поколінні також констатовано зростання ензимної активності ГГТ у IV і V групах приблизно у 1,6 і 1,7 разу порівняно з контрольною групою, а у II і III групах – у 1,3–1,2 разу відповідно. Спостерігали також збільшення вмісту молекул середньої маси у крові щурів. Найбільший уміст МСМ у сироватці крові простежуємо в F₂ поколінні. Так, уміст аліфатичних і ароматичних молекул середньої маси збільшувався приблизно в 1,7 разу.

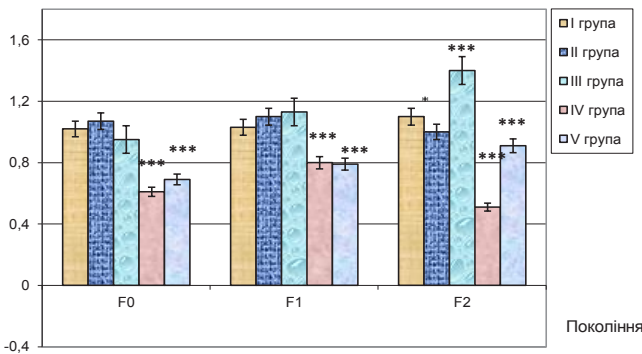


Рис. 1. Співвідношення АСТ/АЛТ (коефіцієнт де Рітиса) в сироватці крові щурів за дії гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої та гербіциду Roundup (M±m, n=12).

Примітка. Тут і надалі: * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ – вірогідність показників порівняно з контролем.

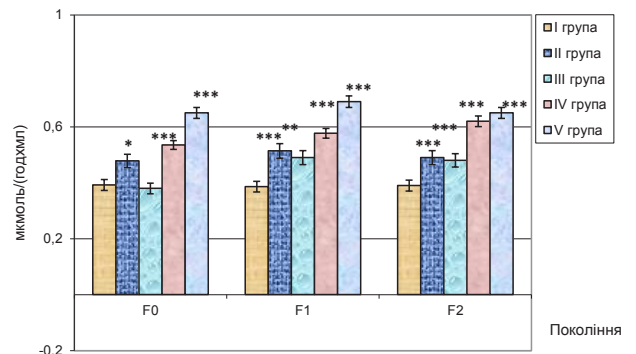


Рис. 2. γ -глутамілтрансферазна активність у сироватці крові щурів за дії гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої та гербіциду Roundup (M±m, n=12).

Визначали також уміст загального протеїну, МСМ і амінотрансфераз у гомогенаті печінки та нирок у F₀, F₁ і F₂ поколіннях щурів. Найсуттєвіші зміни спостерігалися у F₂ поколінні щурів. Найбільше підвищення активності амінотрансфераз (АлАт і АсАт) у гомогенаті нирок фіксували в F₂ поколінні IV групи – активність АлАт і АсАт зросла у 2,3 разу та у V групі – у 2,7 і 2,6 разу. Водночас знижувався рівень загального протеїну в гомогенаті печінки у IV і V групах – у 1,5 і 1,7 разу порівняно з контролем. Уміст молекул середньої маси (аліфатичних і ароматичних) також збільшився у IV групі – у 2,6 і 2,5 разу, у V групі – у 2,4 і 2,3 разу ($p \leq 0,05$ – $0,001$). Такі зміни порушення активності ензимів призводять до порушення функціонального стану печінки, прогресування синдрому ендогенної інтоксикації через підвищення вмісту МСМ у сироватці крові.

У наступній частині дослідження визначали показники азотистого обміну у щурів трьох поколінь. У IV групі фіксували підвищення рівня сечової кислоти і загального протеїну й незначне зниження у V групі, а також зменшення сечовини та креатиніну в цих дослідних групах у сечі щурів у F₀, F₁ і F₂ поколіннях. Під час вживання традиційної і трансгенної сої, не обробленої гербіцидом, рівень метаболітів азотистого обміну незначно підвищувався. Порівнявши такі показники, як рівень сечовини в сечі у II і III групах усіх поколінь щурів, ми виявили не більш ніж у 1,5 разу його зростання порівняно з інтактними тваринами. Крім цього, порівняння концентрації сечовини між II, III групами та IV, V групами, показало її зниження, і

таке явище спостерігали в усіх поколіннях. Підвищена екскреція сечовини в сечі спостерігається за наявності в раціоні корму, збагаченої протеїнами. Вміст креатиніну в сечі збільшувався майже вдвічі порівняно з контролем у II і III групах, між цими групами не виявлено значної різниці. У тварин, яким згодовували оброблену трансгенну сою і гербіцид, уміст креатиніну зменшувався у 1,3 разу в першому поколінні, а в наступних – у 1,7 і 2,3 разу ($p \leq 0,001$) порівняно з контролем. Збільшення вмісту креатиніну зв'язане зі зменшенням діурезу. Якщо здатність нирок виводити сечовину і креатинін порушується, вони починають нагромаджуватися у крові, їх вміст у сечі зменшується.

Результати дослідження показали значне зменшення у сироватці крові вмісту альбумінів у V групі приблизно до 17 % та у IV групі приблизно до 19 % у всіх поколіннях щурів (табл. 1). При цьому в дослідних групах спостерігалось зниження альбумінового коефіцієнта. У III, IV і V групах він був найнижчий і становив не більше 30 %. Вказані зміни співвідношення протеїнових фракцій у крові щурів свідчать про сповільнення синтезу альбумінів у печінці за наявності в раціоні сої та гербіциду.

