

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ПИТАНИЯ,  
БИОТЕХНОЛОГИИ И БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩИ**

*На правах рукописи*

**ТЫШКО НАДЕЖДА ВАЛЕРЬЕВНА**

**РАЗРАБОТКА, РАЗВИТИЕ И ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ СИСТЕМЫ  
ОЦЕНКИ БЕЗОПАСНОСТИ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНО-МОДИФИЦИРОВАННЫХ  
ОРГАНИЗМОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

**14.02.01 – гигиена**

**Д и с с е р т а ц и я**

**на соискание ученой степени доктора медицинских наук**

**Научный консультант: академик РАН, профессор, доктор медицинских наук  
Тутельян Виктор Александрович**

**Москва – 2019**

## СОДЕРЖАНИЕ

|  |     |
|--|-----|
| ВВЕДЕНИЕ.....  | 5   |
| ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....  | 11  |
| 1 Генно-инженерно-модифицированные организмы растительного происхождения: технологии получения и их развитие, мировое производство, преимущества и возможные риски .....                                 | 11  |
| 2 Развитие подходов, используемых при оценке безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения: мировой и отечественный опыт.....                                     | 37  |
| 3 Обоснование цели и выбора методов исследования.....  | 49  |
| ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....   | 52  |
| 4 Материал и методы исследования.....  | 52  |
| 4.1 Экспериментальные животные.....  | 52  |
| 4.2 Экспериментальные рационы.....   | 53  |
| 4.3 Дизайн экспериментов.....  | 59  |
| 4.4 Подготовка материала для исследований.....   | 68  |
| 4.5 Методы оценки репродуктивной функции и развития потомства.....   | 69  |
| 4.6 Гематологические, биохимические и морфологические методы исследования.....   | 71  |
| 4.7 Методы исследования апоптоза.....  | 71  |
| 4.8 Методы статистического анализа .....   | 74  |
| 5 Результаты собственных исследований и их обсуждение.....   | 75  |
| 5.1 Формирование базы данных физиологических значений показателей, определяемых при токсиколого-гигиенических исследованиях генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения..... | 75  |
| 5.2 Оптимизация состава экспериментальных рационов для крыс.....   | 97  |
| 5.2.1 Сравнительная характеристика влияния состава экспериментальных рационов на рост и развитие крыс.....   | 97  |
| 5.2.2 Характеристика влияния солей лития в составе экспериментальных рационов на рост, развитие и генеративную функцию крыс.....   | 103 |
| 5.3 Изучение репродуктивной функции и развития потомства крыс.....   | 110 |
| 5.3.1 Изучение влияния фактора сезонности на функцию репродуктивной системы крыс, пренатальное и постнатальное развитие потомства.....   | 110 |
| 5.3.2 Выявление наиболее чувствительных показателей репродуктивной функции крыс в условиях токсического воздействия.....   | 114 |

|         |   |     |
|---------|---|-----|
| 5.3.3   | Изучение репродуктивной функции и развития потомства в поколениях крыс.....   | 122 |
| 5.4     | Разработка моделей снижения адаптационного потенциала с использованием токсических и алиментарных факторов.....                           | 127 |
| 5.4.1   | Разработка модифицированного состава рационов для снижения адаптационного потенциала крыс.....  | 127 |
| 5.4.2   | Разработка модели снижения адаптационного потенциала крыс в условиях интоксикации кадмием.....  | 132 |
| 5.4.3   | Разработка модели снижения адаптационного потенциала крыс при изучении репродуктивной токсичности в условиях интоксикации глифосатом..... | 142 |
| 5.5     | Изучение активности апоптоза при токсиколого-гигиенических исследованиях.....   | 149 |
| 5.5.1   | Изучение активности апоптоза в различных органах крыс в онтогенезе.....   | 149 |
| 5.5.2   | Изучение активности апоптоза в печени крыс в условиях интоксикации кадмием и четыреххлористым углеродом.....                              | 154 |
| 5.6     | Разработка системы оценки безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения.....                       | 160 |
| 5.6.1   | Система оценки безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения с изменением одного признака.....     | 160 |
| 5.6.2   | Система оценки безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения с комбинированными признаками.....    | 166 |
| 5.7     | Использование новой системы для оценки безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения .....         | 174 |
| 5.7.1   | Результаты токсиколого-гигиенической оценки сои линий FG72, MON87701, SYHT0H2, MON87708.....  | 174 |
| 5.7.1.1 | Токсикологические исследования.....   | 174 |
| 5.7.1.2 | Генотоксикологические исследования.....   | 188 |
| 5.7.1.3 | Аллергологические исследования.....   | 189 |
| 5.7.2   | Результаты токсиколого-гигиенической оценки кукурузы линий 5307, MON89034, 1507, MZHG0JG, DAS-40278-9.....                                | 190 |
| 5.7.2.1 | Токсикологические исследования.....   | 190 |
| 5.7.2.2 | Генотоксикологические исследования.....   | 204 |
| 5.7.2.3 | Аллергологические исследования.....   | 205 |

|   |     |
|---|-----|
| 5.7.3 Результаты токсиколого-гигиенической оценки сои с<br>комбинированными признаками линии MON87701×MON89788..... | 206 |
| 5.7.3.1 Токсикологические исследования.....   | 206 |
| 5.7.3.2 Генотоксикологические исследования.....   | 221 |
| 5.7.3.3 Аллергологические исследования.....   | 222 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....   | 223 |
| ВЫВОДЫ.....   | 235 |
| ВНЕДРЕНИЕ В ПРАКТИКУ.....   | 237 |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....  | 239 |
| СПИСОК ЦИТИРОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....   | 240 |

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

В настоящее время здоровьесбережение и активное долголетие объявлены основными государственными приоритетами в Российской Федерации, что нашло отражение в национальных проектах "Демография" и "Здравоохранение". При этом важную роль в успешной реализации этих проектов играет не только их научное обеспечение и сопровождение, но и решение многих сопутствующих задач, таких как укрепление продовольственной независимости страны, устойчивое развитие сельскохозяйственного производства, а также выполнение мероприятий в рамках "Основ государственной политики Российской Федерации в области здорового питания населения на период до 2020 года", утвержденных распоряжением Правительства РФ от 25 октября 2010 г. N 1873-р.

Ключевым элементом укрепления продовольственной независимости страны является формирование современного агропромышленного комплекса и использование инновационных биотехнологий, позволяющих значительно повысить производительность в условиях снижения зависимости от природных ресурсов, использовать наиболее экологически и экономически выгодные способы ведения хозяйства, что сформулировано в Указе Президента РФ от 30 января 2010 г. N 120 "Об утверждении Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации"; Указе Президента РФ от 7 июля 2011 г. N 899 "Об утверждении приоритетных направлений развития науки, технологий и техники в Российской Федерации и перечня критических технологий Российской Федерации"; "Программе фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы", утвержденной распоряжением Правительства РФ от 3 декабря 2012 г. N 2237-р; а также "Комплексной программе развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 года", утвержденной Правительством РФ N 1853п-П8 от 24 апреля 2012 г.

Научные достижения конца XX века в области геномики, молекулярной биологии и генетической инженерии позволили многократно ускорить селекционную работу, обеспечивая возможность создания растений с заданными признаками в кратчайшие сроки. Началом промышленного использования генно-инженерно-модифицированных (ГМ) сельскохозяйственных культур принято считать 1994 год, когда томат марки FLAVR SAVR поступил на продовольственный рынок США. К настоящему времени мировые площади посевов ГМ культур составляют более 12% земель, используемых в агропромышленном производстве, количество ГМ линий превышает 500, при этом новые растения являются представителями уже третьей генерации ГМ организмов (ГМО) [217].

Поскольку ГМО относятся к пищевой продукции нового вида, ранее не употреблявшейся человеком в пищу, обеспечение безопасности такой продукции регулируется на государственном уровне и является важнейшим условием ее использования. В соответствии с ТР ТС 021/2011 "О безопасности пищевой продукции", безопасность пищевой продукции определяется как "...состояние пищевой продукции, свидетельствующее об отсутствии недопустимого риска, связанного с вредным воздействием на человека и будущие поколения...", поэтому поиск путей совершенствования методов оценки безопасности ГМО должен быть сконцентрирован на подходах, позволяющих исследовать влияние на будущие поколения.

### **Степень разработанности темы исследования**

Формирование российской системы оценки безопасности ГМО было начато в 1995-1996 гг. Данная система была разработана на основании отечественного опыта в области медико-биологических исследований белковых продуктов микробиологического синтеза [43], а также с учетом существующих международных подходов [345], и представляла собой комбинированный алгоритм, включающий, помимо вышеперечисленных исследований свойств ГМО, обязательный блок токсикологических, аллергологических и генотоксикологических исследований *in vivo* [30]. Начиная с момента оценки безопасности первых ГМ линий, проходивших процедуру государственной регистрации, данная система получила международное признание и была квалифицирована как самая строгая из существующих. Вместе с тем, дальнейшее развитие генно-инженерных технологий и наметившаяся устойчивая тенденция к расширению перечня ГМ линий и видов растений, имеющих ГМ аналоги, определили необходимость совершенствования системы оценки их безопасности.

**Цель работы:** поиск новых методических подходов для выявления возможных неблагоприятных эффектов ГМО и доказательства их безопасности для нынешнего и последующих поколений; формирование системы оценки безопасности ГМО, являющихся продуктами новейших генно-инженерных технологий, доказательство эффективности этой системы и ее использование в рамках процедуры государственной регистрации новых ГМ линий на территории Евразийского экономического союза (ЕАЭС).

#### **Основные задачи:**

- проведение поисковых исследований для выбора показателей, моделей и "нагрузочных" проб с целью формирования комплекса токсиколого-гигиенических исследований, необходимых для доказательства безопасности ГМО;
- формирование базы данных физиологических значений показателей, изучаемых в рамках токсикологических и репротоксикологических экспериментов на крысах *in vivo*;

- разработка нового стандартизованного синтетического рациона для лабораторных животных с учетом современных данных о физиологических потребностях в макро- и микронутриентах, а также о биодоступности витаминов и минеральных веществ;
- разработка модели повышения чувствительности крыс к токсической нагрузке посредством модификации состава рациона, вызывающей снижение адаптационного потенциала организма, подтверждение эффективности этой "нагрузочной" пробы в токсикологических и репротоксикологических исследованиях с низкими дозами токсикантов;
- разработка новой расширенной системы оценки ГМО, гарантирующей их безопасность не только для настоящего, но и последующих поколений, использование этой системы для оценки безопасности новых линий ГМ сои и кукурузы. Формирование порядка оценки безопасности ГМО с комбинированными признаками.

### **Научная новизна**

Впервые разработана и экспериментально обоснована новая система оценки безопасности ГМО растительного происхождения, включающая расширенный комплекс токсиколого-гигиенических исследований, центральным звеном которого является изучение репродуктивной функции и развития потомства.

Установлены диапазоны значений для более 100 показателей, характеризующих физиологическое состояние различных органов и систем у здоровых крыс на разных стадиях онтогенеза, этапах пре- и постнатального развития потомства, что позволяет обеспечить объективный анализ и интерпретацию результатов исследований в рамках оценки безопасности ГМО.

Впервые выявлено влияние солей лития на снижение фертильности крыс. Оптимизирован состав синтетического рациона для взрослых и растущих лабораторных животных, а также состав специализированного рациона для экспериментов по изучению репродуктивной функции.

Разработана модель повышения чувствительности крыс к токсической нагрузке за счет снижения их адаптационного потенциала. Впервые определены пороговые значения (19% для самцов и 18% для самок – от базового уровня в рационе) витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub>, а также минеральных веществ – Fe<sup>3+</sup> и Mg<sup>2+</sup>, приводящие к достоверному снижению адаптационного потенциала у лабораторных животных. Эффективность данной модели подтверждена в токсикологических и репротоксикологических экспериментах.

Впервые получены доказательства эффективности использования апоптоза в качестве чувствительного биомаркера при токсикологических исследованиях. Установлены периоды онтогенеза, характеризующиеся минимальным (110-120-й дни жизни) и максимальным (20-й день внутриутробного развития) уровнями апоптоза. Охарактеризовано влияние составов рационов на интенсивность апоптоза.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Теоретическая значимость заключается в совершенствовании методологии токсикологических экспериментов *in vivo*, направленных на выявление и оценку воздействий малой интенсивности, к которым, по современным представлениям, относятся ГМО.

Практическая значимость определена интеграцией новой системы оценки безопасности в практику работы Роспотребнадзора и акцептированием для государственной регистрации ГМО в странах ЕАЭС, с 2011 года являющейся базовой при выполнении многоуровневых токсиколого-гигиенических исследований. Эта система использована при оценке 4 линий сои (MON87701, SYHT0H2, FG72, MON87708) и 5 линий кукурузы (5307, MON89034, 1507, MZHG0JG, DAS-40278-9).

Разработан порядок оценки безопасности ГМО с комбинированными признаками, использованный при исследованиях ГМ сои линии MON87701×MON89788.

На основании результатов проведенных исследований 10 новых ГМО прошли государственную регистрацию, внесены в Реестр свидетельств о государственной регистрации и разрешены для производства, реализации и использования в пищевой промышленности на территории ЕАЭС.

Требования к выполнению исследований обобщены в 8 методических документах, утвержденных на федеральном уровне и действующих на территории Российской Федерации.

### **Методология и методы исследований**

Наряду с традиционными токсикологическими методами и методами изучения репродуктивной токсичности *in vivo*, в работе использованы впервые разработанные нами "нагрузочные" модели, повышавшие чувствительность крыс к токсическим воздействиям посредством модификации витаминно-минерального состава рационов. Для анализа полученного биологического материала были использованы биохимические, морфологические, генотоксикологические, иммунологические, аллергологические методы, адекватные поставленным экспериментальным задачам.

### **Личный вклад автора**

В исследованиях, вошедших в диссертацию, автору принадлежит постановка целей и задач в рамках поисковых исследований и выбора показателей, моделей и "нагрузочных" проб, впоследствии вошедших в комплекс токсиколого-гигиенических исследований безопасности ГМО; формирование базы данных физиологических значений показателей, изучение которых производится в рамках токсиколого-гигиенических и репротоксикологических экспериментов; разработка дизайнов экспериментов, формулировка целей и задач экспериментальных исследований, анализ и интерпретация их результатов. Более 70% представленных экспериментальных данных получены лично автором. Разработка нового подхода к оценке безопасности ГМО и интеграция этого подхода в российскую систему оценки ГМО выполнены лично автором или при непосредственном участии автора.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

- Экспериментальное обоснование выбора новых методических подходов для использования в комплексных токсиколого-гигиенических исследованиях ГМО растительного происхождения и доказательство их эффективности в условиях воздействия низких доз антропогенных контаминантов ( $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{CCl}_4$ , глифосат) и на моделях снижения адаптационного потенциала крыс, обусловленного дефицитом эссенциальных пищевых веществ (витаминов группы В, железа и магния).
- Формирование новой расширенной системы оценки безопасности ГМО, включающей эксперименты на двух поколениях крыс, характеристику репродуктивной функции, пре- и постнатального развития потомства, токсикологические и аллергологические исследования, гарантирующие отсутствие риска ГМ пищевой продукции для здоровья нынешнего и будущих поколений. Практическая реализация этой системы в виде методической базы для регистрационных испытаний ГМО в Российской Федерации.
- Результаты применения новой системы комплексных токсиколого-гигиенических исследований, доказывающие безопасность пяти линий ГМ сои (MON87701, SYHT0H2, FG72, MON87708, MON87701×MON89788) и пяти линий ГМ кукурузы (5307, MON89034, 1507, MZHGOJG, DAS-40278-9) и являющиеся основанием для их государственной регистрации на территории Российской Федерации и ЕАЭС.

### **Степень достоверности результатов**

Экспериментальные исследования выполнены с использованием современных, стандартизованных, апробированных методов на большом объеме экспериментального материала. Условия содержания и работы соответствовали российским и международным рекомендациям и принципам гуманного обращения с животными. Результаты всех экспериментов статистически обработаны с использованием актуальных методов вариационной статистики и сопоставлены с установленными в результате предварительно проведенных исследований интервалами вариабельности биологической нормы изучаемых показателей. Выводы соответствуют цели и задачам и согласуются с результатами исследований.

### **Апробация результатов**

Материалы диссертационной работы доложены на 33 международных и всероссийских научных мероприятиях, в том числе на X, XIII, XIV, XV, XVI, XVII Всероссийских Конгрессах диетологов и нутрициологов с международным участием "Питание и здоровье", Москва, 2008, 2011, 2012, 2014, 2016, 2018 гг.; Международной научно-практической конференции "Питание и здоровье" – Алматы, Казахстан, 4 мая 2009 г.; V, VIII, IX, Московских международных конгрессах "Биотехнология: состояние и перспективы развития", Москва, 2009, 2015, 2017 гг.;

Международном форуме "Биотехнология: состояние и перспективы развития" – Москва, 23-25 мая 2018 г.; IV Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов "Окружающая среда и здоровье. Молодые ученые за устойчивое развитие страны в глобальном мире" – Москва, 27-28 сентября 2012 г.; 2-й Международной научно-практической конференции "Технологии производства пищевых продуктов питания и экспертиза товаров" – Курск, 10-11 апреля 2016 г.; IX научно-практической конференции с международным участием "Молекулярная диагностика 2017" – Москва, 18-20 апреля 2017 г.; 43-м и 44-м Конгрессах Федерации Европейских биохимических обществ (FEBS), Прага, 2018 г., Краков, 2019 г.; Международных конференциях "The 54th and 55th Congress of the European Societies of Toxicology" (EUROTOX 2018, EUROTOX 2019), Брюссель, 2018 г., Хельсинки, 2019 г.

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1 Генно-инженерно-модифицированные организмы растительного происхождения: технологии получения и их развитие, мировое производство, преимущества и возможные риски

Технологии генной инженерии, используемые при создании ГМ сельскохозяйственных культур с новыми свойствами, на сегодняшний день располагают значительным набором методов для осуществления переноса генов между таксономически разделенными растениями, расширяя возможности селекции практически безгранично. Вместе с тем, несмотря на сравнительно широкий выбор методов, для получения ГМ растений, предназначенных для промышленного использования, как и в конце 90-х – начале 2000-х гг. в основном применяются агробактериальный и баллистический способы модификации растительного генома [84; 124; 248; 312].

Молекулярный механизм, с помощью которого бактериальный патоген *Agrobacterium tumefaciens* передает свою ДНК инфицированному растению, был открыт исследовательской группой под руководством Chilton M.D. в 1983 году [116; 239], именно это открытие легло в основу прорывной технологии генной инженерии растений – агробактериальной трансформации. Ее использование для создания трансгенных культур позволило преодолеть межвидовые барьеры, ограничивающие возможности традиционной селекции, и значительно расширило перечень полезных признаков, которыми могут быть наделены хозяйственно-ценные растения [84; 312].

Баллистический способ трансформации генома растений (также называемый микробомбардировкой) основан на бомбардировке интактных растительных клеток золотыми или вольфрамовыми частицами размером 1,5-3,0 микрон, конъюгированными с рекомбинантной ДНК. Микрочастицы могут быть из любого химически инертного металла с высокой молекулярной массой (золото, вольфрам, палладий, родий, платина, индий и др.), чтобы не образовывать металлоорганических комплексов с ДНК и обладать необходимой кинетической энергией для пенетрации клеточной стенки [57; 124; 239]. Посредством электрического разряда или декомпрессии частицам придается скорость 300-600 м/сек в направлении клеток-мишеней.

Первые прототипы ГМ растений, характеризовавшихся устойчивостью к пестицидам и насекомым, были разработаны более 30 лет назад [172; 205; 239], однако первой ГМ сельскохозяйственной культурой, официально разрешенной для использования в пищу в США, был томат сорта "FLAVR SAVR", характеризовавшийся пролонгированным сроком хранения. Тем не менее, наиболее популярными привнесенными признаками у ГМ растений, вышедших в коммерческое обращение с 1996 года по настоящее время, являются улучшенные

агрономические характеристики, обеспечивающие устойчивость растений к пестицидам, вредителям, патогенам, намного реже встречаются растения с измененной пищевой ценностью, пролонгированным сроком хранения и устойчивостью к абиотическим стрессам [217; 289; 312; 329].

На пути масштабного прикладного использования современной биотехнологии встречаются определенные ограничения, которые можно разделить на объективные, обусловленные сложностью трансформации и регенерации некоторых видов растений, и субъективные, обусловленные неприятием обществом ГМ продукции. Одним из наиболее часто встречающихся опасений является использование "чужеродной" ДНК для трансформации генома растения-реципиента [179; 257; 329; 377]. Как правило, в качестве доноров генов, отвечающих за проявление новых свойств у растений, используются повсеместно встречающиеся непатогенные микроорганизмы, не имеющие токсических или аллергенных свойств, однако аргументация противников трансгенеза инициировала развитие новой концепции генной инженерии, основанной на применении цисгенеза и интрагенеза. Цисгенез характеризуется использованием собственных генов растения или генов близкородственного вида, с которым возможно природное скрещивание, а также сохранением в исходной форме всех регуляторных элементов – промотора, интронов, терминатора в "смысловой" ориентации; интрагенез характеризуется также использованием собственных генов или генов близкородственных видов, при этом гены и регуляторные элементы могут быть изменены методами генной инженерии. Следует отметить, что полученные подобным образом организмы не приобретают принципиально новых свойств, происходит лишь усиление или ослабление уже существующего признака [158; 222; 355; 291; 396; 397]. Тем не менее, этот подход весьма эффективен и благообразен с точки зрения биобезопасности и экологичности получаемого продукта, что очень важно для потребителей, озабоченных присутствием чужеродной ДНК, маркерных генов устойчивости к антибиотикам и фрагментов векторных конструкций [396; 397]. Первичная структура геномов ГМ растений, созданных методами цисгенеза и интрагенеза, максимально приближена к растениям, полученным посредством традиционной селекции, поскольку во всех случаях работа проводится с идентичным пулом генов.

С помощью цисгенеза и интрагенеза были получены: цисгенный картофель, устойчивый к инфицированию *Phytophthora infestans* [201]; устойчивые к болезням цисгенные яблоки [397] и виноград [137]; интрагенный картофель, характеризующийся снижением образования акриламида при термической обработке, что обеспечено замолканием клубнеспецифичных генов StAs1 и StAS2 биосинтеза аспарагина [339]. Группой исследователей под руководством Joshi S.G. [235] была изучена роль генов HcrVf1 и HcrVf2 при формировании устойчивости

яблок к парше: были применены как цисгенный подход (регуляция экспрессии генов осуществлялась посредством оригинальных промоторов и терминаторов), так и интрагенный подход (в качестве регуляторов использованы элементы от яблочного гена рибулозобисфосфаткарбоксилазы) [239].

Идентификация генов и регуляторных генетических элементов, отвечающих за проявление искомым признаков, все еще является одной из самых актуальных проблем, сдерживающих развитие этого направления генной инженерии, однако достижения в области полногеномного секвенирования позволяют инвентаризовать геномы не только сельскохозяйственных растений, но и их диких родственников, обеспечивая расширение инструментария для манипуляций, в том числе, за счет выявления различных вариантов аллелей одного гена. Поскольку многообразие вариаций позволяет выбрать оптимальный по уровню экспрессии ген, технология цис- и интрагенеза в ближайшем будущем будет использоваться весьма широко, так как потенциал этого подхода будет расти с развитием научного знания о структуре и функции генов и регуляторных элементов [158; 300].

Ставшие уже традиционными агробактериальный и баллистический методы модификации растительного генома характеризуются сравнительно низкой эффективностью, отсутствием возможности задавать локус интеграции, предрасположенностью к множественным трансформациям, что потенциально может являться причиной как замолкания генов, так и формирования открытых рамок считывания, на основе которых впоследствии экспрессируются новые белки. Для компенсации всех вышеперечисленных недостатков и отбора оптимальных трансформационных событий используются комплексные молекулярно-биологические исследования, продолжительность и стоимость которых сопоставима или превышает затраты непосредственно на модификацию. Повышение эффективности и точности процесса модификации позволит сократить последующую стадию отбора, и именно в этом направлении велась интенсивная научная работа, одним из результатов которой является использование технологии сайт-специфической рекомбинации с помощью ферментов – рекомбиназ [197; 101; 124; 403]. Функция рекомбиназ заключается в распознавании, связывании, вырезании и перестановке коротких последовательностей ДНК, длина которых может варьировать от 30 до 200 нуклеотидов. Сайты рекомбинации, как правило, состоят из двух связывающихся с рекомбиназой инвертированных повторов и расположенной между ними последовательности, внутри которой и происходит рекомбинация. Оба сайта рекомбинации, участвующие в процессе, в большинстве случаев идентичны, – для таких систем достаточно только фермента рекомбиназы, однако, существуют и исключения: при участии неидентичных сайтов для рекомбинации требуется также участие дополнительных факторов, например,

специфических белков, как при интеграции фага  $\lambda$  в геном *E.coli*. В настоящее время для трансформации растительных клеток принято использовать одну из трех систем сайт-специфической рекомбинации: систему Cre-lox из бактериофага P1, систему FLP-FRT из *S. cerevisiae*, или систему R-RS из *Zygosaccharomyces rouxi*; в случае необходимости проведения рекомбинации между неидентичными сайтами применяются системы ФС31-att и  $\lambda$ -att. Технология сайт-специфичной рекомбинации позволила получить первые ГМ растения, не несущие в геноме маркерные гены устойчивости к антибиотикам [127; 286; 341; 403]. В 2005 году компания Monsanto представила первый коммерческий сорт ГМ кукурузы (линия LY038, характеризующаяся повышенным содержанием лизина), в котором маркерные гены были удалены с помощью системы Cre-lox [310]: кассета экспрессии гена нопалинсинтазы (*nptII*), обеспечивающего устойчивость к канамицину, была ограничена сайтами loxP, их связывание с рекомбиназой обеспечило направленное удаление *nptII*. Впоследствии были разработаны простые системы автоудаления селективных маркеров из растений арабидопсиса [422], томатов [419], кукурузы [418], риса и табака [152; 408]. Еще одним способом удаления маркерных генов является агробактериальная ко-трансформация, которая предусматривает использование двух отдельных кассет экспрессии для целевого и маркерного генов, что позволяет добиться расщепления этих признаков у потомства в соответствии со вторым законом Менделя [145; 239; 249]. Использование ко-трансформации затруднено целым рядом факторов, например, видовой принадлежностью растения, однако распространение использования агробактериальных методов трансформации генома растений позволяет прогнозировать широкое распространение ко-трансформации. Среди неоднозначных путей избавления от маркерных генов также следует выделить полный отказ от их использования на любом из этапов трансформации, такой способ был применен при модификации генома гороха [95], и одним из результатов данного исследования являлось подтверждение нецелесообразности этого подхода, поскольку процесс выявления трансформированных растений потребовал значительных ресурсов и времени [239].

Для решения проблемы множественных трансформаций также может быть использована сайт-специфичная рекомбинация, что было продемонстрировано в исследованиях на пшенице [370] и рисе [114], в рамках которых многочисленные вставки были сокращены до одной стабильно встроенной в геном растения-реципиента копии целевого гена.

Значительное повышение урожайности невозможно за счет изменения единичного признака, только комбинирование различных типов устойчивости позволит преодолеть большинство из существующих потенциальных рисков сельскохозяйственного производства, поэтому в последние годы все большее распространение приобретают так называемые "стежерные" культуры, сочетающие от 2 до 8 признаков [217; 219; 220; 277]. Для получения

большинства стекеров используются методы традиционной селекции, когда в результате природной гибридизации, в которой участвуют два или более ГМ растений, формируется потомство, несущее свойственные родителям полезные признаки. Принимая во внимание ограниченное количество локусов, которые могут передаваться в процессе гибридизации, можно предположить, что в скором времени селекционные методы получения стекеров исчерпают себя, потребовав разработки новых подходов комбинирования полезных признаков [239; 325]. Открытые сравнительно недавно технологии редактирования генома, по мнению экспертов, имеют все предпосылки для изменения темпов и направлений исследований в области селекции сельскохозяйственных растений, позволяя преодолеть преграды, лимитирующие возможности традиционных агрономических подходов. Технологии редактирования генома включают три метода, основанных на использовании (1) "цинковопальцевых нуклеаз" (zinc-finger nucleases, ZFN), (2) искусственных нуклеаз на основе TALE белков (Transcription Activator-Like Effector Nucleases, TALEN), и (3) CRISPR/Cas9 системы РНК-направляемых нуклеаз (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, CRISPR, в переводе на русский – короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами) [211; 242; 350].

ZFN представляют собой искусственные (химерные) белки, состоящие из двух доменов – ДНК-связывающего (несущего цинковые пальцы) и нуклеазного (несущего каталитическую субъединицу фермента рестрикции FokI). Следует отметить, что все FokI-химерные нуклеазы работают парами, каждая из которых узнает свой специфический участок слева и справа от намеченной локализации двухцепочечного разрыва ДНК. Целевые сайты подбираются таким образом, чтобы они находились на небольшом (10-20 нуклеотидов) расстоянии, достаточном для димеризации доменов FokI, в результате которой формируется каталитически активная структура [7; 358]. Каждый домен типа цинковых пальцев способен распознавать триплет нуклеотидов, то есть комбинация четырех доменов позволяет создать ДНК-связывающий домен, распознающий 12 нуклеотидов (рисунок 1). Таким образом, с учетом двух субъединиц FokI, распознаваемая последовательность включает 24 п.н., что обеспечивает достаточно высокую специфичность редактирования. Ограничением использования ZFN является лимитированный набор ДНК-связывающих доменов, неспецифической активностью ZFN, вносящей разрывы в незапланированные сайты ДНК, высокая стоимость, трудоемкость и длительность процедуры [36; 107; 144; 358].

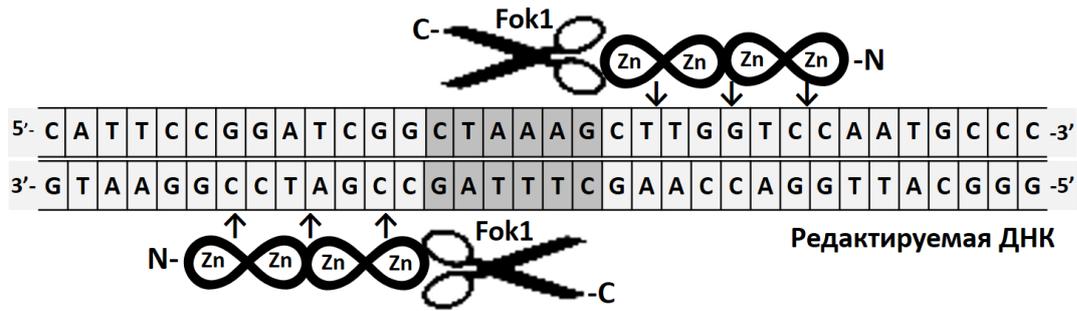


Рисунок 1 – Редактирование генома с помощью "цинковопальцевых нуклеаз" [7; 107; 144]

TALEN белки были выделены у бактерий рода *Xanthomonas*, эти белки способны проникать в растительные клетки используя систему секреции III типа (Type III secretion system, T3SS), имитировать транскрипционные факторы и связываться с определенными участками ДНК, активируя экспрессию генов, способствующих выживанию и распространению бактерий. Роль ДНК-распознающих структур в них играют белковые домены, при этом сравнительно простой механизм распознавания (один домен "узнает" только один нуклеотид) обуславливает простоту получения конструкции, распознающей заданную нуклеотидную последовательность. Соединение такой направляющей конструкции с ферментом, расщепляющим ДНК (как правило, для этих целей используется FokI), позволяет получить систему с высокой специфичностью действия (рисунок 2) [7; 36; 107; 358]. По-сравнению с ZFN-технологией TALEN имеет ряд преимуществ, позволяя воздействовать практически на любую последовательность в геноме, являясь более эффективной и повышая уровень трансгенеза, при этом неспецифическая активность TALEN значительно ниже. Кроме того, процесс создания TALEN конструкций дешевле и менее трудоемкий.

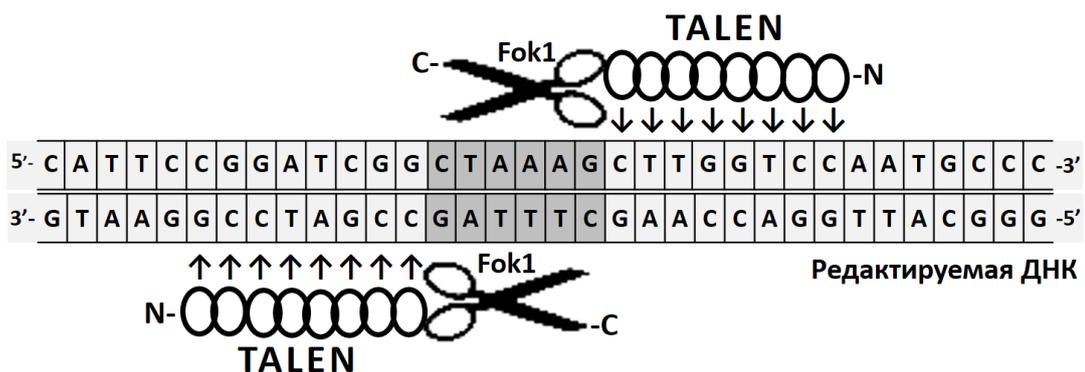


Рисунок 2 – Редактирование генома с помощью TALEN белков [7; 36; 358]

Новый метод генетической инженерии, основанный на использовании системы CRISPR/Cas и открывший принципиально новые возможности для манипуляций на уровне генома высших организмов, был разработан в 2012-2013 г.г. В отличие от описанных выше химерных нуклеаз, ДНК-распознающими комплексами в CRISPR/Cas являются не белки, а

короткоцепочечные РНК [7; 83; 123; 239; 413]. В основе идеи создания такой системы лежат природные механизмы защиты бактерий от бактериофагов, заключающиеся в избирательном расщеплении геномной ДНК определенных вирусов, инфицировавших бактерию. Метод CRISPR/Cas характеризуется высокой точностью воздействия на заданные участки ДНК и сравнительной простотой, что вывело его в число наиболее предпочтительных для использования при редактировании генома. Реализацию механизма CRISPR/Cas обеспечивают специфические участки бактериального генома, названные "CRISPR локусами". CRISPR локусы состоят из регулярных повторов некодирующих последовательностей бактериальной ДНК, разделенных спейсерами, представляющими собой короткие фрагменты чужеродной (плазмидной или вирусной) ДНК. Очевидно, что чужеродная ДНК встраивается в геном бактерии в результате рекомбинации, происходящей в рамках жизненного цикла вируса, однако в определенных условиях такая рекомбинация в дальнейшем обуславливает специфическую устойчивость инфицированной бактериальной клетки к этому вирусу: его повторное проникновение в бактериальную клетку инициирует синтез закодированной в CRISPR-локусе РНК. На основании этой РНК происходит формирование ряда коротких CRISPR-РНК (сгРНК) фрагментов, каждый из которых состоит из участка, соответствующего спейсеру (отвечает за специфичность связывания с вирусной ДНК), и участков, соответствующих палиндромным повторам бактериальной ДНК [7; 36; 358]. Спейсерная последовательность связывается с комплементарным ей участком вирусной ДНК, тогда как бактериальная ДНК привлекает эндо- или экзонуклеазные Cas-белки, разрезающие вирусную ДНК, тем самым уничтожая вирус (рисунок 3). Высокая специфичность и адаптивность системы CRISPR/Cas подобны иммунной системе млекопитающих, и обеспечивают бактерии и ее потомству надежную защиту от патогенов. Следует отметить, что по составу и порядку расположения спейсеров может быть определено количество инфицирований различными вирусами, успешно пережитых самой бактериальной клеткой и/или ее родительскими поколениями [7; 36; 358].

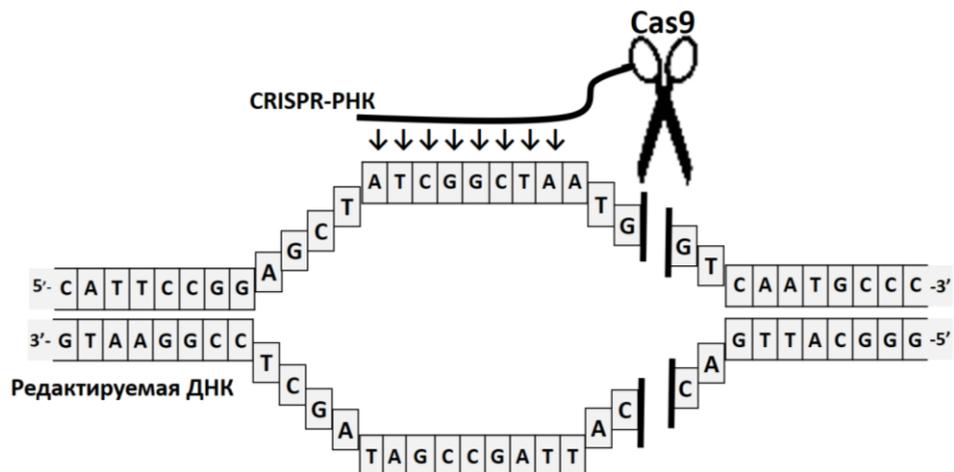


Рисунок 3 – Редактирование генома с помощью системы CRISPR/Cas [7; 36; 358]

Система CRISPR/Cas позволяет реализовывать любую из современных стратегий воздействия на геном: вносить точечные мутации, встраивать в определенные места новые гены, или напротив, удалять крупные фрагменты нуклеотидных последовательностей, исправлять или заменять отдельные генетические элементы и фрагменты генов [5; 7].

В настоящее время подробно описаны несколько типов CRISPR систем, присутствующих в клетках различных бактерий. Наиболее изученной является CRISPR/Cas типа II-A, выявленная у бактерии *Streptococcus pyogenes*. Эта система состоит из трех генов, кодирующих транс-активирующие crRNA и белок Cas9, и именно она послужила основой для универсальных генетических конструкций, используемых в качестве геномных редакторов CRISPR/Cas. Вместе с тем, исследования по совершенствованию данного подхода ведутся весьма интенсивно: так, один из недавно охарактеризованных членов семейства Cas – белок Cpf1, вызывающий аналогичные Cas9 разрывы двухцепочечной ДНК, способствует формированию нависающих "липких концов", которые обеспечивают возможность негомологического соединения концов (NonHomologous End Joining, NHEJ) [7; 276; 358; 414], что делает Cpf1 пригодным для получения эффективных мутаций. Недавно разработанный подход "редактирования оснований" включает комплексирование системы CRISPR/Cas9 с ферментом цитидин-деаминазой, что не вызывает разрывов ДНК, но обеспечивают прямое замещение цитидина уридином, тем самым вызывая замену C→T (или G→A) [250].

Редактирование растительного генома с помощью CRISPR/Cas9 проводили на модельных растениях (*Arabidopsis*, *Nicotiana benthamiana*), а также на хозяйственно-ценных растениях, таких как пшеница [101; 392; 404], кукуруза [266], картофель [198], томат [401], сорго [233] и др. Было показано, что экспрессия в растениях *Nicotiana benthamiana* и *Arabidopsis thaliana* системы Cas9/sgPНК (single guide PНК) обеспечивало устойчивость к геминивирусам за счет нарушения репликации вируса [90; 215]. CRISPR/Cas9 может быть использована не только для создания нокаутов, но и для эктопической регуляции экспрессии генов с помощью каталитически неактивной версии Cas9 (dead Cas9 или dCas9) [317], что делает ее потенциально полезным инструментом для применения в синтетической биологии для создания новых генетических регуляторных схем [239; 358].

Одним из ограничений использования CRISPR/Cas является значительный размер нуклеазы Cas9, что затрудняет ее доставку с помощью вектора. Эта проблема может быть решена с помощью создания линий ГМ растений, конститутивно экспрессирующих Cas9, эффективность такого разделения с CRISPR была описана несколькими независимыми научными группами [166; 264; 295; 362; 409]. Другим ограничением использования системы CRISPR/Cas является возможность возникновения нецелевых мутаций из-за присоединения к

гомологичной последовательности, не являющейся объектом редактирования [125; 323]. Очевидно, что самым простым способом избежать нецелевой мутации является минимизация гомологии РНК-проводника (guideRNA), с какими-либо (помимо целевых) сайтами в геноме растений [239; 358].

Таким образом, полная расшифровка геномов растений позволит применять технологию CRISPR/Cas с максимальной точностью и эффективностью, при этом данная технология сама является способом решения поставленной задачи, играя значимую роль в фундаментальных исследованиях, в подходах прямой (признак→ген) и обратной (ген→признак) генетики, ведущих к расширению знаний о структуре и функции генов [83; 208].

Генетическая инженерия имеет огромный потенциал для улучшения пищевой ценности сельскохозяйственных культур путем (1) их обогащения новыми пищевыми веществами, или (2) увеличения содержания уже входящих в их состав пищевых или минорных компонентов, или (3) снижения содержания/устранения анти-алиментарных факторов/ токсинов/аллергенов [132; 193; 294; 372]. Классическим примером такой оптимизации состава служит рис, занимающий доминирующие позиции в структуре питания населения стран азиатско-тихоокеанского региона. Традиционно эти рационы дефицитны по содержанию витамина А и его предшественника – β-каротина, что является причиной широкого распространения ретинопатий и слепоты, именно поэтому для обогащения β-каротином был выбран рис, как основной компонент диеты. В начале XXI века был развернут проект, получивший название "Золотой рис", в рамках которого методами геной инженерии был создан ГМ рис, характеризующийся желтым цветом зерен за счет содержания в эндосперме β-каротина [412]. Также были созданы "Супербананы" с повышенным уровнем β-каротина (20 мг/г сухой массы), за счет модификации фермента фитоэнсинтазы (PSY2a), выделенной из асупина одного из сортов бананов [288]. Преимущество использования ГМ бананов основано на отсутствии возможности передачи генетического материала близкородственным видам, так как бананы, в отличие от риса, являются стерильными [219; 220; 239].

Большинство растительных белков бедны незаменимыми аминокислотами, их биологическая ценность не соответствует белку, необходимому людям и животным, поэтому модификация аминокислотного состава сельскохозяйственных культур имеет первостепенное значение для повышения пищевой ценности рационов, в которых преобладают растительные компоненты. К настоящему времени достигнуты успехи в получении линий ГМ кукурузы [147; 304], рапса и сои [163], синтезирующих лизин, что значительно повышает пищевую ценность этих культур. Гипоаллергенный белок AmA1, представляющий собой альбумин семян амаранта печального (*Amaranthus hypochondriacus*), содержащий все незаменимые

аминокислоты [328], был синтезирован в клубнях ГМ картофеля. Такой картофель демонстрировал значительное увеличение размера и количества клубней, а также повышение содержания и качества белка, включавшего незаменимые аминокислоты [110]. В дальнейшем было также доказано повышение активности фотосинтеза, увеличение общей биомассы, а также повышение урожайности этого ГМ картофеля [111]. Группой американских ученых [393] был получен ГМ рапс, продуцирующий  $\omega$ -3 жирную кислоту за счет введения гена десатуразы дельта-6 из микроскопического гриба *Mortierella*. Поскольку  $\alpha$ -линоленовая кислота является субстратом для синтеза длинноцепочечных  $\omega$ -3 жирных кислот (эйкозапентаеновой и докозагексаеновой), играющих важную роль в регулировании воспалительных иммунных реакций и артериального давления, развитии мозга в эмбриональном и неонатальном периодах онтогенеза, создание масличной культуры с таким признаком представляет значительную ценность для профилактики многих патологических состояний. Железо представляет собой микроэлемент, дефицит которого в рационе человека встречается наиболее часто, влияя на здоровье миллионов людей во всем мире. Двумя независимыми группами исследователей [187; 272] были созданы ГМ растения салата и риса, в геном которых был включен ген белка хранения железа (storage protein) сои – ферритина, экспрессия которого в трансгенных растениях позволяла повысить содержание железа в 3 раза. Для дальнейшего увеличения содержания железа в зерне ученые решили направить усилия на перераспределение железа внутри растений. Так, [143] продемонстрировали эндосперм-специфичную ко-экспрессию рекомбинантного ферритина из сои и фитазы из *Aspergillus niger* в кукурузе, что привело к значительному увеличению уровней биодоступного железа. Транспортёр железа, которым является никотианамин-синтаза риса, также может быть эффективно использована для повышения концентрации железа в зерне за счет тканеспецифичного усиления переноса этого макроэлемента [234]. Таким образом, сочетанное использование двух генов – ферритина сои и никотианамин-синтазы риса позволит получать ГМО с высоким содержанием железа в съедобных частях растения [239].

Создание растений, несущих комбинации нескольких полезных признаков, является очень трудоемким и длительным процессом вне зависимости от используемых подходов – генной инженерии или традиционной селекции. Однако, в исследованиях [238] было показано, как встраивание единственного гена стерол-С-5-десатуразы (*FvC5SD*), полученного от съедобного древесного гриба *Flammulina velutipes* и представляющего собой железосвязывающий ген, участвующий в биосинтезе эргостерола, обеспечивает реализацию сразу четырех полезных свойств растению томата, а именно, толерантности к засухе и устойчивости к фитопатогену *Sclerotinia sclerotiorum* – за счет повышения содержания воска в листьях; 2-3-

кратное увеличение концентрации железа; 1,5-кратное, 5-кратное, 1,5-кратное и 2,5-кратное возрастание содержания в плодах линолевой, альфа-линоленовой,  $\omega$ -3,6,9-октадекатриеновой и 11,14-эйкозадиеновой полиненасыщенных жирных кислот, соответственно. Такая стратегия может быть распространена и на модификацию других экономически важных культур, таких как рис, соя и т.п. [238; 239].

Растения синтезируют большое количество вторичных метаболитов, предназначенных как для защиты от поедания животными или насекомыми, так и для обеспечения выживаемости в неблагоприятных условиях окружающей среды. Некоторые из этих метаболитов вредны для человека и животных, что снижает пищевую и кормовую ценность сельскохозяйственных культур. Такие вторичные метаболиты получили название анти-алиментарных факторов, поскольку их попадание с пищей или кормом вызывает различные негативные физиологические эффекты. Генетическая инженерия может быть успешно использована для выключения (нокаута) или подавления (нокдауна) экспрессии генов, участвующих в синтезе, накоплении и активации вторичных метаболитов в растениях [198; 239]. Целевое подавление этих генов является эффективным инструментом воздействия на любой из этапов биосинтеза, происходящего во всем растении или в отдельной ткани, для получения растений с искомым фенотипом. Например, фитиновая кислота, присутствующая во многих зерновых, бобовых и масличных культурах, способна связывать минеральные элементы, препятствуя их абсорбции в процессе пищеварения и снижая пищевую ценность продукта. Экспрессия термостабильной рекомбинантной фитазы из гриба *Aspergillus fumigatus*, повышает биодоступность железа в пшенице [104] и кукурузе [115]. Также была предпринята попытка инактивации токсина госсипола в семенах хлопка за счет тканеспецифического для семян ингибирования гена дельта-кадиненсинтазы, участвующей в одной из стадий биосинтеза госсипола [374]: все семена полученные от ГМ растений демонстрировали значительное снижение уровней госсипола. Бобовые растения, такие как соя (*Glycine max*) и горох (*Lathyrus sativus*), являющиеся важными источниками белка, содержат целый ряд антиалиментарных факторов, в частности – щавелевую кислоту. Известно, что избыток щавелевой кислоты в диете может привести к нефролитиазу из-за образования кальций-оксалатных кристаллов в почках, кроме того, щавелевая кислота, как предшественник оксалилдиаминопропионовой кислоты (токсичного аналога глутамата, провоцирующего гибель нейронов) может вызывать тяжелое неврологическое заболевание латиризм. Ген деградирующей щавелевую кислоту фермента оксалатдекарбоксилазы был выделен из съедобного древесного гриба *Flammulina velutipes*, проведенные исследования продемонстрировали значительные преимущества оксалатдекарбоксилазы перед другими оксалат-редуцирующими ферментами: он специфичен

для щавелевой кислоты, разлагая ее до муравьиной кислоты и оксида углерода за один шаг без участия какого-либо кофактора и активен при очень низком pH [283]. С использованием этого гена, находившегося под контролем зерно-специфических и конститутивных промоторов, были созданы ГМ соя и горох с 27%-ным и 25%-ным снижением содержания щавелевой кислоты [239; 255], также характеризовавшиеся повышенным содержанием минеральных веществ – кальция, железа и цинка.

Аналогичные стратегии были использованы для снижения содержания или исключения пищевых аллергенов: первые попытки элиминации аллергенов были апробированы на рисе [376] и сое [203], с применением, соответственно, антисмысловых и смысловых конструкций, которые экспрессировались под контролем зерно-специфичных промоторов. Смысловые конструкции, использованные для модификации генома сои, снижали экспрессию гена белка р34 (относится к надсемейству папаиновых Cys-протеаз) за счет феномена РНК-интерференции, и концентрация этого белка в семенах ГМ сои была снижена весьма значительно в отличие от концентрации аллергенов в рисе. Вероятно, технология РНК-интерференции оказалась более эффективной, поскольку ее специфичность распространялась на все гены белков этого семейства, тогда как антисмысловые конструкции более специфичны и их действие распространяется только на один ген, что может быть недостаточно в условиях существования большого количества генов, кодирующих родственные белки. Такие особенности смысловых и антисмысловых технологий могут быть успешно использованы в генной инженерии для обеспечения точечного "выключения" одного гена или, напротив, масштабного сайленсинга близкородственных генов [239].

Аллергия, вызываемая арахисом, относится к числу наиболее опасных ввиду возможности развития анафилактического шока. Белок арахиса Ara h 2 – один из хорошо охарактеризованных аллергенов, относящийся к семейству проламинов и проявляющий слабую трипсин-ингибирующую активность, кодируется двумя гомологичными генами, *ara h 2.01* и *ara h 2.02*. К настоящему времени были предприняты попытки подавления экспрессии этих генов, и получены обнадеживающие результаты – содержание Ara h 2 в арахисе было значительно снижено [112; 140; 239; 246].

В заключение данного раздела можно отметить, что технологии генной инженерии обладают всем необходимым арсеналом методов, позволяющим регулировать экспрессию генов в зависимости от требований эксперимента. Ограничительным фактором здесь выступает лишь недостаток информации о структуре и свойствах генов, отвечающих за те или иные проявления в фенотипе, поэтому масштабная расшифровка геномов хозяйственно-ценных

растений является наиболее актуальным на сегодняшний день направлением исследований [208; 300].

Размягчение фруктов, вызванное созреванием, приводит к порче и потере как климактерических (яблоки, авокадо, бананы, дыни, абрикосы, томаты), так и неклимактерических (цитрусовые, виноград, клубника) растений. Климактерий, инициируемый эндогенной продукцией этилена, является энергетическим процессом, который соотносится с наивысшей спелостью плодов, такие плоды характеризуются сильным увеличением интенсивности дыхания. Поскольку во время климактерия происходят изменения вкуса, окраски и плотности плодов в результате (1) распада запасенного крахмала до растворимых сахаров, (2) окисления сахаров, в свою очередь, приводящего к образованию и накоплению органических кислот, (3) снижения жесткости клеточных стенок за счет активации пектиназ, гидролизующих полисахариды, входящие в состав клеточных стенок, подходы к увеличению срока хранения после сбора урожая включают воздействие на эти процессы – замедление распада крахмала, уплотнение клеточной стенки и т.п. Вместе с тем, основной проблемой повышения сроков хранения продукции является сохранение ее органолептических характеристик и текстуры, что в определенной степени сокращает спектр возможных модификаций генома [113; 239; 268; 315].

Основным условием увеличения срока хранения является задержка созревания плодов: поскольку в созревании климактерических плодов ключевая роль принадлежит этилену – гормональному фактору газоподобного типа, активирующему транскрипционный каскад и регулирующему экспрессию многих генов, замедление биосинтеза этилена рассматривается в качестве основного инструмента для решения поставленной задачи. Подавление экспрессии генов достигается посредством использования РНК-интерференции или антисмысловых технологий [281], этот подход был использован [91] и другими исследователями, добившимися значительного сокращения продукции этилена за счет антисмысловой супрессии гена 1-аминоциклопропана-1-карбоновокислой синтазы или гена 1-аминоциклопропана-1-карбоновокислой оксидазы. Факторы, активирующиеся под действием этилена (Ethylene response factors, ERF) и являющиеся регуляторами транскрипции, принадлежат к мультигенной семье и также играют важную роль в созревании плодов. Это было продемонстрировано в ГМ томате, содержащем антисмысловый участок LeERF1, находящийся под контролем CaMV35 промотора: плоды характеризовались более продолжительным сроком хранения по сравнению с немодифицированными сортами [265]. В 2013 году Schaffer R.J. et al. [351] представил доказательства, что супрессия гена MADS8/9 (класс SEPALLATA1/2, SEP1/2), относящегося к семейству MADS-box, которое играет важную роль в органогенезе растений, приводила к

задержке созревания яблок. Было показано, что по сравнению с контрольными растениями, модифицированные яблоки имели более высокую концентрацию фитогормона группы ауксинов – индолил-3-уксусной кислоты (гетероауксина), что может быть причиной задержки созревания. Размягчение плодов, происходящее из-за гидролазной солюбилизации и деполимеризации гемицеллюлоз и пектина клеточной стенки, является одной из ключевых характеристик климактерических растений. Именно поэтому, основанное на механизме РНК-интерференции подавление гена полигалактуроназы, гидролизующего гликозидные связи пектина, также позволило достичь повышения сроков хранения яблок [89] и клубники [326] без изменения других характеристик плодов, таких как цвет, размер или содержание минеральных веществ [239; 315].

Следует отметить, что стратегия регулирования биосинтеза этилена и связанных с ним факторов не может применяться в отношении неклимактерических растений, созревание которых не связано с этиленом. Понимание этого послужило основанием для исследований, направленных на определение общего механизма замедления созревания плодов как климактерических, так и неклимактерических культур. В частности, было показано, что деградация N-гликопротеинов клеточной стенки и уровень свободного N-гликана оказывают влияние на размягчение в плодов томата, являющегося классическим примером климактерических растений [273; 319]. В то же время Meli V.S. et al. в публикации [284] сообщили, что вызванная РНК-интерференцией супрессия генов, кодирующих ферменты процессинга N-гликанов –  $\alpha$ -маннозидазы ( $\alpha$ -Man) и  $\beta$ -d-N-ацетилгексозаминидазы ( $\beta$ -Hex), также приводила к снижению скорости размягчения (при супрессии  $\alpha$ -Man – в 2,5 раза,  $\beta$ -Hex – в 2 раза) и увеличению продолжительности хранения томатов примерно на 30 дней. Позднее [183] показали, что опосредованное РНК-интерференцией подавление генов  $\alpha$ -Man и  $\beta$ -Hex в неклимактерических плодах паприки позволяли увеличить их сохранность на 7 дней, при этом стручки характеризовались более высокой плотностью тканей (примерно в 2 раза по сравнению с контролем). Действительно, высокий уровень активности  $\alpha$ -Man и  $\beta$ -Hex в спеющих плодах указывает на их потенциальное участие в процессе созревания, а замолкание этих генов не только блокирует деградацию N-гликопротеинов клеточной стенки, но также препятствует N-гликан-обусловленной активации других факторов созревания [224; 225; 239; 284]. Эти результаты позволяют сделать вывод, что манипуляции с генами ферментов процессинга N-гликанов являются перспективным направлением для повышения продолжительности хранения всех видов овощных, фруктовых и ягодных культур. Дальнейшие исследования в этом направлении позволили идентифицировать и охарактеризовать промоторы генов  $\alpha$ -Man и  $\beta$ -Hex, что обеспечит понимание транскрипционной регуляции этих генов во время созревания

плодов и расширит арсенал генных инженеров при выборе "объекта влияния" для конструирования растений с пролонгированным сроком хранения [215; 216].

Технологии генной инженерии были также успешно использованы при создании ГМ растений, устойчивых к насекомым-вредителям, широкому спектру грибковых и бактериальных патогенов [178; 254; 274; 316; 395]. Гены, ответственные за проявление резистентности, получили название R-генов [121; 410; 420]. Преимуществом использования таких ГМ культур, помимо повышения урожайности, является отсутствие необходимости обработок посевов инсектицидными, фунгицидными и бактерицидными препаратами, что сохраняет почвенные биоценозы [400]. Наиболее распространенными в настоящее время являются ГМ культуры, несущие в своем геноме *Cry* гены, и вырабатывающие Bt-токсины, летальные для чешуекрылых и жесткокрылых насекомых [217; 347; 375]. Вместе с тем, успешная стратегия синтеза растением инсектицида является лишь одним из вариантов борьбы с вредителями, так, устойчивость к повсеместно распространенному возбудителю белой гнили – грибу *Sclerotinia sclerotiorum* была достигнута у растений табака, томата, чины и сои за счет экспрессии оксалат-деградирующего фермента, поскольку этот патоген использует щавелевую кислоту в процессе колонизации организма-хозяина [244; 255]. Были достигнуты впечатляющие результаты при корректировке собственных механизмов противовирусной защиты у растений – генов PR-белков (Coat Protein-mediated Resistance): гидролитические ферменты хитиназы (PR-3,4,8,11) и  $\beta$ -1-3-глюканазы (PR-2), способные разрушать хитин и ламинарин клеточной стенки микроскопических грибов, также зарекомендовали себя как эффективный инструмент развития устойчивости растений к широкому спектру грибковых патогенов [81; 86]. Среди прочих мишеней генной инженерии можно отметить ферменты, катализирующие фенилпропаноидные метаболические пути [361; 405], различные пероксидазы [245; 349], элементы сигнальных путей [239; 369; 378].

Целый ряд ГМ культур, несущих в своем геноме гены устойчивости к белкам вирусной оболочки, и, соответственно, устойчивых к вирусам, были успешно коммерциализованы: картофель, устойчивый к Y-вирусу морщинистой мозаики, и к вирусу скручивания листьев (PLRV) [228]. Под руководством Ntui V.O. [303] был получен трансгенный табак, экспрессирующий дефектную двухцепочечную РНК вируса мозаики огурцов, что обеспечивало табаку невосприимчивость к данному вирусу. Также были опубликованы результаты исследований с использованием смысловых и антисмысловых РНК, действие которых направлено на связанный с репликацией белок AC1 африканского вируса мозаики маниоки, полученные растения маниоки были невосприимчивы к этому вирусу [417]. Экспрессия ГМ растением различных дефектных белков вирусного происхождения, в целом, является

достаточно популярной стратегией придания растениям устойчивости к тем или иным вирусам [196; 280; 314]. Также используются технологии, основанные на использовании короткоцепочечных некодирующих РНК, способных вызвать замолкание определенных генов, обуславливая развитие устойчивости к патогенам [239; 240].

