

ВОПРОСЫ ПИТАНИЯ

ТОМ №80

1/2011

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ



ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»

Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации

НИИ питания Российской академии медицинских наук

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ВОПРОСЫ ПИТАНИЯ

PROBLEMS OF NUTRITION

Основан в 1932 г.

ТОМ 80

№ 1, 2011

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

В.А. Тутельян
академик РАМН,
директор НИИ
питания РАМН

Журнал входит в Перечень ведущих рецензируемых журналов и изданий, которые рекомендованы Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации (ВАК) для публикации результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук

Журнал представлен в следующих информационно-справочных изданиях и библиографических базах данных: Реферативный журнал ВИНТИ, Pubmed, Biological, MedART, eLibrary.ru, The National Agricultural Library (NAL), Nutrition and Food Database, FSTA, EBSCOhost, Health Index, Web of Science, Social Sciences Citation Index, Russian Periodical Catalog



ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»

Для корреспонденции

Тышко Надежда Валерьевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории по изучению новых и генетически модифицированных источников пищи НИИ питания РАМН
 Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14
 Телефон: (495) 698-53-64

Н.В. Тышко, В.М. Жминченко, В.А. Пашорина, К.Е. Селяскин, В.П. Сапрыкин,
 Н.Т. Утембаева, В.А. Тутельян

Оценка влияния ГМО растительного происхождения на развитие потомства крыс в трех поколениях

Assessment of the impact of GMO of plant origin on rat progeny development in 3 generations

N.V. Tyshko, V.M. Zhminchenko, V.A. Pashorina, K.E. Selyaskin, V.P. Saprykin, N.T. Utembaeva, V.A. Tutelyan

The publication presents the results of assessment of impact of genetically modified (GM) maize Liberty Link® on prenatal and postnatal development of progeny of 3 generations of Wistar rats. A total of 630 adult animals and 2837 pups were used in the experiment. The animals were divided into 5 groups which got the diets with inclusion of maize: the animals of the experimental group got the diet with the GM-maize, animals of the control group – with near isogenic conventional analogue of the GM-maize, animals of the 1st, 2nd and 3rd reference groups – conventional varieties of maize «ROSS 144 MV», «ROSS 197 MV», «Dokuchayevskaya 250 MV» respectively. The maize was included in the diet at maximum possible level not violating the balance of basic nutrients. Analysis of the data obtained during the study did not reveal any impact of GM-maize on rat progeny development.

Key words: reproductive function, genetically modified (GM) foods, GM-maize, the progeny development of rats

НИИ питания РАМН, Москва
 Institute of Nutrition of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Оценено влияние генетически модифицированной (ГМ) кукурузы Либерти Линк® на пре- и постнатальное развитие потомства 3 поколений крыс Вистар. В эксперименте использованы 630 взрослых животных и 2837 крысят. Животные были разделены на 5 групп, получавших рационы с включением кукурузы: ГМ-кукурузы – опытная группа, традиционного аналога исследуемой ГМ-кукурузы – контрольная группа и 3 традиционных сорта кукурузы – «РОСС 144 МВ», «РОСС 197 МВ» и «Докучаевская 250 МВ» (1-я, 2-я и 3-я референсные группы). Кукурузу включали в рацион в максимально возможном количестве, не нарушавшем баланс основных пищевых веществ. Анализ полученных данных не выявил какого-либо влияния ГМ-кукурузы на развитие потомства крыс.

Ключевые слова: репродуктивная функция, генетически модифицированные (ГМ) пищевые продукты, ГМ-кукуруза, развитие потомства крыс

Система оценки безопасности генетически модифицированных Организмов (ГМО) растительного происхождения, принятая в Российской Федерации, наряду с общетоксикологическими исследованиями предусматривает изучение специфических видов токсичности, таких как генотоксичность, иммунотоксичность, аллергенность, репродуктивная токсичность. В соответствии со сложившейся исследовательской практикой изучение репродуктивной токсичности ГМО относится к факультативным исследованиям, проводимым в случае доказанной необходимости [1, 5].

Несмотря на 15-летний опыт использования ГМ-источников пищи в питании людей и животных [15], сохраняется необходимость пополне-

Таблица 1. Состав экспериментальных групп и количество животных

Группа		F0	F1	Число крыс
Контрольная	Взрослые животные	50♀+25♂	40♀+20♂	135
	Потомство	300	242	542
Опытная	Взрослые животные	50♀+25♂	40♀+20♂	135
	Потомство	354	246	600
1-я референсная	Взрослые животные	40♀+20♂	40♀+20♂	120
	Потомство	324	280	604
2-я референсная	Взрослые животные	40♀+20♂	40♀+20♂	120
	Потомство	262	285	547
3-я референсная	Взрослые животные	40♀+20♂	40♀+20♂	120
	Потомство	267	277	544

ния доказательной базы безопасности ГМО для здоровья последующих поколений, что обуславливает важность исследований репродуктивной функции и развития потомства в поколениях [12, 14, 23].

Нами изучена безопасность ГМ-кукурузы в эксперименте на 3 поколениях крыс, представлены результаты исследований репродуктивной функции крыс, получавших с рационом ГМ-кукурузу и ее традиционный аналог, а также традиционные российские сорта кукурузы.

Материал и методы

Исследования выполнены на 3 поколениях крыс Вистар: родительском (F0), первом (F1) и втором (F2). Всего было использовано 630 взрослых животных и 2837 крысят (табл. 1). Эксперимент проведен в 2 этапа: 1-й этап – с сентября 2007 г. по октябрь 2008 г.: на 2 группах животных, получавших с рационом ГМ-кукурузу (опытная группа) или традиционный аналог изучаемой ГМ-кукурузы (контрольная группа); 2-й этап – с октября 2008 г. по декабрь 2009 г. на 3 группах животных, получавших с рационом традиционные сорта кукурузы: «РОСС 144 МВ», «РОСС 197 МВ», «Докучаевская 250 МВ» – 1-я, 2-я и 3-я референсные группы. Исследования с использованием традиционных сортов выполнены для определения референсных значений показателей функции репродуктивной системы у крыс, находившихся в условиях вивария НИИ питания РАМН и получавших с рационом агарированные количества кукурузы.

В первой серии экспериментов были использованы образцы ГМ-кукурузы Либерти Линк® и ее традиционного аналога, выращенные в идентичных условиях и прошедшие аналогичную технологическую обработку (предоставлены компанией «Bayer CropScience», США), во второй серии – образцы российских сортов кукурузы (предоставлены НИИ сельского хозяйства им. В.В. Докучаева РАСХН).

Соответствие зерна кукурузы гигиеническим требованиям безопасности, принятым в Российской Федерации [2, 3], подтверждено санитарно-гигиеническими исследованиями, включавшими определение содержания тяжелых металлов, пестицидов, микотоксинов, бенз(а)пирена. Как видно из табл. 2, образцы кукурузы несколько различались по содержанию фумонизинов, поэтому рассчитывали их поступление с рационом (исходя из массовой доли соответствующей кукурузы) для каждой экспериментальной группы: рацион с включением изогенного контроля содержал фумонизины в количестве 0,0173 мг на 1 кг корма (0,00115–0,00173 мг/кг массы тела), рацион с включением ГМ-кукурузы – 0,015 мг/кг корма (0,001 мг/кг массы тела), рационы 1-й, 2-й и 3-й референсных групп соответственно – 0,0226 мг/кг корма (0,00150–0,00226 мг/кг массы тела), 0,1573 мг/кг корма (0,01049–0,01573 мг/кг массы тела) и 0,0419 мг/кг корма (0,00279–0,00418 мг/кг массы тела). Сравнение полученных результатов с NOAEL фумонизинов (максимально недействующей концентрацией) для крыс, составляющей <15 мг/кг корма или 0,25 мг/кг массы тела (NOAEL для почек, являющихся наиболее чувствительными к действию фумонизинов) свидетельствуют об отсутствии возможности какого-либо биологического действия фумонизинов, так как их уровень в экспериментальных рационах значительно ниже NOAEL [26, 28, 29]. Таким образом, некоторые различия образцов кукурузы по содержанию микотоксинов не имеют биологического значения и ими можно пренебречь.