Таблиця 1

Співвідношення протеїнових фракцій у сироватці крові щурів трьох поколінь за час споживання традиційної, обробленої і необробленої трансгенної сої та гербіциду Roundup у питній воді ($M \pm m$, $n=12$)

Покоління	Показники	Група тварин					
		I група	II група	III група	IV група	V група	
I покоління	Альбуміни, %	54±2,8	32,4±2,2*	27,5±2,19***	25,25±1,8***	19,6±0,91***	
	Глобуліни, %	α ₁ -глобуліни	8,2±0,84	6,97±0,95*	19,3±1,6***	13,89±1,8*	13,45±1,65*
		α ₂ -глобуліни	7,8±1,1	19,43±1,2***	7,5±1,5***	18,44±1,75**	15,38±1,5***
		β-глобуліни	6,8±0,63	19,03±1,96***	22,7±1,8***	22,04±1,9***	26,58±1,8***
		γ-глобуліни	23,32±1,93	22±2,47	28±2	18,29±1,9	23,51±1,7
А/Г коефіцієнт	1,34	0,66	0,37	0,33	0,2		
II покоління	Альбуміни, %	48±1,5	38,7±0,5***	23,5±2,22***	21,58±1***	17,2±1***	
	Глобуліни, %	α ₁ -глобуліни	7±0,78	11,1±0,5***	13,5±1,3*	10,9±0,94*	10,6±0,6*
		α ₂ -глобуліни	7,15±0,7	15,1±0,94*	16,22±1,2***	15,93±1,5***	11,8±1,1***
		β-глобуліни	12,3±1	19,7±1,2***	16,4±1,7*	26,6±1,2***	28,7±1,3***
		γ-глобуліни	25,32±1,1	15,62±0,78***	29,5±1,7	24,1±1,2	31,33±2,6**
А/Г коефіцієнт	0,92	0,63	0,33	0,28	0,2		
III покоління	Альбуміни, %	60,35±3,4	41,42±0,8***	26,36±1,3***	18,6±0,39***	17,69±0,48**	
	Глобуліни, %	α ₁ -глобуліни	10,32±1,7	5,8±0,8	9,73±0,61	13,47±0,47	13,17±0,62
		α ₁ -глобуліни	6,08±0,6	15,28±1,1***	11,79±1,3***	9,4±0,7***	11,07±0,8***
		β-глобуліни	8±1	17,0±1,6***	20,59±1,5*	29,33±1,74***	27,35±1,1***
		γ-глобуліни	18,1±2	20,48±1,2	31,5±2,4***	30,1±1,2***	27,58±1,37***
А/Г коефіцієнт	1,5	0,7	0,36	0,23	0,2		

Гістологічна оцінка печінки та нирок щурів за споживання трансгенної сої і гербіциду. Іншим напрямом дослідження стало вивчення гістологічні зміни в печінці та нирках за споживання генетично модифікованої сої, обробленої гербіцидом, і гербіциду з питною водою. Печінка, як орган детоксикації, зазнає значних морфофункціональних змін, що добре помітно при збільшенні у 600 разів: змінюється структура цитоплазми гепатоцитів і їх ядер, уміст цитоплазми зміщується до периферії клітини, окремі гепатоцити мають дрібнозернисту цитоплазму, яка рівномірно заповнює клітину. Гепатоцити та їх ядра вірогідно збільшуються, що є свідченням підвищення активності клітин печінки. У V групі виявлено структурні зміни в нирках щурів трьох поколінь: гідропічний набряк епітеліоцитів у дистальних канальцях, просвіт цих канальців звужений. У IV групі щурів виявлено порушення структури ниркових клубочків, у канальцях видно руйнування клітин, а просвіт канальців заповнений рідиною як у першому, так і в другому поколінні, що свідчить про порушення фільтрації у нирках.

Гістохімічні та біохімічні особливості окиснювальної модифікації протеїнів у нирках і печінці щурів, яким згодовували генетично модифіковану сою та гербіцид Roundup. На іншому етапі дослідження ми вивчали гістохімічні та біохімічні особливостей ОМП у нирках та печінці щурів. Виявлено посилення окиснювальної модифікації протеїнів через зростання показника R/B у проксимальних канальцях, мозкових товстих висхідних частинах петлі нефрону, збірних канальцях сосочка нирок у IV і V групах. Спостерігалися також інші зміни в нирках щурів, що споживали генетично модифіковану сою, оброблену гербіцидом (IV група), і гербіцид Roundup із питною водою (V група). Так, коефіцієнт R/B в епітеліальних клітинах проксимальних канальців IV групи зростав у F₀ поколінні у 1,22 разу, у F₁ поколінні – у 1,36 разу, у F₂ поколінні – у 1,38 разу (p ≤ 0,05-0,001). Збільшувався також уміст кислих протеїнів у епітеліальних клітинах проксимальних канальців у V групі як в F₀, так і в F₁ і F₂ поколіннях. Збільшення вмісту кислих протеїнів спостерігали і в IV групі F₀ і F₁ поколіннях у мезангіоцитах ниркових клубочків – у 1,2 і 1,3 разу відповідно, в F₂ поколінні – в 1,4 разу (p ≤ 0,05–0,001). У V групі щурів F₀ і F₁ поколінь у мезангіоцитах ниркових клубочків коефіцієнт R/B зріс у 1,2 і 1,3 разу. У F₂ поколінні V групи коефіцієнт R/B підвищився в 1,4 разу порівняно з контролем. При цьому ступінь окиснювальної модифікації протеїнів у епітеліальних клітинах проксимальних канальців і в мезангіоцитах ниркових клубочків найбільше виражений у F₂ поколінні. Підвищення ОМП у гомогенаті нирок та печінки, як у V так і в IV групах, підтверджується більшим умістом карбонільних похідних у гомогенатах (як нирок, так і печінки), меншим умістом SH-груп протеїнів і зниженням протеолітичної активності ензимів у гомогенаті нирок і печінки. Це може свідчити про посилення вільнорадикальних процесів у клітинах тканин тварин та порушення рівноваги про- і антиоксидантної системи.

Вплив генетично модифікованої сої та гербіциду на активність ензимів антиоксидантного захисту. Останнім напрямом дисертаційної роботи стало визначення активності ензимів антиоксидантної системи в сироватці крові, гомогенаті печінки та нирок.