Подходы, основанные на посттранскрипционной регуляции экспрессии генов за счет использования несущих фрагменты вирусного генома шпилечных РНК (hairpin RNA, hpRNA), достаточно широко используются именно при создании ГМ растений, устойчивых к различным вирусам. Среди спектра самокомплементарных, малых, и интрон-сплайсированных шпилечных РНК наибольшую эффективность при формировании вирусостойчивости продемонстрировали самокомплементарные РНК [367]. Посттранскрипционная регуляция экспрессии генов, обеспечиваемая присутствием инверсированных повторов двунитевой РНК, также позволяла добиться устойчивости трансгенного растения как к РНК-содержащим, так и к ДНК-содержащим вирусам [88; 100; 280; 421]. Искусственные микроРНК и мульти-микроРНК, малые интерферирующие РНК, функционирующие как супрессоры репликации вирусного генома, или вызывающие замолкание генов/групп генов, достаточно интенсивно изучаются с точки зрения их использования для создания растений, устойчивых к различным видам вирусов, в том числе – с комплексной поливирусной устойчивостью [92; 298; 324; 415]. ГМ растения, устойчивые к вирусам, входят в перечень допущенных к промышленному производству трансгенных культур [217], в основном, это плодовоовощные растения, такие как картофель (19 линий), папайя (4), кабачковые (2), томаты (1), сладкий перец (1), бобы (1), сливы (1).

В настоящее время накоплена обширная база R-генов, пригодных для использования в растениях, кроме того, уровень развития генной инженерии позволяет встраивать в геном реципиентов более одного гена, поэтому все бóльшую популярность приобретает создание ГМ растений с комбинированными видами устойчивости: в литературе встречаются упоминания о существующих организмах, характеризующихся 10-ю новыми признаками, в ближайшей перспективе разработка ГМО с 16-ю новыми свойствами [219]. Проблемой создания и использования ГМО, устойчивых к биотическим стрессам является взаимодействие с живыми организмами, которые также могут меняться в неблагоприятных условиях среды: развитие устойчивости насекомых и микроорганизмов к токсину, синтезируемому растением, в ряде случаев является лишь вопросом времени, поэтому соблюдение условий выращивания таких культур представляется весьма важным условием эффективного и долговременного применения определенных R-генов.

Влияние таких абиотических стрессов, как засоление почв, засуха и высокая температура не только отрицательно сказываются на эффективности производства, но и ставят под сомнение саму возможность использования определенных земель и территорий для выращивания большинства сельскохозяйственных культур [290; 398]. Каждый из этих факторов индуцирует вторичный стресс, в основе которого лежит смещение баланса окислительно-восстановительных реакций и окислительный стресс, изменение осмолярности и нарушение внутреннего гомеостаза, денатурация целого ряда функциональных или структурных белков, и, как следствие, замедление роста и гибель растения. Для выживания в неблагоприятных условиях растения снабжены системой сигнальных сенсорных киназ, воспринимающих внешние сигналы и активирующие факторы транскрипции (AP2/EREBP, Myc, NAC, HB, HSF, bZIP и др.), которые инициируют соответствующие гены и запускают механизмы поддержания вегетации [327]. Очевидно, что методы генетической инженерии имеют значимый потенциал для создания новых стрессоустойчивых сортов, позволяя переносить гены из таксономически отдаленных генотипов. В качестве модели для выявления основных механизмов устойчивости к стрессу был использован *Arabidopsis* (горчица малая), геном которого был расшифрован одним из первых, позднее полученные знания были экстраполированы на коммерчески важные продовольственные культуры, такие как рис [241], соя [359] и кукуруза [239; 416].

ГМ-культуры, экспрессирующие несколько индуцируемых стрессом генов, демонстрировали повышенную устойчивость к засухе, холоду и засолению почв [365; 390]. Показано, что гены, вовлеченные в обеспечение толерантности к стрессу, участвуют в передаче сигналов, или относятся к факторам транскрипции, ответственным за регуляцию ответа на стресс у растений (например, AP2/ERF, bZIP, MYB, MYC, NAC, WRKY и др.). Следует отметить, что использование мультигенных по своей природе транскрипционных факторов в качестве объекта модификации при создании стрессоустойчивых растений представляет собой весьма продуктивную стратегию, поскольку единичное изменение генома позволяет обеспечить устойчивость сразу к нескольким видам стресса [109; 383]. Факторы транскрипции DREB1 и DREB2 играют ключевую роль в формировании АВА-независимых метаболических путей устойчивости к засухе, эти факторы инициируют экспрессию генов ответа на стресс за счет цис-регуляторного элемента DRE/C repeat [260; 365]. Использование модификации факторов DREB для получения растений, толерантных к засухе, было продемонстрировано во многих исследованиях, в частности, сверхэкспрессия AtDREB1A в *Arabidopsis* обеспечивала не только устойчивость к засухе, но и участвовала в формировании карликового фенотипа [270]. Пониженная чувствительность к обезвоживанию и засолению почв наблюдались у риса, несущего в геноме модифицированные AtDREB1A и DREB1B, соответственно [128].

Экспрессия фактора транскрипции HYR (Higher Yield Rice) в рисе привела к повышению урожайности в нормальных условиях, а также при воздействии засухи и высоких температур [85]. Такой эффект можно объяснить главенствующей ролью HYR в регуляции фотосинтеза и его способностью к прямой активации генов фотосинтеза, факторов транскрипции и других генов, вовлеченных в фотосинтетический углеродный обмен [239].

Эпикутикулярный воск, образующий защитное покрытие у надземных частей растений, обеспечивает защиту от насекомых-вредителей, патогенных микроорганизмов и грибов, а также от потери тургора и высыхания, представляет собой потенциально эффективную мишень для повышения устойчивости растений к биотическим и абиотическим стрессам [363]. В исследованиях [238] были получены ГМ томаты, экспрессирующие ген стеролдесатуразы (*FvC5SD*) из гриба *Flammulina velutipes*. Эти растения характеризовались более толстым слоем эпикутикулярного воска, что способствовало повышению устойчивости к засухе за счет снижения потерь воды из-за транспирации. Поскольку томат является естественным хозяином *Sclerotinia sclerotiorum*, был также изучен потенциал заражения листьев ГМ растений и растений дикого типа: трансгенные линии показали значительное замедление прогресса заболевания по сравнению с растениями дикого типа, что также связано с защитными свойствами более толстого слоя воска на наружной поверхности листа [238; 239].

Обычно устойчивость к абиотическим стрессам напрямую связана с механизмами детоксикации или накопления метаболитов, что подразумевает вовлеченность большого количества генов, регулирующих эти процессы. Именно поэтому получение устойчивых к такому стрессу трансгенных растений только за счет модификации единичного гена имеет весьма ограниченный потенциал, и в дальнейшем развитие этого направления потребует воздействия на несколько генов [96; 239].

Таким образом, изучение функции генов является первоочередной задачей, напрямую влияющей на темпы развития генной инженерии сельскохозяйственных культур.

Изучая перспективы развития направлений генной инженерии можно выделить два направления, первое из которых – расширение ассортимента продовольственных культур. Это может быть достигнуто расширением ареала выращивания, например, тропических плодов, посредством повышения их устойчивости к умеренному климату, засухе и т.п.; расширением потенциала использования за счет придания новых полезных свойств менее популярным растениям, таким как, например, маниок или просо, характеризующимся низкой пищевой ценностью и синтезом антиалиментарных веществ. В целом, это направление может быть реализовано с помощью уже существующих методов и знаний, поэтому такой путь с определенной долей условности можно назвать микроэволюционным, максимальная

эффективность которого может быть достигнута только в условиях сопутствующего формирования логистических и технологических протоколов, обеспечивающих снижение потерь при хранении, доставке и переработке [101; 117; 129; 208; 358].

Второе направление более амбициозное и революционное, в рамках которого рассматриваются возможные способы перепроектирования фотосинтеза с модели C3 (в которой первым продуктом фотосинтеза является фосfogлицериновая кислота, содержащая три атома углерода) на более эффективную модель C4 (в которой первым продуктом фотосинтеза являются органические кислоты не с тремя, а с четырьмя атомами углерода – щавелевоуксусная и яблочная). К C3 растениям относится около 95% растительной биомассы Земли, в том числе хозяйственно-значимые рис, пшеница, ячмень и др.; к C4 растениям, появившимся в процессе эволюции значительно позже C3 растений, относятся многие тропические и субтропические виды, среди которых такие важные культуры как сахарный тростник, просо, сорго и кукуруза. В настоящее время над способами введения нового фотосинтетического аппарата в растения риса работает международная исследовательская группа, первым этапом данной работы является выявление генов, отвечающих за реализацию механизма C4 в растениях, и определение генов, которые потребуются для обеспечения функционирования этих генов в реципиентных организмах [84; 176; 206; 239; 256; 300; 302]. Есть все основания предполагать, что изменение модели фотосинтеза не только повысит непосредственно эффективность фотосинтеза, но и повлияет на эффективность использования азота, воды, а также повысит устойчивость к высоким температурам.

Таким образом развитие молекулярной биологии и генной инженерии инициировало появление огромного массива новых знаний и методов, используемых как фундаментальной, так и прикладной наукой, и в ближайшее время эта тенденция сохранится, расширяя масштабы мирового производства и использования ГМ растений.

Площади посевов генно-инженерно-модифицированных (ГМ) культур в 2018 году составляли 191,7 млн. га; за период 1996-2018 гг. площади, занятые ГМО, возросли более чем в 114 раз (рисунок 4) [220]. На протяжении всего периода использования ГМО в разные годы такие культуры выращивали от 5-7 до 26-29 стран, общее количество стран, имеющих опыт культивирования ГМО, составляет 36 (таблица 1) [218; 219; 220; 231; 226; 227; 228; 229; 230; 329].

В Европейском Союзе (ЕС) для пищевых и кормовых целей разрешено выращивание одной линии ГМ кукурузы – Вt-линии MON810, устойчивой к кукурузному (стеблевому) мотыльку *Ostrinia nubilalis* которая культивируется в ЕС с 1998 года (таблицы 2-3). В 2010 году было разрешено выращивание картофеля сорта EH92-527-1 (Amflora), производства компании

"BASF Plant Science Company GmbH", Германия. Данный картофель, предназначенный для технического использования, характеризуется измененным профилем соотношения амилозы и амилопектина за счет нокаута гена, ответственного за синтез амилозы (ген *GBSS*, Granule-Bound Starch Syntase): если в обычном картофельном крахмале соотношение разветвленного полисахарида амилопектина и линейного полисахарида амилозы составляет 80% к 20%, то в крахмале из картофеля Amflora это соотношение смещено до уровня, достигающего 98% к 2% [227], что влияет на технические характеристики крахмала. Amflora, который прошел процедуру регистрации только в ЕС, на протяжении двух лет выращивали в Германии и Швеции, однако позднее производитель закрыл проект [182; 228].

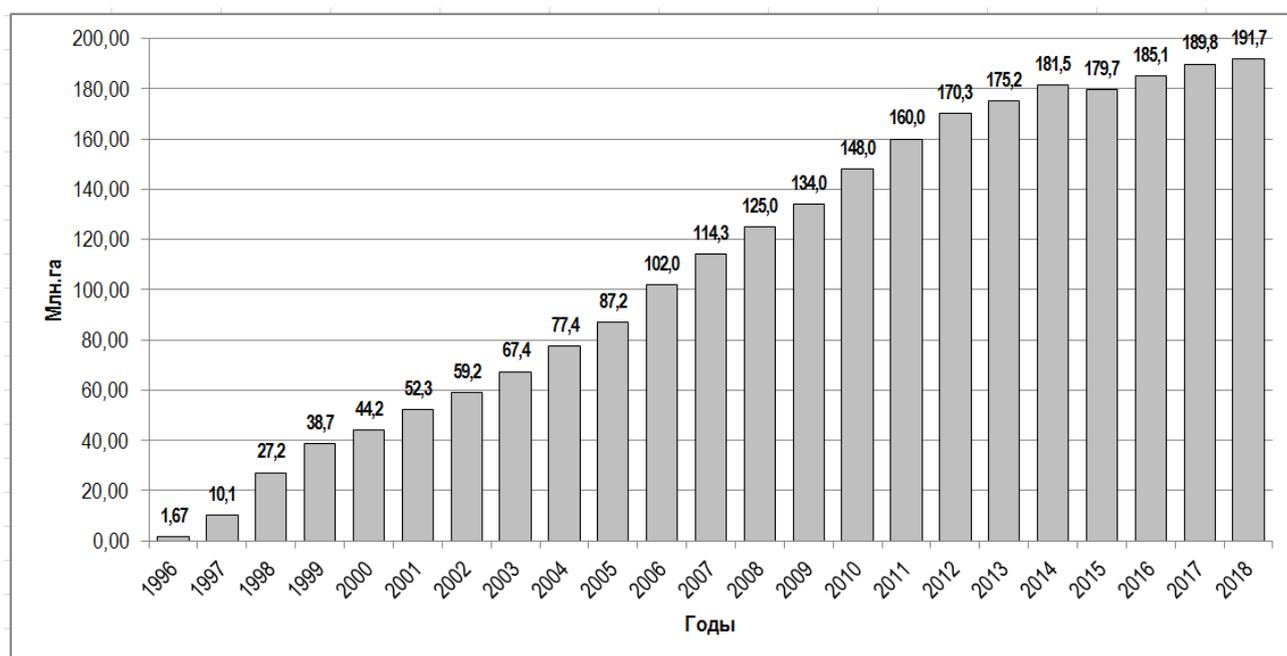


Рисунок 4 – Площади, занятые ГМ культурами (всего в мире) [218; 219; 220; 231; 226; 227; 228; 229; 230].

Румыния, вошедшая в ЕС в 2007 году, имеет собственный опыт использования биотехнологических культур: в 1999-2005 гг. в Румынии успешно культивировали ГМ сою, за этот период площади посевов возросли более чем в 9 раз, достигнув 143,9 тыс. га [75; 309], что составляло 68% от общей площади посевов сои в этой стране. После вступления в ЕС выращивание ГМ сои в Румынии прекратилось, но с 2007 года было начато выращивание разрешенной в ЕС кукурузы линии MON810.

По данным International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA) [220], в 2018 году основной ГМ культурой оставалась соя, занимавшая 50% (95,9 млн. га) от всей площади возделывания ГМО [75], на втором месте кукуруза – 31% (58,9 млн. га), далее хлопок – 13% (24,9 млн. га) и рапс – 5% (10,1 млн.га). Наиболее интенсивно в сельском

хозяйстве используются культуры с генетической модификацией, определяющей устойчивость к гербицидам: в 2018 г. растения с этими свойствами занимали 46% (88,2 млн. га) от общей площади посевов; растения с комбинированными признаками – "селекционные стекеры", содержащие два и более трансформационных событий, занимали 2-е место – 42% (80,5 млн. га) [57; 75; 220].

К настоящему времени (по ситуации на август 2019 г.) в мире зарегистрировано и допущено к промышленному производству пищи и кормов 488 линий ГМ культур, с учетом непищевых – 521 линия. В том числе 250 линий гибридных стекеров (16 линий сои, 192 линии кукурузы, 26 линий хлопка, 14 линий рапса, 2 линии люцерны) [57; 217; 380].

Согласно информации, представленной в базе данных Управления по пищевым продуктам и лекарственным препаратам при правительстве США (Food and Drug Administration), в США зарегистрировано 370 ГМ линий [168] без учета селекционных стекеров, так как растения с комбинированными признаками, полученные методами гибридизации, имеют в США нерегулируемый статус. В Европейском Союзе, в соответствии с базой данных [159], 69 ГМ линий разрешены для пищевого и кормового использования, из них 23 линии с комбинированными признаками.

В Российской Федерации для пищевых целей разрешено использование 27 линий ГМО (таблица 4), из них 8 линий с комбинированными признаками: соя линии MON87701×MON89788, являющаяся селекционным стекером, полученная в результате традиционной гибридизации двух ГМ линий; соя линий SYHT0H2 и FG72, кукуруза линий MON88017, MON89034, Vt-11, MZHG0JG, являющиеся молекулярными стекерами, полученные методом генной инженерии в результате трансформации с помощью векторов, содержащих два или более генов, отвечающих за новые признаки [48]. Следует отметить, что линия кукурузы NK603 также может быть отнесена к категории молекулярных стекеров, поскольку ее геном содержит две отдельные кассеты экспрессии гена *CP4 EPSPS*.

Продовольственная безопасность по-прежнему остается главной проблемой в развивающемся мире: по данным Global [219], около 108 миллионов человек в 48 странах по-прежнему подвергаются риску дефицита/или острой нехватке пищи. В 2017 году численность населения Земли достигла 7,6 млрд. человек, по прогнозам экспертов, к 2030 году эта цифра повысится до 8,6 млрд., к 2050 – до 9,8 млрд., к 2100 – до 11,2 млрд. [164; 391]. Ежегодный прирост населения составляет примерно 83 млн. человек и ожидается, что тенденция к росту сохранится, даже если уровень рождаемости будет продолжать снижаться. В такой ситуации, для обеспечения потребностей растущего населения, производство пищи и кормов должно увеличиться не менее чем на 70%.

Таблица 1 – Динамика роста площадей (млн. га), занятых ГМ культурами, в основных странах-производителях ГМ растений

| Страна        | 1996        | 1997         | 1998         | 1999         | 2000         | 2001         | 2002         | 2003         | 2004         | 2005         | 2006         | 2007         | 2008         | 2009         | 2010         | 2011         | 2012         | 2013         | 2014         | 2015         | 2016         | 2017         | 2018         |
|---------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| США           | 1,449       | 7,46         | 19,26        | 26,25        | 28,25        | 33,02        | 37,53        | 40,72        | 44,79        | 47,40        | 54,6         | 57,7         | 62,5         | 64,0         | 66,8         | 69,0         | 69,5         | 70,1         | 73,1         | 70,9         | 72,9         | 75,0         | 75,0         |
| Аргентина     | 0,037       | 1,76         | 4,82         | 6,84         | 9,61         | 11,78        | 13,59        | 14,90        | 15,88        | 16,93        | 18,0         | 19,1         | 21,0         | 21,3         | 22,9         | 23,7         | 23,9         | 24,4         | 24,3         | 24,5         | 23,8         | 23,6         | 23,9         |
| Бразилия      | -           | 0,10         | 0,50         | 1,18         | 1,30         | 1,31         | 1,74         | 3,00         | 5,00         | 9,00         | 11,5         | 15,0         | 15,8         | 21,4         | 25,4         | 30,3         | 36,6         | 40,3         | 42,2         | 44,2         | 49,1         | 50,2         | 51,3         |
| Канада        | 0,139       | 0,65         | 2,16         | 3,53         | 3,33         | 3,21         | 3,25         | 4,43         | 5,07         | 5,86         | 6,1          | 7,0          | 7,6          | 8,2          | 8,8          | 10,4         | 11,6         | 10,8         | 11,6         | 11,0         | 11,6         | 13,1         | 12,7         |
| Китай         | -           | 0,03         | 0,26         | 0,65         | 1,22         | 2,17         | 2,10         | 2,80         | 3,70         | 3,30         | 3,5          | 3,8          | 3,8          | 3,7          | 3,5          | 3,9          | 4,0          | 4,2          | 3,9          | 3,7          | 2,8          | 2,8          | 2,9          |
| Индия         | -           | -            | -            | -            | -            | -            | 0,04         | 0,10         | 0,50         | 1,30         | 3,8          | 6,2          | 7,6          | 8,4          | 9,4          | 10,6         | 10,8         | 11,0         | 11,6         | 11,6         | 10,8         | 11,4         | 11,6         |
| Парагвай      | -           | -            | -            | 0,06         | 0,09         | 0,34         | 0,48         | 0,74         | 1,20         | 1,80         | 2,0          | 2,6          | 2,7          | 2,2          | 2,6          | 2,8          | 3,4          | 3,6          | 3,9          | 3,6          | 3,6          | 3,0          | 3,8          |
| Уругвай       | -           | -            | -            | -            | 0,003        | <0,1         | <0,1         | 0,1          | 0,3          | 0,3          | 0,4          | 0,5          | 0,7          | 0,8          | 1,1          | 1,3          | 1,4          | 1,5          | 1,6          | 1,4          | 1,3          | 1,1          | 1,3          |
| Австралия     | 0,040       | 0,06         | 0,10         | 0,13         | 0,19         | 0,20         | 0,16         | 0,17         | 0,25         | 0,28         | 0,2          | 0,1          | 0,2          | 0,2          | 0,7          | 0,7          | 0,7          | 0,6          | 0,5          | 0,7          | 0,9          | 0,9          | 0,8          |
| ЮАР           | -           | -            | 0,00008      | 0,0008       | 0,09         | 0,15         | 0,21         | 0,30         | 0,53         | 0,60         | 1,4          | 1,8          | 1,8          | 2,1          | 2,2          | 2,3          | 2,9          | 2,9          | 2,7          | 2,3          | 2,7          | 2,7          | 2,7          |
| Пакистан      | -           | -            | -            | -            | -            | -            | -            | -            | -            | -            | -            | -            | -            | -            | 2,4          | 2,6          | 2,8          | 2,8          | 2,9          | 2,9          | 2,9          | 3,0          | 2,8          |
| Другие страны | 0,0009      | 0,02         | 0,06         | 0,07         | 0,02         | 0,02         | 0,05         | 0,1          | 0,23         | 0,39         | 0,5          | 0,5          | 1,3          | 1,7          | 2,2          | 2,4          | 2,7          | 3,0          | 3,2          | 2,9          | 2,7          | 3,0          | 2,9          |
| <b>ВСЕГО</b>  | <b>1,67</b> | <b>10,08</b> | <b>27,16</b> | <b>38,73</b> | <b>44,16</b> | <b>52,30</b> | <b>59,25</b> | <b>67,36</b> | <b>77,45</b> | <b>87,16</b> | <b>102,0</b> | <b>114,3</b> | <b>125,0</b> | <b>134,0</b> | <b>148,0</b> | <b>160,0</b> | <b>170,3</b> | <b>175,2</b> | <b>181,5</b> | <b>179,7</b> | <b>185,1</b> | <b>189,8</b> | <b>191,7</b> |

Таблица 2 – Выращивание ГМ культур в странах Европейского Союза (тыс. га) в 1998-2008\*

| Страна             | 1998       | 1999             | 2000             | 2001             | 2002             | 2003             | 2004             | 2005             | 2006   | 2007          | 2008    |               |                |
|--------------------|------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|--------|---------------|---------|---------------|----------------|
| Испания            | 22,0       | 30,0             | >1,0             | 12,0             | 25,0             | 32,0             | 58,0             | 80,0             | ~60,00 | >70,0         | ~100,00 |               |                |
| Германия           | -          | -                | +                | +                | +                | +                | +                | +                | 8,70   | +             | ~8,60   | +             |                |
| Франция            | 1,5        | 0,15             | +                | -                | -                | -                | -                | +                |        | +             |         | +             | -              |
| Португалия         | -          | >1               | -                | -                | -                | -                | -                | +                |        | +             |         | +             | +              |
| Польша             | -          | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                |        | -             |         | +             | +              |
| Румыния**          | -          | +                | +                | +                | +                | +                | +                | +                |        | -             |         | +             | +              |
| Словакия           | -          | -                | -                | -                | -                | -                | -                | -                |        | +             |         | +             | +              |
| Чешская Республика | -          | -                | -                | -                | -                | -                | -                | +                |        | +             |         | +             | +              |
| <b>ВСЕГО</b>       | <b>~24</b> | <b>&lt;100,0</b> | <b>&lt;100,0</b> | <b>&lt;100,0</b> | <b>&lt;100,0</b> | <b>&lt;100,0</b> | <b>&lt;100,0</b> | <b>&gt;100,0</b> |        | <b>~70,00</b> |         | <b>88,673</b> | <b>107,719</b> |

\* в соответствии с базой данных [159] в Европе для пищевых и кормовых целей разрешено выращивание 1 линии ГМ кукурузы (линия MON810, устойчивая к кукурузному (стеблевому) мотыльку *Ostrinia nubilalis*).

\*\* выращивание ГМ культур (сои) в Румынии было начато в 1999 году, площади посевов составляли 15,5 тыс. га; за период с 1999 по 2006 гг. площади посевов возросли более чем в 9 раз, достигнув 143,9 тыс. га. После вступления в ЕС выращивание ГМ сои в Румынии было запрещено.

Таблица 3 – Выращивание ГМ культур в странах Европейского Союза (тыс. га) в 2009-2018

| Страна             | 2009          | 2010          | 2011           | 2012           | 2013           | 2014           | 2015           | 2016           | 2017           | 2018           |
|--------------------|---------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Испания            | 75,800        | ~90,00        | 97,317         | 116,307        | 136,932        | 131,538        | 107,749        | 129,081        | 124,227        | 115,246        |
| Германия           | -             | +*            | +*             | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| Франция            | -             | -             | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| Португалия         | +             | +             | +              | +              | +              | +              | +              | 7,069          | 7,308          | 5,733          |
| Польша             | +             | +             | +              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| Румыния            | +             | +             | +              | +              | +              | +              | +              | -              | -              | -              |
| Словакия           | +             | +             | +              | +              | +              | +              | +              | 0,138          | -              | -              |
| Чешская Республика | +             | +             | +              | +              | +              | +              | +              | 0,075          | -              | -              |
| Швеция             | -             | +*            | +*             | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| <b>ВСЕГО</b>       | <b>94,750</b> | <b>91,643</b> | <b>114,507</b> | <b>129,071</b> | <b>148,013</b> | <b>143,016</b> | <b>116,870</b> | <b>136,363</b> | <b>131,535</b> | <b>120,990</b> |

\* картофель сорта EH92-527-1 (Amflora), производства компании "BASF Plant Science Company GmbH"

Таблица 4 – ГМО, прошедшие государственную регистрацию в Российской Федерации, и разрешенные для использования в пищу

| ГМО, линия      | Привнесенный признак      | Год регистрации   | Внесенные гены                            |  |              |
|-----------------|---------------------------|---|---|--|--------------|
|                 |                           |   | Определяющие хозяйственно-ценные признаки | Маркерные гены, входящие в отдельную кассету экспрессии  |              |
| 1               | 2                         | 3   | 4   | 5  |              |
| <b>СОЯ</b>      |                           |   |   |  |              |
| 1               | 40-3-2                    | Устойчивость к глифосату  | 1999                                      | <i>CP4 EPSPS</i>   | -            |
| 2               | A2704-12                  | Устойчивость к глюфосинату аммония  | 2002                                      | <i>pat</i>   | -            |
| 3               | A5547-127                 | Устойчивость к глюфосинату аммония  | 2002                                      | <i>pat</i>   | -            |
| 4               | MON 89788                 | Устойчивость к глифосату  | 2010                                      | <i>CS-cp4 epsps</i>                                      | -            |
| 5               | BPS-CV127-9               | Устойчивость к имидазолинон-содержащим гербицидам   | 2012                                      | <i>csr1-2</i>  | -            |
| 6               | MON 87701                 | Устойчивость к чешуекрылым насекомым-вредителям   | 2013                                      | <i>cry1Ac</i>  | -            |
| 7               | SYHT0H2                   | Устойчивость к глюфосинату аммония и к гербицидам, ингибирующим фермент гидроксифенилпируват диоксигеназу | 2016                                      | <i>pat-03-01</i><br><i>pat-03-02</i><br><i>avhppd-03</i> | -            |
| 8               | FG72                      | Устойчивость к гербицидам изоксафлютолу и глифосату   | 2015                                      | <i>2mEPSPS</i><br><i>hppdPf W336</i>                     | -            |
| 9               | MON87701<br>×<br>MON89788 | Устойчивость к чешуекрылым насекомым-вредителям и к глифосату   | 2016                                      | <i>cry1Ac</i><br><i>CS-cp4 epsps</i>                     | -            |
| 10              | MON87708                  | Устойчивость к гербициду Дикамба (3,6-дихлор-2-метоксибензойная кислота)                                  | 2019                                      | <i>CS-dmo</i>  | -            |
| <b>КУКУРУЗА</b> |                           |   |   |  |              |
| 11              | MON810                    | Устойчивость к кукурузному (стеблевому) мотыльку <i>Ostrinia nubilalis</i>                                | 2000                                      | <i>cry1Ab</i>  | -            |
| 12              | GA21                      | Устойчивость к глифосату  | 2000                                      | <i>mEPSPS</i>  | -            |
| 13              | NK603                     | Устойчивость к глифосату  | 2002                                      | <i>CP4 EPSPS</i><br>2 кассеты экспрессии                 | -            |
| 14              | T25                       | Устойчивость к глюфосинату аммония  | 2001                                      | <i>pat</i>   | -            |
| 15              | MON863                    | Устойчивость к жуку <i>Diabrotica spp.</i>  | 2003                                      | <i>cry3Bb1.11098</i>                                     | <i>nptII</i> |
| 16              | Bt-11                     | Устойчивость к глюфосинату аммония и кукурузному бурильщику <i>Ostrinia nubilalis</i>                     | 2003                                      | <i>cry1Ab</i><br><i>pat</i>                              | -            |
| 17              | MON88017                  | Устойчивость к глифосату и жуку <i>Diabrotica spp.</i>  | 2007                                      | <i>CP4 EPSPS</i><br><i>cry3Bb1</i>                       | -            |
| 18              | MIR604                    | Устойчивость к жуку <i>Diabrotica spp.</i>  | 2007                                      | <i>mcry3A</i>  | <i>pmi</i>   |
| 19              | 3272                      | Синтез фермента альфа-амилазы   | 2010                                      | <i>amy797E</i>   | <i>pmi</i>   |
| 20              | MIR162                    | Устойчивость к чешуекрылым насекомым-вредителям   | 2011                                      | <i>vip3Aa19</i>  | <i>pmi</i>   |
| 21              | 5307                      | Устойчивость к жесткокрылым насекомым-вредителям рода <i>Diabrotica</i>                                   | 2014                                      | <i>ecry3.1Ab</i>   | <i>pmi</i>   |

| Продолжение таблицы 4  |             |  |  |      |                                    |   |   |   |  |
|------------------------|-------------|--|--|------|------------------------------------|---|---|---|--|
| 1                      |             | 2  |  | 3    |                                    | 4 |   | 5 |  |
| 22                     | MON89034    | Устойчивость к чешуекрылым насекомым-вредителям  |  | 2014 | <i>cry1A.105</i><br><i>cry2Ab2</i> |   | - |   |  |
| 23                     | 1507        | Устойчивость к определенным видам чешуекрылых насекомых-вредителей и глюфосинату аммония           |  | 2017 | <i>cry1F</i><br><i>pat</i>         |   | - |   |  |
| 24                     | MZHG0JG     | Устойчивость к глифосату и глюфосинату аммония   |  | 2018 | <i>mEPSPS-02</i><br><i>pat-09</i>  |   | - |   |  |
| 25                     | DAS-40278-9 | Устойчивость к 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоте (2,4-Д) и определенным арилоксифеноксипропионатам |  | 2019 | AAD-1                              |   | - |   |  |
| <b>РИС</b>             |             |  |  |      |                                    |   |   |   |  |
| 26                     | LL62        | Устойчивость к глюфосинату аммония   |  | 2003 | <i>bar</i>                         |   | - |   |  |
| <b>САХАРНАЯ СВЕКЛА</b> |             |  |  |      |                                    |   |   |   |  |
| 27                     | H7-1        | Устойчивость к глифосату   |  | 2006 | CP4 EPSPS                          |   | - |   |  |

Изменение климата – еще одна проблема, которая может привести к 23%-ному сокращению производства основных культур (пшеницы, риса, сои, кукурузы) к 2050 году. Кроме того, изменение климата может повлечь снижение содержания белка: на 14,6% в ячмене, на 7,6% в рисе, на 7,8% в пшенице, на 6,4% в картофеле [381]. В других исследованиях также указывается, что содержание макро- и микроэлементов, например, цинка и железа, в продовольственном сырье также может быть снижено: так, содержание железа в кукурузе может снизиться на 10%, в результате чего около 1,4 млрд. детей угрожает развитие дефицита железа к 2050 году. Таким образом, совершенствование современных технологий растениеводства и их использование в агрономии должны быть максимально реализованы, поскольку именно они имеют значимый потенциал для наращивания сельскохозяйственного производства, а также для повышения пищевой и биологической ценности сырья.

Глобальные экономические, социальные и экологические выгоды от использования биотехнологических культур в период 1996-2016 гг. были оценены [394] и составили:

- 657,6 млн. тонн – повышение урожайности сельскохозяйственных культур за 21 год (186,1 млрд. долл. США), 82,2 млн. тонн – только в 2016 году (18,2 млрд. долл. США);
- экономия 183 млн. га земель (22,5 млн. га – только в 2016 году) способствовала сохранению биоразнообразия;
- экономия 671 тыс. тонн пестицидов (в пересчете на действующие вещества), в 2016 году – 48,5 тыс. тонн;
- снижение использования пестицидов на 8,2%, в 2016 году – на 8,1%;
- снижение коэффициента воздействия на окружающую среду (Environmental Impact Quotient, EIQ) на 18,4%, в 2016 году – на 18,3%;
- сокращение выбросов CO<sub>2</sub> на 27,1 млн. т в 2016 году, что эквивалентно удалению 16,7 млн. автомобилей на один год;

- содействие сокращению бедности за счет улучшения экономического положения 16-17 млн. малых фермеров (с учетом членов их семей общее количество составляет более 65 млн. человек) [105; 219; 220].

Таким образом, применение биотехнологических культур может способствовать достижению "устойчивой интенсификации" сельского хозяйства – стратегии, признанной учеными всего мира наиболее приемлемой, поскольку она предусматривает увеличение производительности за счет повышения эффективности использования земель, уже введенных в оборот (в настоящее время это ~1,5 млрд. га), без необходимости расширения посевных площадей и уничтожения лесов, тем самым способствуя сохранению биоразнообразия, экологии и т.п. [329].

Несмотря на все вышеперечисленные преимущества, критика ГМ культур, в большинстве своем, основанная на спекулятивных и ненаучных гипотезах, продолжает оставаться весьма активной и оказывает влияние на решения уполномоченных государственных структур об ограничении/полном запрете использования ГМО. Среди традиционно декларируемых причин для беспокойства являются безопасность ГМО, доступность ГМ семенного материала для местных сельхозпроизводителей, рентабельность производства, поддержание биоразнообразия; однако реальные обоснования борьбы с новыми технологиями следует искать в сфере экономических, политических и социальных интересов наиболее активных оппонентов. В случае, если государство идет по пути ограничений применения ГМО, это неизбежно сказывается как на отставании этой области развития науки, так и на снижении темпов сельскохозяйственного производства, эти потери поддаются калькуляции и могут быть оценены в единицах недополученного валового внутреннего продукта. Согласно информации Фонда технологий и инноваций (Technology and Innovation Foundation, ITIF) [219; 394], ограничительный законодательный и нормативный климат в отношении современной сельскохозяйственной биотехнологии к 2050 году может обернуться потерей до 1,5 трлн. долл. США для стран с неустойчивой экономикой.

Так, только для африканских стран, цена подавления инноваций составила не менее 2,5 млрд. долл. США (за период 2008-2013 гг.). В Австралии оценены последствия отсрочки государственной регистрации ГМ рапса в период 2004-2014 гг. [97]: экологические издержки включают использование дополнительных 6,5 тыс. т пестицидов (в пересчете на действующие вещества) и 8,7 млн. л дизельного топлива на фермах, выращивающих рапс; выброс дополнительных 24,2 тыс. т парниковых газов. Потери урожайности составили 1,1 млн. т рапса, что соответствует 377,9 млн. долл. США.

Таким образом, неоправданно строгое регулирование биотехнологий создает значимые препятствия для развития науки, сельского хозяйства, и, следовательно, для обеспечения технологической и продовольственной безопасности страны, что необходимо учитывать при стратегическом планировании и поиске возможных "точек роста" экономики.

## **2 Развитие подходов, используемых при оценке безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения: мировой и отечественный опыт**

Методы оценки риска, применяемые в разных странах для исследований пищевых продуктов и кормов, полученных из ГМО растительного происхождения, основаны на общих принципах, сформированных в результате накопления опыта и научных знаний в течение последних десятилетий [62]. Эти принципы впервые были предложены в 1993 году [345], за год до выхода на продовольственный рынок США первого ГМО – томата марки FLAVR SAVR, и базировались на представлениях о потенциальных опасностях, в частности, изменении химического состава и пищевой ценности, токсических и аллергенных свойств растения, которые могут возникнуть в результате манипуляций с геномом. В качестве причин таких проявлений называли как свойства нового белка, определяющего проявление заданного признака, так и возможность возникновения незадаанных эффектов генетической модификации за счет формирования в области вставки так называемых "открытых рамок считывания", способных кодировать белки [38; 39; 40; 58; 173; 181; 212; 313; 352; 389]. Именно необходимость выявления возможных незадаанных эффектов (или исчерпывающего доказательства их отсутствия) определила направление развития российской системы оценки безопасности ГМО, начатого в 1995-1996 гг. Следует отметить, что к этому времени отечественный опыт в области медико-биологических исследований новых источников пищи насчитывал более 30 лет: в середине 60-х годов XX века советскими учеными, в частности, сотрудниками Института питания АМН СССР под руководством академика А.А. Покровского, были разработаны подходы к определению биологической ценности и безвредности белковых продуктов микробиологического синтеза (белка дрожжей, выращиваемых на основе парафинов нефти, этанола, метанола и других субстратов), предназначенных для кормления сельскохозяйственных животных. Концепция оценки безопасности продуктов микробиологического синтеза включала не только использование стандартных методов выявления острой, хронической и репродуктивной токсичности, тератогенного, мутагенного, канцерогенного эффектов, но и использование инновационных на тот период методов, позволяющих определить влияние продуктов углеводородных дрожжей на состояние основных адаптационных систем организма, течение метаболических процессов и т.п. [43; 44]. Такой подход к оценке безопасности новых источников пищи со временем был значительно расширен, в частности, особое внимание стало уделяться системам, осуществляющим защиту организма от воздействия токсичных соединений экзо- и эндогенного происхождения – системам ферментов метаболизма ксенобиотиков и ферментов лизосом [16; 24; 29; 63; 75].

При оценке безопасности первых ГМ продуктов, прошедших процедуру государственной регистрации в Российской Федерации, длительность токсикологических исследований на крысах-самцах составляла не менее 180 дней. Среди важнейших анализируемых компонентов были показатели основных обменных и защитно-адаптационных систем – активность ферментов 1-й и 2-й фазы метаболизма ксенобиотиков, активность ферментов лизосом [38; 40; 58]. Кроме того, поскольку многие физиологические и метаболические функции тесно связаны с процессами свободнорадикального окисления, а изменение состояния этих процессов представляет собой раннюю неспецифическую реакцию организма на экстремальные воздействия, определение активности ферментов системы антиоксидантной защиты и содержания продуктов перекисного окисления липидов также рассматривалось как необходимый тест при гигиенической оценке ГМО [57].

Российский подход к оценке безопасности ГМО был впервые обобщен в методические указания МУК 2.3.2.970-00 "Медико-биологическая оценка пищевой продукции, полученной из генетически модифицированных источников" [30], утвержденные в 2000 году Минздравом России. Порядок оценки безопасности ГМО представлял собой комбинированный алгоритм, включающий, помимо одобренных Организацией экономического сотрудничества и развития (ОЭСР) исследований [345], обязательный блок экспериментов *in vivo*: токсикологических – в хроническом 180-дневном эксперименте на крысах, аллергологических – в модельном эксперименте на крысах, иммунологических и генотоксикологических – в экспериментах на мышах.

Примерно в это же время была создана специальная межправительственная рабочая группа, в состав которой входили представители Комиссии Codex Alimentarius, Продовольственной и сельскохозяйственной организации объединенных наций (FAO) и Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [170]. Целью создания этой рабочей группы являлась разработка стандартов, методических указаний и рекомендаций по оценке пищи, полученной с использованием современных биотехнологий; были разработаны три документа, принятые Codex Alimentarius в 2003 году: "Принципы оценки риска пищи, полученной с использованием современных биотехнологий" – рамочный документ, обобщавший основные принципы оценки риска применения ГМ пищи (использование традиционного аналога в качестве эталонной модели, использование интегрированного подхода, позволяющего дифференцировать заданные и незаданные эффекты модификации генома растения, выявить возможные риски для здоровья человека); "Руководство по оценке безопасности пищи, полученной из растений, содержащих рекомбинантную ДНК" и "Руководство по оценке безопасности пищи, полученной из микроорганизмов, содержащих рекомбинантную ДНК"

детализировали основные принципы оценки риска, изложенные в предыдущем документе [62]. Согласно "Руководству по оценке безопасности пищи, полученной из растений, содержащих рекомбинантную ДНК", для оценки безопасности ГМО должна быть проанализирована информация о растении, содержащем рекомбинантную ДНК; родительском растении и истории его использования в пищу; организме-доноре внесенных генов; способе генетической модификации; структуре и свойствах трансформационного события. Исследования безопасности включали изучение нового белка, экспрессируемого на основе рекомбинантной ДНК; изучение эквивалентности химического состава ГМО и его традиционного аналога по основным компонентам – содержанию белка, жира, углеводов, витаминов и биологически активных веществ, антиалиментарных факторов, метаболитов и т.п.; анализ изменения пищевой ценности продукта и влияния технологической переработки [16; 62; 161; 170; 171; 190; 191; 207; 212; 313; 335; 337; 343; 345; 389]. Данный подход к оценке безопасности ГМО лег в основу национальных систем, действующих в разных странах в настоящее время [62].

Следует отметить, что порядок регистрации ГМО в Европейском Союзе (ЕС), США, Канаде и Российской Федерации, различаясь по содержанию и объему проводимых исследований, направлен на всестороннюю и исчерпывающую оценку безопасности и пищевой ценности новой пищевой продукции. [93; 133; 136; 146; 149; 155; 212; 296; 407].

Регулирование использования ГМО в ЕС обеспечивают два основных законодательных акта, первый из которых – Директива о преднамеренном выпуске генетически модифицированных организмов в окружающую среду (2001/18) (Directive on the Deliberate Release into the Environment of Genetically Modified Organisms (2001/18), вступившая в силу 17 апреля 2002 года вместо утратившей силу Директивы о выпуске (90/220) (Release Directive (90/220), и регулирующая отношения, возникающие при преднамеренном выпуске в окружающую среду ГМО в коммерческих или иных целях; второй – Регламент о генетически модифицированной пище и кормах (1829/2003) (Regulation on Genetically Modified Food and Feed (1829/2003), вступивший в силу 19 апреля 2004 года вместо утратившего силу Регламента о новой пище (258/97) (Regulation on novel foods (258/97). Таким образом, в ЕС возможны два пути регистрации ГМО – с целью выпуска в окружающую среду и регистрация пищи и кормов, полученных из ГМО, или содержащих ГМО [57; 139; 190; 191; 223; 333].

Европейское агентство по безопасности пищевых продуктов (European Food Safety Authority, EFSA) разработало методические рекомендации по оценке риска растительных ГМО, во многом повторяющие требования Codex Alimentarius, 2003, и содержащие полный перечень необходимых для регистрации новых ГМО данных [190; 191; 344]. В соответствии с их требованиями, исходным пунктом оценки безопасности ГМО является определение степени

эквивалентности химического состава ГМ продукта и его традиционного аналога (наиболее сходного с ним по составу и свойствам пищевого продукта). В число определяемых параметров входят ключевые макро- и микронутриенты, антиалиментарные факторы, токсины и аллергены, причем набор исследуемых показателей должен быть установлен для каждого конкретного случая индивидуально, в зависимости от состава и свойств изучаемого продукта [57].

Токсикологические исследования ГМО можно условно разделить на два основных раздела, первый из которых включает оценку безопасности белка, определяющего проявление заданного признака у ГМО, второй – оценку безопасности нативного продукта [57; 136; 146; 190; 191; 212]. Оценка безопасности белка включает молекулярную и биохимическую характеристики белка, его первичной структуры, молекулярного веса, посттрансляционных модификаций, функций [57]. В случае, если данный белок является ферментом, необходимы данные о его ферментативной активности, оптимальной температуре и pH, субстратной специфичности, продуктах реакции. Важным этапом оценки белка является поиск гомологии с токсинами белковой природы, а также с белками, обладающими фармакологической, или иной биологической активностью (при использовании баз данных PIR, EMBL, SwissProt, GenBank, и др.). Также рекомендовано изучение устойчивости белка (в экспериментах *in vitro*) к обработке протеолитическими ферментами (например, пепсином, панкреатином), стабильности белка при обработке, хранении, технологической переработке, влиянии температуры и pH, возможные модификации (например, денатурация), и/или образование стабильных белковых фрагментов в результате различных воздействий, при этом стабильные продукты распада белка, образовавшиеся после физических и химических воздействий, должны быть охарактеризованы с учетом их биологической активности. Исследования пероральной токсичности белка также обязательны и проводятся в 28-дневном эксперименте на грызунах (в соответствии с руководством OECD №407) [34; 334].

Поскольку для проведения запланированных исследований требуются значительные количества белка, для его получения обычно используют микробный синтез. Идентичность исследуемого белка и белка, синтезированного микроорганизмами, подтверждают сравнением молекулярной массы, изоэлектрических точек, аминокислотных последовательностей, посттрансляционных модификаций, иммунологической реактивности, ферментативной активности (если белок является ферментом) и др. [57; 190; 191].

Оценку безопасности нативного ГМ продукта проводят в случае, если его химический состав изменен (присутствие одного нового белка уже является достаточным основанием для таких исследований), то есть почти все существующие в настоящее время ГМО подпадают под

это требование. Оценка безопасности нативного продукта включает проведение субхронического токсикологического эксперимента на грызунах длительностью не менее 90 дней. Животные должны получать исследуемый продукт и его традиционный аналог как минимум в двух дозах – максимально возможной при соблюдении оптимального баланса пищевых веществ, и приближенной к среднему уровню потребления человеком [57]. В течение эксперимента ведутся наблюдения за поедаемостью корма, массой тела и общим состоянием животных. По завершении эксперимента проводится изучение гематологических показателей, биохимический анализ крови и мочи, морфологические исследования внутренних органов. Дополнительно могут быть проведены исследования на молодых быстро растущих животных (цыплятах-бройлерах, ягнятах, сомах и др.). Отклонение от нормальных значений прироста массы тела можно рассматривать как интегральный показатель неблагоприятных воздействий на организм, являющихся результатом проявления незаданных эффектов генетической модификации [16; 57; 136; 190; 191; 212].

Сравнение европейского и российского подходов в части проведения токсикологических исследований нативного продукта свидетельствует о более строгих требованиях, изначально принятых в России, поскольку продолжительность исследований должна была составлять не менее 180 дней, при этом список показателей включал, помимо аналогичных используемым в ЕС гематологических, биохимических, морфологических показателей, целый ряд системных биомаркеров (показателей, позволяющих оценить влияние вредных факторов на доклинической стадии), отражающих уровень адаптации организма к окружающей среде: системам ферментов метаболизма ксенобиотиков и ферментов лизосом, системе антиоксидантной защиты и процессам перекисного окисления липидов. Отбор материала для исследований проводился через 30 и 180 дней от начала эксперимента, причем данные, полученные на каждом из этапов исследований обладали как самостоятельной, так и совокупной значимостью: отбор материала через 30 дней совпадал со стадией полового созревания крыс, характеризующегося высокой активностью процессов роста и клеточной дифференцировки, следовательно, высокое диагностическое значение имели интегральные показатели; при отборе материала через 180 дней у животных зрелого возраста, получавших исследуемый продукт ежедневно в агравированном количестве на протяжении 1/4-1/5 жизни (из расчета продолжительности жизни крыс 2-2,5 года), весьма информативными могли быть результаты морфологических исследований. Обобщение и анализ данных, полученных на разных сроках эксперимента, позволял проследить состояние животных контрольной и опытной групп на разных этапах онтогенеза, что в значительной степени повышало диагностическую ценность полученных результатов [16; 30; 57].

Возвращаясь к европейскому подходу, исследования аллергенности ГМО так же, как и токсикологические исследования, подразделены на два основных блока: оценку аллергенных свойств нового белка и нативного продукта [161; 190; 191]. Аллергенные свойства белка изучают на основании сравнения с известными аллергенами (с использованием баз данных, содержащих информацию о трехмерной структуре и функции известных аллергенов и родственных им белков); определения потенциальной аллергенности в иммунохимических исследованиях *in vitro* с использованием IgE, выделенных из сыворотки крови пациентов, страдающих аллергией; определения устойчивости к воздействию протеолитических ферментов (пепсина, панкреатина) [34]. Несмотря на отсутствие абсолютной корреляции между устойчивостью белка к воздействию протеолитических ферментов и его аллергенными свойствами, доказанное в исследованиях научной группы под руководством Fu T.-J. [175], тест на устойчивость к расщеплению протеазами пищеварительного тракта млекопитающих можно считать дополнительным критерием, позволяющим выявить белковые аллергены [57].

Аллергологические исследования нативного продукта, включающие сравнение набора аллергенов исследуемого ГМО и его традиционного аналога, а также новейшие методы диагностики, например, профильные технологии, проводят в случае, если имеются данные об аллергенных свойствах организма-донора [108; 118; 161; 190; 191; 212; 253]. Согласно современным представлениям, использование профильных технологий, а именно, транскриптомики, протеомики и метаболомики при оценке безопасности ГМО, позволяет значительно повысить чувствительность и специфичность исследований, особенно в части выявления незадаанных эффектов генетической модификации. Вместе с тем, применение профильного анализа не ставит своей целью вытеснить подходы к оценке безопасности, построенные на сравнительной оценке ГМО и его традиционного аналога, его использование направлено на получение дополнительных доказательств безопасности ГМО для здоровья людей и животных [57].

Также противопоставляя российский и европейский подходы в части проведения аллергологических исследований, следует отметить, что потенциальная аллергенность и иммуномодулирующее действие ГМО изучались в двух блоках исследований на животных, получавших с рационом нативный продукт в максимально возможном количестве. Для оценки иммуномодулирующих и сенсибилизирующих свойств ГМО использовали мышей линий СВА и С57В1/6, для оценки аллергенного потенциала – крыс, на которых воспроизводилась модель системной анафилаксии и изучались показатели тяжести активного анафилактического шока и интенсивности гуморального иммунного ответа [30; 57]. Принимая во внимание, что российские и европейские исследования аллергенности не дублировали друг друга, при

государственной регистрации в России нового ГМО, уже разрешенного для использования в пищу на территории ЕС, производилась оценка максимально возможного объема данных, что повышало гарантии безопасности ГМ продукта.

В соответствии с требованиями EFSA [190; 191], исследования ГМО также включают оценку пищевой ценности, так как заданные и незаданные эффекты генетической модификации могут являться причиной изменения баланса макро- и микронутриентов, приводя к изменению пищевой ценности продукта; постмаркетинговый мониторинг, который выполняют с целью выявления незаданных эффектов генетической модификации, которые не могли быть обнаружены на стадии дорегистрационных исследований; ряд исследований, направленных на изучение взаимодействия ГМО с биотическими и абиотическими факторами окружающей среды; изучение потенциальной возможности к передаче генов; влияние на биогеохимические процессы и др. Рассмотрение всех полученных данных, включающих также оценку роли изучаемого ГМО в рационе питания и определение ожидаемого уровня и частоты потребления, позволяет провести расчет рисков для популяции и ее отдельных подгрупп, сравнение рисков с допустимыми уровнями, и др., то есть провести анализ риска для здоровья людей и/или животных [57].

В США за безопасность пищи отвечает Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA), однако официально ГМ пища не регулируется, поэтому процесс регистрации в случае, если ГМ пища по своему компонентному составу полностью соответствует традиционному аналогу (то есть, не было целенаправленного изменения состава продукта), проходит как добровольная консультация. Производители ГМО могут и не проходить консультации в FDA, однако, в соответствии с установившейся практикой, они предпочитают завершить процесс консультаций еще до выхода нового продукта на рынок. Заявитель подаёт досье, включающее информацию о новой ГМ линии, таксономических характеристиках растения-реципиента и организма-донора; структуре и функции внесенных генов; областях применения нового ГМО в пищу и корма, ожидаемом влиянии модификации на содержание основных нутриентов; технических свойствах модифицированного растения; отличительных характеристиках и функции белков, экспрессируемых рекомбинантной ДНК, включая их количественное содержание как непосредственно в различных частях ГМ растения, так и в пище, подвергнутой технологической обработке; возможном или предполагаемом токсическом и аллергенном действии белков, экспрессируемых рекомбинантной ДНК, и основаниях для заключения о безопасности потребления этих белков в составе пищи или корма; сравнении композиционного состава ГМО и его традиционного аналога (по основным макро- и микронутриентам,

антиалиментарным факторам, токсинам и т.п.); возможном аллергенном действии ГМО (влияние модификации на аллергенный потенциал); прочая информация, относящаяся к безопасности и пищевой ценности ГМ пищи [146; 169; 311]. По результатам проведенных консультаций заявитель получает письмо от FDA, в котором говорится, что агентство рассмотрело досье и согласно с выводами заявителя о безопасности растений и продуктов, получаемых из них, для использования в питании человека.

В случае если модификация растения направлена на придание ему инсектицидных свойств, белок, экспрессируемый на основе рекомбинантной ДНК, регулируется аналогично традиционным пестицидам, за его безопасность отвечает Агентство по охране окружающей среды США (Environmental Protection Agency, EPA). EPA устанавливает максимально допустимый уровень данного пестицида в пище, в 14-дневном эксперименте на мышах проводятся исследования острой пероральной токсичности (ведутся наблюдения за динамикой массы тела, массой внутренних органов, смертностью, а также макро- и микроскопические исследования внутренних органов). Кроме того, должен быть проведен поиск гомологии пестицидного белка с токсинами и аллергенами белковой природы, а также с белками, обладающими фармакологической, или иной биологической активностью (с использованием соответствующих баз данных); изучена стабильность белка при обработке протеолитическими ферментами желудочно-кишечного тракта, а также при действии высокой температуры [146; 169; 311].

Служба контроля здоровья животных и растений (Animal and Plant Health Inspection Service, APHIS) департамента сельского хозяйства США также участвует в регулировании использования ГМ растений. Согласно Постановлению о защите растений (Plant protection act), APHIS отвечает за защиту сельского хозяйства от вредителей и болезней, следовательно, APHIS регулирует использование организмов или продуктов, которые потенциально могут иметь вредное действие на другие растения, в том числе – возникшее в результате генетической модификации. В зоне ответственности APHIS находятся импорт, обращение, перемещение внутри штата, выпуск ГМО в окружающую среду, в том числе – для экспериментальных исследований и полевых испытаний [146; 311].

В Канаде ответственность за регулирование качества и безопасности пищевых продуктов, в том числе – новых источников пищи, поступающих на продовольственный рынок, разделена между Министерством здравоохранения (Health Canada) и Агентством по контролю за качеством пищевых продуктов (Canadian Food Inspection Agency, CFIA). Министерство здравоохранения отвечает за формирование стандартов и политики управления в области безопасности и пищевой ценности, а также за развитие новых требований к маркировке

пищевых продуктов, что позволит потребителям придерживаться принципов здорового питания. Агентство по контролю за качеством пищевых продуктов разрабатывает стандарты упаковки, маркировки, рекламы пищевых продуктов, выполняет контрольные и надзорные функции, а также отвечает за регулирование семян, ветеринарных препаратов, удобрений и кормов. Кроме того CFIA отвечает за разработку постановлений и руководств, относящихся к проведению оценки безопасности кормов для животных, полученных из растений с новыми признаками, а также к экологической экспертизе таких растений, тогда как Министерство здравоохранения отвечает за разработку постановлений и руководств, относящихся к оценке безопасности новых источников пищи [146; 149; 192; 311].

Во исполнение положений Закона о пище и лекарствах Канады (Canadian food and drugs act) было принято "Постановление о новой пище" (Novel food regulations), в соответствии с которым под определение "новая пища" подпадали ингредиенты, включая микроорганизмы, не имеющие истории безопасного использования в пищу; пища, которая была переработана, обработана, сохранена или упакована способом, который (1) не применялся ранее для данного вида пищевой продукции, (2) явился причиной значительных изменений данной пищевой продукции; пища, полученная из растений, животных или микроорганизмов, геном которых был модифицирован, в результате чего они приобрели исходно не свойственные им качества и/или потеряли исходно свойственные им качества; растения, животные или микроорганизмы, демонстрирующие одно или более свойственных ему качеств в пределах, выходящих за рамки физиологических колебаний [146; 149; 192; 311].

Согласно требованиям "Постановления о новой пище", производитель обязан представить информацию о готовящемся выпуске на продовольственный рынок нового продукта в соответствующий авторизованный орган – Министерство здравоохранения Канады, которое, в свою очередь, запрашивает все необходимые данные о безопасности данного продукта (в соответствии с требованиями Руководства по оценке безопасности новой пищи (Guidelines for the Safety Assessment of Novel Foods, 2006) [192]. К настоящему времени Министерством здравоохранения Канады разрешены более 100 видов новой пищи, в числе которых диацилглицероловое масло, не имеющее истории безопасного применения в пищу; обработанный УФ-излучением яблочный сок, что значительно повлияло на его микробиологические показатели; ГМ растения, устойчивые к пестицидам и насекомым. Следует отметить, что причисление продукта к категории "новая пища" в большей степени обусловлено свойствами продукта и в меньшей – технологией его получения. Оценка безопасности новой пищи основана на потенциальном риске, который может представлять

новая пища в сравнении с традиционным аналогом, основное внимание уделяется оценке влияния нового признака на безопасность продукта [146; 149; 311].

Таким образом, канадский подход представляет собой уникальную, отличную от других систему регулирования новой пищи, которая охватывает более широкий спектр продукции благодаря объект-обусловленному подходу отнесения продукта к соответствующей категории новой пищи, тогда как во всем мире принято использовать процесс-обусловленный подход [170; 190; 191; 195; 207; 258; 259; 343; 344; 345].