Зерно кукурузы подвергали измельчению в мельнице до равномерной крупяной массы с размером частиц 400–450 мкм. Измельченное зерно кукурузы включали в состав корма из расчета 8–10 г на крысу в сутки, заменяя ингредиенты рациона по принципу изокалорийности и идентичности химического состава [3]. Химический

Таблица 2. Результаты санитарно-гигиенических исследований образцов кукурузы

Показатель	Традиционный аналог	ГМ-кукуруза	РОСС 144 МВ	РОСС 197 МВ	Дочучаевская 250 МВ	СанПиН 2.3.2.1078-01
Токсичные элементы, мг/кг						
Свинец	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	0,5
Мышьяк	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	0,2
Кадмий	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	0,1
Ртуть	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	0,03
Пестициды, мг/кг						
Гексахлорциклогексан	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	0,5
ДДТ и его метаболиты	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	0,02
Алдрин	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	–
Гексахлоран	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	–
Гептахлор	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	–
Кельтан	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	–
Ртутьорганические пестициды	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	Не допускаются
2,4-Д-кислота, ее соли, эфиры	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	Не допускаются
Бенз(а)пирен	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	0,001
Микотоксины, мг/кг						
Афлатоксин В1	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	0,005
Дезоксиниваленол	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	–
T ₂ -токсин	0,015±0,005	0,011±0,006	0,006±0,006	0,007±0,007	0,023±0,023	0,1
Зеараленон	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	1,0
Фумонизин В1	0,054±0,038	н/о	0,058±0,027	0,342±0,095	0,107±0,044	–
Фумонизин В2	н/о	н/о	н/о	0,038±0,038	н/о	–

Примечание. Н/о – не обнаружено.

Таблица 3. Химический состав зерна кукурузы (%; М±m)

Показатель	ГМ-кукуруза	Традиционный аналог	РОСС 144 МВ	РОСС 197 МВ	Дочучаевская 250 МВ
Белок	8,54±0,09	9,32±0,06	9,00±0,09	10,91±0,10	8,05±0,14
Жир	4,14±0,27	4,45±0,32	5,20±0,08	6,04±0,33	5,80±0,16
Углеводы	61,40±0,62	60,86±0,32	61,13±0,34	59,63±0,59	61,89±0,34
Сумма пищевых волокон	15,64±0,54	15,12±0,32	12,79±0,32	12,07±0,47	12,77±0,34
Зола	1,12±0,11	1,05±0,09	1,48±0,06	1,18±0,03	1,38±0,13
Влажность	9,07±0,47	9,23±0,48	9,95±0,52	10,18±0,49	10,11±0,49

состав зерна кукурузы представлен в табл. 3, продуктовый набор и химический состав рационов – в табл. 4.

Исходная колония крыс Вистар (самцы и самки в возрасте 30–35 дней) получена из питомника лабораторных животных «Столбовая» РАМН. Животные были произвольно разделены на 2 (сентябрь 2007 г.) и на 3 группы (октябрь 2008 г.) и переведены на рационы с включением в их состав соответствующей кукурузы. Экспериментальные рационы животные получали на протяжении всего срока исследований. Каждый этап эксперимента состоял из подготовительной стадии и стадии непосредственного изучения репродуктивной функции крыс

поколений F0, F1, F2 (см. схему). Подготовительная стадия предназначалась для выведения животных (поколение F0), получавших экспериментальные рационы на протяжении всего срока онтогенетического развития организма, максимально стандартизованные для целей данного исследования.

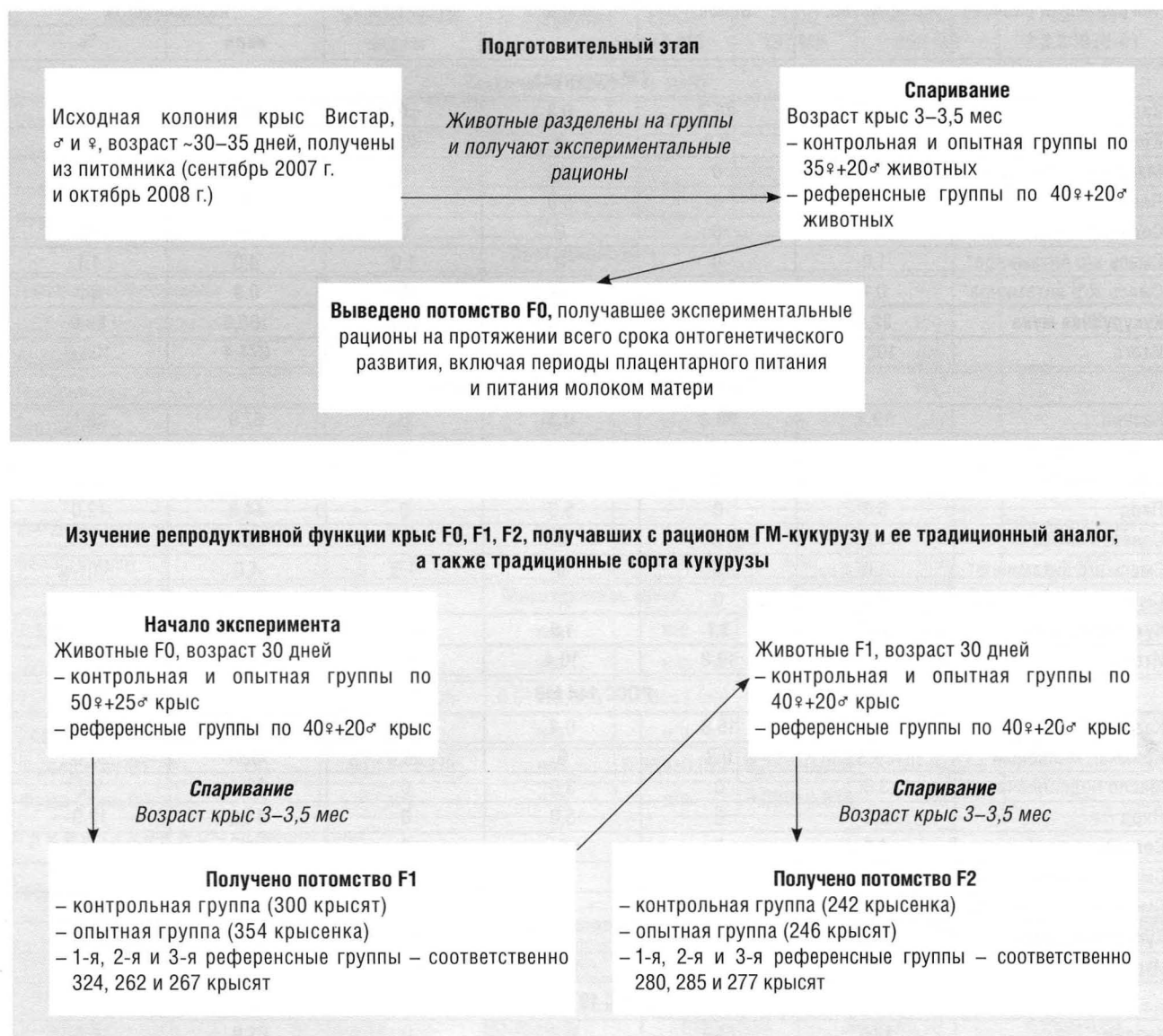
Для оплодотворения самок подсаживали к самцам в соотношении 2:1 на 1 эстральный цикл (5 сут). В период спаривания возраст крыс составлял 100–120 дней. Крысят отсаживали от материнских животных на 26-й день жизни; для продолжения эксперимента отбирали потомство от разных самок (с целью рандомизации исследований и исключения возможности инцеста). В течение эксперимента