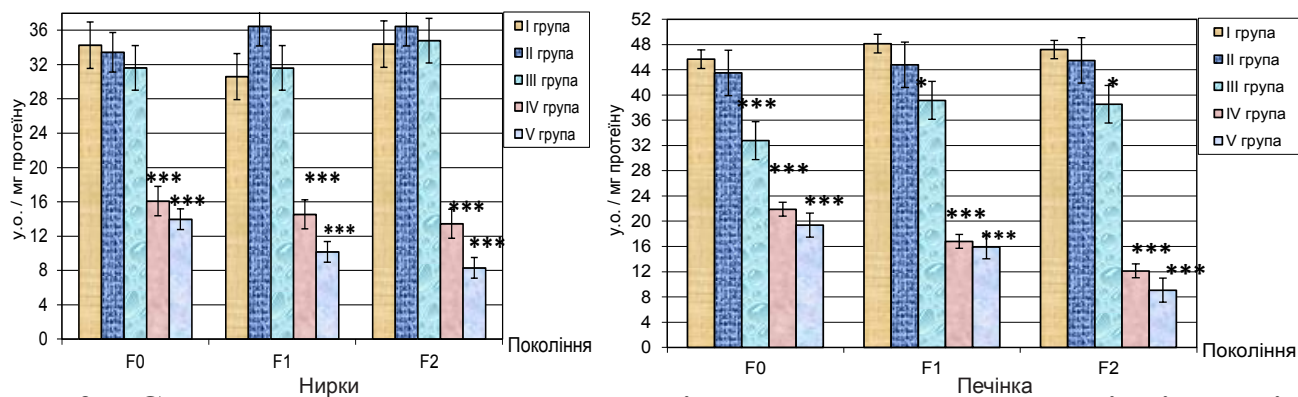


Рис. 3. Супероксиддисмутазна активність в нирках та печінці щурів ($M \pm m$, $n=12$).

Супероксиддисмутазна активність знижувалася у IV і V групах у 2 та 2,5 разу в нирках щурів F_0 покоління, утім активність цього ензиму не змінювалася у II та III групах порівняно з контрольною групою (рис. 3).

У F_1 і F_2 поколіннях активність SOD знижувалася в IV і V групах удвічі й утричі. Подібний результат ми одержали і в крові та печінці (рис. 3–4).

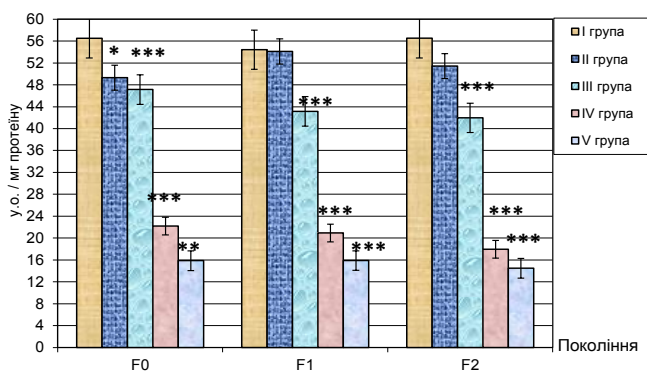


Рис. 4. Супероксиддисмутазна активність в сироватці крові щурів ($M \pm m$, $n=12$).

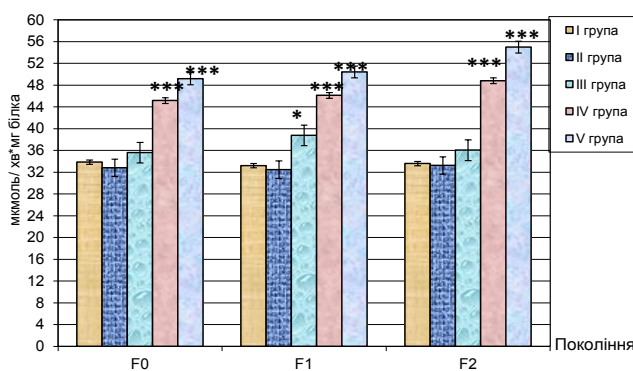


Рис. 5. Каталазна активність в сироватці крові щурів ($M \pm m$, $n=12$).

Активність САТ у крові щурів зростала в IV і V групах в 1,3 і 1,5 разу (F_0 покоління); зростала в 1,4 і 1,5 разу (F_1 покоління), в 1,5 і 1,6 разу (F_2 покоління) порівняно з контролем (рис. 5). Варто зазначити, що водночас підвищувалася каталазна активність в нирках приблизно у 1,5 разу в трьох поколіннях (рис. 6). Активність САТ гомогенату печінки в IV і V групах підвищувалася в 1,2 і 1,3 разу в поколіннях F_0 та F_1 , а також у 1,3 та 1,4 разу у поколінні F_2 порівняно з контролем (рис. 6).

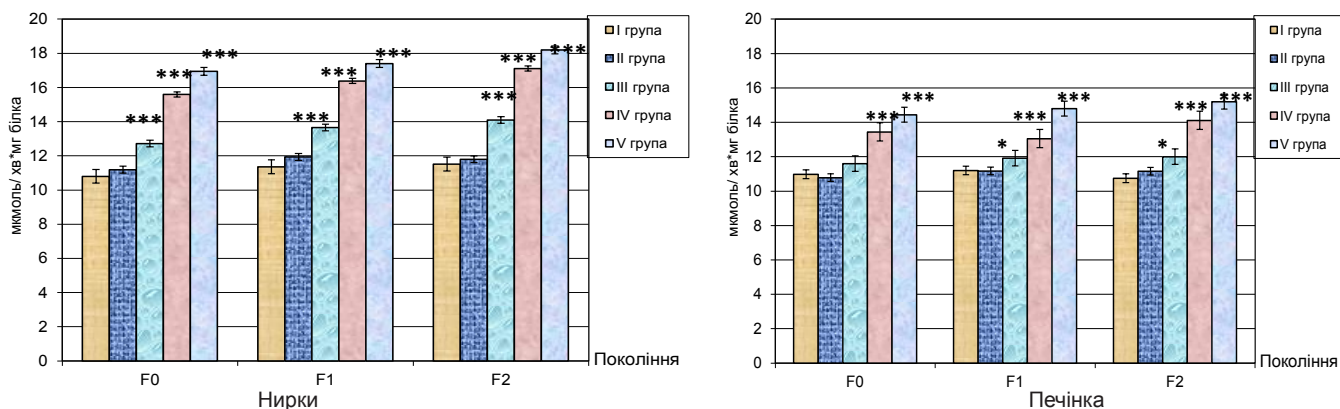


Рис. 6. Каталазна активність в нирках і печінці щурів ($M \pm m$, $n=12$).