Используемые в настоящее время в пищу ГМ-продукты, в основном, представлены растениями, геном которых был изменен с целью придания им новых агрономических свойств – повышения устойчивости к гербицидам, вредителям, влиянию климатических факторов, повышения урожайности. Несмотря на достаточно продолжительную историю безопасного применения ГМО в питании людей, дискуссии об их потенциально возможном вреде не прекращаются как в обществе, так и в научных кругах. Наиболее резонансными научными публикациями о "вредном" действии ГМО являлись статьи Ewen S.W., Pusztai A. в 1999 [162], Ермаковой И.В. в 2006 [156] и Séralini GE et al. в 2012 году [360], авторы которых позаботились создать ажиотаж вокруг своих весьма спорных результатов с помощью средств массовой информации, что инициировало несколько волн эмоциональных научных дискуссий [153; 154; 160; 278]. Вместе с тем, анализ публикаций, посвященных проблеме исследований ГМО за весь период их использования в пищу, отражает накопление уже весьма значительной доказательной базы их безопасности [141; 348; 377], причем авторами этих статей были как сотрудники биотехнологических компаний, проводивших предрегистрационные исследования новых ГМ линий, так и независимые научные коллективы. Ниже представлены результаты токсикологических исследований некоторых ГМ культур, применяемых в пищу, в первую очередь – производимых в промышленных объемах сои и кукурузы.

В разное время различные исследовательские группы проводили сходные по продолжительности и набору изучаемых показателей исследования разных ГМ линий сои – сои линии 3Ø5423×40-3-2 [322], сои линии CV127 [120; 202], сои линии MON87708 [402] в субхронических токсикологических экспериментах на крысах длительностью не менее 90 дней. После изучения поедаемости корма, динамики массы тела, гематологических, биохимических и морфологических показателей были сделаны заключения о безопасности ГМ линий сои по сравнению с традиционными линиями. Venancio V.P. et al. [399] в исследованиях мутагенных свойств ГМ сои, выполненных на мышах, продемонстрировали протекторное антимуtagenное действие ГМ сои, аналогичное действию традиционной линии. Многочисленные исследования пищевой и биологической ценности кормов, содержащих различные линии ГМ сои,

выполненные на цыплятах-бройлерах, продемонстрировали отсутствие различий с традиционными сортами сои [204]. Подтверждение композиционной эквивалентности ГМ линий сои и их традиционных аналогов получено многими исследователями, в частности [165].

90-Дневные субхронические исследования ГМ кукурузы линий ВТ-38, DP-ØØ4114-3, ВТ799, GH5112E-11C были проведены Liu P. et al. [268], Delaney B. et al. [134], Guo Q.Y. et al. [194], Han S. et al. [199], соответственно. Изучены гематологические, биохимические и морфологические параметры, динамика массы тела, масса внутренних органов крыс. Полученные результаты свидетельствуют о безопасности данных ГМ линий кукурузы. ГМ кукуруза линии Vt11 была протестирована Nagy Y. et al. [200] в эксперименте на пяти поколениях мышей, проанализированы показатели, характеризующие репродуктивную функцию пре- и постнатальное развития потомства, различий между группами животных получавших с рационом ГМ кукурузу и ее традиционный аналог, не выявлено. В статье Flachowsky G. et al. [167] обобщены результаты исследований ГМ кукурузы линии Vt176 на цыплятах-бройлерах, быках и коровах, курах-несушках, свиньях, перепелах и овцах. В экспериментах изучены поедаемость кормов, прирост массы тела, в том числе мышечной и жировой массы, общее состояние животных, уровень смертности, коэффициенты конверсии кормов, показатели репродуктивной функции. Не выявлено негативного действия ГМ кукурузы по сравнению с традиционным аналогом.

Domingo J.L. [142] проведен анализ публикаций, посвященных исследованиям безопасности различных ГМ линий риса, диапазон привнесенных признаков у которых распределялся от повсеместно используемого синтеза Vt-белков, определяющего устойчивость к вредителям, до экспрессии фармацевтического протеина – человеческого сывороточного альбумина (линия 4-114-7). Основным выводом различных по дизайну, набору изучаемых показателей и экспериментальным животным токсикологических исследований было подтверждение отсутствия какого-либо токсического действия изученных ГМ линий риса. В этой же статье описаны результаты иммунотоксикологических исследований двух линий устойчивой к засухе ГМ пшеницы, выполненных на мышах, продемонстрировавших отсутствие иммунотоксического действия изученных ГМ линий.

Южнокорейские исследователи Rhee G.S. et al. [336] провели исследования ГМ картофеля линии N-14 (Norland potato), предоставленного Корейским научно-исследовательским институтом биологии и биотехнологии, на пяти поколениях крыс. В ходе исследований были изучены репродуктивная функция, пре- и постнатальное развитие потомства, общее состояние и клинический статус взрослых животных. По результатам

исследований был сделан вывод об отсутствии негативного действия ГМ картофеля по сравнению с его традиционным аналогом.

Основные результаты исследований безопасности ГМО, проведенных в России, представлены в Главе 3.2 и в публикациях [57; 385] и др. В целом, полученные нами результаты согласуются с приведенными выше и свидетельствуют о безопасности изученных ГМО растительного происхождения.

Подводя итог данного раздела отметим, что российская система оценки безопасности ГМО уже на этапе своего создания значительно отличалась от предложенного Codex Alimentarius, FAO и ВОЗ подхода расширенным комплексом общетоксикологических исследований и изучением специфических видов токсичности в экспериментах *in vivo* [38; 40; 58]. Используемый комплексный подход обеспечивал наиболее полную и достоверную информацию о потенциальном генотоксическом, иммунотоксическом и аллергенном действии ГМО, а также позволял выявить возможные незадаанные эффекты генетической модификации [11; 33; 75; 77; 78; 335; 343; 161; 46; 320; 389]. Решение о государственной регистрации ГМО растительного происхождения в Российской Федерации было основано на совокупности экспертной оценки материалов, представленных заявителем, результатов комплексной медико-биологической оценки безопасности, медико-генетических исследований и оценки технологических свойств ГМО [16]. За период 1999-2006 гг. в России была проделана большая научная работа по направлениям обеспечения безопасности ГМО, накоплен значительный фактический материал, создана нормативно-методическая база и существенный задел для дальнейших фундаментальных и прикладных научных исследований в области оценки безопасности и методов выявления ГМО в пищевой продукции, а также реализована возможность использования ГМО для производства пищевых продуктов в рамках действующего законодательства [57; 62]. Опыт исследований ГМО, накопленный в России за это время подтвердил эффективность используемого подхода, так, ни один из ГМО, проходивших регистрационные исследования в России, не был впоследствии признан опасным для здоровья человека или животных

Вместе с тем, развитие методологии токсикологических исследований, а также наметившаяся в тот период устойчивая тенденция к росту посевов ГМ сельскохозяйственных культур, расширению перечня ГМ линий и видов растений, имеющих ГМ аналоги, определили необходимость дальнейшего развития системы оценки безопасности в опережающем режиме.

### 3 Обоснование цели и выбора методов исследования

В настоящее время сельскохозяйственное производство ориентировано на широкомасштабное использование генно-инженерных методов селекции, позволяющих получить растения с заданными свойствами в кратчайшие сроки, поэтому проблема обеспечения безопасности такой продукции выходит на первый план. Это определило направление работы, целью которой являлось создание новой расширенной системы оценки ГМО, гарантирующей их безопасность для настоящего и последующих поколений.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- проведение поисковых исследований для выбора показателей, моделей и "нагрузочных" проб с целью формирования комплекса токсиколого-гигиенических исследований, необходимых для доказательства безопасности ГМО;
- формирование базы данных физиологических значений показателей, изучаемых в рамках токсикологических и репротоксикологических экспериментов на крысах *in vivo*;
- разработка нового стандартизованного синтетического рациона для лабораторных животных с учетом современных данных о физиологических потребностях в макро- и микронутриентах, а также о биодоступности витаминов и минеральных веществ;
- разработка модели повышения чувствительности крыс к токсической нагрузке посредством модификации состава рациона, вызывающей снижение адаптационного потенциала организма, подтверждение эффективности этой "нагрузочной" пробы в токсикологических и репротоксикологических исследованиях с низкими дозами токсикантов;
- разработка новой расширенной системы оценки ГМО, гарантирующей их безопасность не только для настоящего, но и последующих поколений, использование этой системы для оценки безопасности новых линий ГМ сои и кукурузы. Формирование порядка оценки безопасности ГМО с комбинированными признаками.

На основании анализа современных токсиколого-гигиенических подходов и с учетом поставленных целей и задач, для работы были выбраны наиболее адекватные, стандартизованные и информативные методы исследований, позволяющие всесторонне изучить клинический статус животных, а именно:

- морфометрические методы оценки динамики роста (для крысят первого месяца жизни), массы тела и общего состояния лабораторных животных на протяжении всего срока эксперимента, а также характеризующие состояние органов и систем организма на основании измерения массы внутренних органов (почек, надпочечников, семенников/яичников, легких, печени, тимуса, селезенки, сердца, простаты, мозга, гипофиза) [77], и развитие скелета – на основании остеометрических исследований

- закладок костей нижней челюсти, плечевых, локтевых, лучевых, бедренных, большеберцовых и малоберцовых костей у плодов по методу Dawson A.B. [75; 130];
- гематологические, характеризующие состояние циркулирующей крови и кроветворной системы [17; 31]. Исследования выполнены на гематологическом анализаторе "Coulter Ac•ТТМ 5 diff OV", набор изучаемых показателей включал концентрацию гемоглобина, общее количество эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, гематокритную и тромбокритную величины, среднее содержание гемоглобина в одном эритроците, среднюю концентрацию гемоглобина в одном эритроците, средние объемы одного эритроцита и одного тромбоцита, дифференциальный подсчет лейкоцитарной формулы;
  - биохимические методы исследования крови и мочи, характеризующие обменную, защитную, эндокринную и синтетическую функцию печени, экскреторную и регуляторную функцию почек, а также белковый, жировой и углеводный обмены, электролитный баланс [17; 31]. Исследования выполнены на автоматическом биохимическом анализаторе «Konelab 20i», набор показателей сыворотки крови включал содержание общего белка, альбумина, глобулина, триглицеридов, общего билирубина, прямого билирубина, мочевины, мочевой кислоты, креатинина, глюкозы, холестерина, микроэлементов (кальция, магния, железа, натрия, калия, фосфора, хлора), активность лактатдегидрогеназы, креатинфосфокиназы, альфа-амилазы, щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы; в моче изучали суточный диурез, цвет и прозрачность, pH, относительную плотность, содержание белка, креатинина, мочевины, мочевой кислоты, глюкозы, микроэлементов (кальция, магния, фосфора).
  - морфологические методы исследования органов грудной и брюшной полостей, головного мозга, характеризующие особенности их макроскопической и микроскопической структуры, и позволяющие не только выявить наличие/отсутствие патологических изменений в организме, но и оценить их стадию и степень тяжести [17].

Для более специфической характеристики функционального состояния адаптационных и защитных систем были использованы биохимические методы определения системных биомаркеров – ферментов 1 и 2 фазы биотрансформации ксенобиотиков, ферментов системы антиоксидантной защиты, перекисного окисления липидов. Для изучения интенсивности процессов апоптоза использовали цитологические методы – ДНК-комет и проточной цитофлюориметрии [41; 45; 122; 305; 338; 366].

Особое внимание было уделено методам исследования репродуктивной функции, пре- и постнатального развития потомства, для чего был рассмотрен и прошел испытания в нагрузочных модельных экспериментах целый ряд зоометрических и морфологических методов, обеспечивающих получение исчерпывающей информации о возможной репродуктивной

токсичности исследуемых объектов. Набор выбранных методов включает оценку эффективности спаривания самцов и самок, содержание половых гормонов (эстрадиола, прогестерона и тестостерона) в сыворотке крови беременных самок, массу внутренних органов беременных самок, пренатальное развитие плодов (количество желтых тел, мест имплантации, живых плодов, резорбций, пред- и постимплантационная гибель эмбрионов, зоометрические показатели плодов, оценка внутренних органов по методу Wilson J.G. [406], оценка состояния скелета по методу Dawson A.B. [130]), постнатальное развитие крысят (по численности пометов, числу живых и мертвых новорожденных, выживаемости с 0 по 5-й и с 6-го по 25-й дни жизни, динамике зоометрических показателей (массы тела и краниокаудального размера), общему физическому развитию крысят (срокам отлипания ушных раковин, появления первичного волосяного покрова, прорезывания резцов, открытия глаз, опускания семенников, открытия влагалища) [13].

Для разработки так называемых "нагрузочных" проб, позволяющих отличить физиологическую адаптацию от компенсированного скрытого патологического процесса и выявить влияние малотоксичных факторов, была выбрана модель модификации витаминно-минерального состава рационов, снижающая адаптационный потенциал лабораторных животных. В рамках этих исследований определены пороговые значения содержания витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub> и минеральных веществ (Fe<sup>3+</sup> и Mg<sup>2+</sup>) в рационе, обеспечивающие необходимое снижение уровня адаптационного потенциала у крыс, эффективность предложенной модели доказана в токсикологических исследованиях [68; 70; 72].

Таким образом, последовательное применение вышеперечисленных методических подходов, безусловно, обеспечит исчерпывающую токсиколого-гигиеническую характеристику ГМО, позволяя выявить все возможные прямые и отдаленные последствия, что является основанием для включения этих методов в новую систему оценки безопасности ГМО.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### 4 Материал и методы исследования

#### 4.1 Экспериментальные животные

Исследования выполнены на крысах линии Вистар, исходные колонии были получены из питомника лабораторных животных Филиал "Столбовая" ФГБНУ "Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства". Всего в работе было использовано 5085 взрослых животных (2649 самок и 2436 самцов), 10598 крысят 1-го месяца жизни и 5428 плодов (20-й день пренатального развития). Крысы содержались в пластиковых клетках с древесной подстилкой, в отапливаемом (температурный режим +21-23°C) и вентилируемом помещении с естественным освещением, доступ к корму и воде – *ad libitum*. Количество крыс в одной клетке составляло: в период ссаживания – 3 особи (1 самец + 2 самки); период рождения потомства – 1 самка с детенышами; промежуточные стадии (возраст 30-200 дней) – 2-4 особи одного пола [48]. В течение экспериментов велись ежедневные наблюдения за внешним видом, поведением, поедаемостью корма и общим состоянием животных. Измерение массы тела крыс 30-200 дней жизни проводили еженедельно, массу тела и краниокаудальный размер (рост) крысят первого месяца жизни определяли на 2-й, 5-й, 10-й, 15-й, 20-й и 25-й дни жизни. Работу с животными проводили в соответствии с Приказом Минздрава Российской Федерации № 267 от 19.06.2003 г. "Об утверждении правил лабораторной практики", Приказом Минздравсоцразвития России № 708 н от 23.08.2010 "Об утверждении правил лабораторной практики" и Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 193н от 01.04.2016 г. "Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики", а также Руководством американской ветеринарно-медицинской ассоциации [379].

Генотоксикологические исследования выполнены на мышьях самцах линии C57Bl/6, характеризующихся высоким уровнем спонтанного мутагенеза (всего 300 мышей). Мышей с исходной массой тела 18-20 г получали из питомника лабораторных животных "Столбовая" ФГБНУ "Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства". Мыши содержались в пластиковых клетках с древесной подстилкой, доступ к корму и воде – *ad libitum*. Поскольку для данной линии свойственен агрессивный тип поведения, их содержали по 1 в клетке на протяжении всех экспериментов.

#### 4.2 Экспериментальные рационы

В экспериментах использован полусинтетический казеиновый рацион (ПКР), состав базового рациона представлен в таблице 5.

Таблица 5 – Состав базового полусинтетического казеинового рациона (исходный рацион)

| Ингредиенты                            | Количество,<br>г | Белок,<br>г  | Жир,<br>г    | Углеводы,<br>г | Калорийность  |            |
|--|------------------|--------------|--------------|----------------|---------------|------------|
|  |                  |              |              |                | ккал          | %          |
| Казеин                                 | 25,0             | 20,20        | 0,38         | -              | 84,22         | 22,05      |
| Крахмал маисовый                       | 58,0             | 0,58         | -            | 50,20          | 203,12        | 53,18      |
| Масло подсолнечное<br>нерафинированное | 5,0              | -            | 4,99         | -              | 44,91         | 11,76      |
| Лярд                                   | 5,0              | -            | 4,98         | -              | 44,82         | 11,73      |
| Солевая смесь <sup>1</sup>             | 4,0              | -            | -            | -              | -             | -          |
| Смесь в/р витаминов <sup>2</sup>       | 1,0              | -            | -            | 1,0            | 4,0           | 1,05       |
| Смесь ж/р витаминов <sup>3</sup>       | 0,1              | -            | 0,10         | -              | 0,9           | 0,23       |
| Микрокристаллическая<br>целлюлоза      | 2,0              | -            | -            | -              | -             | -          |
| <b>ИТОГО</b>                           | <b>100,1</b>     | <b>20,78</b> | <b>10,45</b> | <b>51,20</b>   | <b>381,97</b> | <b>100</b> |

<sup>1</sup> состав солевой смеси представлен в таблице 6

<sup>2</sup> 1 г содержит: тиамин (В1) – 0,4 мг, рибофлавин (В2) – 0,6 мг, пиридоксин (В6) – 0,4 мг, никотиновой кислоты – 3,0 мг, пантотената кальция – 1,5 мг, фолиевой кислоты – 0,2 мг, цианкобаламина (В12) – 0,003 мг, викасола – 0,1 мг, L-метионина – 50 мг, глюкозы – до 1 г.

<sup>3</sup> 0,1 мл содержит: ретинола ацетата 800 МЕ, эргокальциферола – 70 МЕ, α-токоферола ацетата – 5 мг, подсолнечного масла – до 0,1 мл.

Таблица 6 – Состав солевой смеси

| №  | Название соли                        | Химическая формула   | Количество, г |
|----|--------------------------------------|--|---------------|
| 1  | Хлористый натрий                     | NaCl   | 139,39        |
| 2  | Калий фосфорнокислый, однозамещенный | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>  | 388,98        |
| 3  | Магний сернокислый                   | MgSO <sub>4</sub>  | 57,49         |
| 4  | Кальций углекислый                   | CaCO <sub>3</sub>  | 380,54        |
| 5  | Железо сернокислое                   | FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O   | 26,49         |
| 6  | Калий йодистый                       | KI   | 0,77          |
| 7  | Марганец сернокислый                 | MnSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O   | 4,55          |
| 8  | Цинк сернокислый                     | ZnSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O   | 0,59          |
| 9  | Медь сернокислая                     | CuSO <sub>4</sub> ×5H <sub>2</sub> O   | 0,48          |
| 10 | Кобальт хлористый                    | CoCl <sub>2</sub> ×6H <sub>2</sub> O   | 0,024         |
| 11 | Натрий фтористый                     | NaF  | 0,59          |
| 12 | Алюмокалиевые квасцы                 | K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> ×24H <sub>2</sub> O | 0,11          |
|    | <b>ИТОГО</b>                         |  | <b>1000</b>   |

Таблица 7 – Состав рациона AIN-93G [332]

| Ингредиенты                      | Количество,<br>г | Белок,<br>г | Жир,<br>г | Углеводы,<br>г | Калорийность |      |
|----------------------------------|------------------|-------------|-----------|----------------|--------------|------|
|                                  |                  |             |           |                | ккал         | %    |
| Казеин                           | 20,0             | 16,2        | 0,32      | -              | 67,7         | 18,7 |
| Крахмал маисовый                 | 39,7             | 0,40        | -         | 34,40          | 139,2        | 38,5 |
| Декстрин кукурузный              | 13,2             | -           | -         | 11,20          | 44,8         | 12,4 |
| Сахароза                         | 10,0             | -           | -         | 9,99           | 40,0         | 11,1 |
| Масло соевое                     | 6,9              | -           | 6,90      | -              | 62,1         | 17,2 |
| Солевая смесь <sup>1</sup>       | 3,5              | -           | -         | 0,7            | 2,8          | 0,8  |
| Смесь в/р витаминов <sup>2</sup> | 1,0              | -           | -         | 1,0            | 4,0          | 1,1  |
| Смесь ж/р витаминов <sup>3</sup> | 0,1              | -           | 0,10      | -              | 0,9          | 0,2  |
| L-цистеин                        | 0,3              | -           | -         | -              | -            | -    |
| Холин битартрат                  | 0,25             | -           | -         | -              | -            | -    |
| Трет-бутилгидрохинон             | 0,0014           | -           | -         | -              | -            | -    |
| Микрокристаллическая целлюлоза   | 5,0              | -           | -         | -              | -            | -    |
| ИТОГО                            | 100,0            | 16,60       | 7,32      | 57,29          | 361,5        | 100  |

<sup>1</sup> состав солевой смеси AIN-93G представлен в таблице 8

<sup>2</sup> 1 г содержит: тиамин (B1) – 0,6 мг, рибофлавин (B2) – 0,6 мг, пиридоксин (B6) – 0,7 мг, никотиновой кислоты – 3,0 мг, пантотената кальция – 1,6 мг, фолиевой кислоты – 0,2 мг, биотина – 0,02 мг, цианокобаламина (B12) – 0,0025 мг, викасола – 0,075 мг, L-метионина – 50 мг, глюкозы – до 1 г.

<sup>3</sup> 0,1 мл содержит: ретинола ацетата – 400 МЕ, эргокальциферола – 100 МЕ, α-токоферола ацетата – 7,5 мг, подсолнечного масла – до 0,1 мл

Таблица 8 – Состав солевой смеси AIN-93G

| №  | Название соли           | Химическая формула   | Количество, г |
|----|-------------------------|--|---------------|
| 1  | Кальций углекислый      | CaCO <sub>3</sub>  | 357           |
| 2  | Калий фосфорнокислый,   | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>  | 196           |
| 3  | Калий сернокислый       | K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>   | 46,6          |
| 4  | Калий лимоннокислый     | НОС(COOK)(CH <sub>2</sub> COOK) <sub>2</sub> ×H <sub>2</sub> O                     | 70,8          |
| 5  | Натрий хлористый        | NaCl   | 74            |
| 6  | Магния окись            | MgO  | 24            |
| 7  | Железо лимоннокислое    | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> FeO <sub>7</sub>                                     | 6,06          |
| 8  | Цинк углекислый         | ZnCO <sub>3</sub>  | 1,65          |
| 9  | Марганец углекислый     | MnCO <sub>3</sub>  | 0,63          |
| 10 | Медь углекислая         | CuCO <sub>3</sub> ×Cu(OH) <sub>2</sub>   | 0,3           |
| 11 | Калия йодат             | KIO <sub>3</sub>   | 0,01          |
| 12 | Натрия селенат          | Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub>   | 0,01025       |
| 13 | Парамолибдат аммония    | (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> ×4H <sub>2</sub> O | 0,00795       |
| 14 | Натрия метасиликат      | Na <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Si×9H <sub>2</sub> O                                | 1,45          |
| 15 | Хромовокалиевые квасцы  | CrK(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ×12H <sub>2</sub> O                             | 0,275         |
| 16 | Литий хлористый         | LiCl   | 0,0174        |
| 17 | Борная кислота          | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>   | 0,0815        |
| 18 | Натрий фтористый        | NaF  | 0,0635        |
| 19 | Никель углекислый       | 2NiCO <sub>3</sub> ·3Ni(OH) <sub>2</sub> ×4H <sub>2</sub> O                        | 0,0318        |
| 20 | Аммоний ванадиевокислый | NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>  | 0,0066        |
| 21 | Сахароза                | C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>                                    | 221,026       |
|    | ИТОГО                   |  | 1000          |

Таблица 9 – Состав оптимизированного полусинтетического казеинового рациона

| Ингредиенты                         | Кол-во, г | Белок, г | Жиры, г | Углеводы, г | Калорийность |       |
|-------------------------------------|-----------|----------|---------|-------------|--------------|-------|
|                                     |           |          |         |             | ккал         | %     |
| Казеин                              | 23,949    | 20,21    | 0,36    | -           | 84,08        | 23,46 |
| Крахмал маисовый                    | 59,0      | 0,59     | -       | 51,07       | 206,64       | 57,65 |
| Масло подсолнечное нерафинированное | 5,0       | -        | 4,99    | -           | 44,91        | 12,53 |
| Лярд                                | 2,0       | -        | 1,99    | -           | 17,91        | 5,00  |
| Солевая смесь <sup>1</sup>          | 3,5       | -        | -       | -           | -            | -     |
| Смесь в/р витаминов <sup>2</sup>    | 1,0       | -        | -       | 1,0         | 4,00         | 1,11  |
| Смесь ж/р витаминов <sup>3</sup>    | 0,1       | -        | 0,1     | -           | 0,9          | 0,25  |
| L-цистеин                           | 0,2       | -        | -       | -           | -            | -     |
| Холин                               | 0,25      | -        | -       | -           | -            | -     |
| трет-Бутилгидрохинон                | 0,001     | -        | -       | -           | -            | -     |
| Микрокристаллическая целлюлоза      | 5,0       | -        | -       | -           | -            | -     |
| ИТОГО                               | 100,0     | 20,80    | 7,44    | 52,07       | 358,44       | 100   |

<sup>1</sup> состав солевой смеси представлен в таблице 8

<sup>2</sup> 1 г содержит: тиамин (В<sub>1</sub>) – 0,5 мг, рибофлавин (В<sub>2</sub>) – 0,6 мг, пиридоксин (В<sub>6</sub>) – 0,6 мг, никотиновой кислоты – 3,0 мг, пантотената кальция – 1,5 мг, фолиевой кислоты – 0,2 мг, цианкобаламина (В<sub>12</sub>) – 0,003 мг, викасола – 0,08 мг, D-биотин – 0,02 мг, глюкозы – до 1 г.

<sup>3</sup> 0,1 мл содержит: ретинола ацетата 400 МЕ, эргокальциферола – 100 МЕ, α-токоферола ацетата – 7,5 мг, подсолнечного масла – до 0,1 мл.

Общевиварный рацион использовали при аллергологических исследованиях сои и кукурузы. Продуктовый набор и химический состав контрольного общевиварного рациона представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Состав контрольного общевиварного рациона

| Ингредиенты рациона    | Масса, г/100 г рациона | Белок, г | Жиры, г | Углеводы, г | Калорийность |      |
|------------------------|------------------------|----------|---------|-------------|--------------|------|
|                        |                        |          |         |             | ккал         | %    |
| Подсолнечник (семена)  | 8,5                    | 1,75     | 4,50    | 0,26        | 51,0         | 26,9 |
| Овес                   | 23,8                   | 2,38     | 1,45    | 9,0         | 59,5         | 31,4 |
| Хлеб 2 сорта пшеничный | 9,2                    | 0,78     | 0,12    | 4,22        | 21,5         | 11,4 |
| Каша пшеничная         | 5,8                    | 0,62     | 0,78    | 3,60        | 24,2         | 12,8 |
| Творог нежирный        | 4,6                    | 0,83     | 0,028   | 0,083       | 4,06         | 2,14 |
| Рыбная мука            | 1,2                    | 0,53     | 0,062   | -           | 2,70         | 1,43 |
| Мясо 2 категории       | 9,2                    | 1,85     | 0,90    | -           | 15,5         | 8,18 |
| Морковь                | 18,5                   | 0,24     | 0,018   | 1,34        | 5,54         | 2,92 |
| Зелень (салат)         | 18,5                   | 0,28     | 0,037   | 0,58        | 3,14         | 1,66 |
| Рыбий жир              | 0,2                    | -        | 0,23    | -           | 2,08         | 1,10 |
| Дрожжи                 | 0,2                    | 0,12     | 0,023   | 0,19        | 0,20         | 0,11 |
| NaCl                   | 0,35                   | -        | -       | -           | -            | -    |
| ИТОГО                  | 100                    | 9,38     | 8,15    | 19,27       | 189,4        | 100  |

Кукурузу или сою включали в состав корма, исключая эквивалентное по калорийности и содержанию пищевых веществ количество овсяной крупы и зерновой смеси. Продуктовый набор и химический состав общевиварных рационов с включением кукурузы или сои представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Состав общевиварных рационов с включением сои или кукурузы

| Ингредиент, г<br>(из расчета на 1 крысу/сут.) | Рацион с включением сои | Рацион с включением кукурузы |
|---|-------------------------|------------------------------|
| Мука соевая обезжиренная                      | 3,3                     | -                            |
| Кукурузная крупа                              | -                       | 3,5                          |
| Зерновая смесь                                | 12,5                    | 12,5                         |
| Хлеб 2 сорт                                   | 4,0                     | 4,0                          |
| Творог  | 2,0                     | 2,0                          |
| Рыбная мука                                   | 0,5                     | 0,5                          |
| Мясо 2 категория                              | 4,0                     | 4,0                          |
| Морковь                                       | 8,0                     | 8,0                          |
| Зелень  | 8,0                     | 8,0                          |
| Рыбий жир                                     | 0,1                     | 0,1                          |
| Дрожжи  | 0,1                     | 0,1                          |
| NaCl  | 0,15                    | 0,15                         |
| Основные нутриенты                            |                         |                              |
| Белок   | 5,69                    | 3,52                         |
| Жир   | 1,17                    | 1,21                         |
| Углеводы                                      | 10,79                   | 12,5                         |
| Энергия, ккал                                 | 74,05                   | 75,0                         |

В полусинтетические рационы сою включали в виде обезжиренной муки, кукурузу – в виде муки, замену ингредиентов рациона производили с учетом содержания белков, жиров, углеводов и пищевых волокон во вводимом продукте при соблюдении принципа изокалорийности

Таблица 12 – Состав полусинтетических рационов с включением кукурузы (эксперимент на поколениях)

| Ингредиенты<br>рациона, г        | Группа  |         |                  |       |
|----------------------------------|---------|---------|------------------|-------|
|                                  | РОСС144 | РОСС197 | Докучаевская 250 | HE/89 |
| Кукурузная крупа                 | 38,9    | 41,4    | 39,1             | 33,1  |
| Казеин                           | 18,7    | 17,6    | 19,2             | 19,3  |
| Крахмал маисовый                 | 29,3    | 28,5    | 29,0             | 34,0  |
| Масло подсолнечное               | 3,0     | 2,5     | 2,7              | 3,5   |
| Лярд                             | 5,0     | 5,0     | 5,0              | 5,0   |
| Солевая смесь <sup>1</sup>       | 4,0     | 4,0     | 4,0              | 4,0   |
| Смесь в/р витаминов <sup>1</sup> | 1,0     | 1,0     | 1,0              | 1,0   |
| Смесь ж/р витаминов <sup>1</sup> | 0,1     | 0,1     | 0,1              | 0,1   |
| ИТОГО                            | 100,0   | 100,1   | 100,1            | 100,0 |

<sup>1</sup> состав солевой смеси, смесей водорастворимых и жирорастворимых витаминов представлен в таблицах 5-6

и идентичности химического состава. Продуктовый набор и химический состав полусинтетических рационов с включением сои и кукурузы представлены в таблицах 12-14. Экспериментальные рационы животные получали на протяжении всего последующего периода исследований. Приготовление сухих смесей рационов осуществляли 2 раза в месяц, сою и кукурузу вводили в состав рациона непосредственно перед кормлением (3 раза в неделю).

Таблица 13 – Состав оптимизированных полусинтетических казеиновых рационов с включением сои

| Ингредиенты рациона, г           | Линия FG72 |       | Линия MON87701 |       | Линия SYHT0H2 |       | Линия MON87701× MON89877 (в виде шрота) |       | Линия MON87708 |       |
|----------------------------------|------------|-------|----------------|-------|---------------|-------|---|-------|----------------|-------|
|                                  | К          | О     | К              | О     | К             | О     | К                                       | О     | К              | О     |
| Обезжиренная соевая мука         | 41,33      | 41,6  | 42,60          | 40,26 | 41,32         | 40,13 | 44,00                                   | 43,90 | 42,56          | 43,85 |
| Крахмал маисовый                 | 43,84      | 43,66 | 44,64          | 47,14 | 46,65         | 47,34 | 41,16                                   | 41,76 | 41,90          | 40,65 |
| Масло подсолнечное               | 4,796      | 4,687 | 3,91           | 4,01  | 4,84          | 4,85  | 4,63                                    | 4,44  | 5,21           | 5,22  |
| Лярд                             | 2,0        | 2,0   | 2,0            | 2,0   | 2,0           | 2,0   | 2,0                                     | 2,0   | 2,0            | 2,0   |
| Солевая смесь <sup>1</sup>       | 3,5        | 3,5   | 3,5            | 3,5   | 3,5           | 3,5   | 3,5                                     | 3,5   | 3,5            | 3,5   |
| Смесь в/р витаминов <sup>1</sup> | 1,0        | 1,0   | 1,0            | 1,0   | 1,0           | 1,0   | 1,0                                     | 1,0   | 1,0            | 1,0   |
| Смесь ж/р витаминов <sup>1</sup> | 0,1        | 0,1   | 0,1            | 0,1   | 0,1           | 0,1   | 0,1                                     | 0,1   | 0,1            | 0,1   |
| L-цистеин                        | 0,2        | 0,2   | 0,2            | 0,2   | 0,2           | 0,2   | 0,2                                     | 0,2   | 0,2            | 0,2   |
| Холин                            | 0,25       | 0,25  | 0,25           | 0,25  | 0,25          | 0,25  | 0,25                                    | 0,25  | 0,25           | 0,25  |
| трет-Бутилгидрохинон             | 0,001      | 0,001 | 0,001          | 0,001 | 0,001         | 0,001 | 0,001                                   | 0,001 | 0,001          | 0,001 |
| Микрокристаллическая целлюлоза   | 2,934      | 2,92  | 2,21           | 2,70  | 1,013         | 1,188 | 3,15                                    | 2,85  | 3,28           | 3,22  |
| ИТОГО                            | 99,95      | 99,91 | 100,4          | 101,2 | 100,8         | 100,5 | 100,0                                   | 100,0 | 100,0          | 100,0 |

<sup>1</sup> здесь и в таблице 14: состав солевой смеси, смесей водорастворимых и жирорастворимых витаминов представлены в таблицах 8-9

Таблица 14 – Состав оптимизированных полусинтетических казеиновых рационов с включением кукурузы

| Ингредиенты рациона, г | Линия 5307 |       | Линия 1507 |       | Линия MZHGOJG |       | Линия DAS-40278-9 |       | Линия MON89034 |       |
|------------------------|------------|-------|------------|-------|---------------|-------|-------------------|-------|----------------|-------|
|                        | К          | О     | К          | О     | К             | О     | К                 | О     | К              | О     |
| Кукурузная крупа       | 51,02      | 50,51 | 48,54      | 47,94 | 44,50         | 45,45 | 38,46             | 38,46 | 36,98          | 35,59 |
| Крахмал маисовый       | 21,11      | 21,07 | 21,12      | 21,78 | 25,18         | 24,06 | 29,72             | 30,44 | 31,62          | 32,61 |
| Казеин                 | 19,57      | 19,62 | 18,81      | 19,10 | 20,98         | 20,58 | 20,74             | 20,06 | 20,83          | 21,40 |
| Масло подсолнечное     | 2,95       | 2,97  | 2,74       | 2,81  | 2,99          | 3,01  | 4,02              | 3,99  | 3,92           | 3,98  |
| Лярд                   | 2,0        | 2,0   | 2,0        | 2,0   | 2,0           | 2,0   | 2,0               | 2,0   | 2,0            | 2,0   |
| Солевая смесь          | 3,5        | 3,5   | 3,5        | 3,5   | 3,5           | 3,5   | 3,5               | 3,5   | 3,5            | 3,5   |
| Смесь в/р витаминов    | 1,0        | 1,0   | 1,0        | 1,0   | 1,0           | 1,0   | 1,0               | 1,0   | 1,0            | 1,0   |
| Смесь ж/р витаминов    | 0,1        | 0,1   | 0,1        | 0,1   | 0,1           | 0,1   | 0,1               | 0,1   | 0,1            | 0,1   |
| L-цистеин              | 0,2        | 0,2   | 0,2        | 0,2   | 0,2           | 0,2   | 0,2               | 0,2   | 0,2            | 0,2   |
| Холин                  | 0,25       | 0,25  | 0,25       | 0,25  | 0,25          | 0,25  | 0,25              | 0,25  | 0,25           | 0,25  |
| трет-Бутилгидрохинон   | 0,001      | 0,001 | 0,001      | 0,001 | 0,001         | 0,001 | 0,001             | 0,001 | 0,001          | 0,001 |
| ИТОГО                  | 101,7      | 101,2 | 98,3       | 98,7  | 100,7         | 100,2 | 100,0             | 100,0 | 100,4          | 100,6 |

Таблица 15 – Состав солевой смеси (эксперимент с литием)

| №  | Название соли  | Контрольная группа | Опытная группа |
|----|--|--------------------|----------------|
| 1  | Кальций углекислый, CaCO <sub>3</sub>  | 357                | 357            |
| 2  | Калий фосфорнокислый, однозамещенный, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                                    | 196                | 196            |
| 3  | Калий сернокислый, K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>  | 46,6               | 46,6           |
| 4  | Калий лимоннокислый, HOC(COOK)(CH <sub>2</sub> COOK) <sub>2</sub> ×H <sub>2</sub> O                      | 70,8               | 70,8           |
| 5  | Натрий хлористый, NaCl   | 74                 | 74             |
| 6  | Магния окись, MgO  | 24                 | 24             |
| 7  | Железо лимоннокислое, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> FeO <sub>7</sub>                                     | 6,06               | 6,06           |
| 8  | Цинк углекислый, ZnCO <sub>3</sub>   | 1,65               | 1,65           |
| 9  | Марганец углекислый, MnCO <sub>3</sub>   | 0,63               | 0,63           |
| 10 | Медь углекислая, CuCO <sub>3</sub> ×Cu(OH) <sub>2</sub>  | 0,3                | 0,3            |
| 11 | Калия йодат, KIO <sub>3</sub>  | 0,01               | 0,01           |
| 12 | Натрия селенат, Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub>   | 0,01025            | 0,01025        |
| 13 | Парамолибдат аммония, (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> ×4H <sub>2</sub> O | 0,00795            | 0,00795        |
| 14 | Натрия метасиликат, Na <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Si×9H <sub>2</sub> O                                  | 1,45               | 1,45           |
| 15 | Хромовокалиевые квасцы, CrK(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ×12H <sub>2</sub> O                           | 0,275              | 0,275          |
| 16 | Литий хлористый, LiCl  | 0,0174             | 0              |
| 17 | Борная кислота, H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>   | 0,0815             | 0,0815         |
| 18 | Натрий фтористый, NaF  | 0,0635             | 0,0635         |
| 19 | Никель углекислый, 2NiCO <sub>3</sub> ·3Ni(OH) <sub>2</sub> ×4H <sub>2</sub> O                           | 0,0318             | 0,0318         |
| 20 | Аммоний ванадиевокислый, NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>   | 0,0066             | 0,0066         |
| 21 | Сахароза, C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>  | 221,0060           | 221,0234       |
|    | ИТОГО  | 1000               | 1000           |

Таблица 16 – Модификация витаминно-минерального состава рационов

| Компонент                                | Группы, % от обеспеченности некоторыми эссенциальными веществами, относительно рациона AIN-93G (таблицы 7-8) |                     |                    |                     |                    |
|--|--|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
|  | "Оптимальная"<br>75%<br>(для самцов и самок)   | "Маргинальная"      |                    | "Субмаргинальная"   |                    |
|  |  | 30%<br>(для самцов) | 28%<br>(для самок) | 19%<br>(для самцов) | 18%<br>(для самок) |
| Витамины, г/кг витаминной смеси          |  |                     |                    |                     |                    |
| Тиамин (B1)                              | 3  | 1,2                 | 1,12               | 0,76                | 0,72               |
| Рибофлавин (B2)                          | 2,25   | 0,9                 | 0,84               | 0,57                | 0,54               |
| Ниацин (B3)                              | 11,3   | 4,5                 | 4,2                | 2,85                | 2,7                |
| Пиридоксин (B6)                          | 3,75   | 1,5                 | 1,4                | 0,95                | 0,9                |
| Минеральные вещества, г/кг солевой смеси |  |                     |                    |                     |                    |
| Магния окись                             | 18   | 7,2                 | 6,72               | 4,56                | 4,32               |
| Железо лимоннокислое                     | 4,545  | 1,818               | 1,6968             | 1,1514              | 1,0908             |

### 4.3 Дизайн экспериментов

1. Эксперимент по изучению влияния состава рационов на рост и развитие крыс длительностью 90 дней проводили на крысах самцах с исходной массой тела 90-110 г [74]. Возраст животных в начале эксперимента составлял 35-40 дней. Крысы были произвольно разделены на 2 группы (по 30 особей в каждой группе): животные первой группы получали рацион ПКР – "ПКР-группа", животные второй группы – рацион AIN-93, "AIN-группа" [74]. Продуктовый набор и химический состав рационов представлены в таблицах 5-8.

В течение эксперимента велись наблюдения за поедаемостью корма и общим состоянием животных. Учет индивидуальной поедаемости корма проводили в начале, середине и конце эксперимента – 10-15-й, 40-45-й и 85-90-й дни эксперимента, соответственно. Массу тела измеряли еженедельно, отбор материала для исследований проводили на 90-й день эксперимента [74].

Для оценки роста и развития крыс изучены интегральные, гематологические и биохимические показатели. Исследования интегральных показателей включали измерения массы тела, массы внутренних органов, массы белого жира в жировых депо (брыжеечном, забрюшинном, подкожнопаховом, эпидидимальном) [74; 138].

2. Эксперимент по изучению влияния солей лития в составе рационов на рост, развитие и генеративную функцию крыс, длительностью 120 дней проводили на крысах с исходной массой тела 90-110 г, возраст крыс в начале эксперимента составлял 35-40 дней [48; 388]. Животные были произвольно разделены на 2 группы (по 20 самцов и 20 самок в каждой группе): крысы контрольной группы (К-группа) получали оптимизированный ПКР, крысы опытной группы получали ПКР, не содержащий хлорид лития. Состав солевой смеси представлен в таблице 15.

В течение эксперимента велись наблюдения за общим состоянием животных. Массу тела самцов и самок измеряли еженедельно, отбор материала для исследований проводили у самцов на 120-й день эксперимента; самок использовали для оценки фертильности (способности к оплодотворению), выражавшуюся в процентном соотношении забеременевших самок к общему количеству ссаженных самок. Для оплодотворения самок подсаживали к самцам в соотношении 2:1 сроком на 1 эстральный цикл (7 сут.). В период спаривания возраст крыс составлял 100-110 дней [48].

Для оценки роста и развития крыс изучены интегральные, гематологические и биохимические показатели. Исследования интегральных показателей включали измерения

массы тела, массы внутренних органов, массы белого жира в жировых депо (в забрюшинном жире) [48].

3. Изучение влияния фактора сезонности на репродуктивную функцию проведено в эксперименте на крысах возрастом 105-115 дней в осенне-зимний, весенний и летний периоды. Исследования выполнены в три этапа: 1-й этап – в период с ноября по январь – "1-я группа", 2-й этап – в период с марта по май – "2-я группа", 3-й этап – в период с июня по июль – "3-я группа" [76].

Состав рационов представлен в таблице 12. В течение эксперимента велись наблюдения за поедаемостью корма и общим состоянием животных.

Функцию репродуктивной системы оценивали по содержанию половых гормонов (прогестерона, эстрадиола) в крови беременных самок, пренатальному и постнатальному развитию потомства [76].

4. Выявление наиболее чувствительных показателей репродуктивной функции в условиях модельного токсического воздействия проведено в эксперименте на крысах [72]. Животные были произвольно разделены на 4 группы – 1 контрольную и 3 опытных, по 50 самок и 20 самцов в каждой группе. На протяжении всего срока эксперимента (за исключением периода ссаживания и беременности) крысы всех групп получали полусинтетический казеиновый рацион (таблица 5). Животные опытных групп в период ссаживания и беременности подвергались разделительному и сочетанному воздействию алиментарного и токсического факторов: крысы 1-й опытной группы получали рацион с дефицитом пантотената кальция (таблица 17), 2-й – получали с питьевой водой  $CdSO_4 \times 8/3H_2O$  (из расчета 10 мг  $Cd^{2+}$  на 1 кг массы тела), 3-й – получали 10 мг/кг  $Cd^{2+}$  на фоне рациона с дефицитом пантотената кальция [72].

Таблица 17 – Дизайн эксперимента по выявлению наиболее чувствительных показателей репродуктивной функции

| Группа      | Рацион | Содержание пантотената кальция в составе витаминной смеси | Токсическое воздействие: $Cd^{2+}$ |
|-------------|--------|---|------------------------------------|
| Контрольная | ПКР    | +   | -                                  |
| 1-я Опытная |        | -   | -                                  |
| 2-я Опытная |        | +   | +                                  |
| 3-я Опытная |        | -   | +                                  |

В период спаривания возраст крыс составлял 105-110 дней. В течение эксперимента велись наблюдения за поедаемостью корма, массой тела и общим состоянием животных. Репродуктивную функцию оценивали по фертильности родительских животных F0 и по характеру пренатального и постнатального развития потомства F1 [72].

5. Изучение репродуктивной функции и развития потомства выполнено на трех поколениях крыс линии Вистар: родительском (F0), первом (F1) и втором (F2) [66; 73]. Всего в работе было использовано 495 взрослых животных и 2237 крысят (таблица 18), а также 975 плодов [66; 73]. Эксперимент проведен на четырех группах животных, получавших с рационом традиционные сорта кукурузы: три российских сорта – "РОСС 144 МВ", "РОСС 197 МВ", "Докучаевская 250 МВ" и американский сорт "НЕ/89" – 1-я, 2-я, 3-я и 4-я референсные группы, соответственно. Состав рационов представлен в таблице 12.

Таблица 18 – Состав экспериментальных групп и количество животных

| Группа          |                   | F0      | F1      | Всего |
|-----------------|-------------------|---------|---------|-------|
| 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   |
| 4-я референсная | Взрослые животные | 50♀+25♂ | 40♀+20♂ | 135   |
|                 | Потомство         | 300     | 242     | 542   |

Исследования с использованием традиционных сортов выполнены для определения референсных значений показателей функции репродуктивной системы у крыс, получавших с рационом агарированные количества кукурузы, в условиях вивария ФГБУН "ФИЦ питания и биотехнологии". Репродуктивную функцию оценивали по фертильности и по характеру пренатального и постнатального развития потомства F1 и F2 [66; 73].

6. Разработку модифицированного состава рационов для снижения адаптационного потенциала крыс провели в двух сериях экспериментов длительностью 70 дней каждый, на крысах линии Вистар с исходной массой тела самцов 77-90 г, самок – 71-80 г, возраст ~30 дней [70].

В 1-й серии исследований использованы пять групп животных, получавших рационы с 100%, 75%, 50%, 25% и 0% содержанием витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub>, а также минеральных веществ – Fe<sup>3+</sup> и Mg<sup>2+</sup> (1-5-я группы, соответственно); во 2-й серии – четыре группы животных, получавших рационы с 21,37%, 9,94%, 4,62%, 2,15% содержанием соответствующих витаминов и минеральных веществ (6-9-я группы, соответственно). Экспериментальные рационы (оптимизированный ПКР, таблица 9) с модифицированным составом витаминно-минеральных смесей (таблица 19), крысы получали на протяжении всего срока исследований. Всего в

экспериментах было использовано 220 самок и 220 самцов крыс линии Вистар (100♂+100♀ в 1-й серии, 120♂+120♀ во 2-й серии) [70].

В течение экспериментов вели наблюдения за поедаемостью корма и общим состоянием животных. Массу тела измеряли еженедельно, постмортальную некропсию и отбор материала для исследований у животных 1-4-й и 6-7-й групп проводили на 70-й день экспериментов, соответствующий стадии взрослого половозрелого организма, характеризующегося стабильными физиолого-биохимическими показателями (~100-й день жизни животных). Животные 5-й группы были подвергнуты эвтаназии на 56-й день эксперимента в связи с началом массовой гибели животных, при этом, из-за невозможности отбора необходимого для исследований количества крови (низкая масса тела и высокая свертываемость крови) у крыс этой группы не были определены показатели, материалом для исследования которых являлась кровь. Умершие животные были подвергнуты постмортальной некропсии для определения причин смерти. Животные 8-9-й групп также были подвергнуты эвтаназии на 56-й день эксперимента [70].

Были изучены гематологические и биохимические показатели, показатели, характеризующие антиоксидантный статус, проведены морфологические исследования внутренних органов, и др.

Таблица 19 – Дизайн экспериментов с различными дозами эссенциальных веществ

| Группа    | Рацион (солевая смесь) | Содержание витаминов В1, В2, В3 и В6, солей Fe <sup>3+</sup> и Mg <sup>2+</sup> в рационе, % от базового (AIN-93) уровня |
|-----------|------------------------|--|
| 1-я серия |                        |  |
| 1-я       | AIN-93                 | 100%   |
| 2-я       |                        | 75%  |
| 3-я       |                        | 50%  |
| 4-я       |                        | 25%  |
| 5-я       |                        | 0%   |
| 2-я серия |                        |  |
| 6-я       | AIN-93                 | 21,37%   |
| 7-я       |                        | 9,94%  |
| 8-я       |                        | 4,62%  |
| 9-я       |                        | 2,15%  |

7. Апробация модели снижения адаптационного потенциала в условиях интоксикации кадмием проведена в эксперименте длительностью 65 дней на самцах и самках крыс (исходный возраст ~30 дней) [37; 55; 68]. Животные были разделены на шесть групп – три контрольных и три опытных по 30 самцов и самок в каждой. Всего в эксперименте было использовано 360 крыс (180 самок и 180 самцов). Животные 1-й контрольной группы получали рацион с

"оптимальной" (75%) дозировкой эссенциальных веществ (витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub> и минеральных веществ – Fe<sup>3+</sup> и Mg<sup>2+</sup>), животные 2-й и 3-й контрольных групп – рационы с "маргинальной" (30% для самцов и 28% для самок) и "субмаргинальной" (19% для самцов и 18% для самок) дозировками эссенциальных веществ. Животные 1-3-й опытных групп получали с кормом Cd<sup>2+</sup> (в виде CdCl<sub>2</sub>) на фоне "оптимальной", "маргинальной" и "субмаргинальной" обеспеченности эссенциальными веществами, соответственно [37; 55; 68]. Экспериментальные рационы (оптимизированный ПКР, таблица 9) с модифицированным составом витаминно-минеральных смесей (таблица 16) крысы получали на протяжении всего срока исследований.

Доза кадмия различалась в зависимости от возраста крыс и составляла 1 мг/кг массы тела с 0 по 35-й дни эксперимента, и 2 мг/кг массы тела с 36 по 65-й дни эксперимента. Для целей данного эксперимента были выбраны заведомо действующие дозы кадмия, не вызывающие острого токсического ответа [8; 150-188]. Исходя из длительности исследований суммарная доза кадмия, которую получило каждое подопытное животное составляла 19,1-24,3 мг у самцов и 17,2-18,9 мг у самок (в зависимости от массы тела) [37; 68].

В течение экспериментов велись наблюдения за поедаемостью корма и общим состоянием животных. Массу тела измеряли еженедельно, постмортальную некропсию и отбор материала для гематологических и биохимических исследований проводили на 65-й день эксперимента [37; 68].

8. Эффективность модели снижения адаптационного потенциала также подтверждена в эксперименте по изучению репродуктивной функции крыс, получавших рационы с модифицированным составом витаминно-солевых смесей, на фоне действия гербицида глифосата в качестве токсического фактора. Исследования проведены на крысах линии Вистар (64 самца, 176 самок, 684 крысенок, 265 плодов). Животные родительского поколения F<sub>0</sub> были разделены на четыре группы: две контрольные и две опытные, по 16 самцов и 44 самки в каждой. Крысы контрольных групп получали рационы (оптимизированный ПКР, таблица 9) с различным содержанием витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub> и минеральных веществ Fe<sup>3+</sup> и Mg<sup>2+</sup> (таблица 16), 18% для самок и 19% для самцов – группа "К-18", 75% для самок и 75% для самцов – группа "К-75". Животные опытных групп ("О-18" и "О-75") на фоне аналогичных рационов получали глифосат (*per os*, 2,5 мг/кг массы тела ежедневно на протяжении всего периода эксперимента), для эксперимента была использована заведомо действующая доза глифосата [184; 185].

Репродуктивную функцию оценивали по фертильности и по характеру пренатального и постнатального развития потомства.

9. Изучение активности апоптоза в различных органах крыс в онтогенезе. В эксперименте на 169 самках и 169 самцах изучена активность апоптоза в тимусе, печени и почках на 20-й, 22-й, 35-й, 50-й, 80-й, 110-й и 140-й дни онтогенеза [56; 67; 387]. Рассмотренные стадии жизненного цикла характеризуются существенными физиологическими особенностями и типом питания: 20-й день онтогенеза относится к периоду завершения внутриутробного развития (20-й день беременности) и плацентарным питанием; 22-й день (2-й день после рождения) – к периоду новорожденности, это период грудного вскармливания, 35-й день (15-й день после рождения) – время перехода на смешанное кормление (вместе с грудным молоком матери крысята начинают потреблять и обычный рацион), 50-й день (30-й день после рождения) – время отъема крысят от материнских животных и переход на общевиварный рацион, 80-й день (60-й день после рождения) – период полового созревания, 110-й день (90-й день после рождения) – завершение полового созревания, 140-й день (120-й день после рождения) – полностью сформировавшийся взрослый организм [56; 67; 82; 387].

Крысы содержались в пластиковых клетках с древесной подстилкой, в отапливаемом (температурный режим +21-23°C) и вентилируемом помещении с естественным освещением, доступ к корму и воде – *ad libitum*. На протяжении всего периода исследований животные получали оптимизированный ПКР (таблица 9). В течение эксперимента велись наблюдения за поедаемостью корма, массой тела и общим состоянием животных [56; 67; 82; 387].

Для определения активности апоптоза в тимусе были использованы метод ДНК-комет и метод проточной цитофлуориметрии; в печени и почках активность апоптоза определяли методом ДНК-комет [56; 67; 82; 387].

10. Изучение активности апоптоза в печени крыс в условиях интоксикации кадмием и четыреххлористым углеродом проведено на основании данных, полученных в трех аналогичных по дизайну экспериментах продолжительностью ~63-65 дней, выполненных на крысах самцах линии Вистар с исходной массой тела  $85,6 \pm 1,0$  г, возраст крыс в начале экспериментов составлял ~30 дней.

Эксперименты с кадмием. Были проведены 2 серии исследований с различными дозами кадмия, дизайн первой серии описан в п. 7 данной главы. Активность апоптоза в печени определяли методом ДНК-комет, в каждой группе было обследовано по 10 крыс

Во второй серии (длительность 64 дня) животные были разделены на четыре группы – две контрольных и две опытных по 20 самцов в каждой. Животные контрольных групп получали рационы с "оптимальной" и "субмаргинальной" дозировками эссенциальных веществ, животные опытных групп на фоне разных уровней обеспеченности эссенциальными веществами получали с кормом  $Cd^{2+}$ . Доза кадмия составляла 10 мг/кг массы тела, что

соответствовало 11% от LD<sub>50</sub>. Суммарно каждое животное получило ~240 мг Cd<sup>2+</sup> (~2,6 LD<sub>50</sub>). Активность апоптоза в печени определяли методом проточной цитофлуориметрии, из каждой группы было обследовано по 6 крыс. Дизайн экспериментов представлен в таблице 20.

Таблица 20 – Дизайн экспериментов с кадмием

| Группа  | Обозначение группы | Рацион                           | Содержание витаминов В1, В2, В3 и В6, солей Fe <sup>3+</sup> и Mg <sup>2+</sup> в рационе, % от базового (AIN-93) уровня | Токсическое воздействие: Cd <sup>2+</sup> |
|---|--------------------|----------------------------------|--|---|
| 1-я серия, доза Cd <sup>2+</sup> 1-2 мг/кг массы тела |                    |                                  |  |   |
| Контроль-75   | К-75               | Оптимизированный ПКР (таблица 9) | 75%  | -   |
| Опыт-75   | О-75               |                                  |  | +   |
| Контроль-30   | К-30               |                                  | 30%  | -   |
| Опыт-30   | О-30               |                                  |  | +   |
| Контроль-19   | К-19               |                                  | 19%  | -   |
| Опыт-19   | О-19               |                                  |  | +   |
| 2-я серия, доза Cd <sup>2+</sup> 10 мг/кг массы тела  |                    |                                  |  |   |
| Контроль-75   | К-75               | То же                            | 75%  | -   |
| Опыт-75   | О-75               |                                  |  | +   |
| Контроль-19   | К-19               |                                  | 19%  | -   |
| Опыт-19   | О-19               |                                  |  | +   |

Эксперимент с четыреххлористым углеродом. Животные были разделены на шесть групп – три контрольных и три опытных по 30 в каждой, всего в эксперименте использовано 180 крыс. Животные контрольных групп получали рационы с 75%, 30% и 19% содержанием витаминов В1, В2, В3 и В6 и минеральных веществ (Fe<sup>3+</sup> и Mg<sup>2+</sup>), группы К-75, К-30 и К-19, соответственно [386]. Крысам опытных групп на фоне аналогичных рационов (О-75, О-30 и О-19) внутрибрюшинно вводили раствор ССl<sub>4</sub> в оливковом масле один раз в неделю на протяжении всего эксперимента (8 инъекций), суммарно каждое животное получило ССl<sub>4</sub> в количестве 6,5 г/кг массы тела. Животным контрольных групп внутрибрюшинно вводили эквивалентные объемы оливкового масла. Поскольку внутрибрюшинная инъекция является стрессорным фактором, который может оказывать влияние на активность апоптоза, анализ результатов исследований проводили с учетом фонового уровня апоптоза (объединенных данных от контрольных животных, использованных в аналогичных по дизайну экспериментах, группы Ф-75, Ф-30, Ф-19) [386]. Дизайн эксперимента представлен в таблице 21. Активность апоптоза в печени определяли методом ДНК-комет, в каждой группе было обследовано по 10 крыс.