Таблица 4. Состав экспериментальных рационов с включением кукурузы

Ингредиенты рациона	Количество, г	Белок, г	Жиры, г	Углеводы, г	Калорийность	
					ккал	%
ГМ-кукуруза						
Казеин	19,7	16,7	0,3	0	69,3	18,5
Крахмал маисовый	34,6	0,3	0	30,0	121,2	32,4
Масло подсолнечное	3,7	0	3,7	0	33,2	8,9
Лярд	5,0	0	5,0	0	44,8	12,0
Солевая смесь*	4,0	0	0	0	0	0
Смесь в/р витаминов*	1,0	0	0	1,0	4,0	1,1
Смесь ж/р витаминов*	0,1	0	0,1	0	0,9	0,2
Кукурузная мука	32,0	2,7	1,3	19,6	100,9	26,9
Итого	100,1	19,7	10,4	50,6	374,4	100,0
Традиционный аналог ГМ-кукурузы						
Казеин	19,3	16,3	0,3	0	67,9	18,1
Крахмал маисовый	34,0	0,3	0	29,4	119,1	31,8
Масло подсолнечное	3,5	0	3,5	0	31,4	8,4
Лярд	5,0	0	5,0	0	44,8	12,0
Солевая смесь*	4,0	0	0	0	0	0
Смесь в/р витаминов*	1,0	0	0	1,0	4,0	1,1
Смесь ж/р витаминов*	0,1	0	0,1	0	0,9	0,2
Кукурузная мука	33,1	3,1	1,5	20,1	106,3	28,4
Итого	100,0	19,8	10,4	50,5	374,5	100,0
РОСС 144 МВ						
Казеин	18,7	15,8	0,3	0	65,8	17,7
Крахмал маисовый	29,3	0,3	0	25,4	102,7	27,6
Масло подсолнечное	3,0	0	3,0	0	26,9	7,2
Лярд	5,0	0	5,0	0	44,8	12,0
Солевая смесь*	4,0	0	0	0	0	0
Смесь в/р витаминов*	1,0	0	0	1,0	4,0	1,1
Смесь ж/р витаминов*	0,1	0	0,1	0	0,9	0,2
Кукурузная мука	38,9	3,5	2,0	23,8	127,2	34,2
Итого	100,0	19,6	10,4	50,2	372,3	100,0
РОСС 197 МВ						
Казеин	17,6	14,9	0,3	0	61,9	16,6
Крахмал маисовый	28,5	0,3	0	24,7	99,9	26,8
Масло подсолнечное	2,5	0	2,5	0	22,5	6,0
Лярд	5,0	0	5,0	0	44,8	12,0
Солевая смесь*	4,0	0	0	0	0	0
Смесь в/р витаминов*	1,0	0	0	1,0	4,0	1,1
Смесь ж/р витаминов*	0,1	0	0,1	0	0,9	0,2
Кукурузная мука	41,4	4,5	2,5	24,7	139,3	37,3
Итого	100,1	19,7	10,3	50,4	373,3	100,0
Докучаевская 250 МВ						
Казеин	19,2	16,2	0,3	0	67,6	18,1
Крахмал маисовый	29,0	0,3	0	25,1	101,6	27,2
Масло подсолнечное	2,7	0	2,7	0	24,3	6,5
Лярд	5,0	0	5,0	0	44,8	12,0
Солевая смесь*	4,0	0	0	0	0	0
Смесь в/р витаминов*	1,0	0	0	1,0	4,0	1,1
Смесь ж/р витаминов*	0,1	0	0,1	0	0,9	0,2
Кукурузная мука	39,1	3,1	2,3	24,2	129,9	34,8
Итого	100,1	19,6	10,4	50,3	373,1	100,0

Примечание. * – в соответствии с МУ 2.3.2.2306-07 [3]; в/р – водорастворимые, ж/р – жирорастворимые витамины.

СХЕМА ЭКСПЕРИМЕНТА



наблюдали за поедаемостью корма, массой тела и общим состоянием животных.

Репродуктивную функцию оценивали по фертильности поколений животных F0 и F1 и характеру пре- и постнатального развития потомства F1 и F2. Под фертильностью понимали способность к оплодотворению самок и самцов, выраженную в процентном соотношении забеременевших самок/оплодотворивших самцов к общему количеству ссаженных самок/самцов. Так как самок ссаживали с самцами в соотношении 2:1, беременность обеих или одной самки подтверждала фертильность самца; в случае, если ни одна из самок не забеременела, самец считался нефертильным, а обе самки – потенциально фертильными.

Для изучения пренатального развития потомства по 9–11 беременных самок F0 и F1 из каж-

дой группы подвергали эвтаназии на 20-й день беременности, подсчитывали количество желтых тел, количество мест резорбции и мест имплантации, определяли число живых и мертвых плодов, вычисляли предимплантационную гибель (по разности между количеством желтых тел в яичниках и количеством мест имплантации в матке) и постимплантационную гибель (по разности между количеством мест имплантации в матке и количеством живых плодов).

Постнатальное развитие потомства F1 и F2 оценивали в течение 1-го месяца жизни по числу живых и мертвых новорожденных, динамике зоометрических показателей (массы тела и краниокаудального размера), общему физическому развитию (срокам отлипания ушных раковин, появления первичного волосяного покрова, прорезывания

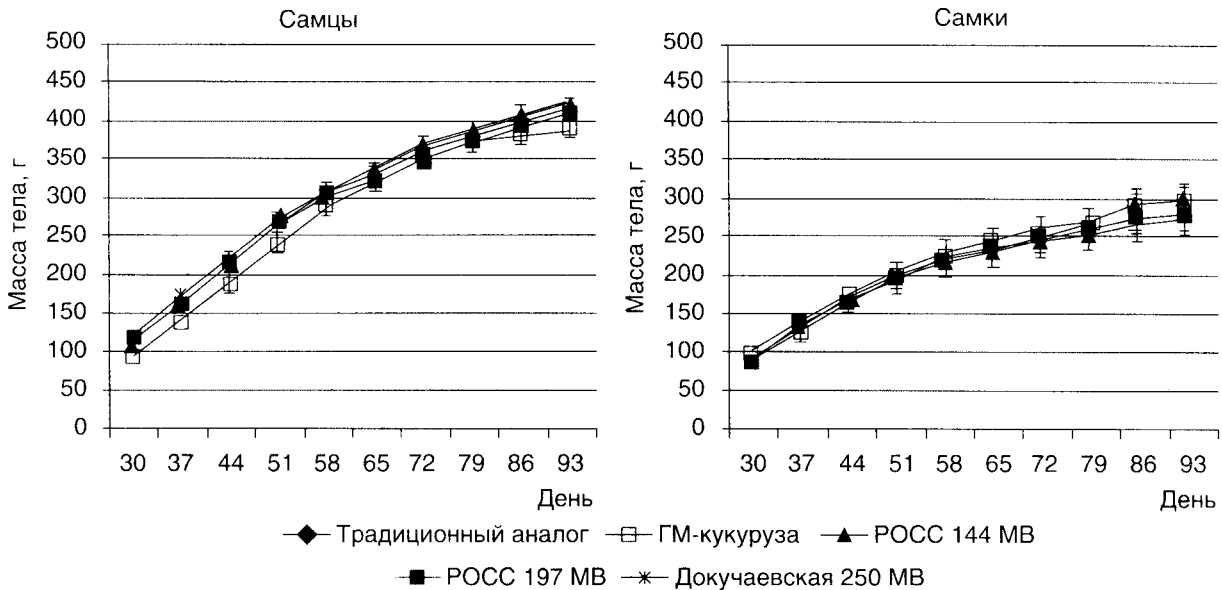


Рис. 1. Динамика массы тела крыс поколения F0

резцов, открытия глаз, опускания семенников, открытия влагалища). Массу тела и краниокаудальный размер крысят измеряли на 2, 5, 10, 15, 20 и 25-е сутки жизни. Также определяли среднюю величину помета, соотношение самцов и самок, вычисляли выживаемость с 0 по 5-й день жизни (отношение числа крысят, доживших до 5-го дня, к числу родившихся живыми) и с 6-го по 25-й день жизни (отношение числа крысят, доживших до 25-го дня, к числу доживших до 6-го дня). Исследования выполнены в соответствии с требованиями, изложенными в методических указаниях [3, 5], а также с учетом рекомендаций международных организаций [9, 21].

Результаты приведены в виде $M \pm t$ и min–max, где M – выборочное среднее измеряемых величин, t – стандартная ошибка, min и max – соответственно минимальное и максимальное значение измеряемой величины, а также в долях (процентах) или абсолютных числах.

Статистическую обработку проводили с использованием пакета программ SPSS 17.0. Характер распределения количественных признаков определяли с помощью χ^2 -критерия, равенство дисперсий – с помощью критерия Левена. Достоверность различий средних величин, удовлетворяющих условиям нормального распределения и равенству дисперсий, оценивали методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Для сравнения количественных признаков, не удовлетворяющих условиям нормального распределения и равенству дисперсий, использовали непараметрический аналог для независимых выборок – U-критерий

Манна–Уитни. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05 [4, 20].