Спостерігали зниження активності й інших ензимів антиоксидантного захисту, а саме – глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази. Глутатіонпероксидазна активність в гомогенаті нирок найбільше знижувалася у IV і V групах: у 2 і 4 рази (покоління F_0), у 2 і 4,6 разу (покоління F_1), у 2,5 і 4,5 разу (покоління F_2) порівняно з контролем (рис. 7), у печінці та крові активність GPO знижувалася майже удвічі (рис. 7–8).

Так, у III групі спостерігалось зниження цього ензиму відносно контрольної групи в тканині нирок у 1,5 разу (покоління F_0), в 1,4 разу (покоління F_1) і в 1,3 разу (покоління F_2).

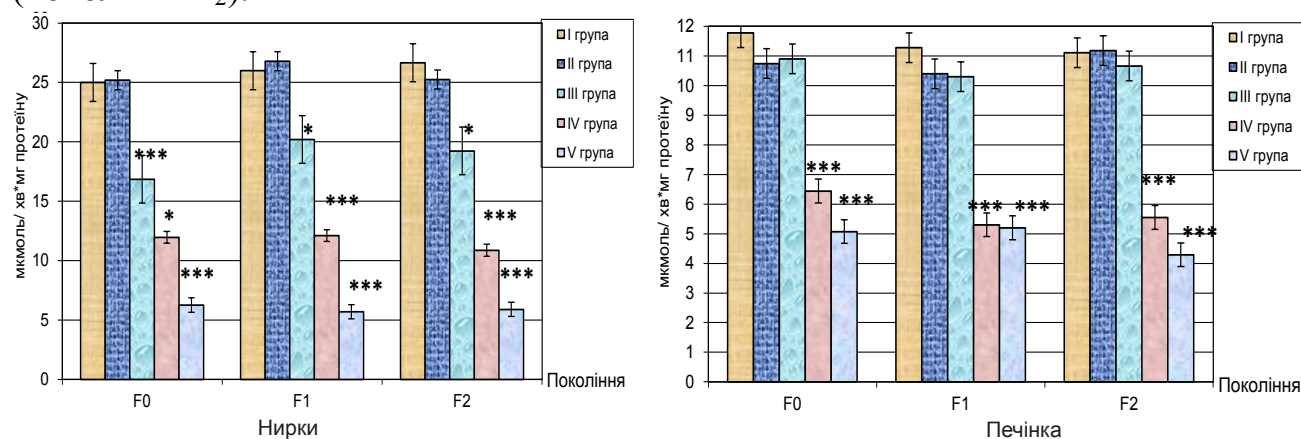


Рис. 7. Глутатіонпероксидазна активність в нирках та печінці щурів ($M \pm m$, $n=12$).

Активність GST у крові також знижувалася у IV і V групах у всіх трьох поколіннях щурів: у поколінні F_0 у 2,2 і 2,9 разу; у F_1 – у 1,8 і 3,2 разу; у F_2 – у 2,2 і 4 рази (рис. 9–10). Глутатіонтрансферазна активність в гомогенаті нирок найбільше знижувалася у IV і V групах: у 2 рази (покоління F_0), у 2 і 2,2 разу (покоління F_1) та в 1,8 і 2,1 разу (покоління F_2) порівняно з контролем (рис. 10). У гомогенаті печінки активність GST знижувалася у цих дослідних групах: в 1,4 і 1,6 разу в поколінні F_0 ; у 1,6 і 1,8 разу в поколінні F_1 ; у 1,4 і 1,6 разу в поколінні F_2 .

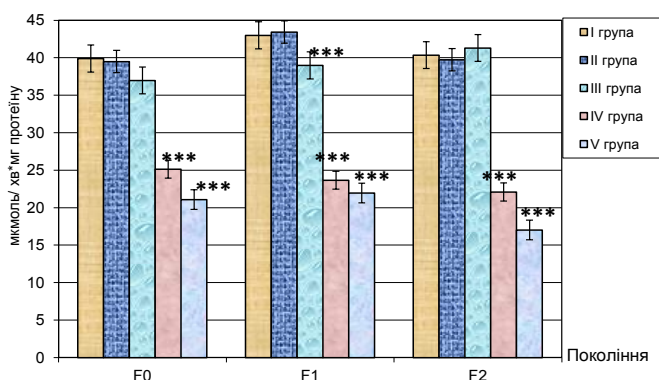


Рис. 8. Глутатіонпероксидазна активність в крові щурів ($M \pm m$, $n=12$).

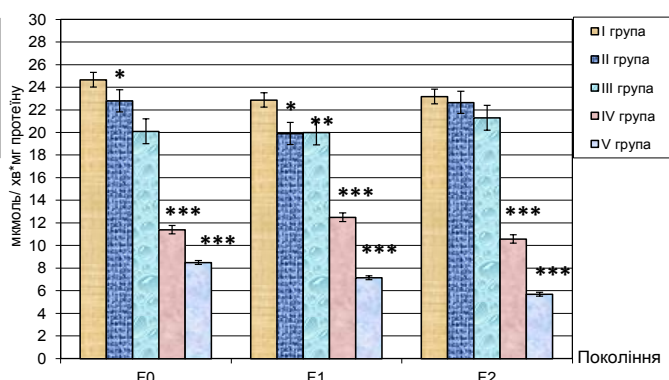


Рис. 9. Глутатіонтрансферазна активність в крові щурів ($M \pm m$, $n=12$).