Таблица 21 – Дизайн эксперимента с  $CCl_4$ 

| Группа      | Обозначение группы | Рацион                           | Содержание витаминов В1, В2, В3 и В6, солей $Fe^{3+}$ и $Mg^{2+}$ в рационе, % от базового (AIN-93) уровня | Воздействие: еженедельные внутрибрюшинные инъекции, всего по 8 инъекций на каждую крысу | Вводимое вещество |                                   |
|-------------|--------------------|----------------------------------|--|---|-------------------|-----------------------------------|
|             |                    |                                  |  |   | Оливковое масло   | Раствор $CCl_4$ в оливковом масле |
| Контроль-75 | К-75               | Оптимизированный ПКР (таблица 9) | 75%  | +   | +                 | -                                 |
| Опыт-75     | О-75               |                                  |  | +   | -                 | +                                 |
| Контроль-30 | К-30               |                                  | 30%  | +   | +                 | -                                 |
| Опыт-30     | О-30               |                                  |  | +   | -                 | +                                 |
| Контроль-19 | К-19               |                                  | 19%  | +   | +                 | -                                 |
| Опыт-19     | О-19               |                                  |  | +   | -                 | +                                 |
| Фон-75      | Ф-75               |                                  | 75%  | -   | -                 | -                                 |
| Фон -30     | Ф-30               |                                  | 30%  | -   | -                 | -                                 |
| Фон -19     | Ф-19               |                                  | 19%  | -   | -                 | -                                 |

11. Изучение репродуктивной токсичности и токсичности ГМ линий сои и кукурузы проведены в 10 сериях аналогичных по дизайну экспериментов на крысах линии Вистар. Исходные колонии крыс (самцы и самки, возраст ~30-35 дней) получали из питомника лабораторных животных "Столбовая" [48].

Эксперименты состояли из подготовительной стадии, и стадии токсикологических исследований, включавших изучение репродуктивной функции крыс поколения  $F_0$ , пре- и постнатального развития потомства поколения  $F_1$ , а также оценку состояния здоровья крыс поколения  $F_0$  (на основании данных о динамике массы тела, об абсолютной и относительной массе внутренних органов; данных гематологических, морфологических и биохимических исследований, состояния антиоксидантного статуса и функционального состояния систем, осуществляющих защиту организма от воздействия токсичных соединений экзо- и эндогенного происхождения) [48].

Подготовительная стадия предназначалась для выведения животных (поколение  $F_0$ ), оптимально стандартизованных для целей данного исследования (в данном случае стандартизация животных подразумевала выбор самцов и самок из пометов со сходной численностью и выживаемостью потомства). Животные исходных колоний получали базовый рацион вивария (таблица 9). Для оплодотворения самок подсаживали к самцам в соотношении 2:1 сроком на 1 эстральный цикл (7 сут.). В период спаривания возраст крыс составлял 100-110 дней [13; 48].

Крысят отсаживали от материнских животных на 25-й день жизни, для продолжения эксперимента отбирали потомство от разных самок (с целью рандомизации исследований и исключения возможности инцеста) [13; 48].

Крысят поколения  $F_0$  отсаживали от материнских животных, произвольно разделяли на 2 группы (по 60 самок и 26 самцов в каждой группе) и переводили на экспериментальные рационы, включавшие исследуемый ГМО (группа опыт) и его традиционный аналог (группа контроль). Сою или кукурузу включали в рацион в виде муки, замену ингредиентов рациона производили с учетом содержания белков, жиров, углеводов и пищевых волокон во вводимом продукте при соблюдении принципа изокалорийности и идентичности химического состава [13; 48]. В эксперименте с соей линии MON87701×MON89788 сою включали в рацион в виде соевого шрота. Продуктовый набор и химический состав рационов с включением сои и кукурузы представлены в таблицах 13-14. Экспериментальные рационы животные получали на протяжении всего последующего периода исследований [13; 48]. Приготовление сухих смесей рационов осуществляли 2 раза в месяц, сою и кукурузу вводили в состав рационов непосредственно перед кормлением (3 раза в неделю).

Отбор материала для гематологических, биохимических, морфологических и др. исследований проводили у самцов  $F_0$  на ~140-й день жизни (исключение составляло исследование ГМ сои линии MON87701×MON89788 с комбинированными признаками, в котором отбор материала проводили у самцов  $F_0$  на ~210-й день жизни) [13; 48].

12. Изучение потенциальной генотоксичности ГМ линий сои и кукурузы проведено в аналогичных по дизайну экспериментах на мышах самцах линии C57Bl/6, характеризующихся высоким уровнем спонтанного мутагенеза. Мышей с исходной массой тела 18-20 г получали из питомника лабораторных животных "Столбовая". Исследования включали оценку целостности структуры ДНК методом щелочного гель-электрофореза изолированных клеток (метод ДНК-комет) [45; 122; 305; 366], а также выявление мутагенной активности методом учета хромосомных aberrаций в метафазных клетках пролиферирующих тканей [77]. Мыши получали экспериментальные рационы, аналогичные рационам, используемым в токсикологических исследованиях [48]. Продуктовый набор и химический состав рационов с включением сои и кукурузы представлены в таблицах 13-14. Дизайн эксперимента представлен в таблице 22.

Таблица 22 – Схема проведения экспериментов по оценке потенциальной генотоксичности ГМО

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| Вид животных                   | Мыши линии C57Bl/6   |
| Пол                            | Самцы  |
| Исходная масса тела            | 18-20 г  |
| Количество животных в группе   | Не менее 15 особей   |
| Распределение по группам       | В каждом эксперименте животных делили на 2 группы:<br>- контрольную, получавшую рацион с включением традиционного аналога исследуемого ГМО;<br>- опытную, получавшую рацион с включением ГМО |
| Продолжительность эксперимента | Не менее 30 дней   |

13. Исследования потенциальной аллергенности ГМ линий сои и кукурузы, проведенные совместно с д.м.н. И.В. Гмошинским, выполнены в аналогичных по дизайну экспериментах на крысах линии Вистар. Метод основан на количественной сравнительной оценке тяжести реакции системной анафилаксии, возникающей при внутрибрюшинной сенсибилизации взрослых крыс пищевым антигеном – овалбумином куриного яйца с последующим внутривенным введением сенсибилизированным животным разрешающей дозы того же белка [9; 106]. Были изучены тяжесть протекания системной анафилаксии и уровень циркулирующих сенсибилизирующих антител (субклассов IgG1 + IgG4). Продуктовый набор и химический состав рационов с включением сои и кукурузы представлены в таблицах 10-11.

#### **4.4 Подготовка материала для исследований**

За 12 часов до эвтаназии животных лишали пищи, эвтаназию проводили посредством декапитации. Кровь отбирали из сосудов шеи в центрифужные пробирки, содержащие 0,2 мл гепарина (5000 ЕД/мл), или в пробирки VACUETTE с активатором свертывания и гелем. Цельную кровь центрифугировали 15 мин. при скорости 3000 об./мин на центрифуге ЦЛ-1-3 [48; 49; 75]. По окончании центрифугирования плазму переносили в отдельные пробирки, при помощи автоматического дозатора удаляли слой, состоящий из лимфоцитов, тромбоцитов и гранулоцитов с поверхности эритроцитарной массы. Лизаты эритроцитов готовили разведением осажденной эритроцитарной массы дистиллированной водой в соотношении 1 : 1. Лизаты и плазму хранили при  $-18 - -20^{\circ}\text{C}$ .

Печень измельчали путем продавливания через перфорированную пластину из нержавеющей стали (диаметр отверстий 0,8 мм). Полученную массу переносили в стеклянный гомогенизатор Поттера-Эльвейема с тефлоновым пестиком (зазор 0,2 мм), Polymix PS-OS 2000, и гомогенизировали при 2000 об./мин. в течении 60 сек. В качестве среды выделения использовали 0,9% раствор NaCl. Конечное разведение гомогенатов печени соответствовало 1: 9 (масса : объем) [48; 49; 75].

#### 4.5 Оценка репродуктивной функции и развития потомства

В рамках оценки репродуктивной функции крыс изучали генеративную и эндокринную функции гонад родительских животных поколения  $F_0$ , пренатальное и постнатальное развитие потомства поколения  $F_1$ .

Генеративную функцию гонад исследовали у половозрелых крыс  $F_0$  (возраст 100-110 дней) по эффективности спаривания и эндокринной функции яичников. Эффективность спаривания оценивали по способности 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 не фертильным, а обе самки – потенциально фертильными [48; 49; 75].

Эндокринную функцию яичников оценивали по содержанию эстрадиола, прогестерона и тестостерона в сыворотке крови беременных самок (на 20-й день беременности). Содержание гормонов определяли методом иммуноферментного анализа с использованием анализатора "Anthos-2020" и тест-систем фирмы "Diagnostics Biochem Canada Inc." (тест-система для определения эстрадиола – кат. № CAN-E2-430; прогестерона – кат. № CAN-P-305; тестостерона – кат. № CAN-TE-250) [48; 49; 75].

Для изучения пренатального развития потомства по 10-15 беременных самок  $F_0$  из каждой 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) [48; 49; 75; 77].

Плоды извлекали, проводили макроскопический осмотр, определяли массу и краниокаудальный размер [77]. После осмотра, измерения и взвешивания плоды каждого помета делили на три группы: у одной группы плодов (не менее 5 плодов) выделяли и взвешивали внутренние органы (печень, почки, сердце, легкие), плоды второй группы фиксировали в жидкости Буэна и использовали для изучения внутренних органов по методу Wilson J.G. [77; 406], плоды третьей группы фиксировали в 96° этаноле и использовали для изучения состояния скелета по методу Dawson A.B. [48; 49; 75; 77; 130].

При обследовании плодов  $F_1$  по методу Wilson J.G. [406] выполняли 9 разрезов в соответствии со схемой, представленной на рисунке 5 (4 параллельных разреза головы и 5 параллельных разрезов туловища) и изучали формирование основных анатомических систем:

нервной (головной, спинной мозг), сенсорной (глазные яблоки, обонятельные луковицы), сердечно-сосудистой (сердце), дыхательной (трахея, легкие, бронхи), пищеварительной (слюнные железы, язык, пищевод, желудок, кишечник, печень), мочевыделительной (почки, мочевой пузырь), половой (внутренние половые органы), локомоторной (лицевой череп, позвоночник, диафрагма) [48; 49; 75].

Развитие скелета плодов  $F_1$  оценивали по методу Dawson A.B. [130]. Поскольку данный метод позволяет выявить врожденные аномалии скелета, незаметные при внешнем осмотре, а также оценить соответствие оссификации скелета стадии внутриутробного развития [1; 12; 321; 330; 354], обследование каждого плода включало два последовательных этапа: обзорные исследования скелета, и остеометрические исследования нижней челюсти, плечевых, локтевых, лучевых, бедренных, большеберцовых и малоберцовых костей [48; 49; 75], рисунок 6.

Постнатальное развитие потомства  $F_1$  оценивали в течение первого 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 резцов, открытия глаз, опускания семенников, открытия влагалища).

Рисунок 5 – Исследование внутренних органов плодов по методу Wilson J.G.

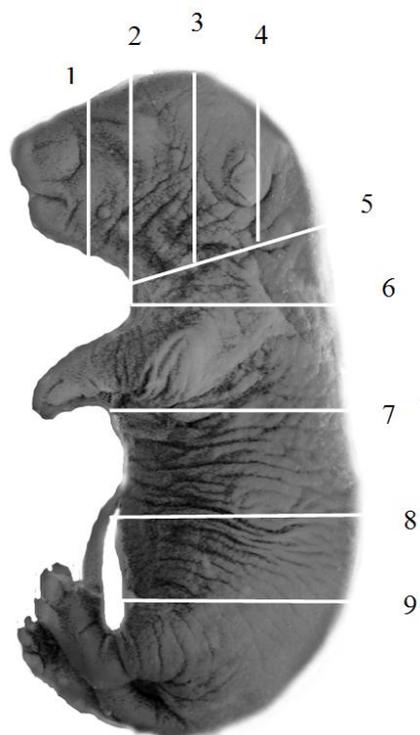


Рисунок 6 – Исследование скелета плодов по методу Dawson A.B.



Массу тела и краниокаудальный размер крысят измеряли на 2-е, 5-е, 10-е, 15-е, 20-е и 25-е сутки жизни. Также определяли среднюю величину помета, соотношение самцов и самок, вычисляли выживаемость с 0 по 5-й дни жизни (отношение числа крысят, доживших до 5-го

дня, к числу родившихся живыми) и с 6-го по 25-й дни жизни (отношение числа крысят, доживших до 25-го дня, к числу доживших до 6-го дня) [48; 49; 66; 73; 75].

#### **4.6 Гематологические, биохимические и морфологические методы исследования**

Гематологические исследования\* включали определение концентрации гемоглобина, определение общего количества эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, гематокритной величины, тромбокритной величины, среднего содержания гемоглобина в одном эритроците, средней концентрации гемоглобина в одном эритроците, среднего объема одного эритроцита, среднего объема одного тромбоцита, дифференциальный подсчет лейкоцитарной формулы. Исследования выполнены с использованием гематологического анализатора "Coulter Ac•T™ 5 diff OV" и реактивов фирмы "Beckman Coulter", США [48; 49].

Биохимические исследования\*\* сыворотки крови включали определение содержания общего белка, альбумина, глобулина, триглицеридов, общего билирубина, прямого билирубина, мочевины, мочевой кислоты, креатинина, глюкозы, холестерина, микроэлементов (кальция, магния, железа, натрия, калия, фосфора, хлора), а также определение активности лактатдегидрогеназы, альфа-амилазы, креатинфосфокиназы, щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ). Исследования выполняли с использованием автоматического биохимического анализатора "Konelab 20i" и реактивов фирмы "Thermo Fisher Scientific", США [48; 49].

Активность супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, каталазы определяли спектрофотометрическими методами по [25; 26; 287; 297; 308; 382]; содержание малонового диальдегида (МДА) в крови и печени определяли спектрофотометрическим методом по [22; 157; 285].

Морфологические исследования включали макроскопические и обзорные гистологические исследования, проведенные общепринятыми методами [31; 80].

#### **4.7 Методы исследования апоптоза**

**Гель-электрофорез изолированных клеток (метод "ДНК-комет").** Для оценки степени фрагментации ДНК и расчета индекса апоптоза был использован метод щелочного гель-электрофореза изолированных клеток (ДНК-комет) [45; 52; 122; 305; 366]. Метод основан на регистрации различной подвижности ДНК и фрагментов ДНК лизированных клеток, заключенных в агарозный гель: в постоянном электрическом поле ДНК мигрирует к аноду,

---

\* проведены совместно с к.м.н. Э.Н. Трушиной и к.м.н. О.К. Мустафиной

\*\* проведены совместно с к.м.н. С.Х. Сото

формируя электрофоретический след, напоминающий хвост кометы, параметры которого зависят от степени поврежденности исследуемой ДНК. Общая схема метода состоит из следующих этапов: выделения клеток, получения гель-слайдов (подложки), получения микропрепаратов, лизиса, щелочной денатурации, электрофореза, фиксации, окрашивания и микроскопического анализа [45; 52; 122; 305; 366].

Гель-слайды получали путем нанесения 1%-го агарозного геля (агароза, тип 4,  $t_{пл.} \geq 60$  °С) на стандартные предметные стекла (Menzel-Glaser®, 76×26 мм). Для подготовки микропрепаратов 60 мкл клеточной суспензии переносили в микроцентрифужные пробирки, содержащие 240 мкл 1%-ого агарозного геля (агароза, тип 1,  $t_{пл.} \leq 42$  °С), тщательно перемешивали, наносили на гель-слайды при температуре 42°С и оставляли на 5 мин при 4°С на льду. После затвердевания геля микропрепараты подвергали лизису в буфере (2,5 М NaCl, 100 мМ ЭДТА, 10мМ Трис, 0,14 М ДМСО, 1% Тритон X-100, рН 10) в течение 1 ч при температуре 4°С, в процессе которого происходила диссоциация клеточных структур и выпетливание хроматина в поры агарозы. Далее микропрепараты обрабатывали щелочным денатурирующим буфером (1 мМ ЭДТА, 300 мМ NaOH, рН 13) в течении 20 мин при температуре 4°С, реализующим щелочно-лабильные сайты в ДНК в одностранные разрывы. Для электрофореза также использовали щелочной денатурирующий буфер, электрофорез проводили в электрофорезной камере (Bio-Rad 192) в течение 40 мин (4°С, напряжение 32 В, сила тока 300 мА). Под влиянием электрического поля, ДНК (в виде фрагментов и петель сверхполимерных молекул) мигрирует к аноду, формируя хвост кометы, ядром которой является полость, заполненная ДНК. После завершения электрофореза слайды фиксировали в 70% растворе этанола [45; 52; 122; 305; 366].

Микроскопический анализ проводили на микроскопе Zeiss Axio Imager Z1 при увеличении 400х. Полученные изображения ДНК-комет (краситель SYBR Green I) анализировали с использованием программного обеспечения Comet Imager system, "Metasystems GmbH" (рисунок 7). В качестве показателя поврежденности ДНК использовали процентное содержание ДНК в хвосте ДНК-комет (%ДНК в хвосте) [45; 52; 122; 305; 366].

С каждого микропрепарата анализировали не менее 1000 клеток (просматривали 20 полей зрения по ~50 клеток в каждом поле). В общем числе клеток считали количество апоптотических (апоптотическими считали клетки с содержанием ДНК в хвосте "кометы" более 30%) [45; 52; 122; 305; 366].

Индекс апоптоза (ИА) рассчитывали по формуле:

$$ИА = \frac{A +}{1000 \text{ клеток}} \times 100\%$$

где A+ – количество апоптотических клеток

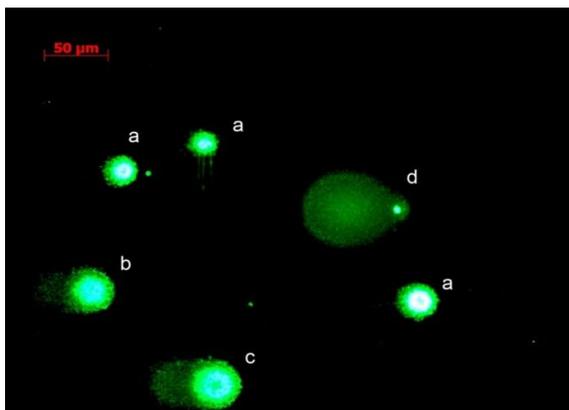


Рисунок 7 – Клетки печени крысы с различной степенью поврежденности ДНК

*a* – клетка без повреждений (до 1% поврежденной ДНК);  
*b* – клетка с некоторыми повреждениями (до 10% поврежденной ДНК);  
*c* – клетка со значительными повреждениями (до 30% поврежденной ДНК);  
*d* – апоптоз-положительная клетка (более 30% поврежденной ДНК).

**Метод проточной цитометрии\***, позволяющий определять клетки на разных стадиях апоптоза, основан на выявлении рассеяния света лазерного луча, направленного на капилляр, через который пропускается клеточная суспензия. Клетки в суспензии окрашены флуоресцентным красителем – аннексином V и 7-AAD. Аннексин V обладает свойством связываться с фосфатидилсерином клеточной мембраны, а 7-AAD способен встраиваться между цитозиним и гуанином двухцепочечной ДНК клеток с нарушенной целостностью мембраны. Оба этих красителя не проникают в неапоптозные живые клетки. На ранних стадиях апоптоза целостность клеточной мембраны сохраняется, но происходит ее перестройка, сопровождающаяся появлением молекул фосфатидилсерина на поверхности клетки. Аннексин V с высокой аффинностью связывается с фосфатидилсерином, маркируя "ранний" апоптоз. Поздняя фаза апоптоза сопровождается резким возрастанием мембранной проницаемости для катионных красителей, в том числе 7-AAD [41].

Окрашивание клеток производили аннексином V (AnV-FITC), конъюгированным с флуорохромом (FITC), и витальным красителем 7-AAD (набор Annexin V-FITC/7-AAD Kit, производства "IMMUNOTECH", Франция). В пробирку для проточного цитометра вносили: 100 мм<sup>3</sup> пробы, 10 мм<sup>3</sup> аннексина V и 20 мм<sup>3</sup> 7-AAD, перемешивали на вортексе в течение 1 с и инкубировали 15 мин в темноте на льду. После инкубации в пробирку добавляли 400 мм<sup>3</sup> аннексинового буфера [41].

Анализ окрашенных клеток осуществляли на проточном цитофлуориметре "Cytomics FC-500" производства фирмы "Beckman Coulter", США, с использованием компьютерной программы (Cytomics CXP Software). Детекцию флуоресценции выполняли при следующих длинах волн:  $\lambda_1 = 525$  нм,  $\lambda_4 = 675$  нм. Популяцию клеток выделяли при помощи гейтирования по параметрам малоуглового (FS) и бокового (SS) светорассеяния. Результаты представляли в виде процентного соотношения живых клеток и клеток, находящихся на разных стадиях апоптоза, на 10000 просчитанных объектов в каждом образце [41].

\*исследования проведены совместно с к.м.н. Э.Н. Трушиной и к.м.н. О.К. Мустафиной

#### 4.8 Методы статистического анализа

Результаты приведены в виде  $M \pm m$  и min-max, где  $M$  – выборочное среднее измеряемых величин,  $m$  – стандартная ошибка, min и max – соответственно минимальное и максимальное значение измеряемой величины, а также долях (процентах) или абсолютных числах [48; 49; 52; 66; 67; 73; 75]. При вычислении процента различия показателя у контрольных и опытных животных, за 100% принимали значение соответствующего показателя у крыс контрольной группы.

Статистическую обработку проводили с использованием пакета программ Microsoft Excel 13.0. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы ( $p$ ) принимали равным 0,05. Характер распределения количественных признаков определяли с помощью  $\chi^2$ -критерия, равенство дисперсий – с помощью критерия Левена [48; 49; 52; 66; 67; 73; 75]. Оценку достоверности различий средних величин, удовлетворяющих условиям нормального распределения и равенству дисперсий, проводили 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 [50; 301]. В соответствии со структурой исследования проведено сравнение количественных признаков контрольных и опытных групп [48; 49; 52; 66; 67; 73; 75].

Для определения границы физиологической нормы биохимических показателей сыворотки крови, активности ферментов антиоксидантной защиты и содержания продуктов перекисного окисления липидов, массы внутренних органов, индекса апоптоза у самцов и самок крыс линии Вистар в разные периоды онтогенеза, а также показателей, характеризующих репродуктивную функцию и развитие потомства, обобщенные данные от животных, входивших в контрольные группы более чем в 25 отдельных экспериментах, были обработаны совместно с к.м.н. Э.Э. Кешабянц в программе SPSS-Statistics 18.0 и представлены в виде таблиц и гистограмм.

## 5 Результаты собственных исследований и их обсуждение

### 5.1 Формирование базы данных физиологических значений показателей, определяемых при токсиколого-гигиенических исследованиях генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения

Как было отмечено в обзоре литературы, на стадиях создания и подготовки к выпуску на мировой продовольственный рынок новых ГМО проводятся всесторонние исследования, направленные на выявление у этих ГМО потенциальных негативных эффектов. За весь период промышленного использования ГМО, прошедших все этапы оценки, не было обнаружено их отрицательного влияния на здоровье животных или человека, что является дополнительным подтверждением как безопасности биотехнологической продукции, так и эффективности подходов, применяемых для оценки безопасности.

Тем не менее, исходя из возможности проявления неблагоприятных воздействий ГМО при длительном поступлении с пищей, их влияния на уровне эпигенома и метаболома, что, весьма вероятно, не вызовет существенного сдвига значений параметров, традиционно определяемых в токсиколого-гигиенических исследованиях, или напротив, неоднородного распределения значений некоторых показателей, затрудняющего интерпретацию результатов и обуславливающего ложное трактование данных в пользу признания опасности изучаемого ГМО, первостепенную важность приобретает установление границ нормы определяемых параметров. Принимая во внимание, что комплексные исследования включают изучение большого числа показателей, каждый из которых имеет широкий диапазон физиологических колебаний, объективизация и установление границ нормы для крыс, содержащихся в условиях вивария ФГБУН "ФИЦ питания и биотехнологии", значительно облегчает интерпретацию получаемых результатов, особенно в условиях воздействий малой интенсивности [72].

Для определения диапазона физиологических колебаний, характерных для крыс линии Вистар, были обобщены данные, полученные от контрольных животных одного пола и возраста, использованных в токсиколого-гигиенических исследованиях ГМО. На основании статистической обработки разброса физиологических значений изученных показателей, была сформирована база данных, включающая параметры пренатального и постнатального развития потомства, массы внутренних органов плодов, самок и самцов, биохимические показатели сыворотки крови, активность ферментов антиоксидантной защиты и содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови и печени крыс линии Вистар на разных этапах онтогенеза. Полученные результаты были использованы в качестве "интегрированного контроля" при анализе результатов более поздних исследований.

Цифровые показатели пренатального развития, объединяющие такие параметры как количество желтых тел, количество мест имплантации, количество живых и мертвых плодов, а также расчетные показатели предимплантационной и постимплантационной гибели в норме варьируют в диапазоне значений, представленных в таблицах 23-27 и на рисунках 8-14.

Таблица 23 – Пренатальное развитие потомства, данные от 259 беременных самок

| Показатель                  | Значения               |        | Распределение признака                         |
|-----------------------------|------------------------|--------|--|
| Количество желтых тел       | Min-Max                | 5 - 23 | <p>Рисунок 8 – Количество желтых тел</p>       |
|                             | Среднее значение       | 13,85  |  |
|                             | Стандартное отклонение | 2,97   |  |
|                             | Ошибка среднего        | 0,19   |  |
| Количество мест имплантации | Min-Max                | 3 - 18 | <p>Рисунок 9 – Количество мест имплантации</p> |
|                             | Среднее значение       | 11,66  |  |
|                             | Стандартное отклонение | 3,00   |  |
|                             | Ошибка среднего        | 0,19   |  |
| Количество живых плодов     | Min-Max                | 2 - 18 | <p>Рисунок 10 – Количество живых плодов</p>    |
|                             | Среднее значение       | 10,92  |  |
|                             | Стандартное отклонение | 3,12   |  |
|                             | Ошибка среднего        | 0,19   |  |

Таблица 24 – Предымплантационная гибель, %, данные от 259 беременных самок

| Показатель                  | Значения | Распределение признака                             |      |      |      |       |       |       |       |       |
|-----------------------------|----------|--|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Min-Max                     | 0 - 80   | <p>Рисунок 11 – Предымплантационная гибель в %</p> |      |      |      |       |       |       |       |       |
| Среднее значение            | 14,69    |  |      |      |      |       |       |       |       |       |
| Стандартное отклонение      | 17,44    |  |      |      |      |       |       |       |       |       |
| Ошибка среднего             | 1,08     |  |      |      |      |       |       |       |       |       |
| Медиана                     | 9,09     |  |      |      |      |       |       |       |       |       |
| Процентильное распределение |          |  |      |      |      |       |       |       |       |       |
| 10-й                        | 20-й     | 25-й   | 30-й | 40-й | 50-й | 60-й  | 70-й  | 75-й  | 80-й  | 90-й  |
| 0                           | 0        | 0  | 0    | 6,67 | 9,09 | 13,33 | 17,65 | 20,00 | 26,67 | 42,11 |

Таблица 25 – Предымплантационная гибель, абс., данные от 259 беременных самок

| Показатель                  | Значения | Распределение признака   |      |      |      |      |      |      |      |      |
|-----------------------------|----------|--|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Min-Max                     | 0 - 13   | <p>Рисунок 12 – Предымплантационная гибель в абсолютных числах</p> |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Среднее значение            | 2,19     |  |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Стандартное отклонение      | 2,76     |  |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Ошибка среднего             | 0,17     |  |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Медиана                     | 1,00     |  |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Процентильное распределение |          |  |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 10-й                        | 20-й     | 25-й   | 30-й | 40-й | 50-й | 60-й | 70-й | 75-й | 80-й | 90-й |
| 0                           | 0        | 0  | 0    | 1    | 1    | 2    | 2    | 3    | 4    | 7    |

Таблица 26 – Постымплантационная гибель, %, данные от 259 беременных самок

| Показатель                  | Значения | Распределение признака                             |      |      |      |      |      |       |       |       |
|-----------------------------|----------|--|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|
| Min-Max                     | 0 - 100  | <p>Рисунок 13 – Постымплантационная гибель в %</p> |      |      |      |      |      |       |       |       |
| Среднее значение            | 7,07     |  |      |      |      |      |      |       |       |       |
| Стандартное отклонение      | 12,44    |  |      |      |      |      |      |       |       |       |
| Ошибка среднего             | 0,77     |  |      |      |      |      |      |       |       |       |
| Медиана                     | 0        |  |      |      |      |      |      |       |       |       |
| Процентильное распределение |          |  |      |      |      |      |      |       |       |       |
| 10-й                        | 20-й     | 25-й   | 30-й | 40-й | 50-й | 60-й | 70-й | 75-й  | 80-й  | 90-й  |
| 0                           | 0        | 0  | 0    | 0    | 0    | 6,25 | 8,33 | 10,00 | 13,33 | 21,43 |

Таблица 27 – Постымплантационная гибель, абс., данные от 259 беременных самок

| Показатель                  | Значения | Распределение признака   |      |      |      |      |      |      |      |      |
|-----------------------------|----------|--|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Min-Max                     | 0 - 10   | <p>Рисунок 14 – Постымплантационная гибель в абсолютных числах</p> |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Среднее значение            | 0,79     |  |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Стандартное отклонение      | 1,36     |  |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Ошибка среднего             | 0,08     |  |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Медиана                     | 0        |  |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Процентильное распределение |          |  |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 10-й                        | 20-й     | 25-й   | 30-й | 40-й | 50-й | 60-й | 70-й | 75-й | 80-й | 90-й |
| 0                           | 0        | 0  | 0    | 0    | 0    | 1    | 1    | 1    | 1    | 2    |

В данном исследовании показано, что распределение признаков у показателей предимплантационной и постымплантационной гибели эмбрионов не отвечало требованиям

нормального распределения (таблицы 24-27, рисунки 11-14), поэтому использование параметрических критериев  $M \pm m$  для описания этих показателей, применяемое повсеместно (таблица 28), характеризует ситуацию, по меньшей мере, необъективно. На основании анализа полученных данных мы предложили дополнять описание расчетных показателей гибели эмбрионов непараметрическими критериями, такими как медиана и процентильное распределение.

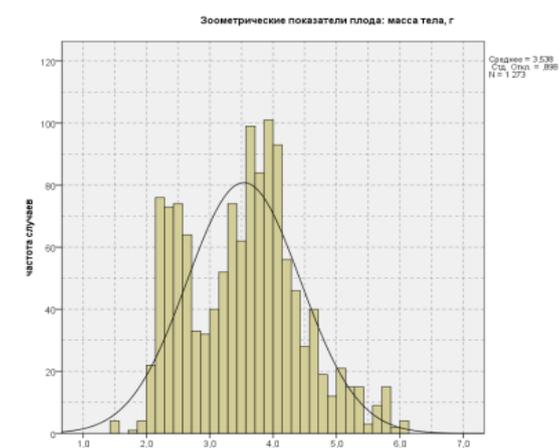
Таблица 28 – Пренатальное развитие потомства: данные литературы [66; 73; 75]

| Показатели, $M \pm m$         | Литературный источник |          |          |           |          |          |
|-------------------------------|-----------------------|----------|----------|-----------|----------|----------|
|                               | [189]                 | [267]    | [346]    | [151]     | [87]     | [299]    |
| Количество 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     |

В целом полученные результаты согласуются с данными литературы (таблица 28), однако объем обработанных нами данных значительно превосходит все ранее опубликованные работы, что и определяет научную ценность данного исследования.

Зоометрические показатели плодов на 20-й день пренатального развития, включающие массу тела, кранио-каудальный размер, массу печени, почек, сердца и легких, обобщенные более чем от 1200 плодов, представлены в таблицах 29-30 и на рисунках 15-24.

Таблица 29 – Зоометрические показатели плодов на 20-й день пренатального развития, N=1270

| Показатель    | Значения               |           | Распределение признака  |
|---------------|------------------------|-----------|---|
| Масса тела, г | Min-Max                | 1,51-6,12 | <p>Рисунок 15 – Масса тела плодов</p>  <p>Зоометрические показатели плода: масса тела, г</p> <p>Среднее = 3,538<br/>Ст. Откл. = 0,906<br/>N = 1,272</p> |
|               | Среднее значение       | 3,54      |   |
|               | Стандартное отклонение | 0,90      |   |
|               | Ошибка среднего        | 0,03      |   |

Продолжение таблицы 29

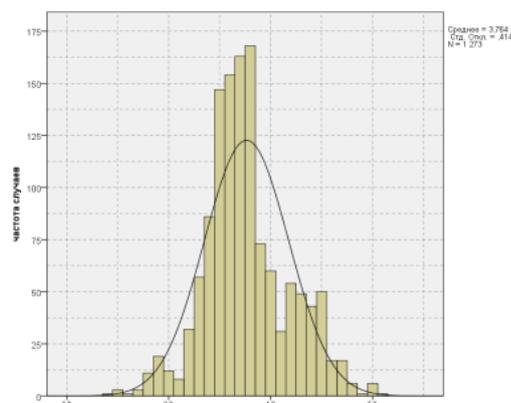
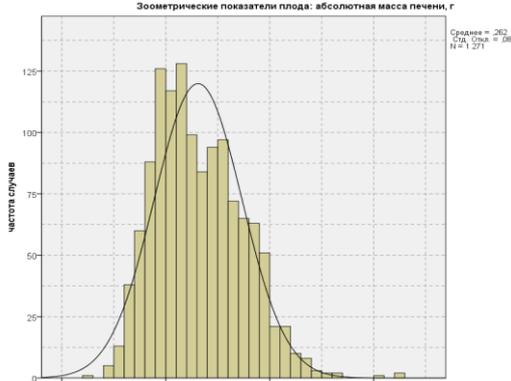
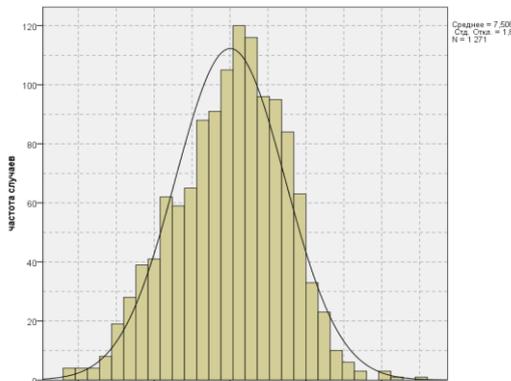
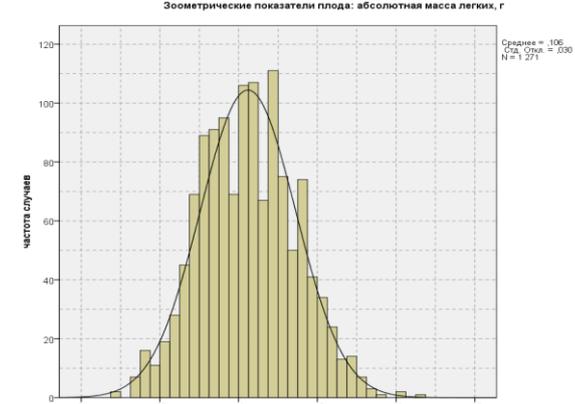
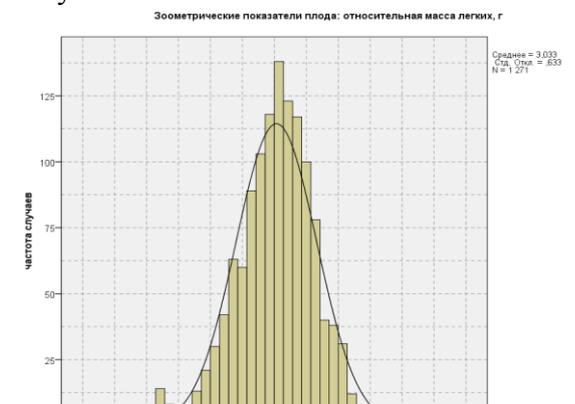
|                              |                        |         |   |
|------------------------------|------------------------|---------|---|
| Кранио-каудальный размер, см | Min-Max                | 2,4-5,1 | <p><b>Рисунок 16 – Рост плодов</b></p> <p>Зоометрические показатели плода: краниокаудальный размер, см</p>  |
|                              | Среднее значение       | 3,76    |   |
|                              | Стандартное отклонение | 0,41    |   |
|                              | Ошибка среднего        | 0,01    |   |

Таблица 30 – Масса внутренних органов плодов на 20-й день пренатального развития, N=1270

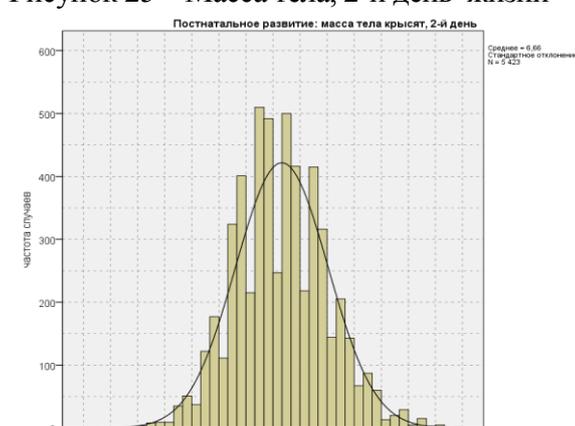
| Показатель                          | Значения               |             | Распределение признака   |
|-------------------------------------|------------------------|-------------|--|
| Масса печени, г                     | Min-Max                | 0,058-0,648 | <p><b>Рисунок 17 – Абсолютная масса печени</b></p> <p>Зоометрические показатели плода: абсолютная масса печени, г</p>         |
|                                     | Среднее значение       | 0,262       |  |
|                                     | Стандартное отклонение | 0,085       |  |
|                                     | Ошибка среднего        | 0,002       |  |
| Относительная масса печени, г/100 г | Min-Max                | 2,08-13,68  | <p><b>Рисунок 18 – Относительная масса печени</b></p> <p>Зоометрические показатели плода: относительная масса печени, г</p>  |
|                                     | Среднее значение       | 7,51        |  |
|                                     | Стандартное отклонение | 1,81        |  |
|                                     | Ошибка среднего        | 0,05        |  |

| Продолжение таблицы 30              |                        |             |  |
|-------------------------------------|------------------------|-------------|--|
| Масса почек, г                      | Min-Max                | 0,006-0,098 | <p><b>Рисунок 19 – Абсолютная масса почек</b></p> <p>Зоометрические показатели плода: абсолютная масса почек, г</p> <p>Среднее = 0,025<br/>Стд. Откл. = 0,010<br/>N = 1272</p>         |
|                                     | Среднее значение       | 0,025       |  |
|                                     | Стандартное отклонение | 0,010       |  |
|                                     | Ошибка среднего        | 0,0003      |  |
| Относительная масса почек, г/100 г  | Min-Max                | 0,227-2,538 | <p><b>Рисунок 20 – Относительная масса почек</b></p> <p>Зоометрические показатели плода: относительная масса почек, г</p> <p>Среднее = 0,710<br/>Стд. Откл. = 0,196<br/>N = 1272</p>   |
|                                     | Среднее значение       | 0,710       |  |
|                                     | Стандартное отклонение | 0,196       |  |
|                                     | Ошибка среднего        | 0,006       |  |
| Масса сердца, г                     | Min-Max                | 0,005-0,050 | <p><b>Рисунок 21 – Абсолютная масса сердца</b></p> <p>Зоометрические показатели плода: абсолютная масса сердца, г</p> <p>Среднее = 0,021<br/>Стд. Откл. = 0,007<br/>N = 1268</p>       |
|                                     | Среднее значение       | 0,021       |  |
|                                     | Стандартное отклонение | 0,007       |  |
|                                     | Ошибка среднего        | 0,0002      |  |
| Относительная масса сердца, г/100 г | Min-Max                | 0,184-1,598 | <p><b>Рисунок 22 – Относительная масса сердца</b></p> <p>Зоометрические показатели плода: относительная масса сердца, г</p> <p>Среднее = 0,592<br/>Стд. Откл. = 0,164<br/>N = 1268</p> |
|                                     | Среднее значение       | 0,592       |  |
|                                     | Стандартное отклонение | 0,164       |  |
|                                     | Ошибка среднего        | 0,005       |  |

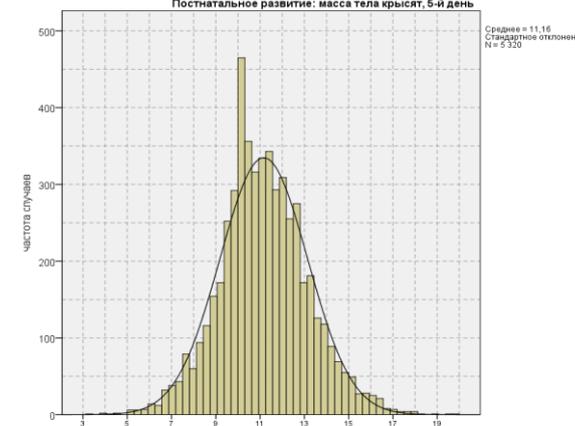
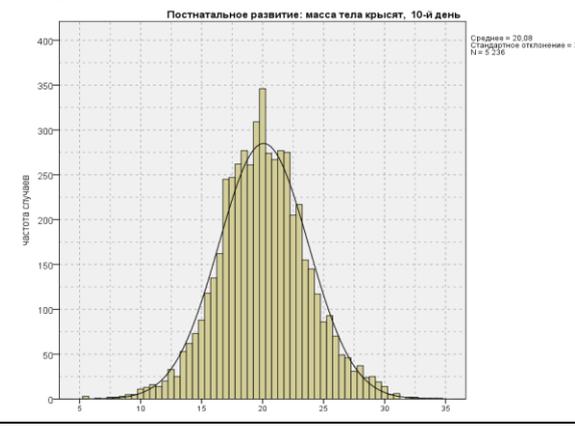
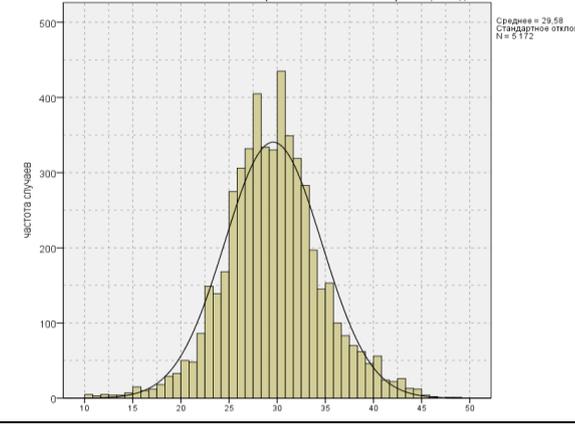
| Продолжение таблицы 30              |                        |             |   |
|-------------------------------------|------------------------|-------------|---|
| Масса легких, г                     | Min-Max                | 0,020-0,213 | <b>Рисунок 23 – Абсолютная масса легких</b><br>Зоометрические показатели плода: абсолютная масса легких, г<br>        |
|                                     | Среднее значение       | 0,106       |   |
|                                     | Стандартное отклонение | 0,030       |   |
|                                     | Ошибка среднего        | 0,001       |   |
| Относительная масса легких, г/100 г | Min-Max                | 0,761-5,789 | <b>Рисунок 24 – Относительная масса легких</b><br>Зоометрические показатели плода: относительная масса легких, г<br> |
|                                     | Среднее значение       | 3,033       |   |
|                                     | Стандартное отклонение | 0,633       |   |
|                                     | Ошибка среднего        | 0,018       |   |

Цифровые показатели постнатального развития потомства, обобщенные от ~ 5000 крысят, и включавшие динамику массы тела и краниокаудального размера на 2-е, 5-е, 10-е, 15-е, 20-е и 25-е дни жизни, в норме варьируют в диапазоне значений, представленных в таблицах 31-32 и на рисунках 25-36.

Таблица 31 – Динамика массы тела крысят в первый месяц жизни, N=5000

| День жизни | Значения, г            |          | Распределение признака  |
|------------|------------------------|----------|---|
| 2-й        | Min-Max                | 2,6-10,0 | <b>Рисунок 25 – Масса тела, 2-й день жизни</b><br>Постнатальное развитие: масса тела крысят, 2-й день<br> |
|            | Среднее значение       | 6,66     |   |
|            | Стандартное отклонение | 0,86     |   |
|            | Ошибка среднего        | 0,01     |   |

## Продолжение таблицы 31

|      |                        |          |   |
|------|------------------------|----------|---|
| 5-й  | Min-Max                | 3,2-19,8 | <p><b>Рисунок 26 – Масса тела, 5-й день жизни</b></p> <p>Постнатальное развитие: масса тела крысят, 5-й день</p>  <p>Среднее = 11,16<br/>Стандартное отклонение = 2,03<br/>N = 5320</p>     |
|      | Среднее значение       | 11,17    |   |
|      | Стандартное отклонение | 2,03     |   |
|      | Ошибка среднего        | 0,03     |   |
| 10-й | Min-Max                | 5,5-34,5 | <p><b>Рисунок 27 – Масса тела, 10-й день жизни</b></p> <p>Постнатальное развитие: масса тела крысят, 10-й день</p>  <p>Среднее = 20,08<br/>Стандартное отклонение = 3,66<br/>N = 5236</p>  |
|      | Среднее значение       | 20,08    |   |
|      | Стандартное отклонение | 3,66     |   |
|      | Ошибка среднего        | 0,05     |   |
| 15-й | Min-Max                | 8,6-48,9 | <p><b>Рисунок 28 – Масса тела, 15-й день жизни</b></p> <p>Постнатальное развитие: масса тела крысят, 15-й день</p>  <p>Среднее = 29,58<br/>Стандартное отклонение = 5,05<br/>N = 5172</p> |
|      | Среднее значение       | 29,58    |   |
|      | Стандартное отклонение | 5,05     |   |
|      | Ошибка среднего        | 0,07     |   |

Продолжение таблицы 31

|      |                        |            |   |
|------|------------------------|------------|---|
| 20-й | Min-Max                | 10,7-73,5  | <p>Рисунок 29 – Масса тела, 20-й день жизни</p> |
|      | Среднее значение       | 42,26      |   |
|      | Стандартное отклонение | 7,59       |   |
|      | Ошибка среднего        | 0,11       |   |
| 25-й | Min-Max                | 24,4-109,5 | <p>Рисунок 30 – Масса тела, 25-й день жизни</p> |
|      | Среднее значение       | 64,25      |   |
|      | Стандартное отклонение | 10,88      |   |
|      | Ошибка среднего        | 0,16       |   |

Таблица 32 – Динамика роста крысят в первый месяц жизни, N=5000

| День жизни | Значения, см           |         | Распределение признака                   |
|------------|------------------------|---------|--|
| 2-й        | Min-Max                | 3,0-7,5 | <p>Рисунок 31 – Рост, 2-й день жизни</p> |
|            | Среднее значение       | 5,35    |  |
|            | Стандартное отклонение | 0,36    |  |
|            | Ошибка среднего        | 0,01    |  |

## Продолжение таблицы 32

|      |                        |          |  |
|------|------------------------|----------|--|
| 5-й  | Min-Max                | 4,5-9,7  | <p><b>Рисунок 32 – Рост, 5-й день жизни</b></p>  |
|      | Среднее значение       | 6,57     |  |
|      | Стандартное отклонение | 0,49     |  |
|      | Ошибка среднего        | 0,01     |  |
| 10-й | Min-Max                | 4,6-10,5 | <p><b>Рисунок 33 – Рост, 10-й день жизни</b></p> |
|      | Среднее значение       | 8,10     |  |
|      | Стандартное отклонение | 0,64     |  |
|      | Ошибка среднего        | 0,01     |  |
| 15-й | Min-Max                | 5,5-12,0 | <p><b>Рисунок 34 – Рост, 15-й день жизни</b></p> |
|      | Среднее значение       | 9,72     |  |
|      | Стандартное отклонение | 0,73     |  |
|      | Ошибка среднего        | 0,01     |  |
| 20-й | Min-Max                | 7,0-14,2 | <p><b>Рисунок 35 – Рост, 20-й день жизни</b></p> |
|      | Среднее значение       | 11,34    |  |
|      | Стандартное отклонение | 0,93     |  |
|      | Ошибка среднего        | 0,01     |  |

| Продолжение таблицы 32 |                        |          | Рисунок 36 – Рост, 25-й день жизни |
|------------------------|------------------------|----------|------------------------------------|
| 25-й                   | Min-Max                | 9,0-16,2 |                                    |
|                        | Среднее значение       | 13,20    |                                    |
|                        | Стандартное отклонение | 0,91     |                                    |
|                        | Ошибка среднего        | 0,01     |                                    |

Диапазон колебаний массы внутренних органов у беременных самок, а также у самцов 20-го, 60-го, 100-го, 150-го и 210-го дней жизни представлены в таблицах 33-44 и на рисунках 37-44.

Поскольку массу внутренних органов у самок измеряли на 20-й день беременности, расчет относительной массы внутренних органов (определяемой как отношение массы соответствующего органа на 100 г массы тела) не проводили. Принимая во внимание, что к концу беременности масса тела самки в среднем повышается на 30-40% и напрямую зависит от количества плодов, определение относительной массы, в обычных условиях предназначенное для нивелирования различий массы внутренних органов, обусловленных размерами животного, в случае с беременными самками нецелесообразно и напротив, будет способствовать большей вариабельности показателей.

Таблица 33 – Абсолютная масса внутренних органов беременных самок, N=259

| Показатель   | Значения, г            |            | Распределение признака                            |
|--------------|------------------------|------------|---|
| Масса печени | Min-Max                | 7,63-20,33 | Рисунок 37 – Масса печени, 20-й день беременности |
|              | Среднее значение       | 13,26      |   |
|              | Стандартное отклонение | 2,32       |   |
|              | Ошибка среднего        | 0,14       |   |

## Продолжение таблицы 33

|                 |                        |             |   |
|-----------------|------------------------|-------------|---|
| Масса почек     | Min-Max                | 1,11-3,63   | <p>Рисунок 38 – Масса почек, 20-й день беременности</p>     |
|                 | Среднее значение       | 2,18        |   |
|                 | Стандартное отклонение | 0,46        |   |
|                 | Ошибка среднего        | 0,03        |   |
| Масса селезенки | Min-Max                | 0,398-2,530 | <p>Рисунок 39 – Масса селезенки, 20-й день беременности</p> |
|                 | Среднее значение       | 1,156       |   |
|                 | Стандартное отклонение | 0,422       |   |
|                 | Ошибка среднего        | 0,026       |   |
| Масса сердца    | Min-Max                | 0,585-1,900 | <p>Рисунок 40 – Масса сердца, 20-й день беременности</p>    |
|                 | Среднее значение       | 1,127       |   |
|                 | Стандартное отклонение | 0,233       |   |
|                 | Ошибка среднего        | 0,014       |   |

## Продолжение таблицы 33

|                     |                        |             |   |
|---------------------|------------------------|-------------|---|
| Масса легких        | Min-Max                | 0,964-4,457 | <p>Рисунок 41 – Масса легких, 20-й день беременности</p>        |
|                     | Среднее значение       | 1,965       |   |
|                     | Стандартное отклонение | 0,543       |   |
|                     | Ошибка среднего        | 0,034       |   |
| Масса тимуса        | Min-Max                | 0,142-0,920 | <p>Рисунок 42 – Масса тимуса, 20-й день беременности</p>        |
|                     | Среднее значение       | 0,507       |   |
|                     | Стандартное отклонение | 0,159       |   |
|                     | Ошибка среднего        | 0,010       |   |
| Масса надпочечников | Min-Max                | 0,024-0,206 | <p>Рисунок 43 – Масса надпочечников, 20-й день беременности</p> |
|                     | Среднее значение       | 0,088       |   |
|                     | Стандартное отклонение | 0,029       |   |
|                     | Ошибка среднего        | 0,002       |   |

| Продолжение таблицы 33 |                        |             | <p>Рисунок 44 – Масса яичников, 20-й день беременности</p> <p>Внутренние органы самок: масса двух яичников</p> |
|------------------------|------------------------|-------------|--|
| Масса яичников         | Min-Max                | 0,037-0,324 |  |
|                        | Среднее значение       | 0,140       |  |
|                        | Стандартное отклонение | 0,047       |  |
|                        | Ошибка среднего        | 0,003       |  |

Таблица 34 – Динамика массы печени самцов с 20-го по 210-й дни жизни

| День жизни | Обследовано животных | Масса печени      | Min-Max      | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|----------------------|-------------------|--------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 20-й       | 189                  | Абс. <sup>1</sup> | 0,719-2,644  | 1,503            | 0,370                  | 0,027           |
|            |                      | Отн. <sup>2</sup> | 1,959-5,870  | 3,451            | 0,753                  | 0,055           |
| 60-й       | 94                   | Абс.              | 8,040-16,080 | 10,289           | 1,434                  | 0,148           |
|            |                      | Отн.              | 2,539-4,594  | 3,372            | 0,411                  | 0,042           |
| 100-й      | 150                  | Абс.              | 7,900-18,100 | 11,242           | 1,679                  | 0,137           |
|            |                      | Отн.              | 2,130-3,923  | 2,763            | 0,365                  | 0,030           |
| 150-й      | 112                  | Абс.              | 8,210-16,700 | 11,89            | 1,37                   | 0,13            |
|            |                      | Отн.              | 1,836-3,394  | 2,483            | 0,249                  | 0,024           |
| 210-й      | 110                  | Абс.              | 8,900-18,220 | 12,130           | 1,882                  | 0,179           |
|            |                      | Отн.              | 1,850-4,315  | 2,627            | 0,477                  | 0,046           |

Здесь далее:

<sup>1</sup> Абсолютная масса внутренних органов, г<sup>2</sup> Относительная масса внутренних органов, г /100 г массы тела

Таблица 35 – Динамика массы почек самцов с 20-го по 210-й дни жизни

| День жизни | Обследовано животных | Масса почек | Min-Max     | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|----------------------|-------------|-------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 20-й       | 189                  | Абс.        | 0,367-0,894 | 0,531            | 0,089                  | 0,007           |
|            |                      | Отн.        | 0,863-1,964 | 1,220            | 0,142                  | 0,010           |
| 60-й       | 94                   | Абс.        | 1,680-3,240 | 2,367            | 0,384                  | 0,040           |
|            |                      | Отн.        | 0,544-1,050 | 0,775            | 0,112                  | 0,012           |
| 100-й      | 150                  | Абс.        | 1,099-3,550 | 2,794            | 0,312                  | 0,026           |
|            |                      | Отн.        | 0,253-0,823 | 0,688            | 0,069                  | 0,006           |
| 150-й      | 112                  | Абс.        | 2,078-4,624 | 2,940            | 0,518                  | 0,049           |
|            |                      | Отн.        | 0,455-0,873 | 0,611            | 0,082                  | 0,008           |
| 210-й      | 110                  | Абс.        | 1,900-4,259 | 2,907            | 0,472                  | 0,045           |
|            |                      | Отн.        | 0,458-0,911 | 0,627            | 0,107                  | 0,010           |

Таблица 36 – Динамика массы селезенки самцов с 20-го по 210-й дни жизни

| День жизни | Обследовано животных | Масса селезенки | Min-Max     | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|----------------------|-----------------|-------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 20-й       | 183                  | Абс.            | 0,110-0,600 | 0,260            | 0,076                  | 0,006           |
|            |                      | Отн.            | 0,321-1,190 | 0,593            | 0,140                  | 0,010           |
| 60-й       | 93                   | Абс.            | 0,800-3,215 | 1,755            | 0,543                  | 0,056           |
|            |                      | Отн.            | 0,249-1,055 | 0,581            | 0,190                  | 0,020           |
| 100-й      | 150                  | Абс.            | 0,683-2,964 | 1,597            | 0,421                  | 0,034           |
|            |                      | Отн.            | 0,182-0,790 | 0,393            | 0,101                  | 0,008           |
| 150-й      | 112                  | Абс.            | 0,581-2,467 | 1,079            | 0,364                  | 0,034           |
|            |                      | Отн.            | 0,127-0,579 | 0,229            | 0,089                  | 0,008           |
| 210-й      | 109                  | Абс.            | 0,932-2,744 | 1,507            | 0,338                  | 0,032           |
|            |                      | Отн.            | 0,160-0,934 | 0,337            | 0,130                  | 0,012           |

Таблица 37 – Динамика массы сердца самцов с 20-го по 210-й дни жизни

| День жизни | Обследовано животных | Масса сердца | Min-Max     | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|----------------------|--------------|-------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 20-й       | 190                  | Абс.         | 0,167-0,379 | 0,260            | 0,045                  | 0,003           |
|            |                      | Отн.         | 0,413-0,925 | 0,597            | 0,072                  | 0,005           |
| 60-й       | 94                   | Абс.         | 0,780-1,490 | 1,060            | 0,124                  | 0,013           |
|            |                      | Отн.         | 0,278-0,463 | 0,348            | 0,041                  | 0,004           |
| 100-й      | 150                  | Абс.         | 0,890-1,774 | 1,402            | 0,151                  | 0,012           |
|            |                      | Отн.         | 0,227-0,432 | 0,345            | 0,036                  | 0,003           |
| 150-й      | 112                  | Абс.         | 1,070-1,808 | 1,337            | 0,157                  | 0,015           |
|            |                      | Отн.         | 0,227-0,404 | 0,279            | 0,024                  | 0,002           |
| 210-й      | 110                  | Абс.         | 0,980-1,776 | 1,373            | 0,182                  | 0,017           |
|            |                      | Отн.         | 0,203-0,482 | 0,298            | 0,055                  | 0,005           |

Таблица 38 – Динамика массы легких самцов с 20-го по 210-й дни жизни

| День жизни | Обследовано животных | Масса легких | Min-Max     | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|----------------------|--------------|-------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 20-й       | 189                  | Абс.         | 0,199-0,861 | 0,558            | 0,099                  | 0,007           |
|            |                      | Отн.         | 0,491-2,131 | 1,287            | 0,217                  | 0,016           |
| 60-й       | 45                   | Абс.         | 1,470-2,915 | 1,945            | 0,324                  | 0,048           |
|            |                      | Отн.         | 0,447-1,004 | 0,631            | 0,120                  | 0,018           |
| 100-й      | 147                  | Абс.         | 1,560-3,732 | 2,426            | 0,439                  | 0,036           |
|            |                      | Отн.         | 0,364-0,984 | 0,597            | 0,103                  | 0,008           |
| 150-й      | 108                  | Абс.         | 1,399-3,776 | 2,126            | 0,451                  | 0,043           |
|            |                      | Отн.         | 0,286-0,809 | 0,444            | 0,100                  | 0,010           |
| 210-й      | 62                   | Абс.         | 1,424-3,718 | 2,211            | 0,442                  | 0,056           |
|            |                      | Отн.         | 0,243-0,935 | 0,499            | 0,171                  | 0,022           |

Таблица 39 – Динамика массы тимуса самцов с 20-го по 210-й дни жизни

| День жизни | Обследовано животных | Масса тимуса | Min-Max     | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|----------------------|--------------|-------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 20-й       | 145                  | Абс.         | 0,072-0,314 | 0,182            | 0,045                  | 0,004           |
|            |                      | Отн.         | 0,166-0,682 | 0,416            | 0,095                  | 0,008           |
| 60-й       | 46                   | Абс.         | 0,413-1,099 | 0,658            | 0,156                  | 0,023           |
|            |                      | Отн.         | 0,129-0,380 | 0,213            | 0,053                  | 0,008           |
| 100-й      | 150                  | Абс.         | 0,250-0,960 | 0,567            | 0,131                  | 0,011           |
|            |                      | Отн.         | 0,068-0,223 | 0,139            | 0,031                  | 0,003           |
| 150-й      | 112                  | Абс.         | 0,180-0,870 | 0,506            | 0,155                  | 0,015           |
|            |                      | Отн.         | 0,038-0,184 | 0,106            | 0,033                  | 0,003           |
| 210-й      | 62                   | Абс.         | 0,216-1,074 | 0,517            | 0,212                  | 0,027           |
|            |                      | Отн.         | 0,036-0,363 | 0,125            | 0,085                  | 0,011           |

Таблица 40 – Динамика надпочечников самцов с 20-го по 210-й дни жизни

| День жизни | Обследовано животных | Масса надпочечников | Min-Max     | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|----------------------|---------------------|-------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 20-й       | 136                  | Абс.                | 0,010-0,041 | 0,021            | 0,006                  | 0,001           |
|            |                      | Отн.                | 0,024-0,095 | 0,049            | 0,014                  | 0,001           |
| 60-й       | 93                   | Абс.                | 0,011-0,089 | 0,043            | 0,022                  | 0,002           |
|            |                      | Отн.                | 0,003-0,031 | 0,014            | 0,007                  | 0,001           |
| 100-й      | 150                  | Абс.                | 0,045-0,113 | 0,081            | 0,015                  | 0,001           |
|            |                      | Отн.                | 0,012-0,029 | 0,0199           | 0,0036                 | 0,0003          |
| 150-й      | 112                  | Абс.                | 0,019-0,078 | 0,037            | 0,008                  | 0,001           |
|            |                      | Отн.                | 0,003-0,015 | 0,0077           | 0,0017                 | 0,0002          |
| 210-й      | 110                  | Абс.                | 0,015-0,144 | 0,048            | 0,030                  | 0,003           |
|            |                      | Отн.                | 0,003-0,032 | 0,011            | 0,008                  | 0,001           |

Таблица 41 – Динамика массы семенников самцов с 20-го по 210-й дни жизни

| День жизни | Обследовано животных | Масса семенников | Min-Max     | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|----------------------|------------------|-------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 20-й       | 188                  | Абс.             | 0,134-0,410 | 0,245            | 0,050                  | 0,004           |
|            |                      | Отн.             | 0,266-0,866 | 0,565            | 0,106                  | 0,008           |
| 60-й       | 94                   | Абс.             | 1,670-3,720 | 2,943            | 0,355                  | 0,037           |
|            |                      | Отн.             | 0,572-1,276 | 0,965            | 0,104                  | 0,011           |
| 100-й      | 150                  | Абс.             | 1,460-4,420 | 3,335            | 0,378                  | 0,031           |
|            |                      | Отн.             | 0,329-1,003 | 0,822            | 0,098                  | 0,008           |
| 150-й      | 111                  | Абс.             | 1,757-5,511 | 3,451            | 0,539                  | 0,051           |
|            |                      | Отн.             | 0,407-1,005 | 0,718            | 0,096                  | 0,009           |
| 210-й      | 108                  | Абс.             | 1,807-4,695 | 3,518            | 0,485                  | 0,047           |
|            |                      | Отн.             | 0,400-1,194 | 0,760            | 0,140                  | 0,013           |

Таблица 42 – Динамика массы простаты самцов с 20-го по 210-й дни жизни

| День жизни | Обследовано животных | Масса простаты | Min-Max     | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|----------------------|----------------|-------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 20-й       | 143                  | Абс.           | 0,010-0,072 | 0,031            | 0,013                  | 0,001           |
|            |                      | Отн.           | 0,020-0,167 | 0,073            | 0,032                  | 0,003           |
| 60-й       | 94                   | Абс.           | 0,092-0,523 | 0,228            | 0,100                  | 0,011           |
|            |                      | Отн.           | 0,032-0,170 | 0,074            | 0,031                  | 0,003           |
| 100-й      | 146                  | Абс.           | 0,209-0,950 | 0,496            | 0,167                  | 0,014           |
|            |                      | Отн.           | 0,053-0,244 | 0,121            | 0,038                  | 0,003           |
| 150-й      | 110                  | Абс.           | 0,074-0,841 | 0,332            | 0,177                  | 0,017           |
|            |                      | Отн.           | 0,013-0,173 | 0,070            | 0,037                  | 0,004           |
| 210-й      | 104                  | Абс.           | 0,200-0,851 | 0,485            | 0,157                  | 0,015           |
|            |                      | Отн.           | 0,043-0,227 | 0,106            | 0,037                  | 0,004           |

Таблица 43 – Динамика массы мозга самцов с 20-го по 210-й дни жизни

| День жизни | Обследовано животных | Масса мозга | Min-Max     | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|----------------------|-------------|-------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 20-й       | 121                  | Абс.        | 0,921-1,586 | 1,317            | 0,140                  | 0,013           |
|            |                      | Отн.        | 1,754-4,076 | 2,964            | 0,427                  | 0,039           |
| 60-й       | 46                   | Абс.        | 1,427-2,031 | 1,830            | 0,132                  | 0,020           |
|            |                      | Отн.        | 0,463-0,718 | 0,592            | 0,052                  | 0,008           |
| 100-й      | 150                  | Абс.        | 1,600-2,333 | 1,958            | 0,136                  | 0,011           |
|            |                      | Отн.        | 0,363-0,607 | 0,484            | 0,054                  | 0,004           |
| 150-й      | 112                  | Абс.        | 1,469-2,378 | 2,044            | 0,160                  | 0,015           |
|            |                      | Отн.        | 0,272-0,531 | 0,429            | 0,051                  | 0,005           |
| 210-й      | 61                   | Абс.        | 1,522-2,273 | 1,977            | 0,204                  | 0,026           |
|            |                      | Отн.        | 0,255-0,585 | 0,438            | 0,088                  | 0,011           |

Таблица 44 – Динамика массы гипофиза самцов с 60-го по 210-й дни жизни

| День жизни | Обследовано животных | Масса гипофиза | Min-Max         | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|----------------------|----------------|-----------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 60-й       | 86                   | Абс.           | 0,0010-0,0151   | 0,0074           | 0,0030                 | 0,0003          |
|            |                      | Отн.           | 0,0003-0,0046   | 0,0025           | 0,0010                 | 0,0001          |
| 100-й      | 149                  | Абс.           | 0,006-0,071     | 0,023            | 0,016                  | 0,001           |
|            |                      | Отн.           | 0,0015-0,0155   | 0,0055           | 0,0038                 | 0,0003          |
| 150-й      | 105                  | Абс.           | 0,003-0,019     | 0,0086           | 0,0032                 | 0,0003          |
|            |                      | Отн.           | 0,00067-0,00433 | 0,00180          | 0,00070                | 0,00007         |
| 210-й      | 106                  | Абс.           | 0,003-0,024     | 0,0105           | 0,0044                 | 0,0004          |
|            |                      | Отн.           | 0,0007-0,0050   | 0,0023           | 0,0009                 | 0,0001          |

Диапазон колебаний показателей антиоксидантного статуса крыс, включающих такие параметры, как активность ферментов антиоксидантной защиты эритроцитов – глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, супероксиддисмутазы, каталазы, а также содержание продуктов перекисного окисления липидов – малонового диальдегида в эритроцитах, сыворотке крови и печени крыс на разных этапах онтогенеза представлены в таблицах 45-46.