В соответствии со структурой исследования проведено сравнение количественных признаков контрольной и опытной групп; референсные группы использованы для определения диапазона колебаний количественных признаков, характеризующих функцию репродуктивной системы у крыс, получавших с рационом агравированные количества кукурузы.

Результаты и обсуждение

Общее состояние животных F0–F2 было удовлетворительным: по внешнему виду, качеству шерстного покрова, поведению и скорости роста животные опытной группы не отличались от таковых контрольной и референсных групп; поедаемость корма составляла 13,3–29,4 г в сутки на крысу (для самцов) и 12,4–25,7 г (для самок). Ежедневный прирост массы тела крыс всех групп в возрасте 30–93 дней (рис. 1–3) соответствовал уровню прироста, характерному для животных данного вида и возраста (рис. 4) [7, 13, 24].

Интегральным показателем генеративной функции является эффективность спаривания, подтверждающая фертильность экспериментальных животных. Согласно данным, представленным в табл. 5, эффективность спаривания у самок всех групп поколения F0 составляла 79–97%, поколения F1 – 77–87%, эффективность спаривания у самцов – соответственно 89–100 и 93–100%.

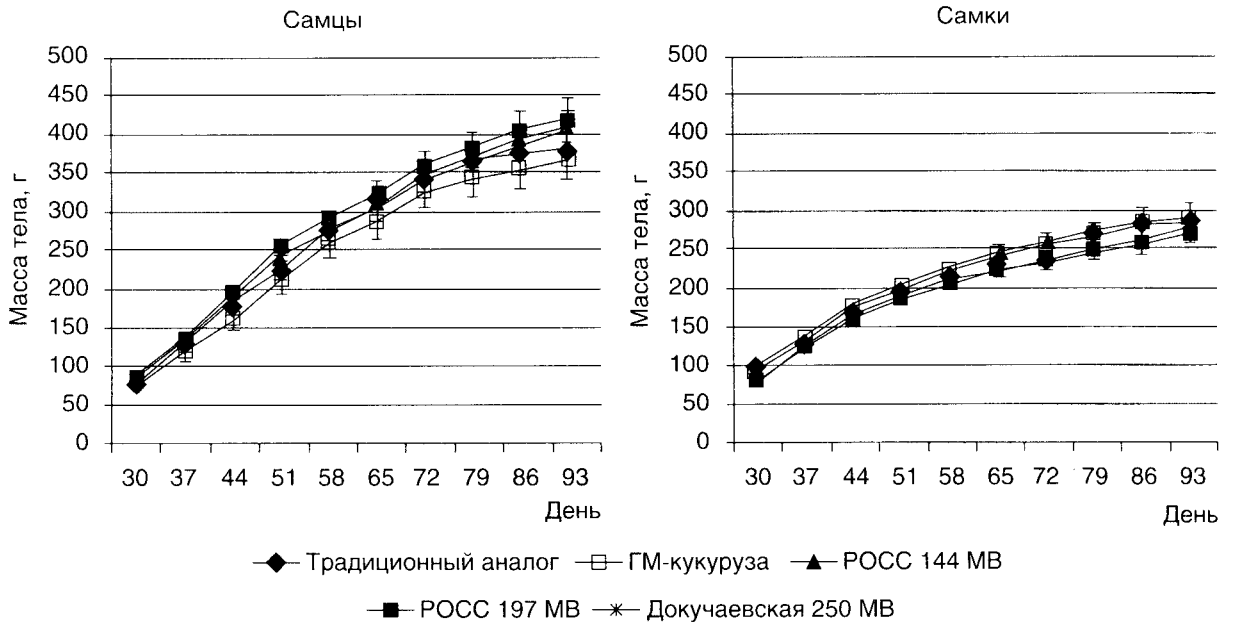


Рис. 2. Динамика массы тела крыс поколения F1

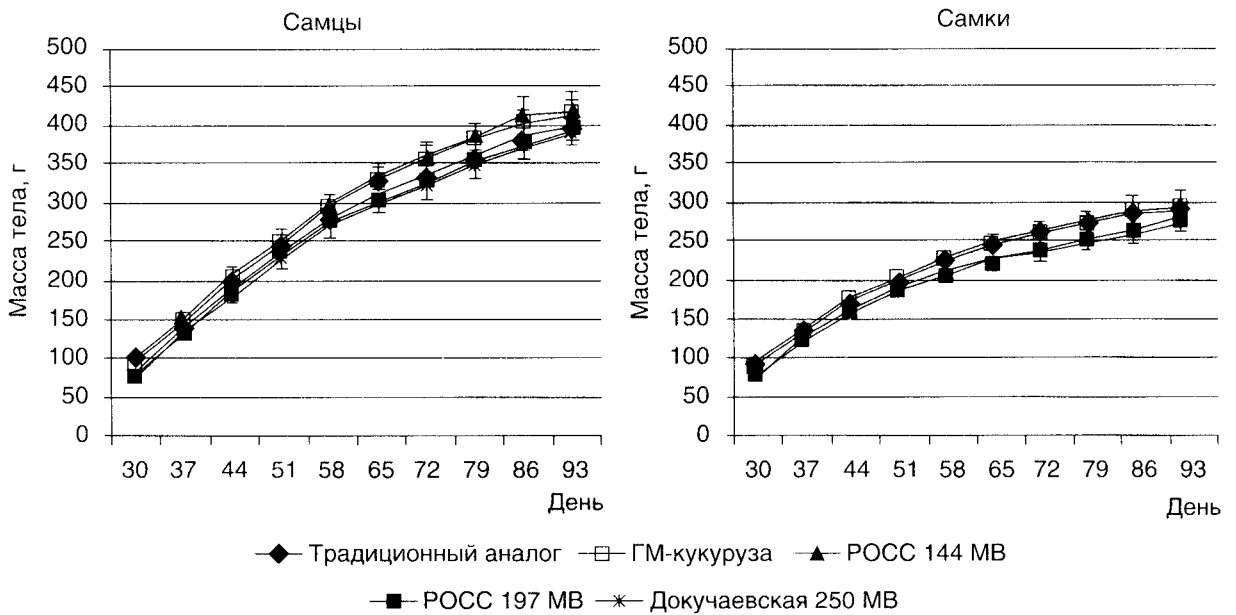


Рис. 3. Динамика массы тела крыс поколения F2

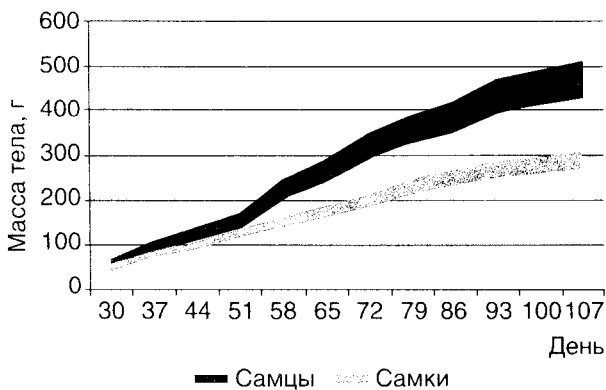


Рис. 4. Динамика массы тела крыс (данные литературы) [7, 13, 24]

Эффективность спаривания соответствовала ожидаемой при данных условиях эксперимента: при продолжительности ссаживания 5 сут, соответствующей средней длительности эстрального цикла крысы [5], количество незабеременевших самок во всех группах поколений F0–F1 варьировало в пределах 13–23%. Поскольку, согласно [17], у 11–28% крыс эстральный цикл длится 5,5–10 сут, часть ссаженных самок не достигла фазы эструса в отведенном временном периоде. Количество условно-стерильных (неоплодотворивших) самцов находилось в диапазоне физиологической нормы [18] и составляло 0–11%. Некоторые колебания показателя

Таблица 5. Эффективность спаривания крыс F0, F1

Поколение	Группа	Пол	Количество ссаженных крыс	Количество забеременевших ♀/ оплодотворивших ♂ крыс	Эффективность спаривания, %
F0	Контрольная	♀	38	26	79
		♂	19	17	89
	Опытная	♀	40	30	80
		♂	20	19	95
	1-я референсная	♀	30	29	97
		♂	15	15	100
2-я референсная	♀	30	27	90	
	♂	15	15	100	
3-я референсная	♀	30	25	83	
	♂	15	15	100	
F1	Контрольная	♀	30	26	87
		♂	15	15	100
	Опытная	♀	30	23	77
		♂	15	15	100
	1-я референсная	♀	30	23	83
		♂	15	14	93
	2-я референсная	♀	30	26	87
		♂	15	15	100
	3-я референсная	♀	30	24	87
		♂	15	14	93

в разных группах не имели определенной тенденции и, следовательно, являлись случайными, не связанными с влиянием каких-либо внешних факторов.