Глутатіонтрансферазна активність найбільше знижувалася в печінці, у крові та нирках приблизно вдвічі, при цьому спостерігалось й зниження вмісту відновленого глутатіону в крові та в цих органах. Найбільше зменшився вміст відновленого глутатіону у крові щурів IV і V груп: у 1,4 і 1,45 разу (покоління F_0); у 1,6 і 1,7 разу (покоління F_1); у 1,8 і 1,9 разу (покоління F_2).

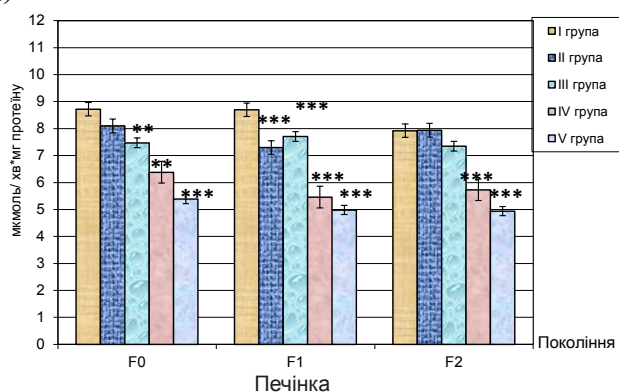
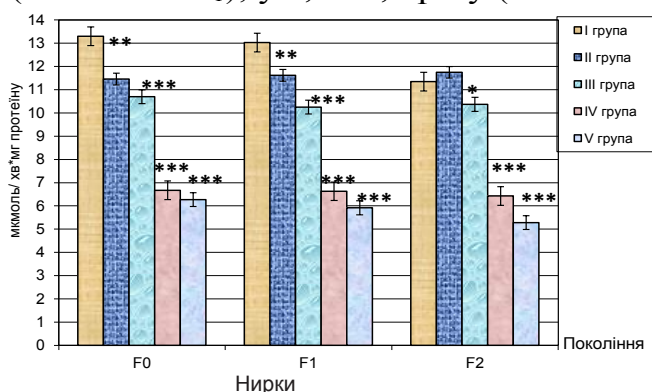


Рис. 10. Глутатіонтрансферазна активність в нирках і печінці щурів.

Результати досліджень дають підставу вважати, що гербіцид Roundup може нагромаджуватися у насінні сої та призводити до порушення обміну у тварин.

ВИСНОВКИ

На основі теоретичного узагальнення й аналізу власних експериментальних досліджень виявлено зміни масометричних показників у трьох поколіннях щурів і зниження репродуктивної здатності у двох поколіннях щурів, за вживання генетично модифікованої сої, обробленої гербіцидом, та гербіциду Roundup. Обґрунтовано й експериментально доведено, порушення детоксикаційної функції печінки та роботи нирок, підвищення окиснювальної модифікації протеїнів і порушення рівноваги у функціонуванні прооксидантно-антиоксидантної системи щурів у поколіннях F_1 і F_2 .

1. Проведені дослідження на наявність генетично модифікованих вставок у двох зразках сої показали, що у зразку № 2 виявлені цільові послідовності

промотора 35S вірусу мозаїки цвітної капусти (CaMV) і термінатора NOS (T-NOS) T1 плазмиди *Agrobacterium tumifaciens*. За результатами лабораторних досліджень соя сорту Чернівецька 9 за хімічним складом (вологість, масова частка протеїну, жирів, елементів) еквівалентна генетично модифікованому гліфосат-резистентному сорту сої лінії GTS 40-3-2, хоча вміст протеїну в ній більший, а інші виявлені за окремими показниками різниці є в межах біологічної норми.

2. Оцінка активності біохімічних показників показала гіперенземію амінотрансфераз і γ -глутамілтрансферази, що більшою мірою виражена у щурів усіх поколінь, які споживали генетично модифіковану сою, оброблену гербіцидом, або яким здійснювали моноведення гербіциду Roundup. Виявлені зміни призводять до порушення функціонального стану печінки, прогресування синдрому ендогенної інтоксикації за рахунок підвищення вмісту ароматичних молекул середньої маси в крові – в 1,6 і 1,7 разу та в 1,6 разу ($p \leq 0,001$) в поколінні F₂ (у IV і V групах). Порушення функціонального стану печінки може виражатися некрозом гепатоцитів, фрагментацією печінкових часток і супроводжуватися виходом ензимів у кров'яне русло за умов ушкодження цього органа.

3. Визначальним чинником у зміні показників азотистого обміну є дія гербіциду Roundup, що також може міститися в насінні трансгенної сої за її обробки. Підвищення показників азотистого обміну, зокрема сечової кислоти, і зниження креатиніну та сечовини може свідчити про ниркову недостатність, адже рівень азотистих метаболітів значно підвищується у крові, що свідчить про порушення роботи печінки внаслідок токсичних речовин і порушень гормонального балансу.

4. Вплив гербіциду Roundup у концентрації 0,1 мкг/л супроводжується змінами морфологічних показників як у нирках так, і в печінці (оборотне набрякання гепатоцитів і некротичні зміни в окремих гепатоцитах) у щурів усіх поколінь. Довготривале згодовування щурам трансгенної сої, обробленої гербіцидом Roundup, призводить до оборотного набрякання у клітинах нирок і печінки. В окремих клітинах також спостерігається явище каріопікнозу, як прояв некротичних змін цих клітин, при цьому цей процес сильніше виявляється у щурів двох наступних поколінь.