Таблица 45 – Активность ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах крыс 20-210-го дней жизни

| День жизни | Обследовано животных | Показатель       | Min-Max      | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|----------------------|------------------|--------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 20-й       | 103                  | ГР <sup>1</sup>  | 21,59-63,64  | 39,12            | 9,89                   | 0,97            |
|            |                      | ГП <sup>2</sup>  | 51,25-108,02 | 70,32            | 13,15                  | 1,30            |
|            |                      | СОД <sup>3</sup> | 2076-3443    | 2672             | 311                    | 31              |
|            |                      | КАТ <sup>4</sup> | 394,3-941,7  | 613,0            | 122,2                  | 12,0            |
| 60-й       | 102                  | ГР               | 25,66-61,48  | 42,49            | 8,12                   | 0,80            |
|            |                      | ГП               | 43,40-87,71  | 64,62            | 9,22                   | 0,93            |
|            |                      | СОД              | 1587-2893    | 1957             | 210                    | 21              |
|            |                      | КАТ              | 278,9-816,0  | 521,3            | 107,6                  | 10,7            |
| 100-й      | 149                  | ГР               | 18,10-73,73  | 41,19            | 8,86                   | 0,75            |
|            |                      | ГП               | 46,47-94,64  | 66,56            | 9,79                   | 0,81            |
|            |                      | СОД              | 1262-2407    | 1815             | 208                    | 17              |
|            |                      | КАТ              | 309,6-813,6  | 541,8            | 91,8                   | 7,5             |
| 150-й      | 112                  | ГР               | 18,74-45,25  | 33,69            | 5,24                   | 0,50            |
|            |                      | ГП               | 40,94-72,15  | 53,77            | 5,87                   | 0,55            |
|            |                      | СОД              | 1443-2678    | 1747             | 147                    | 14              |
|            |                      | КАТ              | 330,2-724,8  | 520,5            | 87,5                   | 8,3             |
| 210-й      | 116                  | ГР               | 17,76-61,04  | 37,70            | 7,39                   | 0,68            |
|            |                      | ГП               | 46,71-88,43  | 62,16            | 9,26                   | 0,86            |
|            |                      | СОД              | 1571-2578    | 1925             | 212                    | 20              |
|            |                      | КАТ              | 250,0-750,9  | 529,3            | 93,4                   | 8,7             |

<sup>1</sup> Активность ГР, мкмоль/мин·г Нб<sup>2</sup> Активность ГП, мкмоль/мин·г Нб<sup>3</sup> Активность СОД, ммоль/мин·г Нб<sup>4</sup> Активность КАТ, ЕД/мин·г Нб

Таблица 46 – Содержание малонового диальдегида в крови и печени крыс 20-210-го дней жизни

| День жизни | Обследовано животных | Показатель            | Min-Max      | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|----------------------|-----------------------|--------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 20-й       | 103                  | МДА эр. <sup>1</sup>  | 12,81-72,70  | 38,16            | 13,96                  | 1,38            |
|            |                      | МДА сыв. <sup>2</sup> | 3,077-9,807  | 6,414            | 1,208                  | 0,078           |
|            |                      | МДА печ. <sup>3</sup> | 291,7-998,7  | 545,7            | 157,6                  | 15,2            |
| 60-й       | 102                  | МДА эр.               | 2,712-9,492  | 4,715            | 1,368                  | 0,140           |
|            |                      | МДА сыв.              | 4,615-9,615  | 6,402            | 1,006                  | 0,100           |
|            |                      | МДА печ.              | 214,1-730,8  | 404,6            | 109,2                  | 11,8            |
| 100-й      | 149                  | МДА эр.               | 2,020-8,597  | 4,850            | 1,712                  | 0,141           |
|            |                      | МДА сыв.              | 2,115-9,807  | 5,614            | 1,431                  | 0,118           |
|            |                      | МДА печ.              | 229,5-855,1  | 409,6            | 119,8                  | 9,8             |
| 150-й      | 112                  | МДА эр.               | 2,712-8,886  | 5,264            | 1,139                  | 0,108           |
|            |                      | МДА сыв.              | 4,327-10,961 | 6,708            | 1,134                  | 0,108           |
|            |                      | МДА печ.              | 276,9-794,9  | 415,5            | 82,1                   | 7,8             |
| 210-й      | 116                  | МДА эр.               | 2,020-9,463  | 4,866            | 1,401                  | 0,129           |
|            |                      | МДА сыв.              | 2,500-9,327  | 6,288            | 1,409                  | 0,128           |
|            |                      | МДА печ.              | 228,2-691,0  | 400,3            | 102,8                  | 9,8             |

<sup>1</sup> Содержание МДА в эритроцитах, нмоль/мл<sup>2</sup> Содержание МДА в сыворотке, нмоль/мл<sup>3</sup> Содержание МДА в печени, нмоль/г

Диапазон колебаний биохимических показателей сыворотки крови крыс, включавших параметры белкового, углеводного и липидного обмена, активность ферментов, содержание макро- и микроэлементов на разных этапах онтогенеза представлены в таблицах 47-49.

Таблица 47 – Биохимические показатели сыворотки крови крыс 60-210-го дней жизни

| День жизни | Показатель                 | Обследовано животных | Min-Max      | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|----------------------------|----------------------|--------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 60-й       | Общий белок, г/л           | 88                   | 51,50-97,80  | 67,43            | 10,55                  | 1,13            |
|            | Альбумин, г/л              | 88                   | 29,60-60,10  | 39,75            | 7,04                   | 0,75            |
|            | Глобулин, г/л              | 46                   | 19,97-36,30  | 27,33            | 4,73                   | 0,70            |
|            | Триглицериды, ммоль/л      | 88                   | 0,210-2,360  | 1,027            | 0,515                  | 0,055           |
|            | Общий билирубин, мкмоль/л  | 87                   | 1,00-7,00    | 3,53             | 1,44                   | 1,16            |
|            | Прямой билирубин, мкмоль/л | 31                   | 1,97-5,70    | 2,44             | 0,69                   | 0,13            |
|            | Мочевина, ммоль/л          | 88                   | 3,88-17,60   | 7,82             | 3,11                   | 0,33            |
|            | Мочевая кислота, мкмоль/л  | 16                   | 46,34-106,41 | 62,91            | 16,14                  | 4,04            |
|            | Креатинин, мкмоль/л        | 83                   | 20,00-98,00  | 42,73            | 16,75                  | 1,84            |
|            | Глюкоза, ммоль/л           | 88                   | 1,59-9,58    | 5,063            | 1,526                  | 0,163           |
|            | Холестерин, ммоль/л        | 88                   | 1,080-4,350  | 2,289            | 0,793                  | 0,085           |
| 100-й      | Общий белок, г/л           | 142                  | 53,9-97,6    | 70,99            | 9,56                   | 0,80            |
|            | Альбумин, г/л              | 150                  | 29,7-60,0    | 41,25            | 5,45                   | 0,45            |
|            | Глобулин, г/л              | 146                  | 11,2-62,9    | 32,14            | 10,26                  | 0,85            |
|            | Триглицериды, ммоль/л      | 150                  | 0,130-2,520  | 0,823            | 0,373                  | 0,030           |
|            | Общий билирубин, мкмоль/л  | 150                  | 1,0-9,0      | 3,413            | 1,420                  | 0,116           |
|            | Прямой билирубин, мкмоль/л | 150                  | 0            | 0                | 0                      | 0               |
|            | Мочевина, ммоль/л          | 131                  | 2,25-10,60   | 5,798            | 1,404                  | 0,123           |
|            | Мочевая кислота, мкмоль/л  | -                    | -            | -                | -                      | -               |
|            | Креатинин, мкмоль/л        | 150                  | 13-134       | 81,5             | 21,7                   | 1,8             |
|            | Глюкоза, ммоль/л           | 146                  | 3,07-10,92   | 5,78             | 1,63                   | 0,14            |
|            | Холестерин, ммоль/л        | 149                  | 0,110-4,39   | 1,56             | 0,72                   | 0,06            |
| 150-й      | Общий белок, г/л           | 112                  | 55,71-77,04  | 67,21            | 4,90                   | 0,46            |
|            | Альбумин, г/л              | 112                  | 21,37-36,92  | 30,38            | 3,22                   | 0,30            |
|            | Глобулин, г/л              | 112                  | 26,33-46,62  | 36,83            | 3,87                   | 0,37            |
|            | Триглицериды, ммоль/л      | 112                  | 0,334-2,682  | 0,924            | 0,399                  | 0,038           |
|            | Общий билирубин, мкмоль/л  | 112                  | 0,889-8,470  | 3,725            | 1,292                  | 0,122           |
|            | Прямой билирубин, мкмоль/л | 112                  | 1,733-8,793  | 3,166            | 1,460                  | 0,138           |
|            | Мочевина, ммоль/л          | 112                  | 3,067-9,847  | 5,736            | 1,648                  | 0,156           |
|            | Мочевая кислота, мкмоль/л  | 112                  | 23,94-103,40 | 59,98            | 15,90                  | 1,50            |
|            | Креатинин, мкмоль/л        | 112                  | 10,84-65,00  | 48,20            | 9,10                   | 0,86            |
|            | Глюкоза, ммоль/л           | 108                  | 4,172-10,873 | 6,586            | 1,486                  | 0,143           |
|            | Холестерин, ммоль/л        | 112                  | 1,004-3,225  | 1,849            | 0,449                  | 0,042           |
| 210-й      | Общий белок, г/л           | 103                  | 55,11-99,80  | 73,05            | 9,82                   | 0,97            |
|            | Альбумин, г/л              | 107                  | 25,34-59,60  | 37,99            | 7,59                   | 0,73            |
|            | Глобулин, г/л              | 65                   | 23,78-47,79  | 34,91            | 5,76                   | 0,71            |
|            | Триглицериды, ммоль/л      | 107                  | 0,140-1,910  | 0,893            | 0,327                  | 0,032           |
|            | Общий билирубин, мкмоль/л  | 106                  | 1,719-9,000  | 3,755            | 1,469                  | 0,143           |
|            | Прямой билирубин, мкмоль/л | 49                   | 1,27-4,75    | 2,66             | 0,68                   | 0,10            |
|            | Мочевина, ммоль/л          | 101                  | 3,12-12,40   | 6,67             | 2,30                   | 0,23            |
|            | Мочевая кислота, мкмоль/л  | 49                   | 47,53-113,58 | 77,81            | 16,87                  | 2,41            |
|            | Креатинин, мкмоль/л        | 107                  | 28,2-111,0   | 59,45            | 19,17                  | 1,85            |
|            | Глюкоза, ммоль/л           | 107                  | 2,530-8,038  | 5,761            | 1,319                  | 0,128           |
|            | Холестерин, ммоль/л        | 106                  | 0,120-3,850  | 2,142            | 0,748                  | 0,073           |

Таблица 48 – Биохимические показатели (активность ферментов) сыворотки крови крыс 60-210-го дней жизни

| День жизни | Показатель, Е/л     | Обследовано животных | Min-Max      | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|---------------------|----------------------|--------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 60-й       | Лактатдегидрогеназа | 88                   | 398-6508     | 2304             | 1169                   | 125             |
|            | Альфа-амилаза       | 88                   | 421-3018     | 1400             | 584                    | 62              |
|            | Креатинфосфокиназа  | 88                   | 795-23383    | 7042             | 4547                   | 485             |
|            | Липаза              | 73                   | 6,0-74,0     | 24,92            | 17,48                  | 2,05            |
|            | Гамма-ГТ            | 87                   | 0,029-41,10  | 5,424            | 7,040                  | 0,755           |
|            | Щелочная фосфатаза  | 86                   | 113-980      | 463              | 191                    | 21              |
|            | АЛТ                 | 85                   | 20-124       | 61,4             | 24,0                   | 2,6             |
|            | АСТ                 | 85                   | 119-460      | 200,0            | 56                     | 6               |
| 100-й      | Лактатдегидрогеназа | 119                  | 705-5712     | 1997             | 873                    | 80              |
|            | Альфа-амилаза       | 150                  | 496-2829     | 1170             | 443                    | 36              |
|            | Креатинфосфокиназа  | 70                   | 1010-17930   | 7670             | 3759                   | 449             |
|            | Липаза              | 150                  | 2-195        | 38,64            | 36,00                  | 2,87            |
|            | Гамма-ГТ            | 147                  | 0,1-49,5     | 5,52             | 9,34                   | 0,77            |
|            | Щелочная фосфатаза  | 148                  | 139-816      | 384              | 145                    | 12              |
|            | АЛТ                 | 136                  | 20-116       | 67,0             | 16,6                   | 1,0             |
|            | АСТ                 | 150                  | 85-457       | 206              | 59                     | 5               |
| 150-й      | Лактатдегидрогеназа | 112                  | 728-2268     | 1234             | 285                    | 27              |
|            | Альфа-амилаза       | 112                  | 998-7033     | 2333             | 800                    | 76              |
|            | Креатинфосфокиназа  | 112                  | 491-21095    | 6181             | 4515                   | 427             |
|            | Липаза              | 64                   | 0,203-15,157 | 5,309            | 4,270                  | 0,534           |
|            | Гамма-ГТ            | 40                   | 0,326-3,728  | 1,827            | 0,915                  | 0,145           |
|            | Щелочная фосфатаза  | 106                  | 33-765       | 110              | 112                    | 11              |
|            | АЛТ                 | 112                  | 23-96        | 48,2             | 14,2                   | 1,3             |
|            | АСТ                 | 112                  | 79-395       | 162              | 55                     | 5               |
| 210-й      | Лактатдегидрогеназа | 107                  | 672-10899    | 2999             | 2103                   | 203             |
|            | Альфа-амилаза       | 107                  | 148-3225     | 1472             | 806                    | 78              |
|            | Креатинфосфокиназа  | 95                   | 489-19134    | 4860             | 3210                   | 329             |
|            | Липаза              | 90                   | 2,89-91,00   | 14,52            | 10,69                  | 1,13            |
|            | Гамма-ГТ            | 99                   | 0,123-23,400 | 3,891            | 4,314                  | 0,434           |
|            | Щелочная фосфатаза  | 102                  | 40,5-745,0   | 221,9            | 144,9                  | 14,3            |
|            | АЛТ                 | 106                  | 24-152       | 63,3             | 21,5                   | 2,1             |
|            | АСТ                 | 107                  | 111-441      | 211              | 63                     | 6               |

Таблица 49 – Содержание макро- и микроэлементов в сыворотке крови крыс 60-210-го дней жизни

| День жизни | Показатель, ммоль/л | Обследовано животных | Min-Max     | Среднее значение | Стандартное отклонение | Ошибка среднего |
|------------|---------------------|----------------------|-------------|------------------|------------------------|-----------------|
| 60-й       | Кальций             | 46                   | 2,438-4,300 | 3,037            | 0,501                  | 0,074           |
|            | Магний              | 46                   | 0,600-1,550 | 0,996            | 0,171                  | 0,025           |
|            | Железо              | 44                   | 11,97-60,44 | 28,55            | 13,45                  | 2,03            |
|            | Натрий              | 46                   | 131,6-186,6 | 147,6            | 11,7                   | 1,7             |
|            | Калий               | 45                   | 5,090-9,120 | 6,446            | 0,784                  | 0,117           |
|            | Фосфор              | 46                   | 2,120-3,241 | 2,705            | 0,270                  | 0,040           |
|            | Хлор                | 46                   | 80,3-152,0  | 104,4            | 11,8                   | 1,7             |
| 100-й      | Кальций             | 131                  | 1,60-5,00   | 2,534            | 0,622                  | 0,054           |
|            | Магний              | 131                  | 0,410-2,740 | 0,891            | 0,460                  | 0,040           |
|            | Железо              | 131                  | 5,5-54,7    | 22,8             | 9,2                    | 0,8             |
|            | Натрий              | 150                  | 96,3-208,1  | 165,7            | 20,8                   | 1,7             |
|            | Калий               | 150                  | 3,3-10,5    | 6,37             | 1,15                   | 0,09            |
|            | Фосфор              | 150                  | 0,78-5,85   | 2,57             | 0,63                   | 0,09            |
|            | Хлор                | 150                  | 46-224      | 87,6             | 18,0                   | 1,5             |
| 150-й      | Кальций             | 106                  | 2,153-3,157 | 2,784            | 0,257                  | 0,025           |
|            | Магний              | 108                  | 0,660-1,054 | 0,878            | 0,082                  | 0,008           |
|            | Железо              | 105                  | 15,06-45,57 | 29,45            | 7,61                   | 0,74            |
|            | Натрий              | 96                   | 133,6-156,3 | 143,3            | 5,5                    | 0,6             |
|            | Калий               | 96                   | 3,793-6,844 | 5,691            | 0,587                  | 0,060           |
|            | Фосфор              | 112                  | 1,352-2,841 | 2,167            | 0,271                  | 0,026           |
|            | Хлор                | 96                   | 99,8-108,7  | 103,0            | 2,5                    | 0,3             |
| 210-й      | Кальций             | 65                   | 2,2-3,7     | 2,762            | 0,237                  | 0,029           |
|            | Магний              | 65                   | 0,560-1,240 | 0,870            | 0,099                  | 0,012           |
|            | Железо              | 65                   | 18,11-50,87 | 31,02            | 8,38                   | 1,04            |
|            | Натрий              | 49                   | 119-198     | 152              | 16                     | 2               |
|            | Калий               | 49                   | 6,02-9,30   | 7,12             | 0,60                   | 0,09            |
|            | Фосфор              | 65                   | 1,254-2,537 | 2,008            | 0,275                  | 0,034           |
|            | Хлор                | 49                   | 68,6-105,3  | 97,1             | 9,1                    | 1,3             |

Таким образом, на основании обобщения результатов исследования репродуктивной функции и развития потомства, зоометрических показателей (динамика массы тела и роста в 1-й месяц жизни, массы внутренних органов), показателей антиоксидантного статуса и биохимических показателей сыворотки крови у крыс контрольных групп, использованных в различных экспериментах, были получены интервалы нормальных значений (физиологических колебаний) для каждого из изученных показателей, которые были впоследствии использованы для анализа получаемых результатов.

## 5.2 Оптимизация состава экспериментальных рационов для крыс

### 5.2.1 Сравнительная характеристика влияния состава экспериментальных рационов на рост и развитие крыс

В экспериментальных исследованиях *in vivo*, в особенности, связанных с изучением влияния алиментарных факторов, исключительно важным компонентом является формирование базового рациона, обеспечивающего адекватное поступление макро- и микронутриентов. Оптимизация и стандартизация базовых (контрольных) рационов для лабораторных животных по сей день представляет важную задачу [14; 17; 373], целью настоящей работы являлась сравнительная оценка влияния рационов ПКР и АИН-93 на рост и развитие крыс [74].

Эксперимент длительностью 90 дней проводили на крысах самцах линии Вистар с исходной массой тела 90-110 г. Возраст животных в начале эксперимента составлял 35-40 дней [74]. На протяжении исследований не отмечено гибели крыс обеих групп. Общее состояние животных было удовлетворительным. По внешнему виду, качеству шерстного покрова, поведению и скорости роста животные АИН-группы не отличались от животных ПКР-группы. Ежедневный прирост массы тела соответствовал уровню прироста, характерному для данного вида и возраста животных (рисунок 45) [74; 135; 209; 210; 282; 321].

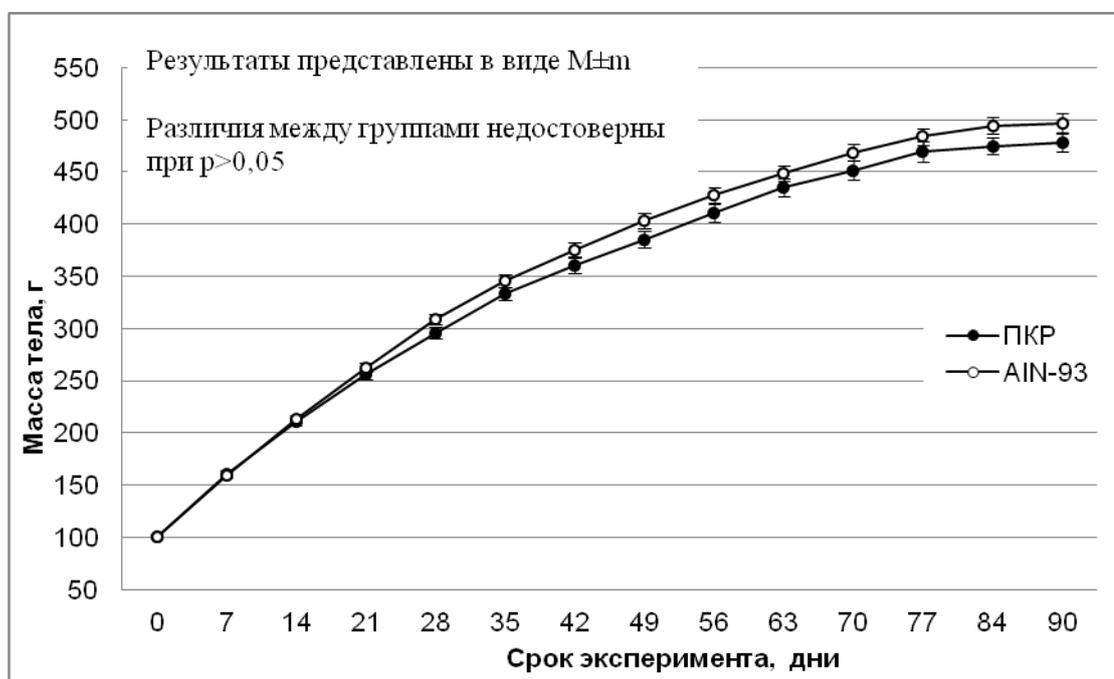


Рисунок 45 – Динамика массы тела крыс, получавших экспериментальные рационы в течение 90 дней

Анализ распределений массы тела крыс в группах, выполненный с использованием  $\chi^2$ -критерия, указывает на однородность показателей; небольшая тенденция к повышению массы

тела у крыс АIN-группы статистически недостоверна ( $p>0,05$ ). Поедаемость корма крысами АIN-группы на всех сроках эксперимента была выше, чем в ПКР-группе (таблица 50): в начале эксперимента – на 10% ( $p<0,05$ ), в середине эксперимента – на 3% ( $p>0,05$ ), в конце эксперимента – на 5% ( $p<0,05$ ), однако по количеству потребляемой с кормом энергии не выявлено значимых различий между группами, так как калорийность ПКР несколько выше, чем калорийность АIN-93 (таблицы 5, 7) [74].

Вместе с тем, у животных АIN-группы отмечена устойчивая тенденция к отложению большего количества жира, чем у крыс ПКР-группы: абсолютная масса белого жира в подкожнопаховом, эпидидимальном, брыжеечном и забрюшинном жировых депо крыс АIN-группы была на 26, 17, 24 и 26% ( $p>0,05$ ) выше, чем у животных ПКР-группы, относительная – на 27% ( $p>0,05$ ), 17, 25 и 26% ( $p<0,05$ ), соответственно (таблица 51). Суммарная масса жира в жировых депо крыс, получавших АIN-93, была на 23% ( $p<0,05$ ) выше, чем у крыс, получавших ПКР [74].

Таблица 50 – Поедаемость корма крысами на разных сроках эксперимента

| Срок эксперимента |         | ПКР-группа<br>N=15      |                            | АIN-группа<br>N=15      |                            |
|-------------------|---------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|----------------------------|
|                   |         | Поедаемость<br>корма, г | Поедаемость<br>корма, ккал | Поедаемость<br>корма, г | Поедаемость<br>корма, ккал |
| 10-15 суток       | M±m     | 16,4±0,27               | 62,4±1,01                  | 18,1±0,41*              | 65,5±1,48                  |
|                   | Min-max | 11,7-19,4               | 44,6-73,9                  | 12,8-22,0               | 46,3-79,5                  |
| 40-45 суток       | M±m     | 22,8±0,28               | 86,9±1,07                  | 23,4±0,35               | 84,8±1,28                  |
|                   | Min-max | 18,7-25,0               | 71,3-95,3                  | 12,5-25,0               | 45,2-90,4                  |
| 85-90 суток       | M±m     | 24,2±0,32               | 92,1±1,22                  | 25,3±0,30*              | 91,4±1,09                  |
|                   | Min-max | 16,4-28,0               | 62,5-106,7                 | 20,4-28,0               | 73,7-101,2                 |

\* отличия от контроля достоверны при  $p<0,05$

Таблица 51 – Масса жира в жировых депо крыс, получавших экспериментальные рационы в течение 90 дней

| Масса белой жировой ткани, г |         | ПКР-группа<br>N=11 |              | АIN-группа<br>N=11 |              |
|------------------------------|---------|--------------------|--------------|--------------------|--------------|
|                              |         | Абс., г            | Отн., г/100г | Абс., г            | Отн., г/100г |
| Паховый жир                  | M±m     | 4,07±0,52          | 0,86±0,11    | 5,11±1,15          | 1,09±0,25    |
|                              | Min-max | 1,68-6,76          | 0,39-1,54    | 1,05-10,51         | 0,23-2,26    |
| Эпидидимальный жир           | M±m     | 8,47±0,56          | 1,79±0,09    | 9,90±0,52          | 2,10±0,08*   |
|                              | Min-max | 5,46-12,33         | 1,20-2,36    | 7,65-14,05         | 1,64-2,66    |
| Брыжеечный жир               | M±m     | 3,85±0,37          | 0,81±0,07    | 4,79±0,31          | 1,01±0,06*   |
|                              | Min-max | 2,60-6,14          | 0,57-1,18    | 2,99-6,35          | 0,64-1,36    |
| Забрюшинный жир              | M±m     | 8,27±0,62          | 1,75±0,12    | 10,44±0,90         | 2,20±0,17*   |
|                              | Min-max | 5,24-11,80         | 1,15-2,31    | 5,45-14,64         | 1,28-2,93    |
| Суммарная масса жира         | M±m     | 24,66±1,68         | 5,21±0,29    | 30,24±1,71*        | 6,40±0,29*   |
|                              | Min-max | 16,90-34,37        | 3,73-6,73    | 23,24-39,49        | 4,99-7,90    |

\* отличия от контроля достоверны при  $p<0,05$

Масса внутренних органов у животных ПКР-группы и АIN-группы не имела значимых различий (таблица 52). Принимая во внимание, что в норме у крыс данного возраста масса паренхиматозных органов (печень, почки, селезенка) колеблется в диапазоне 50-100%, масса сердца – в диапазоне 30-70%, масса легких – в диапазоне 40-85%, масса тимуса – в диапазоне 100-200%, масса секреторных органов (надпочечники, семенники, предстательная железа) – в диапазоне 100-200% [261; 262], статистически однородная совокупность этих показателей в обследуемой выборке свидетельствует о высокой степени стандартизации исходной колонии крыс, а так же условий роста и развития экспериментальных животных на протяжении всего срока исследования [74].

Таблица 52 – Масса внутренних органов крыс, получавших экспериментальные рационы в течение 90 дней

| Показатели            | ПКР-группа<br>N=27 |              | AIN-группа<br>N=27 |              |             |
|-----------------------|--------------------|--------------|--------------------|--------------|-------------|
|                       | Абс., г            | Отн., г/100г | Абс., г            | Отн., г/100г |             |
| Печень                | M±m                | 12,34±0,45   | 2,661±0,060        | 13,37±0,40   | 2,824±0,061 |
|                       | Min-max            | 9,70-19,33   | 2,259-3,406        | 10,01-17,34  | 2,357-3,355 |
| Почки                 | M±m                | 2,599±0,058  | 0,564±0,009        | 2,709±0,045  | 0,574±0,008 |
|                       | Min-max            | 2,112-3,377  | 0,481-0,690        | 2,228-3,219  | 0,494-0,655 |
| Селезенка             | M±m                | 1,751±0,095  | 0,375±0,016        | 1,951±0,064  | 0,414±0,012 |
|                       | Min-max            | 1,233-3,184  | 0,258-0,571        | 1,321-2,567  | 0,287-0,511 |
| Сердце                | M±m                | 1,330±0,042  | 0,288±0,007        | 1,315±0,016  | 0,279±0,003 |
|                       | Min-max            | 1,009-1,932  | 0,234-0,388        | 1,156-1,478  | 0,244-0,317 |
| Легкие                | M±m                | 2,468±0,084  | 0,536±0,017        | 2,466±0,059  | 0,524±0,013 |
|                       | Min-max            | 1,940-3,665  | 0,430-0,796        | 2,000-3,022  | 0,398-0,684 |
| Тимус                 | M±m                | 0,556±0,036  | 0,121±0,007        | 0,574±0,031  | 0,122±0,007 |
|                       | Min-max            | 0,314-1,101  | 0,056-0,195        | 0,368-0,851  | 0,070-0,188 |
| Семенники             | M±m                | 3,325±0,047  | 0,723±0,014        | 3,546±0,109  | 0,747±0,020 |
|                       | Min-max            | 2,936-3,843  | 0,568-0,885        | 2,540-5,519  | 0,552-1,044 |
| Надпочечники          | M±m                | 0,038±0,003  | 0,008±0,001        | 0,039±0,002  | 0,008±0,001 |
|                       | Min-max            | 0,018-0,070  | 0,003-0,016        | 0,019-0,064  | 0,004-0,014 |
| Предстательная железа | M±m                | 0,415±0,036  | 0,091±0,008        | 0,437±0,042  | 0,093±0,009 |
|                       | Min-max            | 0,150-0,803  | 0,026-0,186        | 0,125-0,881  | 0,028-0,176 |

Не выявлено различий между группами при  $p < 0,05$

Анализ результатов гематологических исследований и биохимических исследований сыворотки крови (таблицы 53-54), выполненный с учетом референсных значений показателей у крыс линии Вистар [99; 252; 261; 262; 282; 373; 384], не выявил отклонений от нормы: все изученные показатели находились в пределах физиологических колебаний, характерных для данного вида животных. Тем не менее, при статистической обработке данных были отмечены

различия между группами: как видно из таблицы 53, содержание тромбоцитов и тромбоцитная величина у крыс АIN-группы были на 11 и 10% ( $p<0,05$ ) ниже, чем у крыс ПКР-группы. Как видно из таблицы 54, содержание общего белка, альбумина, мочевины, креатинина, глюкозы, холестерина в сыворотке крови крыс АIN-группы было на 4, 4, 9, 11, 8, 16% ниже ( $p<0,05$ ), чем у крыс ПКР-группы, содержание кальция и железа – на 3 и 23% ниже, натрия – на 1% выше ( $p<0,05$ ), активность щелочной фосфатазы – на 22% ниже, липазы – на 25% выше ( $p<0,05$ ), соответственно [74].

Таблица 53 – Гематологические показатели крыс, получавших экспериментальные рационы в течение 90 дней

| Показатели                                |         | ПКР-группа<br>N=26 | AIN-группа<br>N=27 | Диапазон<br>нормы по <sup>1</sup> | Интегрированный<br>контроль <sup>2</sup> |
|---|---------|--------------------|--------------------|-----------------------------------|--|
| Общее количество эритроцитов, $10^{12}/л$ | M±m     | 8,272±0,085        | 8,132±0,080        | 4,4-8,9                           | 7,51-9,94                                |
|   | Min-Max | 7,450-9,400        | 7,450-8,820        |                                   |  |
| Концентрация гемоглобина, г/л             | M±m     | 142,0±1,0          | 140,4±1,3          | 86-173                            | 135-177                                  |
|   | Min-Max | 133,0-154,0        | 130,0-154,0        |                                   |  |
| Гематокрит, %                             | M±m     | 41,95±0,35         | 41,77±0,43         | 31,4-51,9                         | 38,40- 52,00                             |
|   | Min-Max | 37,60-45,10        | 37,30-46,10        |                                   |  |
| Средний объем эритроцита, $мкм^3$         | M±m     | 50,77±0,47         | 51,41±0,47         | 50,6-93,8                         | 46,00-58,00                              |
|   | Min-Max | 45,00-55,00        | 46,00-58,00        |                                   |  |
| Среднее содержание Нв в эритроците, пг    | M±m     | 17,19±0,14         | 17,28±0,16         | 13,4-26,1                         | 16,00-20,20                              |
|   | Min-Max | 15,60-18,50        | 15,30-19,10        |                                   |  |
| Средняя концентрация Нв в эритроците, г/л | M±m     | 338,7±1,3          | 336,4±0,88         | 247-368                           | 328-375                                  |
|   | Min-Max | 326,0-354,0        | 326,0-349,0        |                                   |  |
| Лейкоциты, $10^9/л$                       | M±m     | 13,71±0,84         | 13,50±1,05         | 1,4-34,3                          | 4,40-19,10                               |
|   | Min-Max | 7,40-19,90         | 7,50-28,50         |                                   |  |
| Базофилы, %                               | M±m     | 0,404±0,039        | 0,448±0,048        | 0                                 | 0,02-0,80                                |
|   | Min-Max | 0,100-0,800        | 0,100-1,200        |                                   |  |
| Эозинофилы, %                             | M±m     | 2,623±0,125        | 2,870±0,235        | 0,0-5,5                           | 1,00-6,10                                |
|   | Min-Max | 1,400-4,300        | 1,300-7,000        |                                   |  |
| Нейтрофилы, %                             | M±m     | 25,66±1,47         | 27,24±1,25         | 0,4-53,8                          | 5,00-46,80                               |
|   | Min-Max | 15,00-40,40        | 15,50-41,10        |                                   |  |
| Лимфоциты, %                              | M±m     | 66,57±1,58         | 64,72±1,42         | 42,3-98,0                         | 40,20-88,00                              |
|   | Min-Max | 52,20-79,30        | 51,30-77,50        |                                   |  |
| Моноциты, %                               | M±m     | 4,708±0,229        | 4,722±0,265        | 0,0-7,9                           | 1,50-17,55                               |
|   | Min-Max | 3,100-7,200        | 2,300-7,500        |                                   |  |
| Тромбоциты, $10^9/л$                      | M±m     | 612,0±15,4         | 547,5±21,6*        | 409-1250                          | 449-924                                  |
|   | Min-Max | 404,0-753,0        | 299,0-819,0        |                                   |  |
| Средний объем тромбоцита, $мкм^3$         | M±m     | 6,788±0,074        | 6,841±0,063        | 5,0-8,0                           | 6,00-7,80                                |
|   | Min-Max | 6,100-7,400        | 6,100-7,400        |                                   |  |
| Тромбокрит, %                             | M±m     | 0,415±0,011        | 0,373±0,013*       | 0,2-0,5                           | 0,29-0,60                                |
|   | Min-Max | 0,259-0,492        | 0,211-0,545        |                                   |  |

<sup>1</sup> Здесь и далее – по [261; 373]

<sup>2</sup> Здесь и далее – по данным собственных исследований [35]

\* отличия от контроля достоверны при  $p<0,05$

Таблица 54 – Биохимические показатели сыворотки крови крыс, получавших экспериментальные рационы в течение 90 дней

| Показатели                 |         | Контрольная группа<br>N=27 | Опытная группа<br>N=27 | Диапазон нормы по <sup>1</sup> | Интегрированный контроль <sup>2</sup> |
|----------------------------|---------|----------------------------|------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| 1                          |         | 2                          | 3                      | 4                              | 5                                     |
| Общий белок, г/л           | M±m     | 69,94±0,63                 | 67,11±0,74*            | 56-82                          | 53,9-97,6                             |
|                            | Min-Max | 63,26-76,86                | 58,25-73,22            |                                |                                       |
| Альбумин, г/л              | M±m     | 33,41±0,26                 | 31,97±0,26*            | 25-48                          | 21,4-60,0                             |
|                            | Min-Max | 30,04-37,16                | 29,70-34,83            |                                |                                       |
| Глобулин, г/л              | M±m     | 36,54±0,52                 | 35,15±0,58             | 12-57                          | 11,2-62,9                             |
|                            | Min-Max | 31,33-42,89                | 27,95-40,35            |                                |                                       |
| Триглицериды, ммоль/л      | M±m     | 0,997±0,090                | 0,804±0,063            | 0,3-1,6                        | 0,13-2,68                             |
|                            | Min-Max | 0,524-2,756                | 0,432-1,636            |                                |                                       |
| Общий билирубин, мкмоль/л  | M±m     | 2,985±0,102                | 2,770±0,097            | 1-4                            | 0,89-9,00                             |
|                            | Min-Max | 2,003-4,085                | 1,925-4,076            |                                |                                       |
| Прямой билирубин, мкмоль/л | M±m     | 1,882±0,078                | 1,782±0,056            | -                              | -                                     |
|                            | Min-Max | 1,379-3,331                | 1,388-2,603            |                                |                                       |
| Мочевина, ммоль/л          | M±m     | 6,579±0,217                | 6,009±0,156*           | 4-10                           | 2,25-10,60                            |
|                            | Min-Max | 4,572-9,012                | 4,696-7,711            |                                |                                       |
| Мочевая кислота, мкмоль/л  | M±m     | 66,11±1,86                 | 65,67±2,60             | 12-118                         | 23,9-103,4                            |
|                            | Min-Max | 42,57-80,94                | 37,81-89,08            |                                |                                       |
| Креатинин, мкмоль/л        | M±m     | 42,14±0,51                 | 37,50±0,61*            | 13-92                          | 10,8-134,0                            |
|                            | Min-Max | 36,64-47,75                | 26,03-42,67            |                                |                                       |
| Глюкоза, ммоль/л           | M±m     | 7,323±0,180                | 6,764±0,169*           | 4,5-10,0                       | 3,07-10,92                            |
|                            | Min-Max | 5,494-8,926                | 5,067-8,424            |                                |                                       |
| Холестерин, ммоль/л        | M±m     | 2,222±0,077                | 1,857±0,070*           | 0,6-4,3                        | 0,11-4,39                             |
|                            | Min-Max | 1,477-2,871                | 1,195-2,710            |                                |                                       |
| Лактатдегидрогеназа, Е/л   | M±m     | 1090±32                    | 1115±44                | до 5800                        | 705-5712                              |
|                            | Min-Max | 797-1479                   | 781-1536               |                                |                                       |
| Альфа-амилаза, Е/л         | M±m     | 2522±95                    | 2311±90                | до 3207                        | 496-7033                              |
|                            | Min-Max | 1454-3351                  | 1373-3081              |                                |                                       |
| Креатинфосфокиназа, Е/л    | M±m     | 3092±318                   | 3331±273               | 400 <sup>3</sup>               | 491-21095                             |
|                            | Min-Max | 524-5195                   | 462-5287               |                                |                                       |
| Щелочная фосфатаза, Е/л    | M±m     | 179,3±13,3                 | 139,1±8,9*             | 112-814                        | 33-816                                |
|                            | Min-Max | 75,9-369,1                 | 74,6-267,0             |                                |                                       |
| АЛТ, Е/л                   | M±m     | 54,85±1,41                 | 55,99±2,20             | 33-120                         | 20-116                                |
|                            | Min-Max | 43,80-74,45                | 43,40-105,89           |                                |                                       |
| АСТ, Е/л                   | M±m     | 178,1±6,9                  | 170,3±5,1              | 60-236                         | 79-457                                |
|                            | Min-Max | 76,7-254,4                 | 133,9-249,2            |                                |                                       |
| Кальций, ммоль/л           | M±m     | 2,849±0,023                | 2,762±0,020*           | 1,1-6,6                        | 1,60-3,16                             |
|                            | Min-Max | 2,614-3,106                | 2,543-2,918            |                                |                                       |
| Магний, ммоль/л            | M±m     | 0,898±0,010                | 0,897±0,010            | 1,0-1,5                        | 0,41-2,74                             |
|                            | Min-Max | 0,794-1,021                | 0,786-1,006            |                                |                                       |
| Железо, мкмоль/л           | M±m     | 34,88±1,37                 | 27,45±1,30*            | 17,4-61,0                      | 5,5-54,7                              |
|                            | Min-Max | 23,09-49,89                | 16,32-43,45            |                                |                                       |
| Натрий, ммоль/л            | M±m     | 143,4±0,3                  | 145,5±0,5*             | 137-159                        | 96-208                                |
|                            | Min-Max | 139,9-146,6                | 140,0-150,2            |                                |                                       |
| Калий, ммоль/л             | M±m     | 6,939±0,081                | 6,761±0,092            | 3,9-7,2                        | 3,3-10,5                              |
|                            | Min-Max | 6,151-7,730                | 6,049-7,680            |                                |                                       |

| Продолжение таблицы 54 |         |             |             |         |           |
|------------------------|---------|-------------|-------------|---------|-----------|
| 1                      |         | 2           | 3           | 4       | 5         |
| Фосфор, ммоль/л        | M±m     | 2,357±0,040 | 2,384±0,035 | 1,3-2,7 | 0,78-5,85 |
|                        | Min-Max | 1,917-2,738 | 2,070-2,829 |         |           |
| Хлор, ммоль/л          | M±m     | 102,7±0,2   | 102,1±0,2   | 97-115  | 46-224    |
|                        | Min-Max | 100,8-104,8 | 100,3-105,3 |         |           |

<sup>1</sup> Здесь и далее – по [99; 252; 262; 262; 373]

<sup>2</sup> Здесь и далее – по данным собственных исследований (глава 5.1)

<sup>3</sup> Допустимые колебания значений, %

\* отличия от контроля достоверны при  $p < 0,05$

Характер различий между группами в целом можно объяснить различиями составов рационов: например, прослеживается определенная корреляционная зависимость показателей азотистого обмена и содержания белка в сыворотке крови животных с содержанием белка в рационе соответствующей группы, количества тромбоцитов в крови – с количеством линоленовой кислоты в рационах (таблицы 5, 7, 53, 54) [14; 42; 186; 247; 318]. Однако опыт предыдущих исследований указывает, что колебания гематологических и биохимических показателей могут быть весьма значительны и у животных, получавших идентичные по составу рационы [74].

Таблица 55 – Состав оптимизированного полусинтетического казеинового рациона [74]

| Ингредиенты                         | Кол-во, г | Белок, г | Жиры, г | Углеводы, г | Калорийность |       |
|-------------------------------------|-----------|----------|---------|-------------|--------------|-------|
|                                     |           |          |         |             | ккал         | %     |
| Казеин                              | 23,949    | 20,21    | 0,36    | -           | 84,08        | 23,46 |
| Крахмал маисовый                    | 59,0      | 0,59     | -       | 51,07       | 206,64       | 57,65 |
| Масло подсолнечное нерафинированное | 5,0       | -        | 4,99    | -           | 44,91        | 12,53 |
| Лярд                                | 2,0       | -        | 1,99    | -           | 17,91        | 5,00  |
| Солевая смесь <sup>1</sup>          | 3,5       | -        | -       | -           | -            | -     |
| Смесь в/р витаминов <sup>2</sup>    | 1,0       | -        | -       | 1,0         | 4,00         | 1,11  |
| Смесь ж/р витаминов <sup>3</sup>    | 0,1       | -        | 0,1     | -           | 0,9          | 0,25  |
| L-цистеин                           | 0,2       | -        | -       | -           | -            | -     |
| Холин                               | 0,25      | -        | -       | -           | -            | -     |
| трет-Бутилгидрохинон                | 0,001     | -        | -       | -           | -            | -     |
| Микрокристаллическая целлюлоза      | 5,0       | -        | -       | -           | -            | -     |
| ИТОГО                               | 100,0     | 20,80    | 7,44    | 52,07       | 358,44       | 100   |

<sup>1</sup> состав солевой смеси представлен в таблице 8

<sup>2</sup> 1 г содержит: тиамин (В<sub>1</sub>) – 0,5 мг, рибофлавин (В<sub>2</sub>) – 0,6 мг, пиридоксин (В<sub>6</sub>) – 0,6 мг, никотиновой кислоты – 3,0 мг, пантотената кальция – 1,5 мг, фолиевой кислоты – 0,2 мг, цианкобаламина (В<sub>12</sub>) – 0,003 мг, викасола – 0,08 мг, D-биотин – 0,02 мг, глюкозы – до 1 г.

<sup>3</sup> 0,1 мл содержит: ретинола ацетата 400 МЕ, эргокальциферола – 100 МЕ, α-токоферола ацетата – 7,5 мг, подсолнечного масла – до 0,1 мл.

Таким образом, результаты сравнительной оценки влияния рационов ПКР и AIN-93 на рост и развитие крыс не выявили биологически значимых систематических изменений изученных показателей, следовательно, в условиях длительных экспериментов и потребления корма *ad libitum* допустимо использование каждого из этих рационов. Принимая во внимание необходимость совершенствования методологии экспериментальных исследований, а также новые систематизированные сведения о биодоступности, физико-химических и технологических свойствах витаминных и солевых смесей, пересмотрена формула ПКР, используемого в ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии». Оптимизированный синтетический рацион, включающий элементы ПКР и AIN-93 (таблица 55), может быть рекомендован для использования в исследованиях *in vivo* как наиболее современный, гармонизированный с международными подходами и соответствующий физиологическим потребностям крыс [74].

### **5.2.2 Характеристика влияния солей лития в составе экспериментальных рационов на рост, развитие и генеративную функцию крыс**

При формировании экспериментальных рационов для лабораторных животных особое внимание уделяется составу витаминно-минерального комплекса и минорным биологически активным веществам, что обусловлено их высокой функциональной значимостью. Структура витаминно-минерального комплекса полусинтетического казеинового рациона, используемого в экспериментах по комплексной оценке безопасности пищевых продуктов, новых источников пищи, инновационных технологий, биологических активных добавок к пище, наноматериалов и нанотехнологий, предусматривает оптимальный баланс соответствующих витаминов и минералов, удовлетворяющий физиологические потребности крыс [48]. В сравнительных исследованиях предыдущей модификации ПКР и AIN-93 [74], было показано, что у животных, получавших AIN-93, отмечалась устойчивая тенденция к повышенному отложению жира: суммарная масса жира в жировых депо крыс этой группы была на 23% ( $p < 0,05$ ) выше, чем у крыс, получавших ПКР [48]. На основании полученных данных была предложена оптимизированная формула ПКР, аналогичного AIN-93 по составу витаминно-минерального комплекса. Последующий опыт использования оптимизированного ПКР показал, что все крысы, получавшие этот рацион, также сохраняли тенденцию к повышенному отложению жира, кроме того, исследования репродуктивной функции крыс выявили снижение эффективности спаривания у животных с 75-85% до 55-65%. На основании проведенного сравнительного анализа витаминно-минеральной смеси было сделано предположение о ведущей роли солей лития в формировании выявленных изменений. Для уточнения этого положения были проведены сравнительные исследования по оценке широкого спектра

морфофункциональных показателей у крыс, получавших рационы, содержащие или не содержащие в составе соли лития [48; 388].

На протяжении эксперимента общее состояние животных было удовлетворительным. По внешнему виду, качеству шерстного покрова, поведению и скорости роста животные контрольной и опытной групп не имели различий. Ежедневный прирост массы тела соответствовал уровню прироста, характерному для данного вида и возраста животных (рисунок 46) [48].

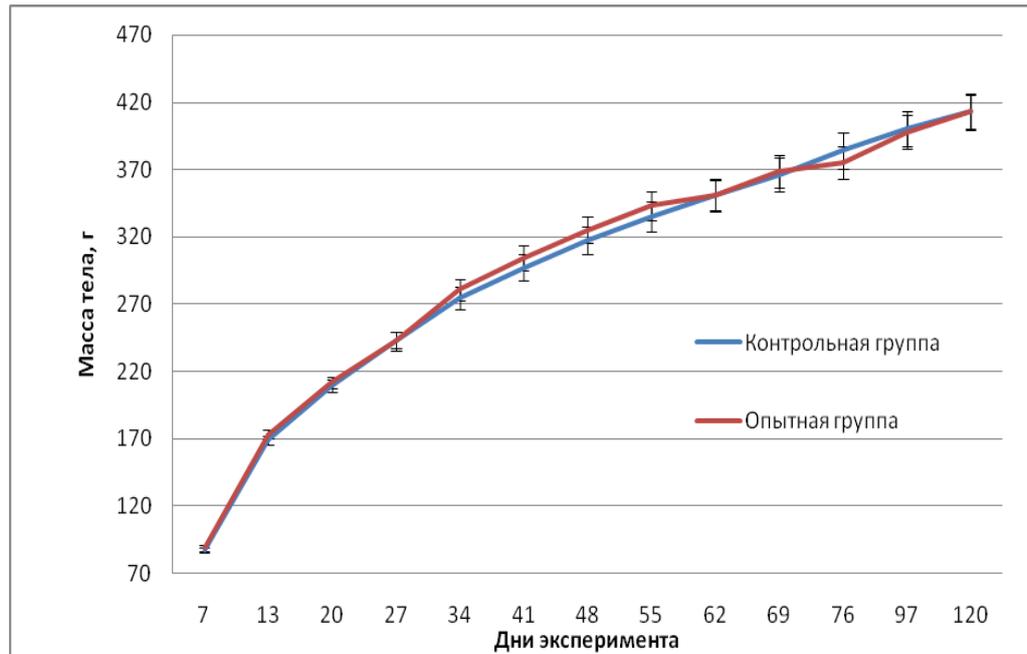


Рисунок 46 – Динамика массы тела самцов, получавших экспериментальные рационы в течение 120 дней

Средняя относительная масса селезенки и забрюшинного жира у крыс опытной группы, получавших рацион без лития, была ниже, чем у крыс контрольной группы: масса селезенки – на 68%, масса забрюшинного жира – на 17%, соответственно (таблица 56) [48].

Концентрация гемоглобина, среднее содержание эритроцитов и гематокрит, а также среднее содержание тромбоцитов и тромбоцит в крови крыс опытной группы были выше, чем у животных контрольной группы на 13%, 18%, 12%, 27% и 19%, соответственно. Средний объем эритроцитов и среднее содержание гемоглобина в эритроците, средний объем тромбоцитов, а также среднее содержание лейкоцитов в крови крыс опытной группы были, соответственно, на 5% и 4%; 6%; 33% ниже, чем у животных контрольной группы (таблица 57) [48].

Анализ биохимических показателей сыворотки крови продемонстрировал повышение концентрации МДА у крыс опытной группы по сравнению с контрольной группой на 17%; уровень общего белка – на 4%; концентрации альбумина – на 5%; концентрации холестерина –

на 26%; концентрации триглицеридов на – 42%; альфа-амилазы – на 18%; концентрации железа – на 29%; концентрации магния – на 7%; концентрации хлора – на 2%, соответственно. Концентрация мочевины в крови крыс опытной группы была на 19% ниже, чем у крыс контрольной группы. Активность АЛТ, АСТ в крови крыс опытной группы была на 18% (таблица 58) [48].