При сравнении пренатального развития потомства самок опытной и контрольной групп (получавших с рационом соответственно ГМ-кукурузу и традиционный аналог) поколений F0–F1 (табл. 6) не выявлено значимых различий между группами: количество желтых тел и мест имплантации, количество живых и мертвых плодов, предимплантационная гибель эмбрионов находились в пределах физиологических колебаний, характерных для крыс Вистар (табл. 7). Спонтанная постимплантационная гибель зародышей у крыс F0–F1 (контрольная и опытная группы) была несколько ниже диапазона значений, обычно регистрируемого у крыс данной линии (по данным разных исследователей, 3,6–9,2%; см. табл. 7). У самок контрольной группы в поколении F0 данный показатель составлял 0%, в поколении F1 – $0,8 \pm 0,8\%$, у самок опытной группы – соответственно $0,9 \pm 0,9$ и $3,7 \pm 3,0\%$ (см. табл. 6). Следует отметить, что у крыс референсных групп всех поколений постимплантационная гибель потомства в среднем составляла 2,3–9,9%; значения прочих показателей, характеризующих пренатальное развитие потомства, также имели достаточно широкий диапазон колебаний (см. табл. 6).

Постнатальное развитие потомства в опытной и контрольной группах характеризуется высокой выживаемостью в поколениях F1 и F2 (табл. 8): в период с 0 по 5-й день жизни выживаемость потомства F1 контрольной группы составляла 98%, в период с 6-го по 25-й день – 96%; в опытной группе – соответственно 99 и 95%. В поколении F2 выживаемость потомства в обеих группах в период с 0 по 5-й день жизни была не ниже 98–99%, с 6-го по 25-й – не ниже 98%; значимых различий между группами не выявлено. Выживаемость потомства F1 и F2 в референсных группах составляла: в период с 0-го по 5-й день жизни – 98–99 и 98–99%, в период с 6-го по 25-й день жизни – соответственно 98–100 и 95–98% (см. табл. 8). Согласно данным [18], крысы Вистар в целом характеризуются относительной вариабельностью ряда показателей репродуктивной функции, в том числе выживаемость потомства в 1-й месяц жизни может составлять не более 68% (табл. 9), поэтому 95–99% выживаемость потомства соответствовала оптимальному уровню для крыс данной линии. Средняя величина пометов у крыс контрольной и опытной, а также всех референсных групп, находилась в пределах физиологических значений; достоверных различий между группами не выявлено (см. табл. 8, 9). Соотношение самцов и самок в группах несколько различалось в каждом поко-

Таблица 6. Пренатальное развитие потомства самок F0, F1

Поко- ление	Показатель	Группа				
		Контрольная	Опытная	1-я референсная	2-я референсная	3-я референсная
F0	Количество беременных самок	10	9	9	11	16
	Количество желтых тел					
	Всего	127	117	122	147	211
	<i>M±m</i>	12,70±0,54	13,00±0,53	13,56±0,50	13,36±0,69	13,19±0,85
	min-max	10-15	11-15	11-16	10-16	6-19
	Количество мест имплантации					
	Всего	120	107	102	132	189
	<i>M±m</i>	12,00±0,54	11,89±0,77	11,33±0,69	12,00±0,49	11,81±0,77
	min-max	9-14	8-14	7-15	10-15	6-16
	Количество живых плодов					
	Всего	120	106	100	122	174
	<i>M±m</i>	12,00±0,54	11,78±0,76	11,11±0,72	11,09±0,60	10,88±0,69
	min-max	9-14	8-14	6-14	8-15	6-16
	Количество мертвых плодов	0	1	0	0	0
	Количество резорбций					
	Всего	0	0	2	10	11
	<i>M±m</i>	-	-	0,22±0,15	0,91±0,21	0,69±0,25
	min-max	-	-	0-1	0-2	0-3
	Предимплантационная гибель, %	5,5±1,3	9,1±3,4	15,9±4,9	9,3±2,5	8,9±3,7
	Постимплантационная гибель, %	0	0,9±0,9	2,3±1,7	7,9±1,9	7,3±2,1
F1	Количество беременных самок	11	11	11	12	12
	Количество желтых тел					
	Всего	124	142	142	149	126
	<i>M±m</i>	11,18±0,55	12,91±0,55	12,91±1,01	12,42±0,75	10,50±0,98
	min-max	8-14	10-16	7-17	7-17	5-14
	Количество мест имплантации					
	Всего	114	132	125	146	106
	<i>M±m</i>	10,27±0,81	12,00±1,04	11,36±1,25	12,17±0,77	8,83±0,98
	min-max	5-14	3-16	5-17	7-16	4-14
	Количество живых плодов					
	Всего	113	131	116	134	96
	<i>M±m</i>	10,27±0,81	11,91±1,12	10,55±1,26	11,17±0,81	8,00±0,94
	min-max	5-14	2-16	3-16	7-16	3-13
	Количество мертвых плодов	0	0	0	0	0
	Количество резорбций					
	Всего	1	1	9	12	10
	<i>M±m</i>	0,09±0,09	0,09±0,09	0,82±0,38	1,00±0,33	0,83±0,24
min-max	0-1	0-1	0-3	0-3	0-2	
Предимплантационная гибель, %	8,7±4,7	8,0±6,5	12,7±5,7	2,2±1,2	14,4±5,5	
Постимплантационная гибель, %	0,8±0,8	3,7±3,0	8,5±4,1	8,3±2,5	9,9±3,7	

Таблица 7. Пренатальное развитие потомства: данные литературы ($M \pm m$)

Показатель	Литературный источник					
	[11]	[16]	[25]	[8]	[6]	[19]
Число беременных самок	26	150	15	11	47	10
Количество желтых тел	12,3±0,2	–	14,0±0,4	14,5±0,3	13,5±0,2	15,8±1,3
Количество мест имплантации	11,2±0,4	–	13,2±0,3	13,5±0,39	12,6±0,2	15,4±1,4
Количество живых плодов	10,8±0,4	10,6±0,3	10,73	12,3±0,3	11,5±0,3	14,6±1,9
Количество резорбций	0,42±0,2	7,2±1,2	–	0	–	0
Предимплантационная гибель, %	8,5±3,0	14,1±1,5	5,14	6,2	7,1±1,4	–
Постимплантационная гибель, %	3,6±1,4	7,4±1,2	5,77	9,2	8,6±1,7	4,69

Таблица 8. Постнатальное развитие потомства F1, F2

Покло-ление	Показатель	Группа				
		Контрольная	Опытная	1-я рефе-ренсная	2-я рефе-ренсная	3-я рефе-ренсная
F1	Количество крысят					
	общее	300	354	328	265	267
	мертворожденных	0	0	4	3	0
	Средняя величина помета ($M \pm m$)	11,54±0,60	11,80±0,27	11,17±0,70	10,08±0,50	11,13±0,75
	Соотношение σ/φ в помете, %	52/48	49/51	46/54	50/50	48/52
	Выживаемость с 1-го по 5-й день жизни, %	98	99	98	98	99
	Количество живых (исходное) / умерших крысят	300/7	354/4	324/7	262/5	267/3
F2	Количество крысят					
	общее	244	246	281	286	278
	мертворожденных	2	0	1	1	1
	Средняя величина помета ($M \pm m$)	9,68±0,77	10,70±0,50	12,17±0,61	11,40±0,69	11,54±0,76
	Соотношение σ/φ в помете, %	51/49	49/51	52/48	53/47	50/50
	Выживаемость с 1-го по 5-й день жизни, %	98	99	98	99	99
	Количество живых (исходное) / умерших крысят	242/4	246/1	280/5	285/3	277/3
F2	Выживаемость с 6-го по 25-й день жизни, %	98	98	95	98	95
	Количество живых (исходное) / умерших крысят	238/4	245/5	275/13	282/5	274/13

лении, однако отмеченные колебания не имели определенной тенденции и не выходили за пределы значений, характерных для данной линии крыс. Анализ физического развития потомства F1 и F2 – сроков отлипания ушных раковин, появления волосяного покрова, прорезывания резцов и др. (табл. 10), а также динамики массы тела и роста крысят (рис. 5, 6) – не выявил каких-либо отклонений от нормы [6, 8, 19, 22, 27].