5. Результати досліджень окиснювальної модифікації протеїнів у нирках та печінці показали підвищення ОМП за вживання генетично модифікованої сої, обробленої гербіцидом, та гербіциду Roundup разом з питною водою у гомогенаті печінки в трьох поколіннях і за коефіцієнтом R/B. ОМП є результатом порушення рівноваги між процесами, що регулюють синтез і оксидацію протеїнів, та зменшення активності протеаз, які селективно розщеплюють окиснювальні форми протеїнів. Уміст сульфгідрильних груп також зменшується в гепатоцитах у цих групах у F₂ по-колінні – у 1,3 і 1,4 разу, а в нирках у IV і V групах у F₂ поколінні – в 1,8 і 1,7 разу, що свідчить про вплив вільних радикалів на протеїни за рахунок взаємодії як з NH₂-, так із SH-групами.

6. Результати досліджень активності ензимів антиоксидантної системи показали підвищення каталазної активності в нирках, печінці та крові щурів в усіх поколіннях, що свідчить про утворення активних форм кисню в організмі. При цьому зниження активності антиоксидантних ензимів супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази та вмісту відновленого глутатіону

свідчить про виснаження антиоксидантної системи внаслідок довготривалого вживання гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої і гербіциду Roundup, а також про порушення про- і антиоксидантної рівноваги і нагромадження вільних радикалів у тканинах, що призводить до окиснення біомолекул і порушення будови клітин нирок і печінки.

7. Результати досліджень репродуктивної здатності у двох поколіннях (F_0 і F_1) та зміни масометричних показників трьох поколінь щурів (F_0 , F_1 та F_2) показали, що під час згодовування генетично модифікованої сої, обробленої гербіцидом, і самого гербіциду збільшилася смертність щурят F_1 покоління у IV і V дослідних групах на 20,6 і 26 % відповідно, у F_2 поколінні – у IV групі на 25 % та в V групі зменшилася на 30,7 %. При вимірюванні коефіцієнтів маси органів фіксували зменшення маси внутрішніх органів як у батьківському, так і у двох наступних поколіннях.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Публікації у наукових фахових виданнях України, які включені до міжнародних наукометричних баз

1. **Чорна І. В.**, Дроник Г. В. Метаболізм азотистих сполук у сироватці крові щурів трьох поколінь при вживанні гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої та гербіциду «Roundup». Біологія тварин. 2018. 20, № 4. С. 69–73. *(Дисертантка виконала експериментальну частину дослідження, статистично опрацювала отримані дані, провела аналіз результатів та підготувала статтю до друку).*

2. **Чорна І. В.**, Дроник Г. В. Постнатальний розвиток приплоду самок щурів та масометричні показники органів щурів двох поколінь при вживанні генетично модифікованої сої та Раундапу. Біоресурси та природокористування. 2018. 10, № 3-4. С. 11–18. *(Дисертантка виконала експериментальну частину дослідження, статистично опрацювала отримані дані, провела аналіз результатів та підготувала статтю до друку).*

3. **Чорна І. В.**, Дроник Г. В., Рогозинський М. С. Безпечність вживання гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої. Біологія тварин. 2018. 20, № 1. С. 40–48. *(Дисертантка здійснила аналіз та узагальнення літературних даних; підготувала текст статті і сформулювала висновки).*

4. **Чорна І. В.** Вплив гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої та гербіциду «Roundup» на рівень деяких метаболітів азотистого обміну у сечі щурів. Біоресурси та природокористування. 2018. 11, № 3-4. С. 5–15.

5. **Чорна І. В.**, Дроник Г. В., Давиденко І. С. Гістологічне дослідження печінки щурів, що вживали генномодифіковану сою, оброблену гербіцидом «Roundup». Вісник ОНУ. Біологія. 2018. 23, 1. С. 158-166. *(Дисертантка відібрала матеріал, підготувала проби та проаналізувала статистичні матеріали, власні дані підготувала текст статті, сформулювала висновки).*

6. **Чорна І. В.** Структурно-функціональний стан нирок щурів двох поколінь при вживанні гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої та гербіциду «Roundup» ScienceRise: Biological Science. 2019. 1, № 16. P. 25–29.

7. **Chorna I. V.**, Dronik G. B., Lukashiv T. O., Yuzkova V. D. Oxidatively modified proteins in kidneys of rats fed with glyphosate-resistant genetically modified soybean and the herbicide Roundup. Regul. Mech. Biosyst. 2019. 10, № 3. P. 319-325. (Web of Science). *(Дисертантка провела дослідження вмісту карбонільних похідних, сульфгідрильних груп та активності протеолітичних ферментів).*

Публікації, які додатково відображають наукові результати

8. Дроник Г. В., **Чорна І. В.**, Рогозинський М. С. Біологічне значення показників системи антиоксидантного захисту щурів при оцінці безпечності вживання генетично модифікованих організмів. Молодий вчений. 2018. 10. С. 461–469. *(Дисертантка зробила аналіз і узагальнення літературні дані; підготувала текст і сформулювала висновки).*

9. Дроник Г. В., **Чорна І. В.** Вплив традиційної та генетично модифікованої сої на рівень деяких метаболітів азотистого обміну в сироватці крові щурів. Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин. 2017. 18, № 2. С. 134–139. *(Дисертантка виконала експериментальну частину дослідження, статистично опрацювала отримані дані, провела аналіз результатів та підготувала статтю до друку).*

Список публікацій, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

10. **Чорна І. В.** Вплив генетично модифікованої сої на індивідуальний розвиток та статеве дозрівання щурів. Тези конф. «Актуальні проблеми гуманітарних та природничих наук» (м. Київ, 28-29 жовт. 2016 р.). Київ, 2016. С. 57–59.