Таблица 56 – Масса внутренних органов самцов, получавших экспериментальные рационы в течение 120 дней

| Показатели   | Группа         |                | Интегрированный контроль <sup>1</sup> |             |
|--------------|----------------|----------------|---------------------------------------|-------------|
|              | Контроль       | Опыт           |                                       |             |
| 1            | 2              | 3              | 4                                     |             |
| Почки        | Абс., г        | 2,778±0,068    | 2,757±0,042                           | 1,099-4,624 |
|              | <i>Min-Max</i> | 2,175-3,528    | 2,480-3,162                           |             |
|              | Отн., г/100 г  | 0,574 ±0,009   | 0,570±0,007                           | 0,253-0,873 |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,489-0,657    | 0,517-0,630                           |             |
| Надпочечники | Абс., г        | 0,0362± 0,0015 | 0,0328±0,00313                        | 0,019-0,113 |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,0212-0,0467  | 0,0221-0,0482                         | 0,003-0,029 |
|              | Отн., г/100 г  | 0,0075±0,0003  | 0,0068±0,0003                         |             |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,0047-0,0105  | 0,0041-0,0093                         |             |
| Семенники    | Абс., г        | 3,311±0,074    | 3,288±0,086                           | 1,460-5,511 |
|              | <i>Min-Max</i> | 2,722-4,064    | 2,617-4,014                           | 0,329-1,005 |
|              | Отн., г/100 г  | 0,686±0,015    | 0,680±0,018                           |             |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,564-0,783    | 0,548-0,838                           |             |
| Легкие       | Абс., г        | 2,357±0,141    | 2,283±0,096                           | 1,399-3,776 |
|              | <i>Min-Max</i> | 1,529-4,064    | 1,752-3,050                           | 0,286-0,809 |
|              | Отн., г/100 г  | 0,483±0,029    | 0,472±0,019                           |             |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,335-0,836    | 0,341-0,608                           |             |
| Печень       | Абс., г        | 13,80±0,32     | 13,05±0,33                            | 7,90-18,10  |
|              | <i>Min-Max</i> | 11,64-18,35    | 11,21-16,21                           | 2,13-3,92   |
|              | Отн., г/100 г  | 2,861±0,060    | 2,696±0,059                           |             |
|              | <i>Min-Max</i> | 2,440-3,418    | 2,366-3,210                           |             |
| Тимус        | Абс., г        | 0,593±0,031    | 0,608±0,042                           | 0,180-0,960 |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,402-0,884    | 0,341-0,971                           | 0,038-0,223 |
|              | Отн., г/100 г  | 0,124±0,008    | 0,126±0,008                           |             |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,089-0,223    | 0,074-0,197                           |             |
| Селезенка    | Абс., г        | 2,646±0,126    | 0,853±0,024*                          | 0,581-2,964 |
|              | <i>Min-Max</i> | 1,829-3,841    | 0,670-1,049                           | 0,127-0,790 |
|              | Отн., г/100 г  | 0,554±0,033    | 0,177± 0,005*                         |             |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,363-0,884    | 0,131-0,216                           |             |
| Сердце       | Абс., г        | 1,295±0,033    | 1,252± 0,017                          | 0,890-1,808 |
|              | <i>Min-Max</i> | 1,106-1,720    | 1,161-1,425                           | 0,227-0,404 |
|              | Отн., г/100 г  | 0,268±0,006    | 0,259±0,004                           |             |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,224-0,339    | 0,233-0,297                           |             |
| Простата     | Абс., г        | 0,469±0,062    | 0,514±0,063                           | 0,074-0,950 |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,178-1,165    | 0,236-1,190                           | 0,013-0,244 |
|              | Отн., г/100 г  | 0,099± 0,013   | 0,106± 0,013                          |             |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,034-0,251    | 0,051-0,251                           |             |

| Продолжение таблицы 56 |                |             |              |   |
|------------------------|----------------|-------------|--------------|---|
| 1                      |                | 2           | 3            | 4 |
| Забрюшинный жир        | Абс., г        | 14,59±0,024 | 12,26±0,18*  | - |
|                        | <i>Min-Max</i> | 12,05-16,54 | 10,89-13,89  |   |
|                        | Отн., г/100 г  | 3,042±0,003 | 2,537±0,008* | - |
|                        | <i>Min-Max</i> | 3,027-3,064 | 2,501-2,597  |   |

<sup>1</sup> Здесь и далее – по данным собственных исследований (глава 5.1)

\* отличия от контроля достоверны при  $p < 0,05$

Таблица 57 – Гематологические показатели самцов, получавших экспериментальные рационы в течение 120 дней

| Показатели                                |                | Группа     |            | Диапазон нормы | Интегрированный контроль |
|---|----------------|------------|------------|----------------|--------------------------|
|   |                | Контроль   | Опыт       |                |                          |
| Общее количество эритроцитов, $10^{12}/л$ | $M \pm m$      | 7,68±0,10  | 9,07±0,11* | 4,4-8,9        | 7,51-9,94                |
|   | <i>Min-Max</i> | 6,38-8,29  | 7,80-9,77  |                |                          |
| Концентрация гемоглобина, г/л             | $M \pm m$      | 147±2      | 166±2*     | 86-173         | 135-177                  |
|   | <i>Min-Max</i> | 128-159    | 147-179    |                |                          |
| Гематокрит, %                             | $M \pm m$      | 43,6±0,5   | 49,0±0,6*  | 31,4-51,9      | 38,40- 52,00             |
|   | <i>Min-Max</i> | 38,0-47,6  | 43,1-53,0  |                |                          |
| Средний объем эритроцита, $мкм^3$         | $M \pm m$      | 56,8±0,6   | 54,1±0,3*  | 50,6-93,8      | 46,00-58,00              |
|   | <i>Min-Max</i> | 53,0-64,0  | 51,0-56,0  |                |                          |
| Среднее содержание Нв в эритроците, пг    | $M \pm m$      | 19,1±0,2   | 18,3±0,1*  | 13,4-26,1      | 16,00-20,20              |
|   | <i>Min-Max</i> | 17,7-20,6  | 17,3-19,2  |                |                          |
| Средняя концентрация Нв в эритроците, г/л | $M \pm m$      | 337±1      | 339±1      | 247-368        | 328-375                  |
|   | <i>Min-Max</i> | 319-346    | 331-347    |                |                          |
| Лейкоциты, $10^9/л$                       | $M \pm m$      | 13,2±1,3   | 8,9±0,5*   | 1,4-34,3       | 4,40-19,10               |
|   | <i>Min-Max</i> | 8,9-33,8   | 4,9-12,8   |                |                          |
| Базофилы, %                               | $M \pm m$      | 0,45±0,07  | 0,42±0,04  | 0              | 0,02-0,80                |
|   | <i>Min-Max</i> | 0,20-1,60  | 0,20-0,80  |                |                          |
| Эозинофилы, %                             | $M \pm m$      | 3,1±0,2    | 3,0±0,2    | 0,0-5,5        | 1,00-6,10                |
|   | <i>Min-Max</i> | 2,0-6,1    | 1,2-5,4    |                |                          |
| Нейтрофилы, %                             | $M \pm m$      | 27,43±1,54 | 23,98±1,35 | 0,4-53,8       | 5,00-46,80               |
|   | <i>Min-Max</i> | 19,8-45,3  | 13,3-36,9  |                |                          |
| Лимфоциты, %                              | $M \pm m$      | 58,9±1,9   | 60,1±2,8   | 42,3-98,0      | 40,20-88,00              |
|   | <i>Min-Max</i> | 35,7-67,9  | 22,5-78,8  |                |                          |
| Моноциты, %                               | $M \pm m$      | 10,1±0,6   | 10,5±0,8   | 0,0-7,9        | 1,50-17,55               |
|   | <i>Min-Max</i> | 6,1-17,2   | 5,8-18,3   |                |                          |
| Тромбоциты, $10^9/л$                      | $M \pm m$      | 464±22     | 588±21*    | 409-1250       | 449-924                  |
|   | <i>Min-Max</i> | 265-671    | 444-787    |                |                          |
| Средний объем тромбоцита, $мкм^3$         | $M \pm m$      | 6,8±0,1    | 6,4±0,1*   | 5,0-8,0        | 6,00-7,80                |
|   | <i>Min-Max</i> | 6,4-7,7    | 6,0-7,0    |                |                          |
| Тромбокрит, %                             | $M \pm m$      | 0,32±0,01  | 0,38±0,01* | 0,2-0,5        | 0,29-0,60                |
|   | <i>Min-Max</i> | 0,18-0,44  | 0,30-0,50  |                |                          |

\* отличия от контроля достоверны при  $p < 0,05$

Анализ выявленных различий позволяет с высокой степенью уверенности связать их с определенными физиолого-биохимическими процессами: так, снижение массы селезенки у

крыс опытной группы может быть обусловлено снижением содержания форменных элементов крови, главным образом – эритроцитов, при этом содержание эритроцитов в крови крыс опытной группы было достоверно выше, чем у контрольных животных [48]. Следствием увеличения концентрации эритроцитов в крови, а также увеличения гематокрита, может являться более высокое потребление кислорода на единицу массы тела при условии одинаковой  $O_2$ -связывающей способности эритроцитов и  $O_2$ -усвояющей способности тканей [357]. Уменьшение относительной массы забрюшинного жира у крыс опытной группы по сравнению с животными контрольной группы свидетельствует об относительном снижении анаболических процессов у животных опытной группы, главным образом липогенеза в адипоцитах, а также снижением самого адипогенеза [15; 48; 243].

Таблица 58 – Биохимические показатели сыворотки крови самцов, получавших экспериментальные рационы в течение 120 дней

| Показатели                 |         | Контрольная группа | Опытная группа | Диапазон нормы   | Интегрированный контроль |
|----------------------------|---------|--------------------|----------------|------------------|--------------------------|
| 1                          |         | 2                  | 3              | 4                | 5                        |
| Общий белок, г/л           | M±m     | 69,3±0,8           | 72,2±1,0*      | 56-82            | 53,9-97,6                |
|                            | Min-Max | 64,9-78,5          | 62,7-81,6      |                  |                          |
| Альбумин, г/л              | M±m     | 32,0±0,3           | 33,7±0,4*      | 25-48            | 21,4-60,0                |
|                            | Min-Max | 29,4-34,2          | 31,3-37,9      |                  |                          |
| Глобулин, г/л              | M±m     | 37,4±0,7           | 38,5±0,7       | 12-57            | 11,2-62,9                |
|                            | Min-Max | 33,7-44,6          | 30,8-43,7      |                  |                          |
| Триглицериды, ммоль/л      | M±m     | 1,01±0,11          | 1,43±0,1*      | 0,3-1,6          | 0,13-2,68                |
|                            | Min-Max | 0,63-3,00          | 0,63-2,64      |                  |                          |
| Общий билирубин, мкмоль/л  | M±m     | 3,75±0,20          | 4,15±0,28      | 1-4              | 0,89-9,00                |
|                            | Min-Max | 2,92-6,14          | 2,55-6,50      |                  |                          |
| Прямой билирубин, мкмоль/л | M±m     | 2,83±0,19          | 3,33±0,28      | -                | -                        |
|                            | Min-Max | 2,03-5,60          | 1,87-5,57      |                  |                          |
| Мочевина, ммоль/л          | M±m     | 6,54±0,22          | 5,27±0,24*     | 4-10             | 2,25-10,60               |
|                            | Min-Max | 4,69-8,72          | 3,44-7,24      |                  |                          |
| Мочевая кислота, мкмоль/л  | M±m     | 70,5±4,47          | 64,0±2,76      | 12-118           | 23,9-103,4               |
|                            | Min-Max | 35,7-125,3         | 44,5-92,2      |                  |                          |
| Креатинин, мкмоль/л        | M±m     | 37,2±0,70          | 37,7±1,03      | 13-92            | 10,8-134,0               |
|                            | Min-Max | 31,7-43,6          | 30,3-46,1      |                  |                          |
| Глюкоза, ммоль/л           | M±m     | 7,64±0,16          | 8,06±0,19      | 4,5-10,0         | 3,07-10,92               |
|                            | Min-Max | 6,76-9,44          | 6,72-9,38      |                  |                          |
| Холестерин, ммоль/л        | M±m     | 1,85±0,10          | 2,33±0,10*     | 0,6-4,3          | 0,11-4,39                |
|                            | Min-Max | 1,35-3,09          | 1,31-3,12      |                  |                          |
| Лактатдегидрогеназа, Е/л   | M±m     | 1290±47            | 1239±57        | до 5800          | 705-5712                 |
|                            | Min-Max | 765-1621           | 957-1835       |                  |                          |
| Альфа-амилаза, Е/л         | M±m     | 1990±69            | 2346±88*       | до 3207          | 496-7033                 |
|                            | Min-Max | 1421-2600          | 1722-3038      |                  |                          |
| Креатинфосфокиназа, Е/л    | M±m     | 3983±468           | 3936±456       | 400 <sup>1</sup> | 491-21095                |
|                            | Min-Max | 837-6205           | 931-5726       |                  |                          |
| Щелочная фосфатаза, Е/л    | M±m     | 222±21             | 185±18         | 112-814          | 33-816                   |
|                            | Min-Max | 90-420             | 89-478         |                  |                          |

| Продолжение таблицы 58 |         |           |            |           |            |
|------------------------|---------|-----------|------------|-----------|------------|
| 1                      |         | 2         | 3          | 4         | 5          |
| АЛТ, Е/л               | M±m     | 53,7±1,4  | 44,2±2,1*  | 33-120    | 20-116     |
|                        | Min-Max | 43,2-70,7 | 33,3-63,4  |           |            |
| АСТ, Е/л               | M±m     | 189±6     | 151±7*     | 60-236    | 79-457     |
|                        | Min-Max | 141-230   | 106-228    |           |            |
| Кальций, ммоль/л       | M±m     | 3,03±0,04 | 3,08±0,04  | 1,1-6,6   | 1,60-3,16  |
|                        | Min-Max | 2,69-3,36 | 2,88-3,46  |           |            |
| Магний, ммоль/л        | M±m     | 0,90±0,01 | 0,96±0,02* | 1,0-1,5   | 0,41-2,74  |
|                        | Min-Max | 0,80-1,00 | 0,86-1,09  |           |            |
| Железо, мкмоль/л       | M±m     | 36,9±1,9  | 47,7±2,6*  | 17,4-61,0 | 5,5-54,7   |
|                        | Min-Max | 21,6-59,0 | 34,5-74,4  |           |            |
| Натрий, ммоль/л        | M±m     | 138±0,04  | 140±0,5    | 137-159   | 96-208     |
|                        | Min-Max | 134-142   | 134-143    |           |            |
| Калий, ммоль/л         | M±m     | 5,55±0,25 | 5,70±0,29  | 3,9-7,2   | 3,3-10,5   |
|                        | Min-Max | 3,15-6,91 | 3,22-7,45  |           |            |
| Фосфор, ммоль/л        | M±m     | 2,34±0,05 | 2,41±0,05  | 1,3-2,7   | 0,78-5,85  |
|                        | Min-Max | 1,99-2,84 | 2,12-3,02  |           |            |
| Хлор, ммоль/л          | M±m     | 99±0,2    | 101±0,3*   | 97-115    | 46-224     |
|                        | Min-Max | 138±0,04  | 140±0,5    |           |            |
| МДА сыворотки, ммоль/л | M±m     | 7,24±0,27 | 8,44±0,41* | -         | 2,12-10,96 |
|                        | Min-Max | 4,90-9,42 | 6,44-13,75 |           |            |

<sup>1</sup> Допустимые колебания значений, %

\* отличия от контроля достоверны при  $p < 0,05$

Исследования фертильности самок контрольной и опытной групп продемонстрировало отсутствие достоверных различий: из 20 ссаженных с самцами самок каждой группы, беременность и роды зарегистрированы у 9 самок контрольной группы и у 11 самок опытной группы [48]. В рамках данного эксперимента не было подтверждено влияние соли лития в составе рациона на фертильность самок, однако в дальнейшем было проведено сравнение фертильности крыс контрольных групп, использованных в восьми различных экспериментах: в четырех экспериментах животные получали рационы с включением солей лития (состав рационов представлен в таблицах 8, 9, в других четырех экспериментах была использована безлитиевая солевая смесь (таблица 16). Показано, что при поступлении солей лития с рационом из 264 ссаженных самок забеременели 194, то есть фертильность составляла 74%, а показатель потенциальной фертильности, учитывающий самок, ссаженных с бесплодным самцом, составлял 83% (194+26); тогда как в условиях безлитиевых рационов из 256 ссаженных самок забеременели 221, фертильность составляла 86%, а потенциальная фертильность – 90% (221+8). Полученные данные свидетельствуют о стабильной тенденции к повышению фертильности крыс в условиях безлитиевых рационов [48].

Таким образом, результаты сравнительной оценки влияния солей лития в составе рациона на рост и развитие крыс выявили ряд статистически значимых различий некоторых

показателей. Было установлено, что добавление хлорида лития в стандартный рацион статистически значимо понижало интенсивность метаболизма без изменения структуры процессов метаболизма, а также способствовало снижению фертильности экспериментальных животных [48].

Изменение содержания лития в составе рационов может рассматриваться в качестве алиментарного регулятора интенсивности метаболических процессов, и, следовательно, необходимость его использования следует дифференцировать в зависимости от задач эксперимента. Так, добавление лития в рацион обоснованно в модельных экспериментах для изучения ожирения, метаболического синдрома, дислипидемии, и нецелесообразно – в токсикологических исследованиях, при изучении репродуктивной функции, при изучении действия алиментарных факторов [48].

### 5.3 Изучение репродуктивной функции и развития потомства крыс

#### 5.3.1 Изучение влияния фактора сезонности на функцию репродуктивной системы крыс, пренатальное и постнатальное развитие потомства

Для отработки модели изучения репродуктивной токсичности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения были проведены предварительные исследования репродуктивной функции крыс в осенне-зимний, весенний и летний периоды [75; 76]. Изучение влияния фактора сезонности на функцию репродуктивной системы крыс, пренатальное и постнатальное развитие потомства проведено в три этапа: 1-й этап – в период с ноября по январь – «1-я группа», 2-й этап – в период с марта по май – «2-я группа», 3-й этап – в период с июня по июль – «3-я группа». Всего в работе было использовано 280 взрослых животных (200 самок и 80 самцов), 890 крысят и 342 плода [76].

Беременность у крыс всех групп протекала без особенностей. По поведению, внешнему виду, качеству шерстного покрова, беременные самки 1-й, 2-й и 3-й групп не различались между собой. Поедаемость корма в 1-ю, 2-ю и 3-ю недели беременности составляла 25-28, 26-32 и 28-36 г на крысу в сутки, соответственно. Прирост массы тела за период беременности во всех группах составлял 28-29% от исходной массы тела (таблица 59) [76].

Таблица 59 – Сезонные характеристики динамики массы тела беременных крыс

| Срок беременности   | Масса тела, г                      |                               |                              |
|---------------------|------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
|                     | 1-я группа<br>(осень-зима)<br>N=22 | 2-я группа<br>(весна)<br>N=26 | 3-я группа<br>(лето)<br>N=26 |
| Исходная масса тела | 287,70±6,50                        | 272,66±5,26                   | 263,96±2,57                  |
| 1-я неделя          | 311,50±6,75                        | 304,53±5,76                   | 287,00±2,86                  |
| 2-я неделя          | 345,10±7,51                        | 330,80±6,01                   | 305,88±3,37                  |
| 3-я неделя          | 369,70±8,88                        | 347,82±6,24                   | 338,57±4,40                  |

При сравнении массы внутренних органов самок 3-х групп не выявлено различий между массой печени, селезенки, легких, яичников (таблица 60). В то же время у крыс 3-й группы наблюдалось некоторое повышение массы почек по сравнению с животными 1-й и 2-й групп: абсолютной массы – на 30 и 20%, относительной – на 22 и 20%, соответственно. Масса сердца у крыс 2-й и 3-й групп была выше, чем у 1-й группы: абсолютная – на 20 и 25%, относительная – на 12 и 18%. Отмечено также статистически достоверное увеличение диаметра плаценты у крыс 3-й группы по сравнению с 1-й и 2-й группами – на 7 и 6%, однако средняя масса плаценты не имела статистически значимых различий между группами. Выявленные различия массы внутренних органов не выходили за пределы нормальных значений, характерных для крыс [76; 261; 262].

Таблица 60 – Сезонные характеристики массы внутренних органов беременных крыс

| Показатели   | 1-я группа<br>(осень-зима)<br>N=10 | 2-я группа<br>(весна)<br>N=10 | 3-я группа<br>(лето)<br>N=11 | Интегрированный<br>контроль* |
|--------------|------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Печень, г    | 14,02±0,88                         | 13,54±0,39                    | 14,57±0,58                   | 7,63-20,33                   |
| Почки, г     | 1,880±0,115                        | 2,050±0,101                   | 2,450±0,067 <sup>1,2</sup>   | 1,11-3,63                    |
| Селезенка, г | 1,440±0,139                        | 1,350±0,074                   | 1,324±0,081                  | 0,398-2,530                  |
| Сердце, г    | 0,985±0,057                        | 1,184±0,046 <sup>1</sup>      | 1,235±0,058 <sup>1</sup>     | 0,585-1,900                  |
| Легкие, г    | 1,870±0,114                        | 2,468±0,291                   | 2,138±0,092                  | 0,964-4,457                  |
| Яичники, г   | 0,169±0,019                        | 0,176±0,020                   | 0,206±0,016                  | 0,037-0,324                  |

\* Здесь и далее – по данным собственных исследований (глава 5.1)

Здесь и в таблицах 61, 63, 66, 67:

<sup>1</sup> отличия от группы-1 достоверны при  $p < 0,05$

<sup>2</sup> отличия от группы-2 достоверны при  $p < 0,05$

Содержание половых гормонов в сыворотке крови животных всех групп находилось в пределах нормы [293; 340], однако отмечено, что концентрация прогестерона у крыс 3-й группы (лето) была на 26 и 29% выше, чем у крыс 1-й и 2-й групп, тогда как концентрация эстрадиола у крыс 1-й группы (осень-зима) была на 35 и 30% выше, чем у крыс 2-й и 3-й групп (таблица 61). В рамках данного эксперимента влияние сезонности на гормональный статус крыс не доказано, так как для подтверждения отмеченной тенденции необходимо проведение большего количества исследований в разные климатические сезоны. Различия соотношения прогестерона и эстрадиола не выходили за границы физиологических колебаний, что свидетельствует о нормальной эндокринной функции половых желез подопытных животных [76].

Таблица 61 – Сезонные характеристики эндокринной функции яичников крыс

| Показатели         | 1-я группа<br>(осень-зима)<br>N=10 | 2-я группа<br>(весна)<br>N=10 | 3-я группа<br>(лето)<br>N=11 | Диапазон нормы<br>по [293; 340] |
|--------------------|------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| Прогестерон, нг/мл | 43,06±1,52                         | 42,05±4,58                    | 54,35±3,29 <sup>1,2</sup>    | 25,5-55,0                       |
| Эстрадиол, пкг/мл  | 119,2±13,77                        | 77,95±2,94 <sup>1</sup>       | 82,96±12,43                  | 71-158                          |

Изучение пренатального развития потомства не выявило значимых различий между группами (таблица 62), все показатели находились в пределах физиологических колебаний, характерных для крыс [76; 87; 151; 189; 267; 346]. При исследовании зоометрических параметров плодов отмечено, что масса тела и краниокаудальный размер плодов 1-й группы были несколько ниже, чем у 2-й и 3-й групп: масса тела – на 20 и 9%, краниокаудальный размер – на 11 и 6% (таблица 62). При этом масса и краниокаудальный размер плодов 3-й группы были ниже, чем у 2-й группы – на 9 и 4%, соответственно. Масса внутренних органов у плодов 1-й и 3-й групп была ниже, чем у плодов 2-й группы (таблица 63), однако все значения находились в пределах нормы [76; 236; 321; 354]

Таблица 62 – Сезонные характеристики пренатального развития потомства

| Показатели                       |       | 1-я группа<br>(осень-зима)<br>N=10 | 2-я группа<br>(весна)<br>N=10 | 3-я группа<br>(лето)<br>N=11 | Интегрированный<br>контроль <sup>1</sup> |
|----------------------------------|-------|------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|--|
| Количество<br>желтых тел         | M±m   | 10,90±0,67                         | 12,70±0,54                    | 11,18±0,55                   | 5-23                                     |
|                                  | Всего | 109                                | 127                           | 124                          |  |
| Количество мест<br>имплантации   | M±m   | 10,90±0,67                         | 12,00±0,54                    | 10,27±0,81                   | 3-18                                     |
|                                  | Всего | 109                                | 120                           | 114                          |  |
| Количество<br>живых плодов       | M±m   | 10,90±0,67                         | 12,00±0,54                    | 10,27±0,81                   | 2-18                                     |
|                                  | Всего | 109                                | 120                           | 113                          |  |
| Количество мертвых<br>плодов     |       | 0                                  | 0                             | 0                            | -  |
| Количество резорбций             |       | 0                                  | 0                             | 1 *                          | 0-10                                     |
| Предимплантационная<br>гибель, % |       | 0                                  | 5,5                           | 7,3                          | 0-80                                     |
| Постимплантационная<br>гибель, % |       | 0                                  | 0                             | 0,9                          | 0-100                                    |

<sup>1</sup> Здесь и далее – по данным собственных исследований

\* Внематочная беременность

Таблица 63 – Сезонные характеристики зоометрических показателей и массы внутренних органов плодов на 20-й день пренатального развития

| Показатели                     |      | 1-я группа<br>(осень-зима)<br>n=49 | 2-я группа<br>(весна)<br>n=50 | 3-я группа<br>(лето)<br>n=55 | Интегрированный<br>контроль <sup>*</sup> |
|--------------------------------|------|------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|--|
| Масса тела, г                  |      | 4,210±0,069                        | 5,040±0,083 <sup>1</sup>      | 4,604±0,063 <sup>1,2</sup>   | 1,51-6,12                                |
| Краниокаудальный<br>размер, см |      | 4,059±0,055                        | 4,490±0,043 <sup>1</sup>      | 4,300±0,033 <sup>1,2</sup>   | 2,4-5,1                                  |
| Печень, г                      | абс. | 0,244±0,006                        | 0,275±0,013 <sup>1</sup>      | 0,256±0,007                  | 0,058-0,648                              |
|                                | отн. | 5,877±0,175                        | 5,377±0,203                   | 5,589±0,138                  | 2,08-13,68                               |
| Почки, г                       | абс. | 0,018±0,001                        | 0,037±0,002 <sup>1</sup>      | 0,027±0,001 <sup>1,2</sup>   | 0,006-0,098                              |
|                                | отн. | 0,431±0,026                        | 0,729±0,042 <sup>1</sup>      | 0,587±0,029 <sup>1,2</sup>   | 0,227-2,538                              |
| Сердце, г                      | абс. | 0,023±0,003                        | 0,029±0,001                   | 0,027±0,001                  | 0,005-0,050                              |
|                                | отн. | 0,547±0,071                        | 0,569±0,023                   | 0,591±0,020                  | 0,184-1,598                              |
| Легкие, г                      | абс. | 0,118±0,003                        | 0,132±0,005 <sup>1</sup>      | 0,113±0,003 <sup>2</sup>     | 0,020-0,213                              |
|                                | отн. | 2,831±0,077                        | 2,607±0,079                   | 2,486±0,061 <sup>1</sup>     | 0,761-5,789                              |

\* Здесь и далее – по данным собственных исследований (глава 5.1)

При изучении постнатального развития отмечено снижение выживаемости потомства крыс 1-й группы по сравнению со 2-й и 3-й группами в период с 6-го по 25-й дни жизни, при этом выживаемость потомства с 0 по 5-й дни жизни не имела значимых различий между группами [76] (таблица 64). Анализ физического развития потомства – сроков отлипания ушных раковин, появления волосяного покрова, прорезывания резцов и др. (таблица 65), а также динамики зоометрических параметров (таблица 66) не выявил каких-либо отклонений от нормы во всех изученных группах [151; 177; 279; 299; 306; 354]. При сравнении массы тела и краниокаудального размера крысят 3-х групп отмечено, что масса крысят 3-й группы была

несколько выше, чем в 1-й и 2-й группах, однако краниокаудальный размер крысят 3-й группы в первые две недели жизни был ниже, чем во 2-й группе (таблица 66) [76].

Таблица 64 – Сезонные характеристики постнатального развития крысят

| Показатели                                    | 1-я группа<br>(осень-зима) | 2-я группа<br>(весна) | 3-я группа<br>(лето) |
|---|----------------------------|-----------------------|----------------------|
| Общее количество пометов                      | 22                         | 26                    | 26                   |
| Общее количество крысят                       | 237                        | 300                   | 244                  |
| Из них мертворожденных                        | 1                          | 0                     | 2                    |
| Средняя величина помета<br>(M±m)              | 10,77±0,60                 | 11,54±0,60            | 9,76±0,78            |
| Соотношение ♂/♀ в помете, %                   | 47/53                      | 52/48                 | 51/49                |
| Выживаемость с 0 по 5-й дни<br>жизни, %       | 96                         | 98                    | 98                   |
| количество живых<br>(исх.)/количество умерших | 236/10                     | 300/7                 | 242/4                |
| Выживаемость с 6-го по 25-й<br>дни жизни, %   | 81                         | 96                    | 98                   |
| количество живых<br>(исх.)/количество умерших | 226/44                     | 293/12                | 238/4                |

Таблица 65 – Сезонные характеристики физического развития крысят

| Показатели                            |           | 1-я группа<br>(осень-зима) | 2-я группа<br>(весна) | 3-я группа<br>(лето) | Норма/в среднем<br>по [77] |
|---------------------------------------|-----------|----------------------------|-----------------------|----------------------|----------------------------|
| Отлипание ушных<br>раковин, сут.      | min-max   | 2-3                        | 2-3                   | 2-3                  | со 2-го дня/2-й день       |
|                                       | в среднем | 2,5                        | 2,0                   | 2,4                  |                            |
| Появление волосяного<br>покрова, сут. | min-max   | 3-5                        | 4-6                   | 5-6                  | с 4-го дня/5-й день        |
|                                       | в среднем | 3,5                        | 5,3                   | 5,5                  |                            |
| Прорезывание резцов,<br>сут.          | min-max   | 6-9                        | 8-10                  | 7-10                 | с 6-го дня/8-й день        |
|                                       | в среднем | 7,5                        | 9,3                   | 10,0                 |                            |
| Открытие глаз, сут.                   | min-max   | 12-15                      | 14-16                 | 13-16                | с 12-го дня/14 день        |
|                                       | в среднем | 14,5                       | 15,4                  | 15,2                 |                            |
| Опускание семенников,<br>сут.         | min-max   | 23-25                      | 19-23                 | 21-23                | с 23 дня/25-й день         |
|                                       | в среднем | 23,9                       | 21,2                  | 22,3                 |                            |
| Открытие влагалища,<br>сут.           | min-max   | 27-30                      | 24-29                 | 26-29                | с 28-го дня/30-й<br>день   |
|                                       | в среднем | 28,1                       | 26,3                  | 27,1                 |                            |

Таблица 66 – Сезонные характеристики динамики массы тела и роста крысят

| Показатели       |            | Дни жизни              |                           |                           |                           |                           |                           |
|------------------|------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                  |            | 2                      | 5                         | 10                        | 15                        | 20                        | 25                        |
| Масса<br>тела, г | 1-я группа | 6,80±0,07              | 10,21±0,15                | 18,56±0,34                | 28,41±0,52                | 41,67±0,71                | 64,87±1,09                |
|                  | 2-я группа | 6,77±0,05              | 11,41±0,10 <sup>1</sup>   | 19,24±0,20                | 27,40±0,26                | 38,14±0,43 <sup>1</sup>   | 60,28±0,64 <sup>1</sup>   |
|                  | 3-я группа | 6,62±0,05 <sup>2</sup> | 12,25±0,12 <sup>1,2</sup> | 21,96±0,23 <sup>1,2</sup> | 31,99±0,49 <sup>1,2</sup> | 46,67±0,49 <sup>1,2</sup> | 71,11±0,74 <sup>1,2</sup> |
| Рост,<br>см      | 1-я группа | 5,12±0,04              | 6,15±0,04                 | 7,22±0,05                 | 8,56±0,06                 | 9,51±0,07                 | 11,64±0,08                |
|                  | 2-я группа | 5,71±0,02 <sup>1</sup> | 7,08±0,03 <sup>1</sup>    | 8,62±0,04 <sup>1</sup>    | 10,40±0,30 <sup>1</sup>   | 11,76±0,05 <sup>1</sup>   | 13,76±0,05 <sup>1</sup>   |
|                  | 3-я группа | 5,38±0,02 <sup>2</sup> | 6,61±0,03 <sup>1,2</sup>  | 8,25±0,04 <sup>1,2</sup>  | 10,20±0,04 <sup>1</sup>   | 12,30±0,06 <sup>1,2</sup> | 14,36±0,04 <sup>1,2</sup> |

N=все крысята

Гематологические показатели периферической крови у 20-дневных крысят-самцов (таблица 67) всех групп находились в пределах физиологической нормы [261; 262], различия между группами не превышали 10-13% (исключение составляло снижение числа лейкоцитов у крыс 3-й группы – на 47 и 27% по сравнению с 1-й и 2-й группами) [76].

Таблица 67 – Сезонные характеристики гематологических показателей периферической крови крысят (возраст 20 дней)

| Показатели                                     | 1-я группа<br>(осень-зима)<br>N=10 | 2-я группа<br>(весна)<br>N=10 | 3-я группа<br>(лето)<br>N=10 | Диапазон нормы<br>по [261; 262] |
|--|------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| Общее количество эр-тов, $10^6$ /мкл           | 4,580±0,125                        | 4,754±0,135                   | 4,220±0,041 <sup>1,2</sup>   | 4,39-7,55                       |
| Концентрация гемоглобина, г/л                  | 88,57±2,19                         | 100,71±1,95 <sup>1</sup>      | 91,29±0,71 <sup>2</sup>      | 86-159                          |
| Гематокрит, %                                  | 25,21±0,41                         | 25,43±0,51                    | 22,89±0,25 <sup>1,2</sup>    | 31,4-51,9                       |
| Средний объем эр-та, мкм <sup>3</sup>          | 55,36±1,38                         | 53,70±0,96                    | 54,31±0,44                   | 52,0-93,8                       |
| Среднее содержание гемоглобина в эр-те, пг     | 19,31±0,74                         | 21,19±0,39 <sup>1</sup>       | 19,23±0,21 <sup>2</sup>      | 13,4-29,0                       |
| Средняя концентрация гемоглобина в эр-те, г/дл | 35,00±0,66                         | 39,51±0,23 <sup>1</sup>       | 35,46±0,22 <sup>2</sup>      | 24,9-36,8                       |
| Лейкоциты, $10^3$ /мкл                         | 11,43±2,09                         | 8,20±0,82                     | 6,01±0,26 <sup>1,2</sup>     | 1,4-14,8                        |
| Тромбоциты, $10^3$ /мкл                        | 743,7±26,7                         | 651,0±40,0                    | 723,7±17,3                   | 536-937                         |

Таким образом, при изучении функции репродуктивной системы и развития потомства крыс не выявлено корреляции с сезонными факторами. Значения всех изученных показателей не выходили за пределы физиологической нормы, и не формировали явно прослеживаемых тенденций. Потомство, рожденное в осенне-зимний период, характеризовалось некоторым снижением выживаемости с 6-го по 25-й дни жизни, однако анализ результатов динамического наблюдения за развитием потомства в первый месяц жизни не выявил значимых различий между группами [76].

### 5.3.2 Выявление наиболее чувствительных показателей репродуктивной функции крыс в условиях токсического воздействия

Эксперимент длительностью 148 дней проводили на крысах линии Вистар с исходной массой самцов и самок  $241 \pm 3$  г. Всего в работе было использовано 280 взрослых животных (200 самок и 80 самцов), 942 крысенка и 486 плодов [72].

Общее состояние животных  $F_0$  было удовлетворительным: по внешнему виду, качеству шерстного покрова, поведению и скорости роста животные опытных групп не отличались от животных контрольной группы; поедаемость корма составляла 11,7-22,7 г/крысу/сут. (для самцов) и 13,1-19,6 г/крысу/сут. (для самок). Ежедневный прирост массы тела крыс всех

групп в возрасте 30-93 дней соответствовал уровню прироста, характерному для животных данного вида и возраста [72; 209; 210; 307; 321].

Эффективность спаривания крыс во всех группах соответствовала ожидаемой при данных условиях эксперимента: у самок этот показатель составлял 80-83%; у самцов контрольной, 1-й и 3-й опытной групп – 100%, 2-й опытной группы – 93%, соответственно (таблица 68). Таким образом, фертильность животных родительского поколения соответствовала оптимальному уровню, так как при ссаживании на период одного эстрального цикла эффективность спаривания здоровых животных может варьировать в диапазоне 50-95% [47; 72; 77].

Таблица 68 – Эффективность спаривания крыс

| Группа      | Пол | Количество ссаженных крыс | Количество забеременевших ♀/<br>оплодотворивших ♂ | Эффективность спаривания, % |
|-------------|-----|---------------------------|---|-----------------------------|
| Контрольная | ♀   | 30                        | 25  | 83                          |
|             | ♂   | 15                        | 15  | 100                         |
| 1-я Опытная | ♀   | 30                        | 25  | 83                          |
|             | ♂   | 15                        | 15  | 100                         |
| 2-я Опытная | ♀   | 30                        | 24 (+2 потенциально фертильные)                   | 80 (87)                     |
|             | ♂   | 15                        | 14  | 93                          |
| 3-я Опытная | ♀   | 30                        | 24  | 80                          |
|             | ♂   | 15                        | 15  | 100                         |

Макроскопическое исследование внутренних органов беременных самок не выявило значимых различий между контрольной и опытными группами: количество желтых тел и мест имплантации, количество резорбций, количество живых и мертвых плодов, а так же пред- и постимплантационная гибель эмбрионов находились в пределах физиологических колебаний, характерных для крыс линии Вистар (таблица 69) [72].

При обследовании плодов по методу Wilson J.G. [77; 406] аномалий развития внутренних органов выявлено не было. Формирование основных анатомических систем: нервной (головной, спинной мозг), сенсорной (глазные яблоки, обонятельные луковицы), сердечно-сосудистой (сердце), дыхательной (трахея, легкие, бронхи), пищеварительной (слюнные железы, язык, пищевод, желудок, кишечник, печень), мочевыделительной (почки, мочевой пузырь), половой (внутренние половые органы), локомоторной (лицевой череп, позвоночник, диафрагма), у плодов контрольной и опытных групп протекало без особенностей. Вместе с тем, сравнительная оценка зоометрических параметров плодов выявила целый ряд различий между контрольной и опытными группами: масса тела и краниокаудальный размер

плодов опытных групп были ниже, тогда как масса внутренних органов – печени, почек, легких – выше, чем у плодов контрольной группы (таблица 70) [72].

Таблица 69 – Пренатальное развитие потомства

| Показатели                        |         | Группа      |             |             |             | Интегрированный контроль |
|-----------------------------------|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------------------|
|                                   |         | Контрольная | 1-я Опытная | 2-я Опытная | 3-я Опытная |                          |
| Количество беременных самок       |         | 8           | 13          | 10          | 12          | -                        |
| Количество желтых тел             | Всего   | 107         | 187         | 144         | 173         | 5-23                     |
|                                   | M±m     | 13,38±0,53  | 14,39±0,81  | 14,40±0,50  | 14,42±0,56  |                          |
|                                   | min-max | 12-16       | 10-20       | 13-17       | 12-19       |                          |
| Количество мест имплантации       | Всего   | 91          | 156         | 125         | 148         | 3-18                     |
|                                   | M±m     | 11,38±0,80  | 12,00±1,21  | 12,50±0,40  | 12,33±0,68  |                          |
|                                   | min-max | 7-15        | 3-20        | 11-15       | 8-16        |                          |
| Количество живых плодов           | Всего   | 85          | 147         | 119         | 135         | 2-18                     |
|                                   | M±m     | 10,63±0,63  | 11,31±1,20  | 11,90±0,59  | 11,25±0,80  |                          |
|                                   | min-max | 7-13        | 3-19        | 9-15        | 6-15        |                          |
| Количество резорбций              | Всего   | 6           | 9           | 6           | 13          | 0-10                     |
|                                   | M±m     | 0,75±0,31   | 0,69±0,29   | 0,60±0,22   | 1,08±0,34   |                          |
|                                   | min-max | 0-2         | 0-3         | 0-2         | 0-4         |                          |
| Количество мертвых плодов         |         | 0           | 0           | 0           | 0           | -                        |
| <b>Предимплантационная гибель</b> |         |             |             |             |             |                          |
| %                                 | M±m     | 14,71±5,16  | 17,96±6,08  | 12,29±3,92  | 14,56±3,23  | 0-80                     |
|                                   | min-max | 6-50        | 0-70        | 0-35        | 0-38        |                          |
| Абс.                              | Всего   | 16          | 31          | 19          | 25          | 0-13                     |
|                                   | M±m     | 2,00±0,73   | 2,39±0,75   | 1,90±0,66   | 2,08±0,47   |                          |
|                                   | min-max | 1-7         | 0-8         | 0-6         | 0-5         |                          |
| <b>Постимплантационная гибель</b> |         |             |             |             |             |                          |
| %                                 | M±m     | 5,85±2,41   | 5,50±2,44   | 5,23±1,97   | 9,43±2,83   | 0-100                    |
|                                   | min-max | 0-17        | 0-27        | 0-18        | 0-29        |                          |
| Абс.                              | Всего   | 6           | 9           | 6           | 13          | 0-10                     |
|                                   | M±m     | 0,75±0,31   | 0,69±0,29   | 0,60±0,22   | 1,08±0,34   |                          |
|                                   | min-max | 0-2         | 0-3         | 0-2         | 0-4         |                          |

Таблица 70 – Зоометрические показатели плодов на 20-й день пренатального развития

| Показатели                   |         | Группа              |                     |                     |                     |
|------------------------------|---------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                              |         | Контрольная<br>N=40 | 1-я Опытная<br>N=48 | 2-я Опытная<br>N=50 | 3-я Опытная<br>N=60 |
| Масса тела, г                | M±m     | 3,903±0,062         | 3,662±0,044*        | 3,764±0,045         | 3,657±0,036*        |
|                              | Min-max | 2,800-4,755         | 3,070-4,590         | 2,600-4,400         | 2,900-4,300         |
| Кранио-каудальный размер, см | M±m     | 4,278±0,036         | 4,146±0,027*        | 4,200±0,032         | 4,113±0,027*        |
|                              | Min-max | 3,900-4,800         | 3,800-4,500         | 3,700-4,700         | 3,700-4,500         |
| Масса печени                 | Абс.    | 0,294±0,009         | 0,322±0,006*        | 0,323±0,006*        | 0,301±0,003         |
|                              | Min-max | 0,175-0,403         | 0,233-0,433         | 0,152-0,391         | 0,217-0,364         |
|                              | Отн.    | 7,587±0,239         | 8,847±0,185*        | 8,598±0,145*        | 8,250±0,094*        |
|                              | Min-max | 4,554-11,194        | 6,563-12,476        | 5,659-10,819        | 6,135-9,755         |
| Масса почек                  | Абс.    | 0,027±0,001         | 0,025±0,001         | 0,028±0,001         | 0,027±0,001         |
|                              | Min-max | 0,016-0,039         | 0,018-0,035         | 0,015-0,043         | 0,013-0,043         |
|                              | Отн.    | 0,687±0,021         | 0,692±0,019         | 0,754±0,017*        | 0,741±0,017*        |
|                              | Min-max | 0,419-1,147         | 0,501-1,020         | 0,482-1,044         | 0,448-1,041         |
| Масса сердца                 | Абс.    | 0,0220±0,0006       | 0,0216±0,0004       | 0,0217±0,0004       | 0,0217±0,0004       |
|                              | Min-max | 0,016-0,031         | 0,017-0,031         | 0,016-0,028         | 0,013-0,027         |
|                              | Отн.    | 0,567±0,015         | 0,591±0,011         | 0,579±0,011         | 0,594±0,010         |
|                              | Min-max | 0,413-0,814         | 0,443-0,820         | 0,416-0,769         | 0,433-0,760         |
| Масса легких                 | Абс.    | 0,116±0,003         | 0,125±0,002*        | 0,126±0,003*        | 0,122±0,002         |
|                              | Min-max | 0,086-0,204         | 0,104-0,173         | 0,081-0,190         | 0,086-0,154         |
|                              | Отн.    | 2,983±0,073         | 3,435±0,072*        | 3,354±0,063*        | 3,350±0,065*        |
|                              | Min-max | 2,459-4,525         | 2,640-4,766         | 2,295-4,667         | 2,389-4,722         |

\* отличия от контроля достоверны при  $p < 0,05$

Обзорные исследования скелета по методу Dawson A.B. [77; 130] не выявили аномалий развития скелета плодов контрольной и опытных групп. Длина участков оссификации в закладках костей конечностей и черепа плодов 1-й, 2-й и 3-й опытных групп была несколько ниже, чем у плодов контрольной группы: на 1-3% ( $p > 0,05$ ), 3-7% ( $p > 0,05$ ), и 5-8% ( $p < 0,05$ ) соответственно (таблица 71) [72].

Постнатальное развитие потомства F1 характеризовалось высокой выживаемостью в контрольной и опытных группах: в период с 0 по 5-й дни жизни выживаемость потомства составляла 94-99%, в период с 6-го по 25-й дни жизни – 98-99% (таблица 72). Следует отметить, что при расчете выживаемости не учитывали пометы, уничтоженные материнскими животными 1-й и 3-й опытных групп, всего было уничтожено 3 (13%) и 7 (32%) пометов, соответственно. Высокий уровень каннибализма в этих группах, по-видимому, обусловлен физиологической необходимостью восполнения дефицита пантотената кальция, достигшей критического уровня в конце беременности. Действительно, у крыс каннибализм является существенным популяционным механизмом стратегии саморегуляции [2], однако, в данном случае не было оснований полагать, что самки целенаправленно элиминировали нездоровое

потомство: отсутствие аномалий развития и высокая выживаемость во всех группах свидетельствуют о высоком жизненном потенциале крысят [72].

Таблица 71 – Длина участков ossификации в закладках костей плодов

| Показатели                  |         | Группа              |                     |                     |                     |
|-----------------------------|---------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                             |         | Контрольная<br>N=10 | 1-я Опытная<br>N=10 | 2-я Опытная<br>N=10 | 3-я Опытная<br>N=10 |
| Нижняя<br>челюсть, мм       | M±m     | 8,24±0,15           | 8,09±0,08           | 8,06±0,26           | 7,82±0,07*          |
|                             | Min-max | 7,27-9,06           | 7,77-8,49           | 6,02-8,96           | 7,43-8,10           |
| Плечевая кость,<br>мм       | M±m     | 3,25±0,04           | 3,17±0,06           | 3,03±0,08*          | 2,98±0,04*          |
|                             | Min-max | 2,96-3,43           | 2,82-3,47           | 2,51-3,37           | 2,78-3,18           |
| Локтевая кость,<br>мм       | M±m     | 3,48±0,07           | 3,43±0,06           | 3,35±0,10           | 3,26±0,07*          |
|                             | Min-max | 3,14-3,78           | 3,13-3,66           | 2,67-3,75           | 2,87-3,56           |
| Лучевая кость,<br>мм        | M±m     | 2,61±0,06           | 2,55±0,04           | 2,51±0,07           | 2,43±0,05*          |
|                             | Min-max | 2,20-2,83           | 2,36-2,75           | 1,95-2,82           | 2,19-2,64           |
| Бедренная кость,<br>мм      | M±m     | 2,40±0,05           | 2,33±0,06           | 2,26±0,07           | 2,20±0,05*          |
|                             | Min-max | 2,06-2,58           | 1,99-2,54           | 1,87-2,51           | 1,95-2,44           |
| Большеберцовая<br>кость, мм | M±m     | 2,74±0,07           | 2,68±0,05           | 2,59±0,09           | 2,58±0,06           |
|                             | Min-max | 2,31-3,09           | 2,40-2,87           | 2,23-3,09           | 2,25-2,82           |
| Малоберцовая<br>кость, мм   | M±m     | 2,62±0,07           | 2,58±0,04           | 2,55±0,08           | 2,46±0,06           |
|                             | Min-max | 2,20-2,86           | 2,35-2,80           | 2,10-3,09           | 2,11-2,66           |

\* отличия от контроля достоверны при  $p < 0,05$

Средняя величина пометов у крыс опытных групп соответствовала нижней границе нормы для данного показателя у крыс линии Вистар [151; 177; 279; 299; 306; 354], однако была несколько ниже, чем у крыс контрольной группы: 1-й и 3-й опытных групп – на 17% ( $p < 0,05$ ), 2-й опытной группы – на 10% ( $p > 0,05$ ) [72]. Поскольку расчет средней величины помета производится без учета мертворожденных крысят, полученные результаты обусловлены не сниженной плодовитостью самок  $F_0$ , а высоким количеством мертворожденных в потомстве опытных групп. Соотношение самцов и самок в опытных группах несколько отличалось от соотношения полов в контрольной группе, но находилось в пределах физиологических колебаний, характерных для данной линии крыс [151; 177; 279; 299; 306; 354]. Комплексная оценка постнатального онтогенеза потомства  $F_1$  в течение первого месяца жизни выявила значительное отставание развития крысят опытных групп от крысят контрольной группы по всем морфо-функциональным показателям (таблицы 73-74) [72].

Таблица 72 – Постнатальное развитие потомства

| Показатели  |         | Группа      |                      |             |                        |
|---|---------|-------------|----------------------|-------------|------------------------|
|   |         | Контрольная | 1-я Опытная          | 2-я Опытная | 3-я Опытная            |
| Общее количество забеременевших самок   |         | 25          | 25                   | 24          | 24                     |
| Общее количество родивших самок   |         | 25          | 24                   | 24          | 22                     |
| Смертность, связанная с родами <sup>а)</sup> (количество умерших самок)                             |         | 1           | 1                    | 0           | 2                      |
| Общее количество пометов, уничтоженных материнским животным в 1-й день жизни                        |         | 0           | 1 <sup>б)</sup>      | 0           | 4 <sup>б)</sup>        |
| Общее количество пометов, уничтоженных материнским животным во 2-10-й дни жизни / количество крысят |         | 0           | 2 помета / 10 крысят | 0           | 3 помета / 22 крысенка |
| Общее количество крысят   |         | 279         | 236                  | 244         | 183                    |
| Из них мертворожденных  |         | 0           | 23                   | 3           | 8                      |
| Средняя величина помета   | M±m     | 11,16±0,34  | 9,26±0,61*           | 10,04±0,59  | 9,21±0,70*             |
|   | Min-Max | 8-14        | 4-13                 | 2-13        | 1-14                   |
| Соотношение ♂/♀ в помете, %   |         | 58/42       | 53/47                | 48/52       | 48/52                  |
| <b>Выживаемость потомства <sup>в)</sup></b>   |         |             |                      |             |                        |
| Выживаемость с 1-го по 5-й дни жизни, %   |         | 94          | 98                   | 99          | 97                     |
| количество живых (исходное) / количество умерших  |         | 268/15      | 203/5                | 241/3       | 146/5                  |
| Выживаемость с 6-го по 25-й дни жизни, %  |         | 98          | 99                   | 99          | 98                     |
| количество живых (исходное) / количество умерших  |         | 253/4       | 198/1                | 238/3       | 141/3                  |

\* отличия от контроля достоверны при  $p < 0,05$

<sup>а)</sup> в контрольной группе самка умерла в результате развившейся эклампсии (на вскрытии – отек головного мозга), все крысята (11 голов) погибли, этот помет не учитывали при расчете выживаемости;

в 1-й опытной группе самка умерла в результате недостаточности родовой деятельности, крысята в матке; в 3-й опытной группе одна самка умерла в результате недостаточности родовой деятельности (на вскрытии – 1 мертвый крысенок в матке), в помете 7 мертвых и 7 живых крысят, которые погибли в первые часы после рождения, этот помет не учитывали при расчете выживаемости; вторая самка умерла в результате гнойного воспаления матки.

<sup>б)</sup> самки уничтожили потомство в течение первых суток после родов, количество крысят неизвестно, эти пометы не учитывали при подсчете общего количества крысят и выживаемости

<sup>в)</sup> без учета крысят, уничтоженных материнскими животными

В период 2-10 дней жизни масса тела потомства в 1-й и 3-й опытных группах была более чем на 20% ( $p < 0,05$ ) ниже, чем в контрольной группе, в период 15-25 дней жизни – более чем на 13% ( $p < 0,05$ ), краниокаудальный размер – на 10 и 6% ( $p < 0,05$ ), соответственно. Во 2-й опытной группе отличия от контроля были менее выражены: отставание массы тела за весь период наблюдения не превышало 5-9% ( $p < 0,05$ ), краниокаудального размера – 2-4% ( $p < 0,05$ ). Задержка физического развития крысят 1-й и 3-й опытных групп в среднем составляла 1,5-2 дня, 2-й опытной группы – 1 день ( $p < 0,05$ ) (таблица 75) [72].

Таблица 73 – Динамика массы тела крысят

| Дни жизни |         | Группа      |             |             |             |
|-----------|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|           |         | Контрольная | 1-я Опытная | 2-я Опытная | 3-я Опытная |
| 2         | M±m     | 6,58±0,05   | 4,81±0,06*  | 6,23±0,05*  | 4,81±0,06*  |
|           | Min-Max | 4,60-8,70   | 2,40-7,20   | 3,90-8,70   | 2,50-7,00   |
| 5         | M±m     | 10,65±0,10  | 7,63±0,13*  | 9,87±0,10*  | 7,39±0,14*  |
|           | Min-Max | 7,50-16,00  | 2,70-13,30  | 4,90-14,10  | 2,60-11,70  |
| 10        | M±m     | 19,55±0,15  | 15,29±0,24* | 18,18±0,16* | 15,06±0,30* |
|           | Min-Max | 7,30-26,40  | 8,30-30,40  | 7,30-23,20  | 4,20-23,10  |
| 15        | M±m     | 29,04±0,19  | 24,69±0,28* | 26,54±0,21* | 24,23±0,37* |
|           | Min-Max | 22,40-38,20 | 16,70-34,40 | 12,90-34,60 | 10,00-34,30 |
| 20        | M±m     | 42,15±0,29  | 35,91±0,43* | 38,94±0,33* | 35,67±0,60* |
|           | Min-Max | 32,30-56,20 | 21,90-50,10 | 20,70-50,60 | 16,40-54,00 |
| 25        | M±m     | 61,67±0,42  | 53,61±0,59* | 58,05±0,46* | 53,62±0,75* |
|           | Min-Max | 47,60-84,50 | 36,20-74,70 | 33,70-75,50 | 29,50-75,90 |

Здесь и в таблицах 74-75 N = все крысята,

\* отличия от контроля достоверны при  $p < 0,05$

Таблица 74 – Динамика роста крысят

| Дни жизни |         | Группа      |             |             |             |
|-----------|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|           |         | Контрольная | 1-я Опытная | 2-я Опытная | 3-я Опытная |
| 2         | M±m     | 5,21±0,02   | 4,66±0,02*  | 5,12±0,02*  | 4,71±0,02*  |
|           | Min-Max | 4,30-6,50   | 3,90-5,60   | 4,20-6,10   | 3,90-5,20   |
| 5         | M±m     | 6,27±0,02   | 5,61±0,03*  | 6,12±0,03*  | 5,53±0,04*  |
|           | Min-Max | 5,60-7,50   | 4,30-7,00   | 4,90-7,50   | 3,90-6,40   |
| 10        | M±m     | 7,88±0,03   | 7,10±0,04*  | 7,58±0,03*  | 7,03±0,05*  |
|           | Min-Max | 6,40-9,00   | 6,00-9,00   | 5,80-8,60   | 5,00-8,20   |
| 15        | M±m     | 9,26±0,03   | 8,77±0,04*  | 9,06±0,03*  | 8,67±0,05*  |
|           | Min-Max | 8,40-10,50  | 7,50-10,10  | 7,20-10,50  | 6,70-9,80   |
| 20        | M±m     | 10,76±0,03  | 10,24±0,04* | 10,52±0,04* | 10,04±0,06* |
|           | Min-Max | 9,70-12,50  | 8,80-12,00  | 8,40-12,30  | 8,00-11,90  |
| 25        | M±m     | 12,24±0,03  | 11,73±0,04* | 11,98±0,03* | 11,69±0,06* |
|           | Min-Max | 11,30-13,60 | 10,40-13,50 | 10,00-13,50 | 9,10-13,20  |

Таблица 75 – Физическое развитие крысят

| Показатели                         | Группа      |             |             |             | Норма по [77] |
|------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------|
|                                    | Контрольная | 1-я Опытная | 2-я Опытная | 3-я Опытная |               |
| Отлипание ушных раковин, день      | 3,52±0,14   | 4,98±0,18*  | 3,98±0,12*  | 5,23±0,26*  | со 2-го дня   |
| Появление волосяного покрова, день | 6,70±0,16   | 8,86±0,19*  | 8,40±0,09*  | 9,37±0,26*  | с 5-го дня    |
| Прорезывание резцов, день          | 10,13±0,25  | 11,74±0,19* | 11,48±0,24* | 11,90±0,37* | с 6-го дня    |
| Открытие глаз, день                | 15,67±0,21  | 17,19±0,23* | 16,63±0,26* | 17,13±0,29* | с 12-го дня   |
| Опускание семенников, день         | 24,17±0,19  | 24,60±0,21  | 24,90±0,25* | 25,57±0,38* | с 18-го дня   |
| Открытие влагалища, день           | 31,37±0,21  | 32,88±0,19* | 31,57±0,15  | 33,17±0,28* | с 28-го дня   |

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что раздельное и сочетанное действие алиментарного и токсического факторов в период ссаживания и беременности не оказывает влияния на фертильность и плодовитость крыс, пред- и постимплантационную гибель эмбрионов, выживаемость потомства, а также не вызывает развития аномалий скелета и внутренних органов. Вместе с тем, в пренатальном периоде онтогенеза действие этих факторов проявляется снижением массы тела и роста плодов, в постнатальном – отставанием развития крысят по всем изученным морфо-функциональным показателям, а также увеличением числа мертворожденных в потомстве. Выявленные изменения наиболее выражены у животных 3-й опытной группы, в меньшей степени – у животных 1-й и 2-й опытных групп [72].