Как отмечалось в разделе «Материал и методы», референсные группы были использованы с целью определения вариабельности показателей репродуктивной функции крыс, получавших рационы с

включением 3 традиционных сортов кукурузы – «РОСС 144 МВ», «РОСС 197 МВ», «Докучаевская 250 МВ» и содержащихся в условиях вивария НИИ питания РАМН. При сравнительном анализе данных, полученных от двух поколений животных, не выявлено существенных различий между группами, что свидетельствует об отсутствии индивидуального влияния на репродуктивную функцию крыс каждого из референсных сортов кукурузы. Отмеченные между 2-й и 3-й референсными группами различия некоторых показателей пренатального развития потомства у родителей F1 (см. табл. 6), по всей вероятности, были случайны, так как при оценке

Таблица 9. Постнатальное развитие потомства: данные литературы

Показатель	Литературный источник					
	[27]	[22]	[10]	[19]	[8]	[18]
Количество крысят						
общее	215	133	28	146	135	>300
мертвоорожденных	4	5	1	–	1	–
Средняя величина помета	11,4±0,2	11,1±2,0	9,5±0,5	14,6±0,6	12,3±0,1	11,67±0,1
Выживаемость с 0 по 5-й день жизни	97,0	96,0	99,3	–	–	96,8
Выживаемость с 6 по 25-й день жизни	99	–	98,6	–	–	67,9
Соотношение ♂/♀	46/54	45/55	–	48/52	47/53	47/53

Таблица 10. Физическое развитие крысят F1, F2

Пок- ление	Показатель	Группа				
		Контрольная	Опытная	1-я референсная	2-я референсная	3-я референсная
F1	Отлипание ушных раковин, день	2,81±0,05	2,95±0,04	3,07±0,07	2,96±0,07	2,92±0,07
	Появление волосяного покрова, день	5,31±0,10	5,74±0,11*	5,97±0,13	6,08±0,08	5,94±0,07
	Прорезывание резцов, день	9,25±0,14	9,72±0,12*	9,93±0,07	9,79±0,11	9,73±0,07
	Открытие глаз, день	15,44±0,11	15,62±0,14	15,10±0,21	15,88±0,08	15,83±0,09
	Опускание семенников, день	23,98±0,22	23,90±0,18	23,94±0,28	23,02±0,21	23,28±0,28
F2	Открытие влагалища, день	28,73±0,26	28,29±0,17	29,22±0,31	28,65±0,21	28,75±0,34
	Отлипание ушных раковин, день	2,86±0,08	2,89±0,07	2,93±0,12	3,04±0,06	2,92±0,09
	Появление волосяного покрова, день	5,98±0,07	5,76±0,09	5,96±0,14	6,06±0,13	5,94±0,12
	Прорезывание резцов, день	9,46±0,04	9,59±0,15	9,28±0,12	9,14±0,10	9,02±0,09
	Открытие глаз, день	15,18±0,07	15,26±0,22	15,78±0,14	15,44±0,16	15,80±0,12
	Опускание семенников, день	23,72±0,22	23,97±0,23	24,26±0,14	23,90±0,15	23,87±0,12
	Открытие влагалища, день	28,70±0,12	28,83±0,12	28,89±0,18	28,90±0,14	28,83±0,14

Пр и м е ч а н и е. Согласно данным литературы [5, 6], нормальными показателями физического развития крысят Вистар являются: отлипание ушных раковин – со 2-го дня, появление волосяного покрова – с 5-го дня, прорезывание резцов – с 6-го дня, открытие глаз – с 12-го дня, опускание семенников – с 18-го дня, открытие влагалища – с 28-го дня.

постнатального развития потомства F2 различий между этими группами не выявлено (см. табл. 8). Таким образом, результаты 2-й серии исследований были однозначно приняты в качестве референсного контроля, позволяющего установить диапазон колебаний изучаемых показателей у крыс Вистар, получавших рационы с содержанием кукурузы.

Таким образом, при изучении репродуктивной токсичности ГМ-кукурузы Либерти Линк® на 3 поколениях крыс не выявлено негативного влияния ГМ-кукурузы на репродуктивную функцию экспериментальных животных. Параллельные исследования репродуктивной токсичности тра-

диционных сортов кукурузы продемонстрировали отсутствие специфических сортовых влияний на репродуктивную функцию, пре- и постнатальное развитие потомства, и в то же время достаточно широкий диапазон колебаний изученных показателей, согласующийся с данными литературы. Результаты проведенных исследований могут быть расценены как прямые доказательства отсутствия какого-либо отрицательного влияния ГМ-кукурузы Либерти Линк® на репродуктивную функцию экспериментальных животных и на развитие потомства.