11. Дроник Г. В., **Чорна І. В.** Показники азотистого обміну щурів при вживанні трансгенної та нативної сої. Тези конф. «Сучасні тенденції розвитку науки» (м. Харків, 26-27 трав. 2017 р.). Харків, 2017. С. 33–35. *(Дисертантка виконала експериментальну частину дослідження, статистично опрацювала отримані дані, провела аналіз результатів та підготувала статтю до друку).*

12. Дроник Г. В., **Чорна І. В.** Масометричні зміни щурів при вживанні натуральної та генетично модифікованої сої. Тези XV Всеукр. наук. конф. «Актуальні питання біології та медицини» (м. Старобільськ, 25–26 трав. 2017 р.). Старобільськ, 2017. С. 71–73. *(Дисертантка виконала експериментальну частину дослідження, статистично опрацювала отримані дані, провела аналіз результатів та підготувала статтю до друку).*

13. **Чорна І. В.**, Дроник Г. В., Вплив натуральної та трансгенної сої на концентрацію сечової кислоти в крові та у сечі щурів. Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. «Нове слово в науці і практиці: гіпотези і апробація результатів досліджень» (м. Київ, 23-24 черв. 2017 р.). Київ, 2017. С. 90-91. *(Дисертантка виконала експериментальну частину дослідження, статистично опрацювала отримані дані, провела аналіз результатів та підготувала статтю до друку).*

14. Дроник Г. В., **Черная И. В.** Содержание средних молекул в сыворотке крови крыс при употреблении традиционной и трансгенной сои. Вестник современных исследований. Омск, 2017. № 6-1 (9). С. 7–8 *(Дисертантка виконала*

експериментальну частину дослідження, статистично опрацювала отримані дані, провела аналіз результатів та підготувала статтю до друку).

15. **Черная И. В.**, Дроник Г. В. Влияние нативной и генетически модифицированной сои на количество приплода и смертность первого потомства крыс. Материалы 21-й междунар. Пушчинской школы-конф. молодых ученых «Биология – наука XXI века» (г. Пушино, 17-21 апр. 2017 г.). Пушино, 2017. С. 143–144. *(Дисертантка виконала експериментальну частину дослідження, статистично опрацювала отримані дані, провела аналіз результатів та підготувала статтю до друку).*

16. Дроник Г. В., **Чорна І. В.** Вплив традиційної та генетично модифікованої сої на рівень деяких метаболітів азотистого обміну в сироватці крові щурів. Матеріали 7-ї міжнар. наук.-практ. конф. «Ветеринарні препарати: розробка, контроль якості та застосування» (м. Львів, 4-6 жовт. 2017 р.). Львів, 2017. С. 134–139 *(Дисертантка виконала експериментальну частину дослідження, статистично опрацювала отримані дані, провела аналіз результатів та підготувала статтю до друку).*

17. Дроник Г. В., **Чорна І. В.**, Рогозинський М. С. Вплив традиційної та генетично модифікованої сої на рівень креатиніну в сироватці крові у двох поколіннях щурів. Матеріали конф. «Актуальні питання сучасної науки» (м. Івано-Франківськ, 7-8 лип. 2017 р.). Івано-Франківськ, 2017. С. 37–38. *(Дисертантка провела дослідження рівня креатиніну в сироватці крові, опрацювала статистичні дані, брала участь у написанні тез).*

18. Дроник Г. В., **Чорна І. В.** Показники активності аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази в сироватці крові щурів, яким згодували традиційну та генетично модифіковану сою. Тези конф. «Актуальні наукові проблеми. Розгляд, рішення, практика» (м. Одеса, 26-27 трав. 2017 р.). Одеса, 2017. С. 84–85. *(Дисертантка виконала експериментальну частину дослідження, статистично опрацювала отримані дані, провела аналіз результатів та підготувала статтю до друку).*

19. **Чорна І. В.**, Дроник Г. В. Масометричні показники внутрішніх органів щурів двох поколінь при вживанні гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої та гербіциду «Roundup». Матеріали міжнар. літнього наукового симпозіуму «Інноватика в сучасній освіті та науці: теорія, методологія, практика» (м. Одеса, 26-27 лип. 2018 р.). Одеса, 2018. С. 76-78. *(Дисертантка виконала експериментальну частину дослідження, статистично опрацювала отримані дані, провела аналіз результатів та підготувала статтю до друку).*

20. **Чорна І. В.**, Дроник Г. В. Вплив раундапостійкої генетично модифікованої сої та гербіциду раундап на рівень сечовини у сечі трьох поколінь щурів. Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. «Наука, технології, інновації: світові тенденції та регіональний аспект» (м. Одеса, 28-29 верес. 2018 р.). Одеса, 2018. С. 144–147. *(Дисертантка виконала експериментальну частину дослідження, статистично опрацювала отримані дані, провела аналіз результатів та підготувала статтю до друку).*

21. **Чорна І. В.**, Дроник Г. В. Окислювальна модифікація білків в субклітинній фракції печінки щурів при довготривалому згодюванні генетично

модифікованої та традиційної сої. Матеріали III міжнар. наук.-практ. конф. «Теорія і практика актуальних наукових досліджень». Запоріжжя, 2018. С. 30–32. (Дисертантка виконала експериментальну частину дослідження, статистично опрацювала отримані дані, провела аналіз результатів та підготувала статтю до друку).

АНОТАЦІЯ

Чорна І.В. Вплив гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої на показники білкового обміну та антиоксидантну систему щурів. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія. – Інститут біології тварин НААН, Львів, 2021.

Дисертаційну роботу присвячено дослідженню довготривалого впливу гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої, необробленої і обробленої гербіцидом Roundup, та впливу самого гербіциду на продуктивність самок щурів, постнатальний розвиток щурів і їх масометричні характеристики, на показники протеїнового й азотистого обміну у тканинах та сечі щурів трьох поколінь. Вивчено вміст карбонільних похідних у тканинах досліджуваних тварин і стан їх антиоксидантної системи, як один із критеріїв оцінки безпечності генетично модифікованих організмів.

Статистичний аналіз отриманих результатів свідчить про окиснювальну модифікацію протеїнів і порушення рівноваги у функціонуванні прооксидантно-антиоксидантної системи у тканинах щурів, яким згодовували гербіцид Roundup із питною водою та оброблену генетично модифіковану сою, що більше виражено в F₁ і F₂ поколіннях. Аналіз біохімічних даних, одержаних під час виконання дисертаційної роботи, свідчить про підвищення активності амінотрансфераз у крові (особливо АлАТ) та рівня молекул середньої маси (як показника інтоксикації організму) у цих двох групах.