Таким образом, использованная экспериментальная модель позволила выявить наиболее чувствительные показатели, свидетельствующие о репродуктивной токсичности исследуемого объекта: это морфо-функциональные критерии постнатального онтогенеза потомства (динамика зоометрических показателей, физическое развитие), традиционно применяемые при оценке репродуктивной функции. Дефицит пантотеновой кислоты в рационе снижает адаптационный потенциал беременных крыс, поэтому данная модель может быть использована в гигиенических исследованиях с целью выявления токсических свойств малотоксичных объектов, в частности – новых источников пищи [72].

### 5.3.3 Изучение репродуктивной функции и развития потомства в поколениях крыс

Исследования выполнены на трех поколениях крыс линии Вистар: родительском (F0), первом (F1) и втором (F2) [66; 73]. Всего в работе было использовано 495 взрослых животных и 2237 крысят (таблица 18), а также 975 плодов. Эксперимент проведен на четырех группах животных, получавших с рационом традиционные сорта кукурузы: три российских сорта – "РОСС 144 МВ", "РОСС 197 МВ", "Докучаевская 250 МВ" и американский сорт "HE/89" – 1-я, 2-я, 3-я и 4-я референсные группы, соответственно. Исследования с использованием традиционных сортов выполнены для определения референсных значений показателей функции репродуктивной системы у крыс, получавших с рационом агарированные количества кукурузы, в условиях вивария ФГБУН "ФИЦ питания и биотехнологии" [66; 73].

Интегральным показателем генеративной функции является эффективность спаривания, подтверждающая фертильность экспериментальных животных [66; 73; 75]. Согласно данным, представленным в таблице 76, эффективность спаривания у самок всех групп поколения F0 составляла 79-97%, поколения F1 – 83-87%, эффективность спаривания у самцов – 89-100% и 93-100%, соответственно.

Таблица 76 – Эффективность спаривания крыс F0, F1

| Поколение | Группа          | Пол | Количество ссаженных крыс | Количество забеременевших ♀/<br>оплодотворивших ♂ | Эффективность спаривания, % |
|-----------|-----------------|-----|---------------------------|---|-----------------------------|
| F0        | 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                         |
|           | 4-я референсная | ♀   | 38                        | 26  | 79                          |
|           |                 | ♂   | 19                        | 17  | 89                          |
| F1        | 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                          |
|           | 4-я референсная | ♀   | 30                        | 26  | 87                          |
|           |                 | ♂   | 15                        | 15  | 100                         |

Эффективность спаривания соответствовала ожидаемой при данных условиях эксперимента: при продолжительности ссаживания 5 сут., соответствующей средней длительности эстрального цикла крысы [47; 77], количество не забеременевших самок во всех группах поколений F0-F1 варьировало в пределах 13-23%. Поскольку, согласно [275], у 11-

28% крыс эстральный цикл длится 5,5-10,0 сут., часть ссаженных самок не достигла фазы эструса в отведенном временном периоде [66; 73; 75]. Количество условно стерильных (неоплодотворивших) самцов находилось в диапазоне физиологической нормы [279] и составляло 0-11%. Некоторые колебания этого показателя в разных группах не имели определенной тенденции и, следовательно, являлись случайными, не связанными с влиянием каких-либо внешних факторов [66; 73; 75].

При сравнении пренатального развития потомства F1-F2 в 1-4-й референсных группах (таблица 77), получавших с рационом кукурузу, не было выявлено значимых различий:

Таблица 77 – Пренатальное развитие потомства F1, F2

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

количество желтых тел и мест имплантации, количество живых и мертвых плодов, пред- и постимплантационная гибель эмбрионов находились в пределах физиологических колебаний (таблица 28), характерных для крыс линии Вистар, и имели достаточно широкий диапазон значений [66; 73; 75].

Постнатальное развитие потомства всех групп характеризуется высокой выживаемостью в поколениях F1 и F2 (таблица 78): в период с 1 по 5-й дни жизни выживаемость потомства F1 составляла 98-99%, в период с 6-го по 25-й дни жизни – 96-100%, в поколении F2 – 98-99 и 95-98%, соответственно [66; 73; 75]. Согласно данным [279], линия Вистар в целом характеризуется относительной вариабельностью ряда показателей репродуктивной функции, в том числе – выживаемость потомства в первый месяц жизни может составлять не более 68% (таблица 79), поэтому 95-99 %-ная выживаемость потомства соответствовала оптимальному уровню для крыс данной линии [66; 73; 75]. Средняя величина пометов находилась в пределах физиологических значений, достоверных различий между группами не выявлено (таблица 78). Соотношение самцов и самок в группах несколько различалось в каждом поколении, однако отмеченные колебания не имели определенной тенденции и не выходили за пределы значений, характерных для данной линии крыс.

Таблица 78 – Постнатальное развитие потомства F1, F2

| Показатели                                       |  | Группа     |            |            |            |
|--|--|------------|------------|------------|------------|
|  |  | 1-я реф.   | 2-я реф.   | 3-я реф.   | 4-я реф.   |
| F1   | Общее количество крысят                          | 328        | 265        | 267        | 300        |
|  | Из них мертворожденных                           | 4          | 3          | 0          | 0          |
|  | Средняя величина помета (M±m)                    | 11,17±0,70 | 10,08±0,50 | 11,13±0,75 | 11,54±0,60 |
|  | Соотношение ♂/♀ в помете, %                      | 46/54      | 50/50      | 48/52      | 52/48      |
|  | Выживаемость с 1-го по 5-й дни жизни, %          | 98         | 98         | 99         | 98         |
|  | количество живых (исходное) / количество умерших | 324/7      | 262/5      | 267/3      | 300/7      |
|  | Выживаемость с 6-го по 25-й дни жизни, %         | 98         | 100        | 98         | 96         |
| количество живых (исходное) / количество умерших | 317/7  | 257/0      | 264/6      | 293/12     |            |
| F2   | Общее количество крысят                          | 281        | 286        | 278        | 244        |
|  | Из них мертворожденных                           | 1          | 1          | 1          | 2          |
|  | Средняя величина помета (M±m)                    | 12,17±0,61 | 11,40±0,69 | 11,54±0,76 | 9,68±0,77  |
|  | Соотношение ♂/♀ в помете, %                      | 52/48      | 53/47      | 50/50      | 51/49      |
|  | Выживаемость с 1-го по 5-й дни жизни, %          | 98         | 99         | 99         | 98         |
|  | количество живых (исходное) / количество умерших | 280/5      | 285/3      | 277/3      | 242/4      |
|  | Выживаемость с 6-го по 25-й дни жизни, %         | 95         | 98         | 95         | 98         |
| количество живых (исходное) / количество умерших | 275/13   | 282/5      | 274/13     | 238/4      |            |

Таблица 79 – Постнатальное развитие потомства F1, F2 [66; 73; 75]

| Показатели                            | Литературный источник |          |         |          |          |           |
|---------------------------------------|-----------------------|----------|---------|----------|----------|-----------|
|                                       | [353]                 | [306]    | [177]   | [299]    | [151]    | [279]     |
| Общее количество крысят               | 215                   | 133      | 28      | 146      | 135      | >300      |
| Из них мертворожденных                | 4                     | 5        | 1       | -        | 1        | -         |
| Средняя величина помета, M±m          | 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 дни жизни, %  | 97,0                  | 96,0     | 99,3    | -        | -        | 96,8      |
| Выживаемость с 6 по 25-й дни жизни, % | 99                    | -        | 98,6    | -        | -        | 67,9      |
| Соотношение ♂/♀, %                    | 46/54                 | 45/55    | -       | 48/52    | 47/53    | 47/53     |

Анализ физического развития потомства F1-F2 – сроков отлипания ушных раковин, появления волосяного покрова, прорезывания резцов и др. [66; 73; 75] (таблица 80), а также динамики массы тела и роста крысят (таблицы 81-82), не выявил каких-либо отклонений от нормы [66; 73; 75; 151; 177; 279; 299; 306; 353; 354].

Таблица 80 – Физическое развитие крысят F1, F2

| Показатели, день жизни |                              | Группа     |            |            |            | Норма по [77] |
|------------------------|------------------------------|------------|------------|------------|------------|---------------|
|                        |                              | 1-я реф.   | 2-я реф.   | 3-я реф.   | 4-я реф.   |               |
| F1                     | Отлипание ушных раковин      | 3,07±0,07  | 2,96±0,07  | 2,92±0,07  | 2,81±0,05  | со 2-го дня   |
|                        | Появление волосяного покрова | 5,97±0,13  | 6,08±0,08  | 5,94±0,07  | 5,31±0,10  | с 5-го дня    |
|                        | Прорезывание резцов          | 9,93±0,07  | 9,79±0,11  | 9,73±0,07  | 9,25±0,14  | с 6-го дня    |
|                        | Открытие глаз                | 15,10±0,21 | 15,88±0,08 | 15,83±0,09 | 15,44±0,11 | с 12-го дня   |
|                        | Опускание семенников         | 23,94±0,28 | 23,02±0,21 | 23,28±0,28 | 23,98±0,22 | с 18-го дня   |
|                        | Открытие влагалища           | 29,22±0,31 | 28,65±0,21 | 28,75±0,34 | 28,73±0,26 | с 28-го дня   |
| F2                     | Отлипание ушных раковин      | 2,93±0,12  | 3,04±0,06  | 2,92±0,09  | 2,86±0,08  | со 2-го дня   |
|                        | Появление волосяного покрова | 5,96±0,14  | 6,06±0,13  | 5,94±0,12  | 5,98±0,07  | с 5-го дня    |
|                        | Прорезывание резцов          | 9,28±0,12  | 9,14±0,10  | 9,02±0,09  | 9,46±0,04  | с 6-го дня    |
|                        | Открытие глаз                | 15,78±0,14 | 15,44±0,16 | 15,80±0,12 | 15,18±0,07 | с 12-го дня   |
|                        | Опускание семенников         | 24,26±0,14 | 23,90±0,15 | 23,87±0,12 | 23,72±0,22 | с 18-го дня   |
|                        | Открытие влагалища           | 28,89±0,18 | 28,90±0,14 | 28,83±0,14 | 28,70±0,12 | с 28-го дня   |

Здесь и в таблицах 81-82 представлены средние данные M±m; n = все крысят

Таблица 81 – Динамика массы тела крысят поколений F1-F2

| Дни жизни | Группа          |                 |                 |                 |            |
|-----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------|
|           | 1-я референсная | 2-я референсная | 3-я референсная | 4-я референсная |            |
| F1        | 2               | 6,52±0,05       | 6,59±0,05       | 6,28±0,05       | 6,77±0,05  |
|           | 5               | 12,01±0,15      | 12,07±0,11      | 10,95±0,11      | 11,41±0,10 |
|           | 10              | 21,43±0,21      | 21,94±0,18      | 19,66±0,21      | 19,24±0,20 |
|           | 15              | 30,48±0,38      | 32,46±0,24      | 29,01±0,29      | 27,40±0,26 |
|           | 20              | 43,59±0,60      | 46,58±0,38      | 41,95±0,46      | 38,14±0,43 |
|           | 25              | 66,33±0,97      | 71,69±0,55      | 63,69±0,71      | 60,28±0,64 |
| F2        | 2               | 6,48±0,05       | 6,87±0,05       | 6,80±0,05       | 6,62±0,05  |
|           | 5               | 11,59±0,10      | 12,17±0,12      | 11,71±0,14      | 12,25±0,12 |
|           | 10              | 20,97±0,21      | 22,30±0,22      | 21,27±0,22      | 21,96±0,23 |
|           | 15              | 30,10±0,32      | 30,91±0,32      | 29,35±0,34      | 31,99±0,49 |
|           | 20              | 43,78±0,51      | 44,33±0,47      | 42,88±0,54      | 46,67±0,49 |
|           | 25              | 64,67±0,73      | 66,95±0,67      | 64,58±0,75      | 71,11±0,74 |

Таблица 82 – Динамика роста крысят поколений F1-F2

| Дни жизни | Группа          |                 |                 |                 |            |
|-----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------|
|           | 1-я референсная | 2-я референсная | 3-я референсная | 4-я референсная |            |
| F1        | 2               | 5,35±0,02       | 5,46±0,02       | 5,34±0,02       | 5,71±0,02  |
|           | 5               | 6,71±0,02       | 6,87±0,02       | 6,57±0,02       | 7,08±0,03  |
|           | 10              | 8,32±0,03       | 8,40±0,03       | 8,10±0,03       | 8,62±0,04  |
|           | 15              | 9,94±0,04       | 10,14±0,03      | 9,71±0,04       | 10,40±0,30 |
|           | 20              | 11,31±0,05      | 11,72±0,04      | 11,12±0,06      | 11,76±0,05 |
|           | 25              | 13,25±0,05      | 13,51±0,05      | 12,94±0,05      | 13,76±0,05 |
| F2        | 2               | 5,17±0,02       | 5,36±0,02       | 5,36±0,01       | 5,38±0,02  |
|           | 5               | 6,77±0,03       | 6,85±0,02       | 6,87±0,02       | 6,61±0,03  |
|           | 10              | 8,35±0,03       | 8,60±0,03       | 8,50±0,03       | 8,25±0,04  |
|           | 15              | 9,66±0,04       | 9,96±0,04       | 9,93±0,04       | 10,20±0,04 |
|           | 20              | 11,73±0,05      | 11,80±0,06      | 11,66±0,05      | 12,30±0,06 |
|           | 25              | 13,43±0,07      | 13,64±0,05      | 13,37±0,07      | 14,36±0,04 |

Таким образом, сравнительный анализ данных, полученных от двух поколений животных, не выявил существенных различий между группами, что свидетельствует об отсутствии индивидуального влияния на репродуктивную функцию крыс каждого из референсных сортов кукурузы. Поскольку целью данного эксперимента было определение вариабельности показателей репродуктивной функции крыс, получавших рационы традиционных сортов кукурузы и содержащихся в условиях вивария ФГБУН "ФИЦ питания и биотехнологии", результаты этих исследований были однозначно приняты в качестве референсного контроля, позволяющего установить диапазон колебаний изучаемых показателей у крыс линии Вистар, и были использованы при изучении репродуктивной токсичности ГМ кукурузы Либерти Линк® на двух поколениях крыс [66; 73].

## **5.4 Разработка моделей снижения адаптационного потенциала с использованием токсических и алиментарных факторов**

### **5.4.1 Разработка модифицированного состава рационов для снижения адаптационного потенциала крыс**

Ключевым отличием российского подхода, применяемого при оценке безопасности ГМО, является использование биомаркеров, таких как система антиоксидантной защиты, система ферментов метаболизма ксенобиотиков, система ферментов мембран лизосом, реагирующих на неблагоприятные воздействия задолго до проявления клинических и морфологических симптомов интоксикаций. В условиях работы с малотоксичными объектами, которыми, как правило, являются новые виды пищевой продукции, прямой выраженный ответ получить не удастся, поэтому одним из вариантов повышения чувствительности подопытных животных к нагрузке является направленное снижение их адаптационного потенциала, основу которого составляют все вышеперечисленные системы организма [4; 10; 51; 70].

Одним из наиболее простых и эффективных способов снижения адаптационного потенциала является модификация состава рациона по содержанию витаминов и минеральных веществ [10; 18; 20; 21; 51; 53; 70; 72]. Для целей данного исследования была выбрана модель дефицита минеральных веществ – железа ( $Fe^{3+}$ ) и магния ( $Mg^{2+}$ ), и витаминов группы В – тиамин ( $B_1$ ), рибофлавин ( $B_2$ ), никотиновой кислоты ( $B_3$ ), пиридоксин ( $B_6$ ), биологическая роль которых определяет состояние адаптационного потенциала [6; 19; 23; 32; 70; 131; 174; 213; 214]. В частности, железо входит в состав цитохромов, участвующих в метаболизме ксенобиотиков, а также в состав каталазы – одного из ключевых ферментов системы антиоксидантной защиты [213]. Магний, входящий в состав кофакторов более 350 ферментов, регулирует окислительные процессы и выработку целого ряда цитокинов и других гуморальных факторов [98; 411], витамины группы В, являющиеся кофакторами оксидоредуктаз, обеспечивают энергией все биохимические процессы в организме, в том числе, процессы, составляющие основу адаптационного потенциала [70; 213; 214].

Определение маргинальных уровней этих эссенциальных веществ в рационе, обеспечивающих, с одной стороны, физиологические потребности экспериментальных животных, с другой стороны, снижающих адаптационный потенциал, и, как следствие, повышающих чувствительность к токсическому воздействию, являлось целью данного исследования [70].

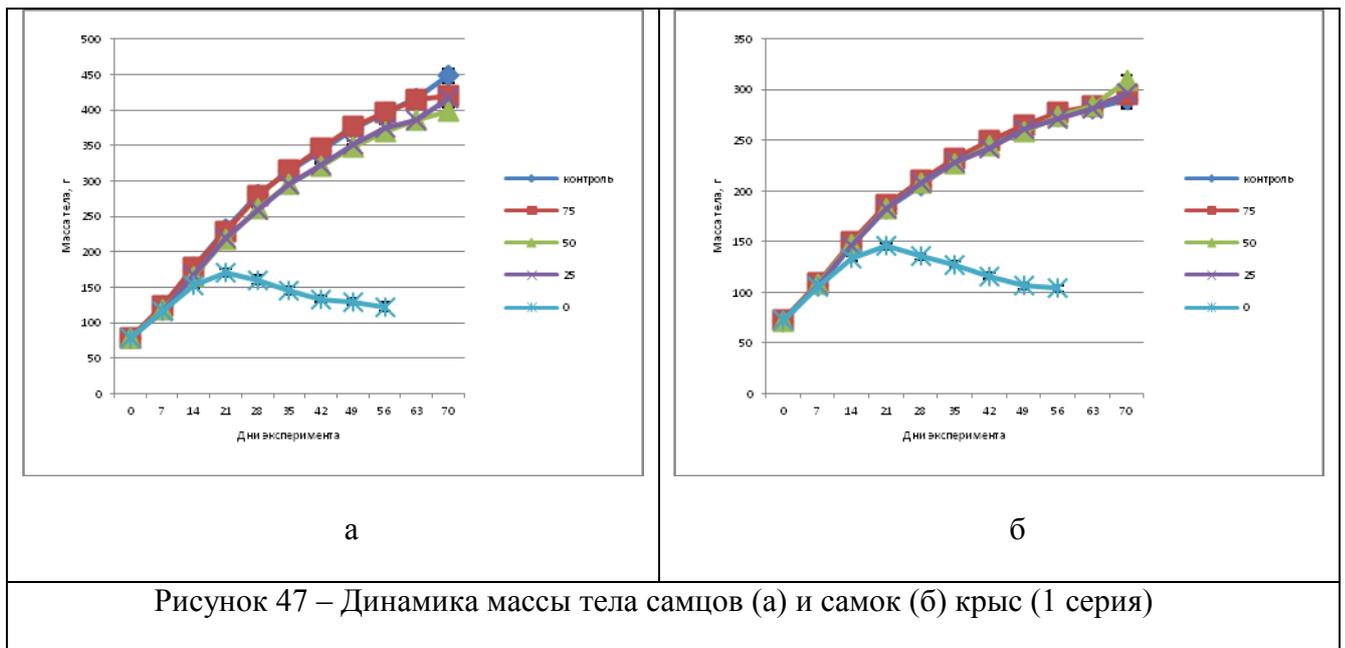
Исследование было проведено в две серии продолжительностью 70 дней каждая, первая из которых была направлена на определение интервалов максимального, среднего и минимально возможного содержания эссенциальных веществ в рационе, тогда как вторая серия предназначалась для выявления диапазона минимально возможного содержания этих веществ,

обеспечивающего наименьший уровень адаптационного потенциала и не вызывающего развития патологии [70].

Всего в экспериментах было использовано 220 самок и 220 самцов крыс линии Вистар (100♂+100♀ в 1-й серии, 120♂+120♀ во 2-й серии). В эксперименте 1-й серии животные были разделены на 5 групп (по 20 самцов и 20 самок в группе), получавших рационы с 100%, 75%, 50%, 25% и 0% содержанием витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub>, а также минеральных веществ – Fe<sup>3+</sup> и Mg<sup>2+</sup> (1-5-я группы, соответственно); в эксперименте 2-й серии животные были разделены на 4 группы, получавшие рационы с 21,37%, 9,94%, 4,62%, 2,15% содержанием витаминов и минеральных веществ (6-9-я группы, соответственно). На протяжении обоих экспериментов животные получали рационы с модифицированным составом витаминно-минеральных смесей (таблица 19) [70].

В 1-й серии исследований общее состояние крыс 1-4-й групп было удовлетворительным, по внешнему виду, качеству шерстного покрова, поведению разницы между группами отмечено не было. В течение первых трех недель эксперимента динамика массы тела самцов 1-4-й групп не имела статистически значимых различий, начиная с 28-го дня масса тела самцов 1-2-й групп была достоверно выше (на 6-8%), чем у крыс 3-4-й групп. При этом, поедаемость корма самцами 1-3-й групп была примерно одинаковой и составляла ~18-19 г/крысу/сут., тогда как поедаемость корма самцами 4-й группы была несколько ниже и составляла ~14-15 г/крысу/сут. Масса тела самок 1-4-й групп не имела значимых различий между группами на протяжении всего эксперимента, поедаемость корма составляла ~17-18 г/крысу/сут. [70].

Общее состояние крыс 5-й группы было неудовлетворительным, отмечены ухудшение качества шерстного покрова (облысения), склонность к кровотечениям (слизистые оболочки носа и глаз), снижение поедаемости корма (~10-12 г/крысу/сут. у самцов и ~11-13 г/крысу/сут. у самок). Начиная с 35-го дня эксперимента зафиксированы случаи гибели животных 5-й группы (к 56-му дню эксперимента смертность самцов составляла 25%, самок – 30%). При проведении постмортальной некропсии зафиксированы патологические изменения, характерные для кахексии: истощение висцеральной и подкожной жировой ткани, атрофия всех групп скелетных мышц, уменьшение размеров внутренних органов и др. Масса тела самцов и самок 5-й группы была значительно ниже, чем, масса тела крыс 1-4-й групп (на 14-й день исследований на 9-14%, на 56-й день – на 62-69%, соответственно,  $p < 0,05$ ) (рисунок 47) [70].



При изучении массы внутренних органов, гематологических, биохимических показателей, а также показателей системы антиоксидантной защиты был отмечен ряд незначительных различий между группами, не выходящий за пределы физиологических колебаний, характерных для самцов и самок крыс линии Вистар данного возраста. Не было выявлено явных закономерностей изменения оцениваемых параметров в зависимости от уровней содержания витаминов и минералов в рационе, однако 4-я группа характеризовалась большей нестабильностью центральной тенденции, причем у самцов она была более выражена, чем у самок [70].

На основании анализа данных, полученных в 1-й серии исследований следует, что уменьшение дозы соответствующих эссенциальных веществ до 25% существенно не сказывалось на значениях изученных показателей, а полное исключение этих веществ влекло за собой массовую гибель животных. Полученные данные легли в основу дизайна эксперимента 2-й серии, предназначенного для выявления диапазона минимально возможного (от 0% до 25%) содержания в рационе витаминов и минеральных веществ, не приводящего к развитию патологии и обеспечивающего наименьший уровень адаптационного потенциала. Следует отметить, что при расчете дозировок витаминов и минеральных веществ в рационе в 1-й серии эксперимента был использован принцип линейной зависимости, тогда как во 2-й серии – принцип степенной зависимости (показательная функция). Такой подход позволял при минимальном числе экспериментальных групп получить достаточное количество информации, в том числе, о влиянии сверхнизких дозировок на рост и развитие крыс. В качестве исходной точки расчета дозировок было использовано значение, не превышающее 25% и являющееся четвертой степенью от наименьшего значения которое должно было быть выше 1.

Проведенный расчет позволил определить соответствующие крайние значения как 21,37% и 2,15% ( $21,37=2,15^4$ ), и промежуточные значения как 4,62% и 9,94%, являющиеся производными второй ( $2,15^2$ ) и третьей ( $2,15^3$ ) степени от наименьшего показателя [70].

Во 2-й серии исследований общее состояние крыс 6-й и 7-й групп было удовлетворительным, по внешнему виду, поведению и качеству шерстного покрова не выявлено разницы между группами. В течение первых пяти недель эксперимента динамика массы тела самцов и самок 6-й и 7-й групп не имела статистически значимых различий, начиная с 35-го дня масса тела крыс 6-й группы была достоверно выше (самцов – на 10%, самок – на 8%), чем у крыс 7-й группы (рисунок 48, а). Поедаемость корма самцами 6-й группы составляла ~19 г/крысу/сут., самками – ~18 г/крысу/сут., тогда как поедаемость корма крысами 7-й группы составляла ~16 г/крысу/сут. у самцов и самок [70].

Общее состояние крыс 8-й и 9-й групп было неудовлетворительным, отмечены ухудшение качества шерстного покрова, склонность к кровотечениям, снижение поедаемости корма: у самцов и самок 8-й группы этот показатель составлял ~14 г/крысу/сут., 9-й группы – ~12 г/крысу/сут. Начиная с 45 дня эксперимента зафиксированы случаи гибели животных 8-й группы (к 56-му дню эксперимента смертность самцов составляла 30%, самок – 37%) и 9-й группы (56% и 53%, соответственно). Масса тела крыс 8-й и 9-й групп была значительно ниже, чем у животных 6-й и 7-й групп (на 21-й день исследований более чем на 5%, на 56-й день – более чем на 40%,  $p<0,05$ ) (рисунок 48, б) [70].

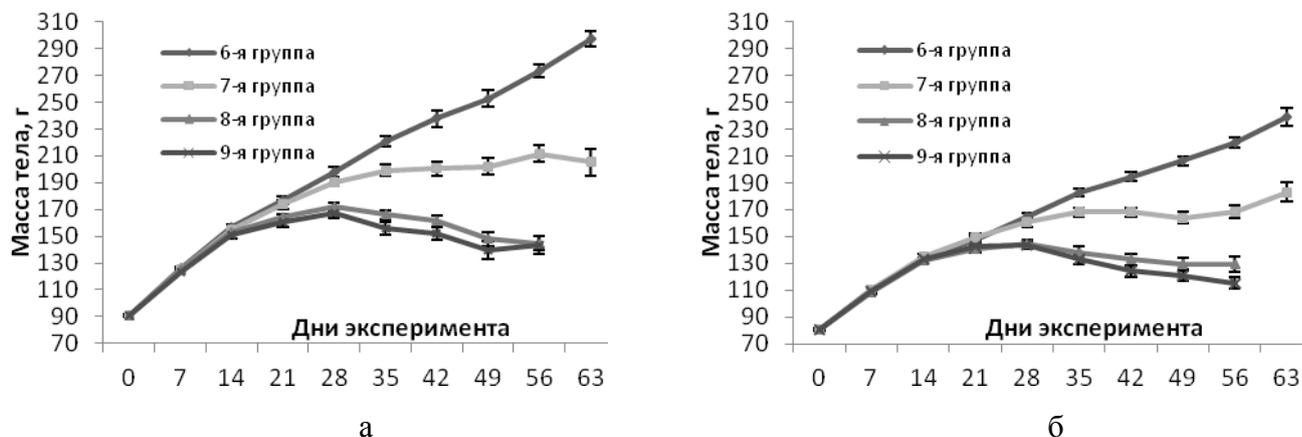


Рисунок 48 – Динамика массы тела самцов (а) и самок (б) крыс (2-я серия)

Анализ полученных данных позволил выявить значимые различия между группами, демонстрировавшие явные закономерности отклонения от центральной тенденции в зависимости от уровней содержания витаминов и минералов в рационе, однако значения большинства изученных показателей не выходили за пределы физиологических колебаний, характерных для крыс. Тем не менее, показатели системы антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов эритроцитов проявляли линейные изменения (повышения концентрации) в ряду

понижения содержания эссенциальных веществ в рационах, что можно расценивать как доказательство влияния состава рационов на антиоксидантный статус крыс [70].

На основании полученных результатов была сформирована графическая оценочная шкала «доза-риск» (рисунок 49), которая была использована для определения пороговых значений витаминов и минеральных веществ, обеспечивающих необходимое снижение уровня адаптационного потенциала у самцов и самок. При построении графика были заданы следующие ключевые условия: уровень риска развития патологии выше 50% принимался в случае выявления достоверных различий выживаемости животных в группах (по критерию  $\chi^2$ ) для данной дозы эссенциальных веществ, уровень риска от 50% до 25% – в случае выявления системных различий по ряду показателей, уровень риска менее 5% – в случае отсутствия системных различий [70].

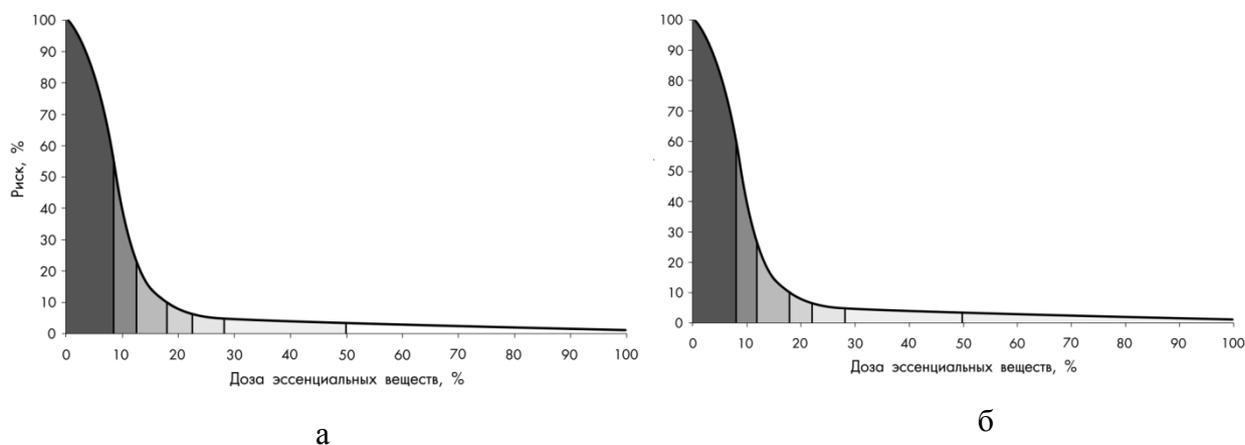


Рисунок 49 –График оценочной модели «доза-риск» для самцов (а) и самок (б)

Анализ графиков позволил определить пороговые значения содержания в рационе изученных веществ: их содержание в количестве менее 9% соответствовало уровню риска выше 50%, в количестве 9-12% – уровню риска от 50% до 25%, в количестве 13-24% – уровню риска выше 5%, в количестве выше 25% – уровню риска менее 5%. С учетом степени риска развития патологии были установлены три дозировки эссенциальных веществ, с определенной степенью условности обозначенные как «оптимальная», «маргинальная» и «субмаргинальная», обеспечивающие последовательное снижение адаптационного потенциала у лабораторных животных: 75, 30 и 19% для самцов, и 75, 28 и 18% для самок, соответственно [70].

Таким образом, предложенная модификация витаминно-минерального состава рационов может быть использована в качестве модели снижения адаптационного потенциала крыс в токсикологических исследованиях при изучении объектов с неизвестной токсичностью, в частности, новых видов пищевой продукции. Результаты апробации данной модели в экспериментах с заведомо действующими дозами токсикантов приведены в главах 5.4.2- 5.4.3.

#### 5.4.2 Разработка модели снижения адаптационного потенциала крыс в условиях интоксикации кадмием

Для подтверждения эффективности модели дефицита витаминов группы В (тиамина, рибофлавина, ниацина и пиридоксина), солей железа и магния, в условиях направленного токсического воздействия был проведен эксперимент с солями кадмия, чье действие на организм подробно изучено [8; 68; 72; 188]. На основании данных о характере проявления токсического действия в зависимости от дозы и времени экспозиции [150], была использована доза кадмия, соответствующая 1-2 мг/кг массы тела в зависимости от возраста крыс (в пересчете на  $Cd^{2+}$ ) [68; 72].

В эксперименте длительностью 65 дней, использованы самцы и самки (180 самок и 180 самцов) крыс линии Вистар, исходный возраст ~30 дней [37; 55; 68]. Животные были разделены на шесть групп – три контрольных и три опытных по 30 самцов и самок в каждой. Животные 1-й контрольной группы получали рацион с "оптимальной" (75%) дозировкой эссенциальных веществ (витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub> и минеральных веществ –  $Fe^{3+}$  и  $Mg^{2+}$ ), животные 2-й и 3-й контрольных групп – рационы с "маргинальной" (30% для самцов и 28% для самок) и "субмаргинальной" (19% для самцов и 18% для самок) дозировками эссенциальных веществ. Животные 1-3-й опытных групп получали с кормом  $Cd^{2+}$  (в виде  $CdCl_2$ ) на фоне "оптимальной", "маргинальной" и "субмаргинальной" обеспеченности эссенциальными веществами, соответственно [37; 55; 68; 70].

Общее состояние крыс контрольных и опытных групп было удовлетворительным, по внешнему виду, поведению и качеству шерстного покрова различий между группами не выявлено. Поедаемость корма самцами контрольных и опытных групп составляла ~14 г/крысу/сут. в начале эксперимента и ~21 г/крысу/сут. в конце эксперимента, самками ~14 г/крысу/сут. и ~16 г/крысу/сут. соответственно. При анализе динамики массы тела экспериментальных животных отмечено, что масса тела самцов и самок 1-3-й опытных групп была во всех случаях ниже, чем у соответствующих им показателей 1-3-й контрольных групп (в диапазоне от 3 до 12% у самцов и от 1 до 9% у самок) (рисунок 50). Следует отметить, что различия массы тела животных в контрольных группах были более выражены у самцов и составляли от 5 до 18% и менее выражены у самок и составляли от 9 до 11% [68].

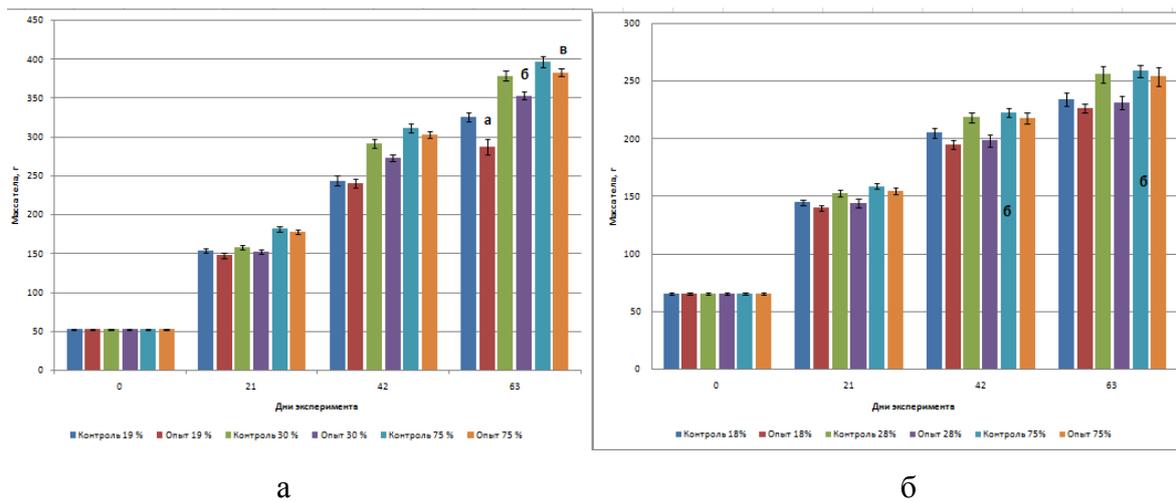


Рисунок 50 – Динамика массы тела самцов (а) и самок (б)

При сравнении относительной массы внутренних органов самцов 1-й опытной группы с соответствующими показателями 1-й контрольной группы отмечены достоверные различия массы селезенки и легких; у животных 2-й опытной группы были выявлены различия массы печени, почек, селезенки, сердца, мозга, семенников, надпочечников, гипофиза по сравнению с животными 2-й контрольной группы; у животных 3-й опытной группы были выявлены различия массы печени, почек, селезенки, сердца, легких, тимуса, мозга, семенников, надпочечников, гипофиза по сравнению с животными 3-й контрольной группы. При сравнении массы внутренних органов самок 1-й опытной группы с соответствующими показателями 1-й контрольной группы отмечены достоверные различия массы печени, почек, сердца, легких; у животных 2-й опытной и 2-й контрольной групп были выявлены различия массы печени, почек, сердца, легких, тимуса, мозга, надпочечников, гипофиза; у животных 3-й опытной и 3-й контрольной групп были выявлены различия массы печени, сердца, легких, мозга, надпочечников, гипофиза (таблица 83) [68]. Следует отметить, что все отмеченные изменения массы внутренних органов находились в пределах физиологических колебаний (от 1 до 27%), характерных для крыс линии Вистар, и, поскольку массы внутренних органов у животных опытных групп были в большинстве случаев выше, чем у животных соответствующих контрольных групп, можно сделать вывод, что различия обусловлены снижением массы тела в опытных группах, что повлияло на расчетный показатель относительной массы внутренних органов. Таким образом, выявленные различия нельзя расценивать как свидетельство негативного влияния токсического фактора [68].

Биохимические показатели сыворотки крови (таблица 84) у самцов 1-й опытной группы не имели достоверных отличий от контроля [68]. Животные 2-3-й опытных групп демонстрировали целый ряд статистически значимых различий с аналогичными показателями у

крыс соответствующих контрольных групп (глобулин, триглицериды, общий билирубин, мочеви́на, креатинин, глюкоза, холестерин, лактатдегидрогеназа, креатинфосфокиназа, АЛТ, кальций, магний, железо, фосфор). Выявленные различия в целом находились в диапазоне физиологических колебаний и варьировали в диапазоне от 4 до 63%, что, согласно опыту наших предыдущих исследований, не является однозначным свидетельством присутствия негативного воздействия, поскольку различия биохимических показателей могут быть весьма значительны и у животных, получавших идентичные по составу рационы без какой-либо токсической нагрузки. В то же время было отмечено, что уровень содержания железа в сыворотке крови самцов 2-й и 3-й опытных групп был ниже нормы в 2,2 и 2,5 раза соответственно. По сравнению с аналогичными показателями 2-й и 3-й контрольных групп уровень железа был, соответственно, на 59 и 63% ( $p < 0,05$ ) ниже. У крыс 1-й опытной группы содержание железа не выходило за пределы нормы и было ниже контрольных значений на 13% ( $p > 0,05$ ) [68].

Биохимические показатели сыворотки крови (таблица 84) у самок 1-3-й опытных групп также демонстрировали статистически значимые различия с аналогичными показателями у крыс соответствующих контрольных групп (глобулин, триглицериды, общий билирубин, прямой билирубин, мочеви́на, мочевая кислота, креатинин, глюкоза, холестерин, лактатдегидрогеназа, креатинфосфокиназа, АЛТ, АСТ, кальций, магний, железо, фосфор). Выявленные различия в целом находились в диапазоне физиологических колебаний и варьировали в диапазоне от 6 до 67% [68]. Уровень содержания железа в сыворотке крови самок 2-й и 3-й опытных групп был ниже нормы в 1,1 и 1,4 раза соответственно. По сравнению с аналогичными показателями 2-й и 3-й контрольных групп уровень железа был, соответственно, на 63 и 67% ( $p < 0,05$ ) ниже. У крыс 1-й опытной группы содержание железа не выходило за пределы нормы и было ниже контрольных значений на 28% ( $p < 0,05$ ) [68].

Оценка результатов гематологических исследований (таблица 85) животных 1-3-й опытных групп позволила выявить определенные закономерности изменений показателей эритроцитарного профиля: значения концентрации гемоглобина, гематокрита, среднего объема эритроцита, среднего содержания гемоглобина в эритроците, в целом были на 11-44% ( $p < 0,05$ ) ниже, чем соответствующие показатели животных 1-3-й контрольных групп. Общее количество эритроцитов во 2-й и 3-й группе было ниже контрольных значений на 23 и 25% у самцов и на 10 и 16% у самок соответственно, при этом в 1-й опытной группе значение данного показателя было на ~10% выше, чем у самцов и самок контрольных групп [68]. Средняя концентрация гемоглобина в эритроците 2-3-й опытных групп была выше на 5-6% у самцов и 1-6% ( $p < 0,05$ ) у самок, а 1-й опытной группы – на 3 и 3% ( $p < 0,05$ ) ниже таковой у самцов и самок

соответствующих контрольных групп. Значения показателей тромбоцитарного профиля у крыс опытных групп были значительно выше, чем у крыс контрольных групп: общее количество тромбоцитов и тромбокрит – на 40-156% ( $p < 0,05$ ), средний объем тромбоцита – на 8-26% ( $p < 0,05$ ) [68].

Показатели системы антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов эритроцитов у крыс 1-3-й опытных групп в целом проявляли линейные изменения (повышения концентрации) в ряду понижения содержания эссенциальных веществ в рационах (таблица 86). Так, у самцов 1-3-й опытных групп активность глутатионпероксидазы возрастала на 38, 71 и 100%, каталазы – на 27, 62 и 117%, супероксиддисмутазы – на 25, 68 и 82% ( $p < 0,05$ ), у самок – на 19, 63 и 69%; 9, 62 и 81%; 19, 55 и 60% ( $p < 0,05$ ), соответственно. Активность глутатионредуктазы в эритроцитах самцов и самок 1-й и 2-й опытных групп демонстрировала сходную тенденцию и была выше аналогичных показателей у крыс 1-2-й контрольных групп на 26 и 64% (у самцов) и 18 и 52% (у самок). Вопреки сложившемуся тренду, у самцов 3-й опытной группы активность глутатионредуктазы была лишь на 18% ( $p < 0,05$ ) выше, чем у самцов 3-й контрольной группы, у самок разница составляла 6% ( $p > 0,05$ ) [68].

Содержание малонового диальдегида (МДА) печени крыс опытных групп также повышалось от 1-й к 3-й группе: у самцов отличия от соответствующих показателей 1-3-й контрольных групп составляли 14, 21 и 35% ( $p < 0,05$ ), у самок – 6, 11 и 25% ( $p < 0,05$ ). Содержание МДА в эритроцитах самцов 1-3-й опытных групп было выше, чем у контрольных животных на 4, 4 и 24% ( $p < 0,05$ ), у самок – на 7, 16 и 35% ( $p < 0,05$ ), соответственно. Концентрация МДА в сыворотке крови самцов и самок 1-2-й опытных групп не имели значимых отличий от контроля, животные 3-й опытной группы демонстрировали некоторое повышение этого показателя, самцы – на 16%, самки – на 14% ( $p < 0,05$ ) [68].

Таким образом, достигнуты основные цели данного эксперимента, а именно, подтверждено снижение адаптационного потенциала и формирование у крыс гипо-, нормо- и гиперчувствительности к воздействию токсических факторов (на примере воздействия солями кадмия), также сформирован проект перечня физиолого-биохимических параметров (биомаркеров), реагирующих на токсическое воздействие, включающий показатели эритроцитарного и тромбоцитарного профиля крови, показатели системы антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов крови и печени. В последующих модельных исследованиях, которые были проведены по аналогичной схеме с четыреххлористым углеродом в качестве токсиканта, был подтвержден перечень биомаркеров, подлежащих обязательному изучению при использовании данной модели [68].

Таблица 83 – Относительная масса внутренних органов самцов и самок, г/100 г массы тела

| Показатель   |   | Группы        |                |                 |               |                |                |
|--------------|---|---------------|----------------|-----------------|---------------|----------------|----------------|
|              |   | Контрольные   |                |                 | Опытные       |                |                |
|              |   | 1<br>(75 %)   | 2<br>(28/30 %) | 3<br>(18/19 %)  | 1<br>(75 %)   | 2<br>(28/30 %) | 3<br>(18/19 %) |
| Печень       | ♂ | 3,019±0,053   | 2,808±0,039    | 2,934±0,042     | 2,907±0,044   | 2,944±0,050*   | 3,192±0,037*   |
|              | ♀ | 2,918±0,056   | 2,950 ± 0,045  | 2,950 ± 0,040   | 2,968±0,042   | 3,320±0,075*   | 3,320±0,065*   |
| Почки        | ♂ | 0,615±0,009   | 0,612±0,008    | 0,665±0,012     | 0,604±0,007   | 0,647±0,010*   | 0,722±0,014*   |
|              | ♀ | 0,601±0,014   | 0,638 ± 0,008  | 0,668 ± 0,011   | 0,643±0,010*  | 0,673±0,011*   | 0,674±0,008    |
| Селезенка    | ♂ | 0,439±0,019   | 0,374±0,016    | 0,392±0,015     | 0,387±0,027*  | 0,453±0,024*   | 0,465±0,020*   |
|              | ♀ | 0,458±0,017   | 0,466±0,015    | 0,448 ± 0,015   | 0,426±0,012   | 0,493±0,021    | 0,470±0,015    |
| Сердце       | ♂ | 0,301±0,011   | 0,298±0,006    | 0,321±0,010     | 0,312±0,009   | 0,367±0,007*   | 0,396±0,011*   |
|              | ♀ | 0,319±0,005   | 0,327±0,011    | 0,342 ± 0,006   | 0,336±0,006*  | 0,376±0,007*   | 0,394±0,006*   |
| Легкие       | ♂ | 0,525±0,041   | 0,443±0,030    | 0,528±0,019     | 0,495±0,024*  | 0,558±0,027*   | 0,614±0,027*   |
|              | ♀ | 0,548±0,015   | 0,543±0,011    | 0,546 ± 0,010   | 0,529±0,010   | 0,602±0,018*   | 0,589±0,012*   |
| Тимус        | ♂ | 0,190±0,008   | 0,174±0,007    | 0,164±0,006     | 0,172±0,007   | 0,174±0,006    | 0,142±0,007*   |
|              | ♀ | 0,207±0,009   | 0,204±0,007    | 0,190 ± 0,007   | 0,201±0,008   | 0,194±0,009    | 0,208±0,010    |
| Мозг         | ♂ | 0,511±0,011   | 0,520±0,011    | 0,614±0,012     | 0,522±0,009   | 0,578±0,012*   | 0,737±0,027*   |
|              | ♀ | 0,741±0,014   | 0,768±0,015    | 0,824 ± 0,016   | 0,780±0,018   | 0,843±0,019*   | 0,870±0,015*   |
| Семенники    | ♂ | 0,812±0,029   | 0,838±0,024    | 0,986±0,033     | 0,865±0,023   | 0,938±0,036*   | 1,235±0,042*   |
| Яичники      | ♀ | 0,0376±0,0016 | 0,0390±0,0015  | 0,0394 ± 0,0018 | 0,0386±0,0014 | 0,0439±0,0019  | 0,0413±0,0017  |
| Надпочечники | ♂ | 0,014±0,002   | 0,010±0,001    | 0,011±0,001     | 0,010±0,001   | 0,012±0,001*   | 0,014±0,001*   |
|              | ♀ | 0,0194±0,0008 | 0,0195±0,0008  | 0,0184±0,0006   | 0,0200±0,0006 | 0,0230±0,0010* | 0,0220±0,0010* |
| Гипофиз      | ♂ | 0,0026±0,0001 | 0,0026±0,0001  | 0,0026±0,0001   | 0,0026±0,0001 | 0,0030±0,0001* | 0,0031±0,0001* |
|              | ♀ | 0,0134±0,0005 | 0,0052±0,0001  | 0,0056±0,0001   | 0,0053±0,0001 | 0,0051±0,0002  | 0,0053-0,0001  |
| Простата     | ♂ | 0,096±0,007   | 0,094±0,007    | 0,092±0,007     | 0,094±0,007   | 0,102±0,005    | 0,100±0,008    |

\* отличия опытной группы от соответствующей контрольной группы достоверны при  $p < 0,05$

Таблица 84 – Биохимические показатели сыворотки крови самцов и самок

| Показатель                 |   | Группы      |                |                |             |                |                | Диапазон нормы | Интегрированный контроль |
|----------------------------|---|-------------|----------------|----------------|-------------|----------------|----------------|----------------|--------------------------|
|                            |   | Контрольные |                |                | Опытные     |                |                |                |                          |
|                            |   | 1<br>(75 %) | 2<br>(28/30 %) | 3<br>(18/19 %) | 1<br>(75 %) | 2<br>(28/30 %) | 3<br>(18/19 %) |                |                          |
| 1                          | 2 | 3           | 4              | 5              | 6           | 7              | 8              | 9              |                          |
| Общий белок, г/л           | ♂ | 63,9±1,0    | 61,1±0,8       | 55,0±0,8       | 62,4±0,7    | 60,3±0,8       | 56,1±1,0       | 56-82          | 53,9-97,6                |
|                            | ♀ | 61,5±1,1    | 59,1±1,0       | 58,1±1,0       | 60,1±1,0    | 60,9±0,9       | 59,1±0,8       |                |                          |
| Альбумин, г/л              | ♂ | 29,9±0,5    | 29,5±0,4       | 27,3±0,4       | 30,8±0,4    | 30,6±0,4       | 27,9±0,6       | 25-48          | 21,4-60,0                |
|                            | ♀ | 27,9±0,5    | 27,9±0,6       | 26,1±0,6       | 28,5±0,8    | 29,2±0,6       | 27,5±0,7       |                |                          |
| Глобулин, г/л              | ♂ | 34,0±0,7    | 31,6±0,5       | 27,7±0,7       | 31,7±0,5    | 29,7±0,6*      | 28,3±0,7       | 12-57          | 11,2-62,9                |
|                            | ♀ | 33,7±0,8    | 31,2±0,5       | 32,0±0,7       | 31,6±0,5*   | 31,7±0,4       | 31,6±0,5       |                |                          |
| Триглицериды, ммоль/л      | ♂ | 1,06±0,06   | 0,85±0,04      | 0,74±0,05      | 0,83±0,07   | 0,69±0,05*     | 0,56±0,04*     | 0,3-1,6        | 0,13-2,68                |
|                            | ♀ | 0,71±0,05   | 0,64±0,05      | 0,52±0,03      | 0,51±0,05*  | 0,48±0,03*     | 0,41±0,03*     |                |                          |
| Общий билирубин, мкмоль/л  | ♂ | 4,92±0,25   | 4,09±0,25      | 3,34±0,12      | 3,60±0,18   | 3,06±0,16*     | 3,03±0,16      | 1-4            | 0,89-9,00                |
|                            | ♀ | 3,75±0,17   | 3,56±0,15      | 3,33±0,14      | 3,06±0,15*  | 2,54±0,08*     | 2,79±0,22*     |                |                          |
| Прямой билирубин, мкмоль/л | ♂ | 7,36±0,63   | 5,34±0,47      | 4,17±0,24      | 4,68±0,39   | 4,31±0,38      | 4,29±0,44      | -              | -                        |
|                            | ♀ | 4,21±0,27   | 3,37±0,20      | 2,89±0,12      | 3,09±0,19*  | 2,77±0,17*     | 2,55±0,16      |                |                          |
| Мочевина, ммоль/л          | ♂ | 6,317±0,24  | 5,57±0,16      | 5,44±0,21      | 6,39±0,26   | 6,29±0,19*     | 6,46±0,24*     | 4-10           | 2,25-10,60               |
|                            | ♀ | 6,82±0,25   | 6,72±0,23      | 5,88±0,22      | 7,66±0,23*  | 7,29±0,30      | 6,60±0,23*     |                |                          |
| Мочевая кислота, мкмоль/л  | ♂ | 56,2±2,6    | 52,4±3,2       | 49,5±3,04      | 52,7±2,5    | 50,6±2,9       | 56,7±3,6       | 12-118         | 23,9-103,4               |
|                            | ♀ | 48,0±2,0    | 53,5±2,4       | 52,3±2,9       | 60,2±3,2*   | 52,8±2,6       | 53,8±3,3       |                |                          |
| Креатинин, мкмоль/л        | ♂ | 51,7±1,8    | 51,8±1,5       | 46,3±1,6       | 51,1±1,4    | 52,2±1,7       | 52,5±1,5*      | 13-92          | 10,8-134,0               |
|                            | ♀ | 49,7±1,8    | 52,0±1,5       | 48,5±1,7       | 50,2±1,2    | 51,3±1,6       | 51,9±1,3       |                |                          |
| Глюкоза, ммоль/л           | ♂ | 7,5±0,2     | 7,5±0,2        | 7,2±0,2        | 7,3±0,2     | 7,2±0,2        | 6,6±0,2*       | 4,5-10,0       | 3,07-10,92               |
|                            | ♀ | 7,0±0,2     | 6,7±0,2        | 7,2±0,2        | 7,2±0,2     | 7,0±0,2        | 6,9±0,2        |                |                          |
| Холестерин, ммоль/л        | ♂ | 1,65±0,05   | 1,45±0,05      | 1,35±0,05      | 1,39±0,05   | 1,23±0,04*     | 1,27±0,04      | 0,6-4,3        | 0,11-4,39                |
|                            | ♀ | 1,34±0,05   | 1,36±0,05      | 1,35±0,07      | 1,25±0,05   | 1,24±0,04*     | 1,20±0,04      |                |                          |

| Продолжение таблицы 84   |   |           |           |           |           |            |            |                  |           |
|--------------------------|---|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------------|-----------|
| 1                        | 2 | 3         | 4         | 5         | 6         | 7          | 8          | 9                |           |
| Лактатдегидрогеназа, Е/л | ♂ | 1240±84   | 908±51    | 914±51    | 1372±138  | 1147±48*   | 1150±62*   | до 5800          | 705-5712  |
|                          | ♀ | 1287±55   | 1228±163  | 1102±60   | 1196±97   | 1184±79    | 1331±86*   |                  |           |
| Альфа-амилаза, Е/л       | ♂ | 3110±161  | 3202±133  | 2584±119  | 3536±172  | 2929±201   | 2677±174   | до 3207          | 496-7033  |
|                          | ♀ | 1797±150  | 1432±99   | 1320±74   | 1903±165  | 1695±128   | 1490±145   |                  |           |
| Креатинфосфокиназа, Е/л  | ♂ | 8632±618  | 5331±326  | 6159±491  | 8769±577  | 7701±467*  | 6937±386   | 400 <sup>1</sup> | 491-21095 |
|                          | ♀ | 9371±424  | 8608±548  | 8841±498  | 8905±587  | 9126±531   | 9083±611   |                  |           |
| Щелочная фосфатаза, Е/л  | ♂ | 207±9     | 211±8     | 232±20    | 201±8     | 218±10     | 213±22     | 112-814          | 33-816    |
|                          | ♀ | 144±9     | 152±9     | 150±9     | 140±10    | 151±9      | 177±19     |                  |           |
| АЛТ, Е/л                 | ♂ | 41,0±2,0  | 33,8±1,9  | 23,4±1,7  | 42,5±2,5  | 43,2±2,1*  | 30,9±2,0*  | 33-120           | 20-116    |
|                          | ♀ | 27,9±1,4  | 36,9±1,9  | 21,3±1,2  | 37,2±1,6* | 29,4±3,0*  | 28,8±1,2*  |                  |           |
| АСТ, Е/л                 | ♂ | 182±9     | 142±4     | 134±5     | 196±9     | 174±5      | 146±6      | 60-236           | 79-457    |
|                          | ♀ | 174±5     | 160±6     | 143±4     | 181±7     | 172±6      | 163±6*     |                  |           |
| Кальций, ммоль/л         | ♂ | 2,62±0,03 | 2,67±0,03 | 2,55±0,04 | 2,58±0,03 | 2,56±0,03* | 2,58±0,04  | 1,1-6,6          | 1,60-3,16 |
|                          | ♀ | 2,38±0,04 | 2,40±0,03 | 2,37±0,04 | 2,37±0,04 | 2,55±0,02  | 2,39±0,03  |                  |           |
| Магний, ммоль/л          | ♂ | 0,71±0,02 | 0,63±0,01 | 0,53±0,01 | 0,66±0,02 | 0,62±0,01  | 0,60±0,02* | 1,0-1,5          | 0,41-2,74 |
|                          | ♀ | 0,62±0,01 | 0,53±0,01 | 0,47±0,02 | 0,62±0,04 | 0,55±0,01  | 0,50±0,01  |                  |           |
| Железо, мкмоль/л         | ♂ | 25,7±1,0  | 19,3±1,0  | 18,8±1,1  | 22,4±2,2  | 8,0±0,5*   | 7,0±0,6*   | 17,4-61,0        | 5,5-54,7  |
|                          | ♀ | 49,3±2,3  | 42,5±2,4  | 38,4±2,7  | 35,8±3,0* | 15,6±1,8*  | 12,5±1,3*  |                  |           |
| Фосфор, ммоль/л          | ♂ | 2,20±0,05 | 2,05±0,05 | 1,93±0,04 | 2,32±0,05 | 2,13±0,04  | 2,07±0,05* | 1,3-2,7          | 0,78-5,85 |
|                          | ♀ | 1,85±0,04 | 1,72±0,05 | 1,78±0,06 | 1,88±0,06 | 1,90±0,05* | 1,92±0,08  |                  |           |

<sup>1</sup> Допустимые колебания значений, %

\* отличия опытной группы от соответствующей контрольной группы достоверны при  $p < 0,05$