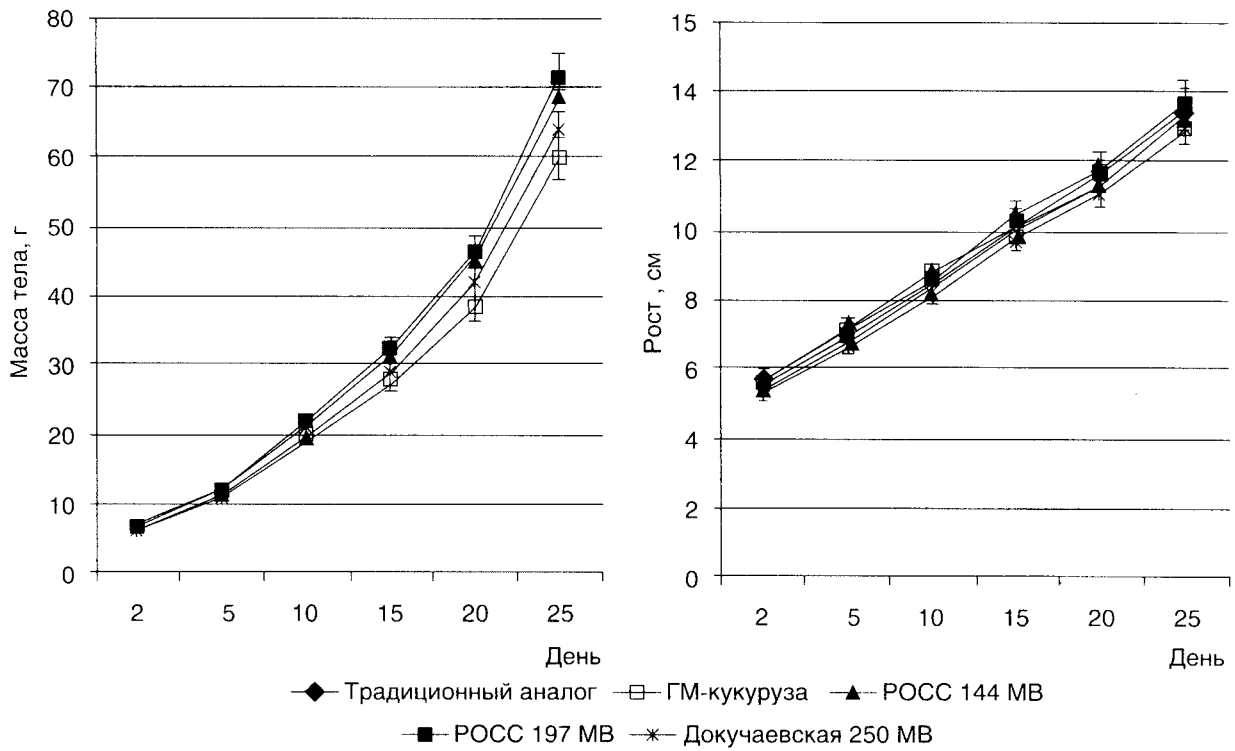


Рис. 5. Динамика массы тела и роста крысят поколения F1

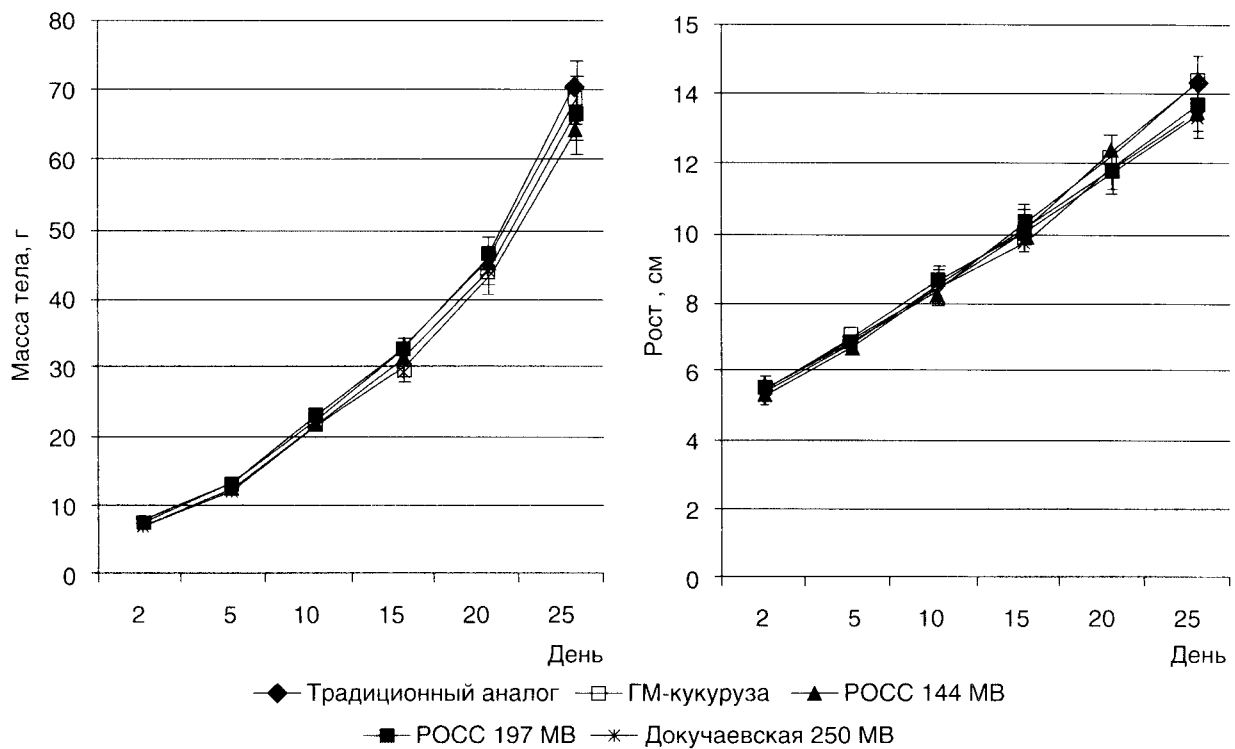


Рис. 6. Динамика массы тела и роста крысят поколения F2

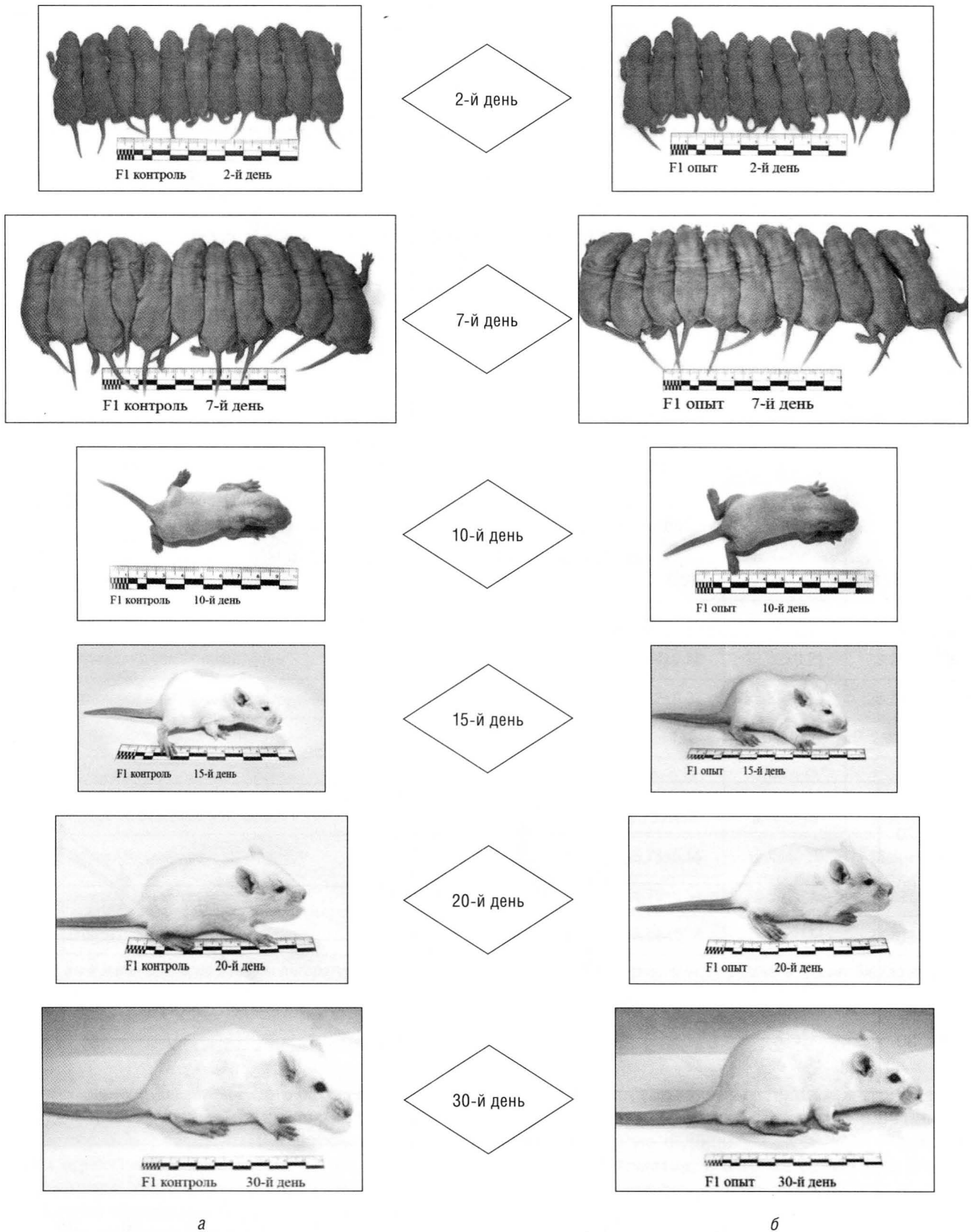


Рис. 7. Потомство крыс F1 – контрольная (а) и опытная (б) группы (позэтапное фотодокументирование развития потомства)