Ключові слова: трансгенні організми, гліфосат-резистентна соя, гепатоцити; гербіцид Roundup, детоксикація.

АННОТАЦИЯ

Черная И.В. Влияние глифосат-резистентной генетически модифицированной сои на показатели белкового обмена и антиоксидантную систему крыс. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 – биохимия. – Институт биологии животных НААН, Львов, 2021.

Диссертационная работа посвящена исследованию длительного воздействия глифосат-резистентной генетически модифицированной сои, необработанной и обработанной гербицидом Roundup, и влияния самого гербицида на производительность самок крыс, постнатальное развитие крыс и их масометрические характеристики, на показатели протеинового обмена в тканях и

моче крыс трех поколений. Изучалось содержание карбонильных производных в тканях животных и состояние их антиоксидантной системы, как один из критериев оценки безопасности генетически модифицированных организмов.

Статистический анализ полученных результатов свидетельствует об окислительной модификации протеинов и нарушении равновесия в функционировании прооксидантно-антиоксидантной системы в тканях крыс, употреблявших гербицид Roundup с питьевой водой и обработанную им генномодифицированную сою, что более выражено в F₁ та F₂ поколениях. Анализ биохимических показателей свидетельствует о повышении уровня аминотрансфераз (особенно АлАТ) и уровня содержания молекул средней массы в крови (показатель интоксикации организма) в этих исследовательских группах.

Ключевые слова: трансгенные организмы, глифосат-резистентная соя, гепатоциты, гербицид Roundup, детоксикация.

SUMMARY

Chorna I.V. The effects of glyphosate-resistant genetically modified soybean on protein metabolism and on rats' antioxidant system. – On the manuscript.

The thesis for Candidate of Biology degree by specialty 03.00.04. – biochemistry – Institute of Animal Biology of NAAS, Lviv, 2021.

One of the transgenic crops widely used both in agriculture and in the food industry is genetically modified soybean (GTS 40-3-2) with the new Roundup Ready trait. This transgenic soybean is resistant to Roundup herbicide due to the introduced gene of the *Agrobacterium tumefaciens* bacterium. The GM-soybean synthesizes bacterial 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) replacing the herbicide-inhibited enzyme in the plant, hence, after Roundup herbicide application in the field, the transgenic soybean continues to grow, whereas weeds die. The widespread use of Roundup Ready transgenic soybean and Roundup herbicide gives rise to concern about their safety for the environment, as well as animal and human health.

The thesis is devoted to the study of the long-term effects of glyphosate-resistant genetically modified soybean untreated and treated with Roundup herbicide and of the herbicide itself on female rat reproduction for two generations, on rat postnatal development and massometric parameters, on protein metabolism indicators (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma-glutamyltransferase, creatinine, urea, uric acid and total protein) in tissues, urine and blood of three rat generations. The content of carbonyl derivatives in tissues of three rat generations and the state of their antioxidant protection system (concentrations of superoxide dismutase, catalase, glutathione and glutathione-dependent enzymes) were studied as one of the criteria for safety assessment of genetically modified organisms.

The thesis has confirmed the negative effects of Roundup herbicide and transgenic soybean GTS 40-3-2 treated with herbicide on both structure and function of rat kidneys and livers, namely, causing reversible cellular swelling in kidney and liver cells, which is the most pronounced in the third rat generation. It has also been shown that soybean seeds are able to accumulate the herbicide, which can be partially neutralized by heat treatment. Long-term use of both the GM soybean treated with the herbicide and the herbicide itself

has been found to lead to an increase in mortality of the next two rat generations, especially for rats aged up to two months. In addition, the changes in their massometric parameters (an enlargement of liver mass among the experimental groups), especially in the F₁ and the F₂ generations of rats were established.

Analysis of biochemical data of rat blood and liver obtained during carrying out the thesis work confirms the hepatocytes structure disruption, namely, some damage to their cell membranes, as evidenced by an increase in aminotransferase level in the blood (especially alanine aminotransferase). An increase in the De Ritis Ratio (alanine aminotransferase/aspartate aminotransferase ratio) indicates the liver origin of this enzyme. Some changes in other biochemical parameters, in particular, a rise in the level of average mass molecules in blood (indicator of intoxication) prove the toxicity of this herbicide.

The studies of the carbonyl derivatives level, SH-groups content and the proteolytic enzymes activity have showed an increase in the protein oxidative modification, subsequently, the proteins become sensible to proteolysis. The obtained results testify to the rise in the number of reactive oxygen species, contributing to the initiation of free radical processes in the liver and kidney cells of the rats received the herbicide with drinking water and the rats fed with soybean seeds, containing the herbicide residues. The depletion of antioxidant protection system and the oxidant-antioxidant system imbalance have been also observed. The glutathione peroxidase and glutathione transferase activities also decreased in blood, liver, and kidneys of the rats received the Roundup herbicide with drinking water and of the rats fed with transgenic soybean treated with herbicide. The decrease was more pronounced for the F₁ and F₂ generations of rats. For the rats fed with untreated transgenic soybean the antioxidant protection enzymes activity remains almost unchanged compared to the control group.

Key words: genetically modified soybean, transgenic soybean, glyphosate-resistant soybean, hepatocytes, Roundup herbicide, detoxification.

Підписано до друку 16.03.21
Формат 60x84/16. Папір офсетний.
Друк на різнографі. Зам. №16/03-1
Ум. друк. арк. 0,9
Наклад 100 прим.

Видавництво “Галич-Прес”
Видавець ФОП Король І.В.
м. Львів, вул. Гнатюка, 17
Ел. пошта: lvivprint@ukr.net. Тел. 096-59-88-924
Свідоцтво ДК №5353 від 24.05.2017 р.