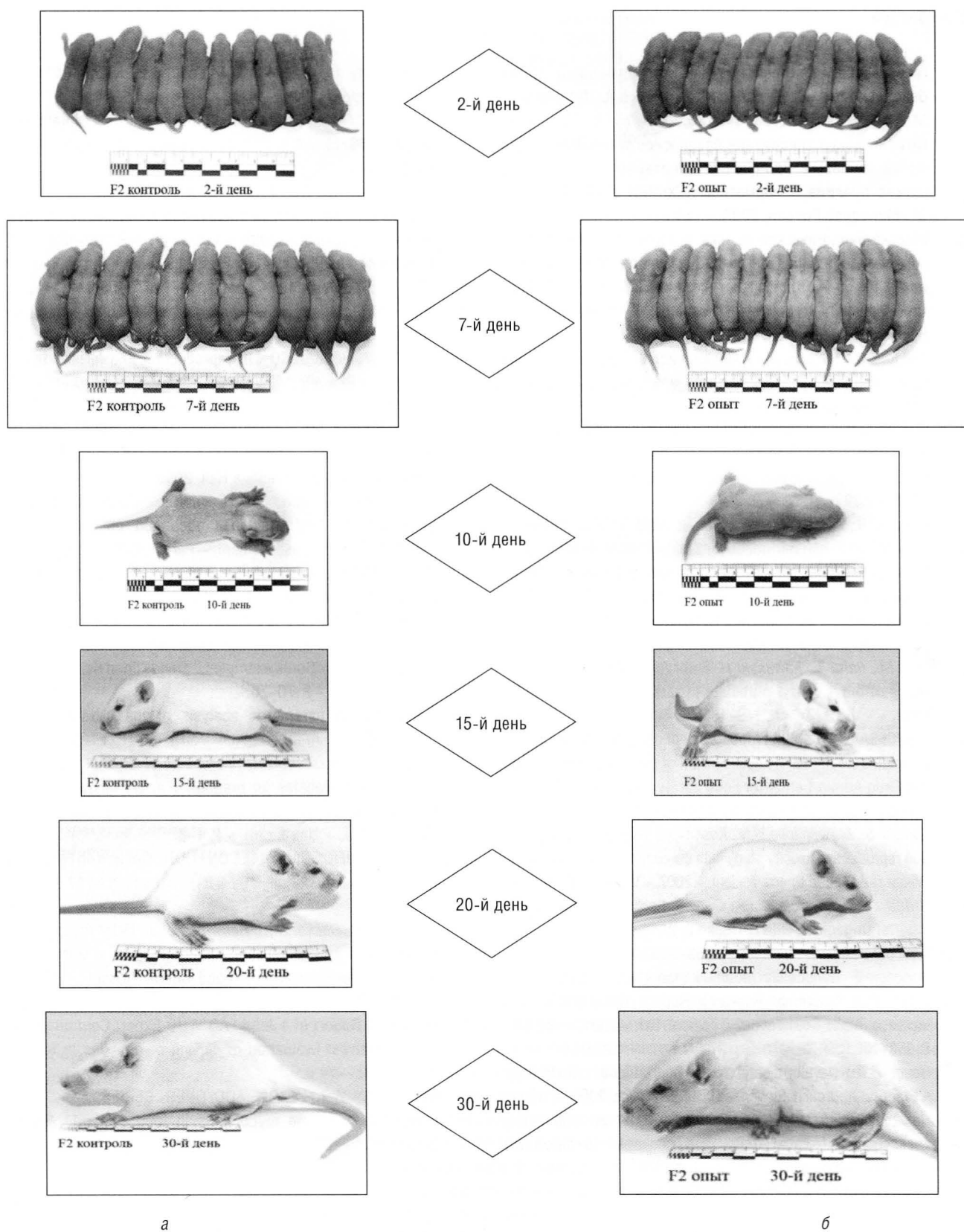


Рис. 8. Потомство крыс F2 – контрольная (а) и опытная (б) группы (позатипное фотодокументирование развития потомства)

Литература

1. Генетически модифицированные источники пищи: оценка безопасности и контроль / Под ред. В.А. Тутельяна. – М.: Изд-во РАМН, 2007. – 444 с.
2. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов: Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы (СанПиН 2.3.2.1078-01). – М.: Минздрав России, 2002. – 164 с.
3. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения: Методические указания МУ 2.3.2.2306-07. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. – 21 с.
4. *Реврова О.Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: Медиа-Сфера, 2006. – 312 с.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
6. *Aoyama H., Kikuta M., Shirasaka N., Hojo H. et al.* Historical control data on reproductive abilities and incidences of spontaneous fetal malformations in Wistar Hannover GALAS rats // *Congenital Anomalies*. – 2002. – Vol. 42. – P. 194–201.
7. *Derelanko M.J., Hollinger M.A.* Handbook of Toxicology. 2nd ed. – USA: CRC Press, 2001. – 1414 p.
8. *Ema M., Itami T., Kawasaki H.* Embryoletality and teratogenicity of butyl benzyl phthalate in rats. // *J. Appl. Toxicol.* – 1992. – Vol. 12 (3). – P. 179–183.
9. FDA/CFSAN/OFAS. 2004 (update). Redbook 2000, Toxicological principles for the safety assessment of food ingredients. Food and Drug Admin/Center for Food Safety and Applied Nutrition/Office of Food Additive Safety, Washington, DC.
10. *Ganiger S., Malleshappa H.N., Krishnappa H. et al.* A two generation reproductive toxicity study with curcumin, turmeric yellow, in Wistar rats // *Food Chem. Toxicol.* – 2007. – Vol. 45. – P. 64–69.
11. *Griffiths J.C., Borzelleca J.F., Cyr J.S.* Lack of oral embryotoxicity/teratogenicity with D-ribose in Wistar rats // *Food Chem. Toxicol.* – 2007. – Vol. 45. – P. 388–395.
12. *Hodgson E.* Genetically Modified Plants and Human Health Risks: Can Additional Research Reduce Uncertainties and Increase Public Confidence? // *Toxicol. Sci.* – 2001. – Vol. 63. – P. 153–156.
13. *Hood R.D.* Developmental and Reproductive Toxicology: A Practical Approach. 2nd ed. – USA: CRC Press, 2006. – 1168 p.
14. *Howlett J., Edwards D.G., Cockburn A. et al.* The safety assessment of novel foods and concepts to determine their safety in use // *Int. J. Food Sci. Nutr.* – 2003. – Vol. 54 (suppl.) – P. 32.
15. *James C.* Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2009. ISAAA Brief N 41. – Ithaca. – New York: ISAAA, 2009. – 37 p.
16. *Liberati T.A., Roe B.J., Feuston M.H.* An oral (gavage) control embryo-fetal development study in the Wistar Hannover rat // *Drug Chem. Toxicol.* – 2002. – Vol. 25 (1). – P. 109–130.
17. *Mandl A.M.* The Phases of the oestrous cycle in the adult white rat. // *J. Exp. Biol.* – 1951. – Vol. 28. – P. 576–584.
18. *Marty M.S., Allen B., Chapin R.E. et al.* Inter-laboratory control data for reproductive endpoints required in the OPPTS 870.3800/OECD 416 reproduction and fertility test // *Br. Defects Res. (Part B)*. – 2009. – Vol. 86. – P. 470–489.
19. *Noda T.* Maternal and fetal toxicity of dimethyltin in rats // *J. Health Sci.* – 2001. – Vol. 47 (6). – P. 544–551.
20. *Norusis M.J.* SPSS Statistics 17.0 Guide to Data Analysis. – Upper Saddle River: Prentice Hall, 2009. – 672 p.
21. OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development). Draft guidance document on reproductive toxicity testing and assessment. – Paris: OECD, 2004. – 68 p.
22. *Ohi M., Dalsenter P.R., Andrade A.J.M. et al.* Reproductive adverse effects of fipronil in Wistar rats // *Toxicol. Lett.* – 2004. – Vol. 146. – P. 121–127.
23. *Paoletti C., Flamm E., Yan W. et al.* GMO risk assessment around the world: Some examples // *Trends Food Sci. Technol.* – 2008. – Vol. 19. – P. 70–78.
24. *Pullen A.H.* A parametric analysis of the growing CFHB (Wistar) rat // *J. Anat.* – 1976. – Vol. 121 – P. 371–383.
25. *Saito F.H., Damasceno D.C., Kempinas W.G. et al.* Repercussions of mild diabetes on pregnancy in Wistar rats and on the fetal development // *Diabetology and Metabolic Syndrome*. – 2010. – Vol. 2 (26). – P. 1–8.
26. SCF (SCIENTIFIC COMMITTEE ON FOOD). Opinion on Fusarium toxins – part 3: fusumonisin B₁ (FB₁), expressed on 17 October 2000.
27. *Schneider S., Deckardt K., Hellwig J. et al.* Octyl methoxycinnamate: Two generation reproduction toxicity in Wistar rats by dietary administration // *Food Chem. Toxicol.* – 2005. – Vol. 43. – P. 1083–1092.
28. WHO/FAO. Report of a Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: Evaluation of certain mycotoxins in food. – WHO, 2002. – 74 p.
29. WHO/IPCS. WHO FOOD ADDITIVES SERIES 47: Safety evaluation of certain mycotoxins in food. – World Health Organization, 2001.