Таблица 85 – Гематологические показатели самцов и самок

| Показатель                                |   | Группы      |                |                |             |                |                | Диапазон нормы | Интегрированный контроль |
|---|---|-------------|----------------|----------------|-------------|----------------|----------------|----------------|--------------------------|
|   |   | Контрольные |                |                | Опытные     |                |                |                |                          |
|   |   | 1<br>(75 %) | 2<br>(28/30 %) | 3<br>(18/19 %) | 1<br>(75 %) | 2<br>(28/30 %) | 3<br>(18/19 %) |                |                          |
| 1   | 2 | 3           | 4              | 5              | 6           | 7              | 8              | 9              |                          |
| Общее количество эритроцитов, $10^{12}/л$ | ♂ | 8,22±0,09   | 8,90±0,08      | 9,12±0,12      | 9,01±0,14*  | 6,88±0,19*     | 6,87±0,23*     | 4,4-8,9        | 7,51-9,94                |
|   | ♀ | 8,20±0,10   | 8,61±0,12      | 9,01±0,12      | 9,06±0,13*  | 7,75±0,19*     | 7,53±0,21*     |                |                          |
| Концентрация гемоглобина, г/л             | ♂ | 148±2       | 135±2          | 136±2          | 122±3*      | 83±2*          | 81±3*          | 86-173         | 135-177                  |
|   | ♀ | 155±2       | 143±1          | 139±2          | 133±3*      | 98±3*          | 95±3*          |                |                          |
| Гематокрит, %                             | ♂ | 44,2±0,4    | 41,5±0,5       | 42,1±0,5       | 37,6±1,1*   | 24,3±0,8*      | 23,5±0,9*      | 31,4-51,9      | 38,40- 52,00             |
|   | ♀ | 44,9±0,5    | 42,1±0,4       | 41,4±0,7       | 39,7±0,8*   | 28,9±1,0*      | 26,7±1,0*      |                |                          |
| Средний объем эритроцита, $мкм^3$         | ♂ | 53,8±0,3    | 46,8±0,7       | 45,6±0,9       | 41,0±0,9*   | 35,5±0,2*      | 34,5±0,3*      | 50,6-93,8      | 46,00-58,00              |
|   | ♀ | 54,8±0,4    | 48,9±0,6       | 45,3±0,7       | 43,1±0,9*   | 36,9±0,7*      | 35,2±0,3*      |                |                          |
| Среднее содержание Нв в эритроците, пг    | ♂ | 18,1±0,1    | 15,2±0,3       | 14,7±0,4       | 13,3±0,3*   | 12,1±0,1*      | 11,8±0,1*      | 13,4-26,1      | 16,00-20,20              |
|   | ♀ | 18,9±0,1    | 16,4±0,4       | 15,3±0,3       | 14,5±0,4*   | 12,6±0,2*      | 12,6±0,1*      |                |                          |
| Средняя концентрация Нв в эритроците, г/л | ♂ | 335±1       | 325±1          | 323±2          | 324±1*      | 340±4*         | 341±4*         | 247-368        | 328-375                  |
|   | ♀ | 345±1       | 339±1          | 338±1          | 335±2*      | 343±3          | 358±5*         |                |                          |
| Лейкоциты, $10^9/л$                       | ♂ | 11,8±1,0    | 10,3±0,6       | 10,6±0,7       | 9,4±0,6*    | 10,3±0,7       | 10,6±0,7       | 1,4-34,3       | 4,40-19,10               |
|   | ♀ | 11,4±0,7    | 9,8±0,5        | 11,7±0,9       | 9,9±0,6     | 9,4±0,6        | 11,1±1,0       |                |                          |
| Базофилы, %                               | ♂ | 0,51±0,05   | 0,57±0,05      | 0,59±0,09      | 0,69±0,07   | 0,53±0,05      | 0,41±0,05      | 0              | 0,02-0,80                |
|   | ♀ | 0,85±0,12   | 0,81±0,07      | 0,66±0,09      | 0,77±0,08   | 1,07±0,26      | 0,73±0,08      |                |                          |
| Эозинофилы, %                             | ♂ | 1,96±0,16   | 2,08±0,14      | 2,00±0,16      | 1,65±0,11   | 1,29±0,08*     | 1,08±0,08*     | 0,0-5,5        | 1,00-6,10                |
|   | ♀ | 2,78±0,29   | 3,01±0,29      | 2,97±0,33      | 2,53±0,16   | 2,19±0,18      | 2,29±0,21      |                |                          |
| Нейтрофилы, %                             | ♂ | 26,0±1,2    | 26,7±1,3       | 25,8±1,8       | 25,8±1,4    | 26,9±1,6       | 21,7±1,7       | 0,4-53,8       | 5,00-46,80               |
|   | ♀ | 22,7±1,1    | 23,6±1,2       | 24,2±1,4       | 26,0±1,7    | 25,1±2,0       | 21,9±1,1       |                |                          |
| Лимфоциты, %                              | ♂ | 60,3±1,4    | 59,2±2,0       | 61,3±1,6       | 61,1±1,5    | 61,7±1,6       | 62,9±3,1       | 42,3-98,0      | 40,20-88,00              |
|   | ♀ | 63,7±1,6    | 65,3±1,5       | 65,1±1,5       | 62,1±1,7    | 64,0±2,1       | 66,8±1,6       |                |                          |

| Продолжение таблицы 85                     |   |             |             |             |              |              |              |          |            |
|--|---|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|----------|------------|
| 1  |   | 2           | 3           | 4           | 5            | 6            | 7            | 8        | 9          |
| Моноциты, %                                | ♂ | 10,02±0,54  | 9,43±0,70   | 8,73±0,69   | 10,68±0,67   | 9,41±0,56    | 8,17 ±0,45   | 0,0-7,9  | 1,50-17,55 |
|  | ♀ | 9,20±0,56   | 7,22±0,49   | 7,06±0,49   | 8,59±0,35    | 7,63±0,49    | 6,62±0,36    |          |            |
| Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л             | ♂ | 558±16      | 626±17      | 633±23      | 895±45*      | 1198±53*     | 1280±55*     | 409-1250 | 449-924    |
|  | ♀ | 574±13      | 614±27      | 668±24      | 805±34*      | 1087±60*     | 1115±74*     |          |            |
| Средний объем тромбоцита, мкм <sup>3</sup> | ♂ | 6,83±0,08   | 7,00±0,08   | 6,85±0,06   | 7,76±0,17*   | 8,54±0,13*   | 8,66± 0,25*  | 5,0-8,0  | 6,00-7,80  |
|  | ♀ | 6,70±0,08   | 6,73±0,09   | 6,90±0,07   | 7,26±0,15*   | 8,07±0,25*   | 8,65±0,23*   |          |            |
| Тромбокрит, %                              | ♂ | 0,380±0,010 | 0,438±0,014 | 0,435±0,016 | 0,710±0,049* | 1,028±0,056* | 1,116±0,075* | 0,2-0,5  | 0,29-0,60  |
|  | ♀ | 0,384±0,009 | 0,417±0,025 | 0,462±0,018 | 0,596±0,035* | 0,898±0,069* | 0,982±0,083* |          |            |

\* отличия опытной группы от соответствующей контрольной группы достоверны при  $p < 0,05$

Таблица 86 – Активность ферментов системы антиоксидантной защиты и содержание продуктов перекисного окисления липидов

| Показатель                               |   | Группа      |                |                |             |                |                | Интегрированный контроль <sup>1</sup> |
|--|---|-------------|----------------|----------------|-------------|----------------|----------------|---------------------------------------|
|  |   | контрольная |                |                | опытная     |                |                |                                       |
|  |   | 1<br>(75 %) | 2<br>(28/30 %) | 3<br>(18/19 %) | 1<br>(75 %) | 2<br>(28/30 %) | 3<br>(18/19 %) |                                       |
| Глутатионредуктаза,<br>мкмоль/мин·г Нб   | ♂ | 37,2±0,8    | 42,3±0,7       | 41,3±1,1       | 47,0±1,4*   | 69,2±2,3*      | 48,8±1,9*      | 18,10-73,73                           |
|  | ♀ | 32,1±0,5    | 34,9±0,5       | 35,4±1,0       | 37,9±1,1*   | 52,9±1,5*      | 37,6±1,3       |                                       |
| Глутатионпероксидаза,<br>мкмоль/мин·г Нб | ♂ | 52,6±1,2    | 59,9±1,0       | 63,5±1,7       | 72,4±2,6*   | 102,7±3,2*     | 126,8±4,5*     | 43,40-94,64                           |
|  | ♀ | 52,2±1,0    | 57,4±1,1       | 59,1±1,5       | 62,3±1,9*   | 93,2±3,2*      | 99,8±2,5*      |                                       |
| Каталаза,<br>ммоль/мин·г Нб              | ♂ | 551±13      | 608±15         | 620±15         | 699±20*     | 986±33*        | 1343±57*       | 278,9-816,0                           |
|  | ♀ | 523±13      | 593±13         | 604±11         | 571±17*     | 961±33*        | 1096±34*       |                                       |
| Супероксиддисмутаза,<br>ЕД/мин·г Нб      | ♂ | 1771±21     | 1976±30        | 2042±35        | 2222±60*    | 3320±87*       | 3721±150*      | 1262-2893                             |
|  | ♀ | 1807±22     | 1941±31        | 2013±39        | 2144±52*    | 3008±100*      | 3226±86*       |                                       |
| МДА эритроцитов,<br>нмоль/мл             | ♂ | 5,33±0,06   | 5,52±0,07      | 5,38±0,08      | 5,57±0,11   | 5,77±0,10*     | 6,66±0,10*     | 2,020-9,492                           |
|  | ♀ | 5,11±0,09   | 5,12±0,08      | 5,12±0,08      | 5,48±0,11*  | 5,95±0,08*     | 6,90±0,09*     |                                       |
| МДА сыворотки,<br>нмоль/мл               | ♂ | 7,71±0,11   | 8,14±0,12      | 8,47±0,16      | 7,74±0,11   | 8,09±0,09      | 9,86±0,14*     | 2,115-9,807                           |
|  | ♀ | 7,77±0,20   | 7,73±0,16      | 8,20±0,13      | 7,61±0,12   | 7,90±0,17      | 9,34±0,13*     |                                       |
| МДА печени, нмоль/г                      | ♂ | 324±5       | 324±3          | 327±5          | 370±5*      | 394±5*         | 441±5*         | 214,1-855,1                           |
|  | ♀ | 318±5       | 327±4          | 318±5          | 337±7*      | 363±9*         | 398±5*         |                                       |

<sup>1</sup> Здесь и далее – по данным собственных исследований (глава 5.1)

\* отличия опытной группы от соответствующей контрольной группы достоверны при  $p < 0,05$

### 5.4.3 Разработка модели снижения адаптационного потенциала крыс при изучении репродуктивной токсичности в условиях интоксикации глифосатом

Исследования продолжительностью 155 дней проведены на крысах поколений  $F_0$  (176 самок и 64 самца) и  $F_1$  (684 крысенка, 265 плодов). Животные родительского поколения  $F_0$  были разделены на четыре группы: две контрольные и две опытные, по 16 самцов и 44 самки в каждой. Крысы контрольных групп получали рационы с оптимальным (75%) и субмаргинальным (18% для самок и 19% для самцов) содержанием витаминов В1, В2, В3, В6 и минеральных веществ  $Fe^{3+}$  и  $Mg^{2+}$  (таблица 15). Животные опытных групп на фоне аналогичных рационов получали глифосат (*per os*, в дозе 2,5 мг/кг массы тела ежедневно на протяжении всего периода эксперимента). Для исследований была использована заведомо действующая доза глифосата по [49; 184; 185].

Общее состояние животных всех групп было удовлетворительным. К 100-му дню жизни (возраст физиологической зрелости, оптимален для спаривания) отмечались статистически значимые различия массы тела крыс, получавших рационы с разной обеспеченностью витаминами и минеральными веществами: у животных контрольных групп масса тела возрастала в ряду  $K-19 < K-75$  и составляла  $252,1 \pm 3,1$  г и  $280,1 \pm 4,8$  г у самок и  $333,3 \pm 6,9$  г и  $412,8 \pm 9,9$  г у самцов; у крыс опытных групп отмечалась сходная тенденция ( $O-19 < O-75$ ), однако масса тела была несколько ниже, чем у соответствующих им контрольных групп и составляла  $221,0 \pm 2,5$  г и  $259,3 \pm 2,8$  г у самок и  $278,4 \pm 5,5$  г и  $362,4 \pm 5,5$  г у самцов. Различия массы тела крыс контрольной и опытной групп с оптимальной обеспеченностью эссенциальными веществами составляли у самок 7% ( $p < 0,05$ ), у самцов 12% ( $p < 0,05$ ), у самок и самцов с субмаргинальной обеспеченностью – 12% и 17% ( $p < 0,05$ ), соответственно [49].

Эффективность спаривания (таблица 87) самок контрольных групп составляла 81% ( $K-18$ ) и 88% ( $K-75$ ), самцов – 92% ( $K-19$ ) и 100% ( $K-75$ ); самок опытных групп – 23% ( $O-18$ ) и 93% ( $O-75$ ), самцов – 46% ( $K-19$ ) и 100% ( $K-75$ ). Анализ результатов оценки генеративной функции крыс  $F_0$  позволил выявить определенную корреляцию эффекта от действия глифосата с обеспеченностью эссенциальными веществами: у крыс групп  $K-75$  и  $O-75$  не было выявлено различий между группами (эффективность спаривания соответствовала средним значениям, характерным для крыс), тогда как у крыс  $K-18$  и  $O-18$  отмечены значимые различия показателей эффективности спаривания как самок, так и самцов (в опытной группе этот показатель был ниже на 35 и 36%, соответственно) [49].

Общее состояние самок  $F_0$  во время беременности было удовлетворительным, по внешнему виду и поведению самки контрольных и опытных групп не различались между собой, относительный прирост массы тела самок группы  $O-75$  был несколько ниже, чем у самок  $K-75$ , относительный прирост массы тела самок, получавших рационы с субмаргинальной

обеспеченностью эссенциальными веществами, был значительно ниже, чем у самок с оптимальной обеспеченностью, при этом различия между группами К-18 и О-18 были более выражены (рисунок 51) [49].

Таблица 87 – Эффективность спаривания крыс

| Группа   |      | Пол | Количество ссаженных крыс* | Количество забеременевших ♀/<br>оплодотворивших ♂    | Эффективность спаривания, % |
|----------|------|-----|----------------------------|--|-----------------------------|
| Контроль | К-18 | ♀   | 26                         | 21 (+2 потенциально фертильные)                      | 81 (88)                     |
|          |      | ♂   | 13                         | 12   | 92                          |
|          | К-75 | ♀   | 26                         | 23   | 88                          |
|          |      | ♂   | 13                         | 13   | 100                         |
| Опыт     | О-18 | ♀   | 26                         | 6 (+8 предположительно забеременевших) <sup>1</sup>  | 23 (54)                     |
|          |      | ♂   | 13                         | 6 (+7 предположительно оплодотворивших) <sup>1</sup> | 46 (85)                     |
|          | О-75 | ♀   | 26                         | 24   | 93                          |
|          |      | ♂   | 13                         | 13   | 100                         |

\* количество ♀, использованных в исследованиях постнатального развития потомства

<sup>1</sup> Предположительно забеременевшая ♀/ оплодотворивший ♂ на основании динамики массы тела самок

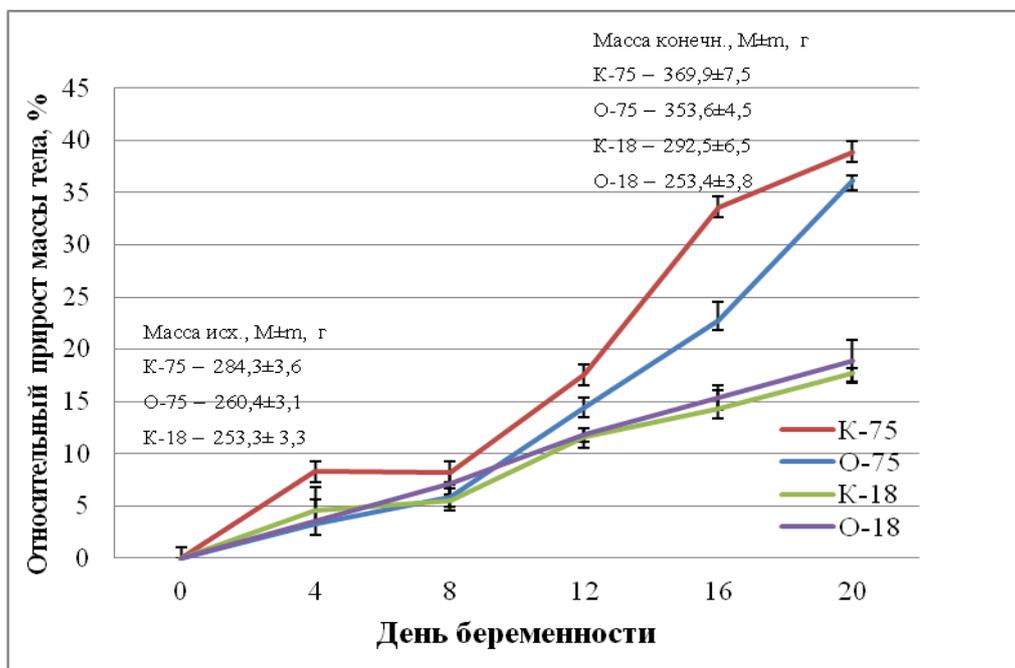


Рисунок 51 – Относительный прирост массы тела беременных крыс F<sub>0</sub>

Масса внутренних органов беременных самок в группе О-18 имела ряд достоверных отличий от группы К-18 (масса селезенки и тимуса была выше на 59 и 42%, тогда как масса

яичников и надпочечников – ниже на 18 и 26%, соответственно). У самок группы О-75 не выявлено отличий массы внутренних органов от К-75 (таблица 88). Все значения находились в пределах физиологических колебаний, характерных для крыс линии Вистар. Общее состояние, внешний вид и обзорные макроскопические исследования внутренних органов не выявили каких-либо патологических изменений у самок всех групп [49].

Таблица 88 – Масса внутренних органов беременных самок поколения F<sub>0</sub>

| Показатели   |         | Группа        |               |                |               | Интегрированный контроль |
|--------------|---------|---------------|---------------|----------------|---------------|--------------------------|
|              |         | Контроль      |               | Опыт           |               |                          |
|              |         | К-18<br>N=8   | К-75<br>N=8   | О-18<br>N=7    | О-75<br>N=9   |                          |
| Печень       | M±m     | 9,36±0,39     | 13,35±0,53    | 8,49±0,29      | 12,77±0,38    | 7,63-20,33               |
|              | Min-Max | 8,19-11,30    | 11,73-16,30   | 7,36-9,54      | 10,85-13,91   |                          |
| Почки        | M±m     | 1,714±0,097   | 1,825±0,140   | 1,565±0,052    | 1,816±0,088   | 1,11-3,63                |
|              | Min-Max | 1,407-2,140   | 1,548-2,641   | 1,383-1,810    | 1,410-2,157   |                          |
| Селезенка    | M±m     | 0,601±0,090   | 0,896±0,107   | 0,956±0,111*   | 0,921±0,259   | 0,398-2,530              |
|              | Min-Max | 0,368-0,990   | 0,642-1,575   | 0,528-1,219    | 0,501-2,938   |                          |
| Сердце       | M±m     | 0,739±0,031   | 0,930±0,040   | 0,738±0,024    | 0,919±0,063   | 0,585-1,900              |
|              | Min-Max | 0,607-0,883   | 0,784-1,106   | 0,600-0,787    | 0,708-1,273   |                          |
| Легкие       | M±m     | 1,232±0,080   | 1,519±0,178   | 1,302±0,036    | 1,316±0,050   | 0,964-4,457              |
|              | Min-Max | 0,965-1,671   | 1,167-2,700   | 1,183-1,428    | 1,096-1,529   |                          |
| Тимус        | M±m     | 0,194±0,020   | 0,420±0,050   | 0,276±0,011*   | 0,367±0,016   | 0,142-0,920              |
|              | Min-Max | 0,094-0,275   | 0,209-0,653   | 0,248-0,328    | 0,279-0,442   |                          |
| Надпочечники | M±m     | 0,0746±0,0040 | 0,0759±0,0036 | 0,0608±0,0036* | 0,0813±0,0034 | 0,024-0,206              |
|              | Min-Max | 0,0590-0,0930 | 0,0620-0,0930 | 0,0406-0,0690  | 0,0660-0,0939 |                          |
| Яичники      | M±m     | 0,1148±0,0066 | 0,1252±0,0073 | 0,0849±0,0106* | 0,1109±0,0098 | 0,037-0,324              |
|              | Min-Max | 0,0940-0,1440 | 0,0860-0,1500 | 0,0360-0,1280  | 0,0760-0,1640 |                          |

\*выявлены достоверные различия между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

При изучении эндокринной функции гонад беременных самок на 20-й день беременности не было выявлено различий между группами, содержание половых гормонов находилось в пределах нормы.

Анализ пренатального развития потомства F<sub>1</sub> выявил, что по количеству желтых тел и мест имплантации самки контрольных и опытных групп не имели достоверных различий, значения этих показателей находились в пределах физиологических колебаний, характерных для крыс линии Вистар (таблица 89). Количество живых плодов у крыс группы О-75 было на 17% ( $p > 0,05$ ) ниже, чем у группы К-75, но не выходило за пределы нормы, тогда как различия между группами О-18 и К-18 составляли 72% ( $p < 0,05$ ). Снижение количества живых плодов в группе К-18 по сравнению с группой К-75 составляло 32% ( $p > 0,05$ ). Предимплантационная гибель в обеих опытных группах была выше нормы и находилась на одном уровне, однако в контрольных группах отмечались некоторые различия: в группе К-18 тот показатель был несколько выше нормы и на 56% ( $p > 0,05$ ) выше, чем в группе К-75. Постымплантационная

гибель в группах К-75 и О-75 находилась на верхней границе нормы и не имела достоверных различий, средние значения этого показателя у крыс группы К-18 были на 151% ( $p>0,05$ ) выше, чем у группы К-75, у крыс группы О-18 – на 155% ( $p<0,05$ ) выше, чем в группе К-18 [49].

Таблица 89 – Пренатальное развитие потомства F<sub>1</sub>

| Показатели                        |         | Группа      |            |              |             | Интегрированный контроль |
|-----------------------------------|---------|-------------|------------|--------------|-------------|--------------------------|
|                                   |         | Контроль    |            | Опыт         |             |                          |
|                                   |         | К-18        | К-75       | О-18         | О-75        |                          |
| Количество беременных самок       |         | 8           | 7          | 5            | 9           | -                        |
| Количество желтых тел             | Всего   | 119         | 112        | 65           | 132         | 5-23                     |
|                                   | M±m     | 14,88±0,67  | 16,00±0,82 | 13,00±1,95   | 14,67±0,82  |                          |
|                                   | min-max | 13-19       | 13-19      | 6-18         | 10-18       |                          |
| Количество мест имплантации       | Всего   | 100         | 101        | 53           | 101         | 3-18                     |
|                                   | M±m     | 12,50±0,73  | 14,43±0,81 | 10,60±2,52   | 11,22±1,75  |                          |
|                                   | min-max | 9-15        | 11-17      | 2-17         | 2-17        |                          |
| Количество живых плодов           | Всего   | 69          | 89         | 12           | 95          | 2-18                     |
|                                   | M±m     | 8,63±1,36   | 12,71±0,97 | 2,4±1,69*    | 10,56±1,72  |                          |
|                                   | min-max | 1-14        | 7-145      | 0-9          | 1-16        |                          |
| Количество резорбций              | Всего   | 30          | 12         | 41           | 4           | 0-10                     |
|                                   | M±m     | 3,75±1,36   | 1,71±0,61  | 8,20±2,85    | 0,44±0,34   |                          |
|                                   | min-max | 0-12        | 0-4        | 1-15         | 0-3         |                          |
| Количество мертвых плодов         |         | 2           | 0          | 1            | 0           | -                        |
| <b>Предимплантационная гибель</b> |         |             |            |              |             |                          |
| %                                 | M±m     | 15,23±5,39  | 9,74±2,72  | 24,77±11,74  | 24,11±11,21 | 0-80                     |
|                                   | min-max | 0-37        | 0-22       | 0-67         | 0-83        |                          |
| Абс.                              | Всего   | 19          | 11         | 12           | 31          | 0-13                     |
|                                   | M±m     | 2,38±0,91   | 1,57±0,48  | 2,40±0,81    | 3,44±1,68   |                          |
|                                   | min-max | 0-7         | 0-4        | 0-4          | 0-15        |                          |
| <b>Постимплантационная гибель</b> |         |             |            |              |             |                          |
| %                                 | M±m     | 30,64±10,41 | 12,21±4,87 | 78,22±17,20* | 9,37±5,65   | 0-100                    |
|                                   | min-max | 0-93        | 0-36       | 10-100       | 0-50        |                          |
| Абс.                              | Всего   | 32          | 12         | 41           | 6           | 0-10                     |
|                                   | M±m     | 4,00±1,46   | 1,71±0,61  | 8,20±2,85    | 0,67±0,37   |                          |
|                                   | min-max | 0-13        | 0-4        | 1-15         | 0-3         |                          |

\* выявлены достоверные различия между соответствующими контрольной и опытной группами при  $p<0,05$

Зоометрические показатели плодов и масса внутренних органов плодов (таблица 90) варьировали в пределах физиологической нормы [236; 321; 354], плоды группы О-75 не имели достоверных отличий от группы К-75. Плоды группы О-18 в целом не отличались от группы К-18, однако были отмечены некоторые различия кранио-каудального размера, абсолютной и относительной массы почек: значения этих показателей у плодов группы О-18 были несколько ниже, чем у плодов группы К-18 – на 5% ( $p<0,05$ ), 24% и 20% ( $p<0,05$ ), соответственно [49].

Таблица 90 – Зоометрические показатели плодов F<sub>1</sub> на 20-й день пренатального развития

| Показатели                   |         | Группа       |              |              |              | Интегрированный контроль |
|------------------------------|---------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------------------|
|                              |         | Контрольная  |              | Опытная      |              |                          |
|                              |         | К-18<br>N=31 | К-75<br>N=25 | О-18<br>N=8  | О-75<br>N=34 |                          |
| Масса тела, г                | M±m     | 3,087±0,079  | 3,898±0,054  | 3,073±0,198  | 3,762±0,103  | 1,51-6,12                |
|                              | Min-max | 2,139-4,154  | 3,380-4,487  | 2,160-3,821  | 2,941-6,001  |                          |
| Кранио-каудальный размер, см | M±m     | 3,648±0,041  | 3,776±0,044  | 3,463±0,050* | 3,747±0,047  | 2,4-5,1                  |
|                              | Min-max | 2,9-4,0      | 3,4-4,2      | 3,2-3,6      | 3,3-4,6      |                          |
| Масса печени                 | Абс.    | 0,206±0,008  | 0,310±0,007  | 0,231±0,021  | 0,299±0,012  | 0,058-0,648              |
|                              | Min-max | 0,116-0,294  | 0,257-0,391  | 0,129-0,314  | 0,193-0,503  |                          |
|                              | Отн.    | 6,668±0,203  | 7,971±0,148  | 7,464±0,420  | 7,919±0,186  | 2,08-13,68               |
|                              | Min-max | 5,051-8,784  | 6,781-10,195 | 5,850-9,344  | 5,689-10,286 |                          |
| Масса почек                  | Абс.    | 0,025±0,001  | 0,029±0,001  | 0,019±0,001* | 0,027±0,001  | 0,006-0,098              |
|                              | Min-max | 0,017-0,042  | 0,023-0,041  | 0,014-0,025  | 0,015-0,047  |                          |
|                              | Отн.    | 0,797±0,027  | 0,756±0,025  | 0,638±0,026* | 0,721±0,027  | 0,227-2,538              |
|                              | Min-max | 0,567-1,368  | 0,586-0,983  | 0,503-0,735  | 0,500-1,323  |                          |
| Масса сердца                 | Абс.    | 0,019±0,001  | 0,022±0,001  | 0,016±0,002  | 0,021±0,001  | 0,005-0,050              |
|                              | Min-max | 0,012-0,033  | 0,016-0,029  | 0,011-0,027  | 0,011-0,043  |                          |
|                              | Отн.    | 0,609±0,020  | 0,561±0,014  | 0,535±0,054  | 0,562±0,020  | 0,184-1,598              |
|                              | Min-max | 0,369-0,825  | 0,427-0,694  | 0,406-0,828  | 0,346-0,834  |                          |
| Масса легких                 | Абс.    | 0,092±0,003  | 0,117±0,003  | 0,082±0,006  | 0,111±0,004  | 0,020-0,213              |
|                              | Min-max | 0,050-0,121  | 0,097-0,144  | 0,055-0,103  | 0,063-0,170  |                          |
|                              | Отн.    | 2,974±0,071  | 2,994±0,053  | 2,679±0,151  | 2,952±0,069  | 0,761-5,789              |
|                              | Min-max | 2,073-4,152  | 2,648-3,581  | 1,907-3,129  | 1,970-3,955  |                          |

\* выявлены достоверные различия между соответствующими контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

Постнатальное развитие потомства F<sub>1</sub> характеризовалось высокой выживаемостью в группах с оптимальной (75%) обеспеченностью эссенциальными веществами: в период с 1-го по 5-й дни жизни выживаемость в группе К-75 составляла 98%, в группе О-75 – 99%, в период с 6-го по 25-й дни жизни – 99 и 100%, соответственно (таблица 91). Согласно данным литературы, линия Вистар в целом характеризуется относительной вариабельностью ряда показателей репродуктивной функции, поэтому 98-100%-ная выживаемость потомства соответствовала самому высокому уровню для крыс данной линии. Выживаемость потомства в группах с субмаргинальной (18%) обеспеченностью эссенциальными веществами было сложно оценить из-за высокого количества пометов, уничтоженных материнскими животными этой группы сразу после родов: оставшиеся в живых 9 крысят все выжили, то есть выживаемость в этой группе составляла 100%, однако такое количество крысят не является репрезентативным и

не отражает реальную картину. В группе К-18 выживаемость потомства с 1-го по 5-й дни жизни составляла 52%, в период с 6-го по 25-й дни жизни – 75%, что в целом было несколько ниже значений, характерных для крыс данной линии [49].

Постнатальное развитие крысят групп К-75 и О-75 (общее количество крысят, средняя величина помета, соотношение самцов и самок в помете) не имело значимых различий, тогда как группы К-18 и О-18 характеризовались выраженными различиями этих показателей: общее количество крысят, средняя величина помета в группе О-18 были на 95% и 35% ниже, чем в группе К-18 [49].

Таблица 91 – Постнатальное развитие потомства F<sub>1</sub>

| Показатели  |         | Группа    |            |                    |            |
|---|---------|-----------|------------|--------------------|------------|
|   |         | К-18      | К-75       | О-18               | О-75       |
| Общее количество забеременевших самок   |         | 21        | 23         | 6(8 <sup>1</sup> ) | 24         |
| Общее количество родивших самок   |         | 21        | 23         | 6(8 <sup>1</sup> ) | 24         |
| Общее количество крысят   |         | 168       | 252        | 9                  | 255        |
| Из них мертворожденных  |         | 17        | 3          | 0 <sup>2</sup>     | 7          |
| Средняя величина помета   | M±m     | 6,88±1,64 | 10,83±0,87 | 4,50±2,50          | 10,78±0,63 |
|   | Min-Max | 2-14      | 3-19       | 2-7                | 3-16       |
| Соотношение ♂/♀ в помете, %   |         | 69/31     | 51/49      | 44/46              | 47/53      |
| <b>Выживаемость потомства</b>   |         |           |            |                    |            |
| Выживаемость с 1-го по 5-й дни жизни, количество живых (исходное) / количество умерших, % |         | 52        | 98         | 100                | 99         |
| Выживаемость с 6-го по 25-й дни жизни, %  |         | 75        | 99         | 100                | 100        |

<sup>1</sup> Предположительно забеременевшая ♀/ оплодотворивший ♂ исходя из динамики массы тела самок.

<sup>2</sup> Невозможно оценить, так как не были зафиксированы факты родов

Не выявлены достоверные различия между соответствующими контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

Анализ физического развития потомства F<sub>1</sub> – сроков отлипания ушных раковин, появления волосяного покрова, прорезывания резцов и др., не выявил каких-либо отклонений от нормы, достоверные различия между группами отсутствовали.

Как видно из таблицы 92, масса тела и рост крысят групп К-75 и О-75 не имели значимых различий и варьировали в диапазоне 2-4% (масса) и 2-4% (рост). Масса тела крысят группы О-18 была на 10-24% выше, чем у крысят группы К-18, рост – на 3-11% выше, соответственно, однако, принимая во внимание нерепрезентативную выборку в группе О-18 (9 крысят), интерпретация отмеченных различий весьма затруднена [49].

Таблица 92 – Динамика массы тела и роста потомства F<sub>1</sub> в 1-й месяц жизни

| Группа               | Дни жизни |            |            |             |             |             |             |
|----------------------|-----------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                      | 2         | 5          | 10         | 15          | 20          | 25          |             |
| <b>Масса тела, г</b> |           |            |            |             |             |             |             |
| К-18<br>(N=127→55)   | M±m       | 4,26±0,07  | 7,47±0,19  | 11,32±0,37  | 15,35±0,53  | 20,87±0,75  | 30,30±1,05  |
|                      | Min-Max   | 2,50-7,00  | 3,70-11,10 | 3,80-19,60  | 8,9 -30,40  | 14,30-38,50 | 18,33-56,60 |
| К-75<br>(N=249→243)  | M±m       | 6,43±0,07  | 10,56±0,12 | 18,93±0,23  | 27,39±0,32  | 37,91±0,49  | 52,29±0,62  |
|                      | Min-Max   | 3,10-9,00  | 4,50-14,40 | 7,80-27,30  | 12,60-40,80 | 15,80-56,60 | 27,70-85,98 |
| О-18<br>(N=11→9)     | M±m       | 5,30±0,21* | 8,24±0,17* | 12,93±0,22* | 17,24±0,36* | 25,77±0,53* | 35,96±1,12* |
|                      | Min-Max   | 3,90-6,00  | 7,60-9,20  | 12,00-13,70 | 15,80-19,10 | 23,40-28,10 | 32,05-41,81 |
| О-75<br>(N=248)      | M±m       | 6,18±0,05* | 10,39±0,11 | 18,46±0,20  | 26,98±0,32  | 36,92±0,46  | 53,87±0,65* |
|                      | Min-Max   | 4,3-8,50   | 5,2-15,10  | 9,6-27,8    | 14,10-40,30 | 19,90-57,70 | 32,20-81,60 |
| <b>Рост, см</b>      |           |            |            |             |             |             |             |
| К-18<br>(N=127→55)   | M±m       | 4,64±0,04  | 5,64±0,04  | 6,77±0,07   | 7,64±0,07   | 8,79±0,10   | 10,06±0,11  |
|                      | Min-Max   | 3,00-5,70  | 4,60-6,50  | 5,00-8,20   | 6,70-9,40   | 7,40-11,00  | 8,70-12,90  |
| К-75<br>(N=249)      | M±m       | 5,28±0,02  | 6,55±0,03  | 7,93±0,03   | 9,43±0,04   | 10,69±0,05  | 12,63±0,05  |
|                      | Min-Max   | 4,00-6,10  | 5,20-8,00  | 5,80-8,80   | 7,00-10,80  | 7,08-12,30  | 9,8-14,6    |
| О-18<br>(N=11→9)     | M±m       | 4,83±0,13  | 6,06±0,06* | 7,00±0,05*  | 7,90±0,10   | 9,70±0,12*  | 11,19±0,11* |
|                      | Min-Max   | 3,70-5,20  | 5,70-6,30  | 6,80-7,20   | 7,50-8,40   | 9,20-10,20  | 10,87-11,75 |
| О-75<br>(N=248→245)  | M±m       | 5,28±0,02  | 6,31±0,02* | 7,88±0,03   | 9,22±0,04*  | 10,58±0,04  | 12,19±0,05* |
|                      | Min-Max   | 4,40-6,30  | 5,30-7,30  | 6,40-9,20   | 7,70-10,60  | 8,50-12,20  | 9,90-14,20  |

\* выявлены достоверные различия между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

Таким образом, введение глифосата на фоне сниженной обеспеченности витаминами группы В, солями Fe<sup>3+</sup> и Mg<sup>2+</sup> приводило к значительным изменениям показателей репродуктивной функции, тогда как на фоне нормальной обеспеченности эссенциальными веществами токсическое действие глифосата не отмечалось. Полученные результаты позволяют рекомендовать данную модель модификации состава рациона для изучения репродуктивной токсичности, в частности, при оценке безопасности ГМО [49].

## 5.5 Изучение активности апоптоза при токсиколого-гигиенических исследованиях

### 5.5.1 Изучение активности апоптоза в различных органах крыс в онтогенезе

Физиологическая гибель клетки (апоптоз), обеспечивающая поддержание гомеостаза за счет элиминации клеток, исчерпавших свой физиологический ресурс, является эволюционно-консервативным системным процессом, контроль над которым осуществляет сложная иерархическая система внеклеточных и внутриклеточных регуляторов [331]. Механизмы индукции и динамика процессов клеточной смерти изменяются под действием целого ряда экзогенных факторов, обеспечивая адаптацию организма к окружающей среде, поэтому показатели активности апоптоза можно рассматривать как интегральные биомаркеры, чувствительные к воздействиям различной природы [385]. В то же время влияние эндогенных факторов, многие из которых детерминированы преобразованиями в процессе онтогенеза – развития организма от формирования зиготы (при половом размножении) до смерти, и характеризуются значительными физиологическими, биохимическими, гормональными и морфологическими изменениями, также может определять колебания интенсивности процессов апоптоза [56; 67; 387].

Целью данного исследования являлось определение активности апоптоза на 20-й, 22-й, 35-й, 50-й, 80-й, 110-й и 140-й дни онтогенеза в печени, почках и тимусе самцов и самок крыс методом ДНК-комет и методом проточной цитофлюориметрии [56; 67; 387].

В эксперименте на крысах изучена активность апоптоза в тимусе, печени и почках на 20-й, 22-й, 35-й, 50-й, 80-й, 110-й и 140-й дни онтогенеза. Рассмотренные стадии жизненного цикла характеризуются существенными физиологическими особенностями и типом питания: 20-й день онтогенеза относится к периоду завершения внутриутробного развития (20-й день беременности) и плацентарным питанием; 22-й день – к периоду новорожденности, это период грудного вскармливания, 35-й день – время перехода на смешанное кормление (вместе с грудным молоком матери крысята начинают потреблять и обычный рацион), 50-й день – время отъема крысят от материнских животных и переход на общевиварный рацион, 80-й день – период полового созревания, 110-й день – завершение полового созревания, 140-й день – полностью сформировавшийся взрослый организм [67; 387].

Эксперименты выполнены на клинически здоровых крысах линии Вистар, всего для получения материала было использовано 169 самок и 169 самцов (таблица 93). Состояние здоровья экспериментальных животных подтверждали на основании исследований морфологической картины периферической крови на 50-140-й дни онтогенеза, постмортальной некропсии, осмотра и взвешивания внутренних органов. В течение эксперимента велись наблюдения за поедаемостью корма, массой тела и общим состоянием животных [67; 387].

Таблица 93 – Половозрастной состав и количество экспериментальных животных

| Метод определения апоптоза | Стадия онтогенеза, день |         |         |         |         |         |         |
|----------------------------|-------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|                            | 20                      | 22      | 35      | 50      | 80      | 110     | 140     |
| Проточная цитофлуориметрия | 10♀+9♂                  | 11♀+10♂ | 9♀+10♂  | 10♀+10♂ | 10♀+10♂ | 10♀+11♂ | 10♀+10♂ |
| ДНК-комет                  | 21♀+21♂                 | 12♀+12♂ | 12♀+12♂ | 15♀+15♂ | 12♀+12♂ | 12♀+12♂ | 15♀+15♂ |

Принимая во внимание исторически сложившийся подход к изучению программируемой гибели клетки, а также физиологической функцией органов, связанной с участием в процессах метаболизма, в качестве объектов исследований апоптоза были выбраны печень, почки и тимус [67; 387].

Рост и развитие крыс на протяжении всего периода наблюдений были удовлетворительными: внешний вид, качество шерстного покрова, поведение и поедаемость корма соответствовали возрастной норме. Ежедневный прирост массы тела животных на 20-140-й дни онтогенеза (рисунок 52) находился в диапазоне значений, свойственных животным данной линии [135; 209; 210]. Массы внутренних органов самцов и самок на протяжении всего эксперимента не выходили за пределы физиологических колебаний, характерных для крыс. Морфологические исследования внутренних органов животных разного возраста не выявили каких-либо патологических изменений, гематологические показатели самцов и самок 50-140-го дней онтогенеза находились в пределах нормы. Таким образом, все животные, у которых был отобран материал для исследований активности апоптоза, были клинически здоровы [67; 387].



Рисунок 52 – Динамика массы тела крыс в процессе онтогенетического развития

Результаты изучения активности процессов программируемой гибели в клетках тимуса методами проточной цитофлуориметрии и ДНК-комет продемонстрировали изменение индекса апоптоза и количества апоптоз-положительных клеток у крыс обоего пола в зависимости от возраста: максимальные значения показателей отмечены на 20-й день онтогенеза с последующим постепенным снижением индекса апоптоза до минимальных величин на 35-50-й день (на ~40% от максимальных значений у самцов и ~45% у самок) и апоптоз-положительных клеток – на 50-й день (на ~80% у самцов и 86% у самок), относительно плавным увеличением до умеренно высоких значений на 110-й день и значительным снижением к 140-му дню онтогенеза (таблицы 94-95, рисунок 53) [67; 387]. Сравнение данных, полученных двумя разными методами, позволяет отметить более высокую прецизионность метода проточной цитофлуориметрии по сравнению с методом ДНК-комет, так как диапазон колебаний количества апоптоз-положительных клеток был значительно уже, чем диапазон колебаний индекса апоптоза. Метод проточной цитофлуориметрии позволил определить периоды онтогенеза крыс с самыми низкими уровнями апоптоза: на основании последовательного сравнения показателей, полученных от животных 20-140-го дней онтогенеза, статистически достоверные различия были выявлены при попарном сравнении каждого предыдущего и последующего показателя (20 и 22-го дня, 22 и 35 и т.д.). При схожей картине колебаний активности апоптоза, результаты, полученные методом ДНК-комет, не демонстрировали значимых различий на сроках 22-80-й дни у самцов и 35-80-й дни онтогенеза у самок, что не позволило определить возраст с самым низким уровнем апоптоза. Тем не менее, высокие уровни апоптоза на 20-й и 110-й дни онтогенеза были определены каждым из независимо использованных методов без каких-либо разночтений [67; 387].

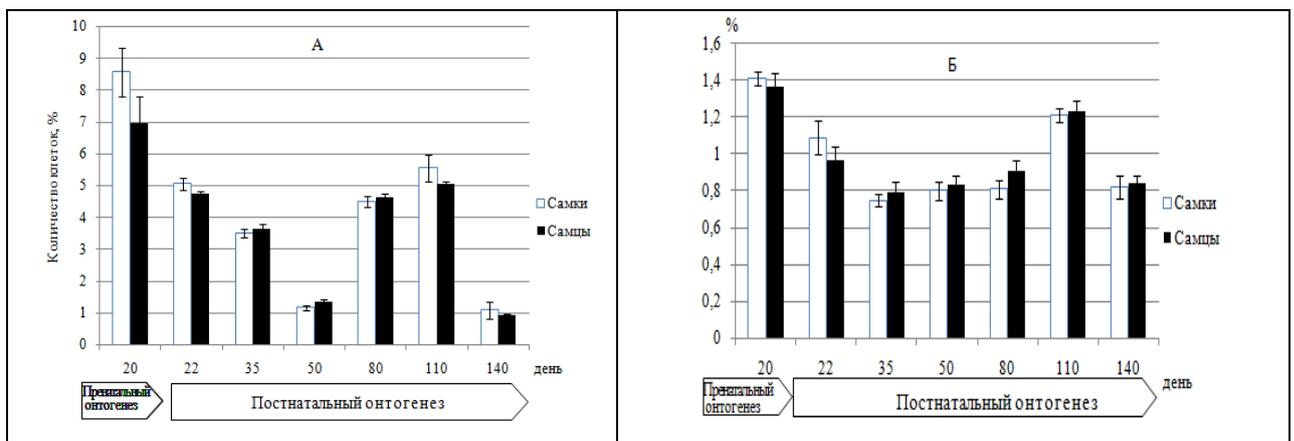


Рисунок 53 – Уровень апоптоз-положительных клеток (А), индекс апоптоза в тимусе крыс в процессе онтогенетического развития (Б)

Таблица 94 – Активность апоптоза в тимусе крыс в процессе онтогенетического развития,  $M \pm m$ . Метод проточной цитофлуориметрии

| Стадия онтогенеза, день | Показатели                     | Количество клеток, % |                  |
|-------------------------|--------------------------------|----------------------|------------------|
|                         |                                | Самцы                | Самки            |
| 20                      | Живые клетки                   | 92,97±0,90           | 91,28±0,78       |
|                         | Мертвые клетки                 | 0,10±0,03            | 0,15±0,06        |
|                         | «Ранний» апоптоз               | 5,37±0,73            | 7,06±0,65        |
|                         | «Поздний» апоптоз              | 1,57±0,31            | 1,51±0,23        |
|                         | <b>Сумма клеток в апоптозе</b> | <b>6,93±0,89</b>     | <b>8,57±0,75</b> |
| 22                      | Живые клетки                   | 95,03±0,10           | 94,76±0,20       |
|                         | Мертвые клетки                 | 0,24±0,03            | 0,17±0,03        |
|                         | «Ранний» апоптоз               | 3,01±0,14            | 3,68±0,18        |
|                         | «Поздний» апоптоз              | 1,73±0,11            | 1,39±0,13        |
|                         | <b>Сумма клеток в апоптозе</b> | <b>4,74±0,10</b>     | <b>5,07±0,19</b> |
| 35                      | Живые клетки                   | 96,07±0,19           | 96,21±0,12       |
|                         | Мертвые клетки                 | 0,27±0,04            | 0,16±0,04        |
|                         | «Ранний» апоптоз               | 2,43±0,12            | 3,07±0,12        |
|                         | «Поздний» апоптоз              | 1,22±0,16            | 0,56±0,11        |
|                         | <b>Сумма клеток в апоптозе</b> | <b>3,64±0,17</b>     | <b>3,52±0,13</b> |
| 50                      | Живые клетки                   | 98,59±0,09           | 98,75±0,07       |
|                         | Мертвые клетки                 | 0,08±0,01            | 0,07±0,02        |
|                         | «Ранний» апоптоз               | 1,07±0,06            | 0,95±0,06        |
|                         | «Поздний» апоптоз              | 0,28±0,03            | 0,22±0,02        |
|                         | <b>Сумма клеток в апоптозе</b> | <b>1,35±0,08</b>     | <b>1,17±0,07</b> |
| 80                      | Живые клетки                   | 95,17±0,18           | 95,28±0,19       |
|                         | Мертвые клетки                 | 0,18±0,05            | 0,23±0,04        |
|                         | «Ранний» апоптоз               | 3,66±0,09            | 3,23±0,15        |
|                         | «Поздний» апоптоз              | 0,96±0,17            | 1,28±0,16        |
|                         | <b>Сумма клеток в апоптозе</b> | <b>4,62±0,13</b>     | <b>4,51±0,18</b> |
| 110                     | Живые клетки                   | 94,81±0,12           | 94,22±0,30       |
|                         | Мертвые клетки                 | 0,15±0,05            | 0,15±0,04        |
|                         | «Ранний» апоптоз               | 3,81±0,24            | 4,57±0,46        |
|                         | «Поздний» апоптоз              | 1,21±0,23            | 1,19±0,25        |
|                         | <b>Сумма клеток в апоптозе</b> | <b>5,02±0,10</b>     | <b>5,56±0,43</b> |
| 140                     | Живые клетки                   | 99,05±0,06           | 98,90±0,25       |
|                         | Мертвые клетки                 | 0,02±0,01            | 0,01±0,01        |
|                         | «Ранний» апоптоз               | 0,80±0,05            | 0,96±0,24        |
|                         | «Поздний» апоптоз              | 0,13±0,03            | 0,13±0,02        |
|                         | <b>Сумма клеток в апоптозе</b> | <b>0,93±0,05</b>     | <b>1,09±0,26</b> |

Таблица 95 – Индекс апоптоза в некоторых органах крыс в процессе онтогенетического развития,  $M \pm m$ . Метод ДНК-комет.

| Стадия онтогенеза, день | Внутренние органы | Индекс апоптоза, % |            |
|-------------------------|-------------------|--------------------|------------|
|                         |                   | Самцы              | Самки      |
| 20                      | Тимус             | 1,37±0,07          | 1,41±0,04  |
|                         | Печень            | 1,29±0,05          | 1,24±0,057 |
|                         | Почки             | 1,37±0,05          | 1,23±0,05  |
| 22                      | Тимус             | 0,97±0,07          | 1,09±0,09  |
|                         | Печень            | 1,27±0,06          | 1,13±0,10  |
|                         | Почки             | 1,10±0,07          | 1,23±0,07  |
| 35                      | Тимус             | 0,79±0,06          | 0,75±0,03  |
|                         | Печень            | 0,86±0,05          | 0,77±0,03  |
|                         | Почки             | 0,83±0,07          | 0,75±0,05  |
| 50                      | Тимус             | 0,83±0,05          | 0,80±0,05  |
|                         | Печень            | 0,80±0,05          | 0,88±0,06  |
|                         | Почки             | 0,80±0,05          | 0,82±0,04  |
| 80                      | Тимус             | 0,91±0,06          | 0,81±0,05  |
|                         | Печень            | 0,79±0,07          | 0,88±0,06  |
|                         | Почки             | 0,77±0,07          | 0,81±0,04  |
| 110                     | Тимус             | 1,23±0,06          | 1,21±0,04  |
|                         | Печень            | 1,08±0,09          | 1,05±0,07  |
|                         | Почки             | 1,07±0,07          | 1,31±0,05  |
| 140                     | Тимус             | 0,84±0,04          | 0,82±0,06  |
|                         | Печень            | 0,85±0,04          | 0,86±0,05  |
|                         | Почки             | 0,96±0,07          | 0,92±0,07  |

Изменения активности апоптоза в печени и почках крыс обоего пола в зависимости от стадии онтогенетического развития в целом соответствовали картине, наблюдавшейся в тимусе: высокий уровень на 20-й день, снижение на 35-80-й дни, повышение к 110 дню и снижение к 140-му дню онтогенеза (таблица 95, рисунок 54) [67; 387].

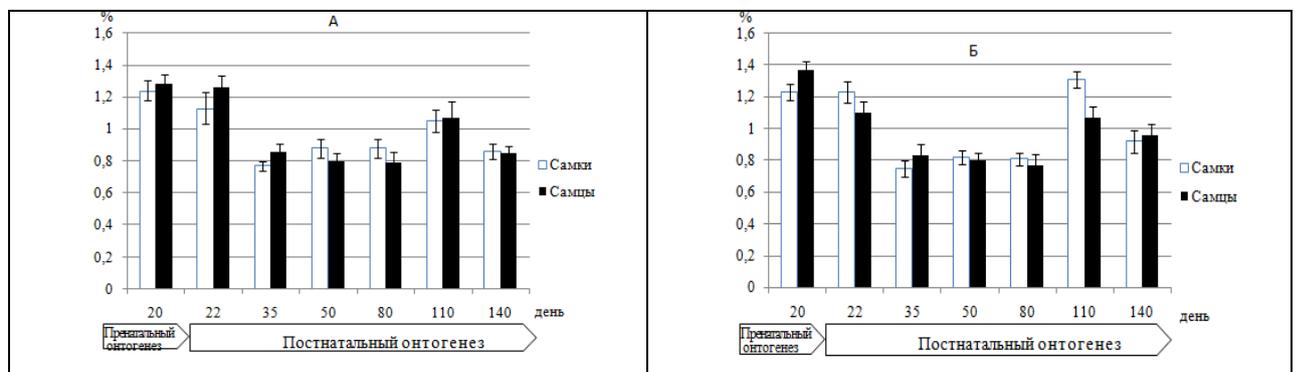


Рисунок 54 – Индекс апоптоза в печени (А) и почках (Б) крыс в процессе онтогенетического развития

Сравнение метода ДНК-комет и метода проточной цитофлюориметрии показало, что, несмотря на некоторые различия прецизионности, оба метода позволяют регистрировать количественно характеризовать интенсивность апоптоза. Однако, принимая во внимание более узкий разброс физиологических колебаний показателей апоптоза, который демонстрирует метод проточной цитофлюориметрии, что позволяет более однозначно интерпретировать получаемые результаты, этот метод наиболее предпочтителен для оценки активности апоптоза в токсикологических исследованиях [67; 387].

Апоптоз, являясь общебиологическим процессом, может быть использован в качестве биомаркеров токсической нагрузки на организм. Перспектива применения этих показателей в токсикологических исследованиях, в частности, для целей оценки безопасности ГМО, изучалась нами на протяжении нескольких лет [71] и была подтверждена результатами экспериментов, проведенных в условиях моделированных токсических воздействий *in vivo*. Исходя из предпосылки, что наиболее предпочтительными периодами онтогенеза для оценки уровня апоптоза в качестве биомаркера являются те стадии развития организма, на которых фоновые величины активности апоптоза достигают минимальных и максимальных значений, поскольку любые колебания показателей на этих сроках будут наиболее заметны, сроки отбора материала для исследований на 20-й и 130-140-й дни (соответствующие самой высокой и низкой активности апоптоза) были признаны оптимальными [67; 387].

### **5.5.2 Изучение активности апоптоза в печени крыс в условиях интоксикации кадмием и четыреххлористым углеродом**

Активность апоптоза в печени крыс была изучена в трех сериях экспериментов с интоксикацией четыреххлористым углеродом и разными дозами  $Cd^{2+}$  (в виде  $CdCl_2$ ) на модели дефицита витаминов группы В (тиамина, рибофлавина, ниацина и пиридоксина) и минеральных веществ ( $Fe^{3+}$  и  $Mg^{2+}$ ).

В первой серии (длительность 65 дней) животные опытных групп на протяжении всего эксперимента получали с кормом  $Cd^{2+}$  в дозе 1-2 мг/кг массы тела, что соответствовало 1,06-2,13% от  $LD_{50}$  [68]. Суммарно каждое животное получило ~44 мг  $Cd^{2+}$  (~0,5  $LD_{50}$ ). Активность апоптоза в печени определяли методом ДНК-комет, в каждой группе было обследовано по 10 крыс. Результаты, полученные в данном эксперименте, представлены в таблице 96.

Во второй серии (длительность 64 дня) животные были разделены на четыре группы – две контрольных и две опытных по 20 самцов в каждой. Животные контрольных групп получали рационы с "оптимальной" и "субмаргинальной" дозировками эссенциальных веществ, животные опытных групп на фоне разных уровней обеспеченности эссенциальными

веществами получали с кормом  $\text{Cd}^{2+}$ . Доза кадмия составляла 10 мг/кг массы тела, что соответствовало 11% от  $\text{LD}_{50}$ . Суммарно каждое животное получило  $\sim 240$  мг  $\text{Cd}^{2+}$  ( $\sim 2,6 \text{ LD}_{50}$ ). Активность апоптоза в печени определяли методом проточной цитофлуориметрии (в каждой группе было обследовано по 6 крыс). Результаты, полученные во второй серии, представлены в таблице 97.

В третьей серии (длительность 64 дня) животным опытных групп внутрибрюшинно вводили  $\text{CCl}_4$ , растворенный в оливковом масле, один раз в неделю на протяжении всего эксперимента (всего 8 инъекций). Доза  $\text{CCl}_4$  составляла 0,81 г/кг массы тела, что соответствовало 12,5% от  $\text{LD}_{50}$ . Суммарно каждое животное получило  $\sim 2,6$  г  $\text{CCl}_4$  ( $\sim 1 \text{ LD}_{50}$ ). Активность апоптоза в печени определяли методом ДНК-комет, в каждой группе было обследовано по 10 крыс. Поскольку внутрибрюшинная инъекция является стрессорным фактором, который может оказывать влияние на активность апоптоза, анализ полученных данных проводили с учетом фонового уровня апоптоза (объединенных данных от контрольных животных, использованных в аналогичных по дизайну исследованиях) [387]. Результаты, полученные в этом эксперименте, представлены в таблице 98.

В первой серии исследований (таблица 96) сравнительный анализ показателей активности апоптоза у крыс контрольных и опытных групп не выявил статистически значимых различий между группами: интоксикация кадмием в дозировке 1,06-2,13% от  $\text{LD}_{50}$  не влияла на апоптоз, средние значения показателей соответствовали фоновому уровню апоптоза, характерному для крыс данного возраста.

Таблица 96 – Индекс апоптоза клеток печени на фоне интоксикации кадмием в дозе 1-2 мг/кг массы тела в сутки

| Индекс апоптоза, % | Группы с различной обеспеченностью эссенциальными веществами |                 |                 |                 |                 |                 |
|--------------------|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                    | К-19   | О-19            | К-30            | О-30            | К-75            | О-75            |
| $M \pm m$          | 2,24 $\pm$ 0,54  | 2,35 $\pm$ 0,59 | 2,50 $\pm$ 0,90 | 2,11 $\pm$ 0,28 | 2,80 $\pm$ 0,54 | 2,49 $\pm$ 0,67 |
| <i>Min-Max</i>     | 0,64-4,20  | 0,76-3,82       | 0,69-6,81       | 1,31-3,07       | 0,29-3,77       | 0,15-3,93       |

\* не выявлены достоверные различия между соответствующими контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

Активность апоптоза у крыс контрольных групп также не имела достоверных различий, что свидетельствует об отсутствии влияния обеспеченности витаминами ( $\text{B}_1$ ,  $\text{B}_2$ ,  $\text{B}_3$ ,  $\text{B}_6$ ) и минеральными веществами ( $\text{Fe}^{3+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ ) на активность процессов апоптоза в печени крыс.

Во второй серии исследований с увеличенной в 10 раз дозой кадмия (таблица 97) при оценке апоптоза методом проточной цитофлуориметрии было отмечено повышение активности апоптоза в печени крыс опытных групп: при субмаргинальном уровне обеспеченности эссенциальными веществами сумма клеток в апоптозе у крыс опытной группы была на 43%

выше ( $p < 0,05$ ), чем у контрольных животных; при оптимальном уровне обеспеченности – на 88% выше ( $p < 0,05$ ), чем у контрольных крыс, соответственно.

Таблица 97 – Уровень апоптоз-положительных клеток в печени на фоне интоксикации кадмием в дозе 10 мг/кг массы тела в сутки (метод проточной цитофлуориметрии)

| Показатели              |         | 19%-ная обеспеченность эссенциальными веществами |              | 75%-ная обеспеченность эссенциальными веществами |              |
|-------------------------|---------|--|--------------|--|--------------|
|                         |         | Контроль-19                                      | Cd-19        | Контроль-75                                      | Cd-75        |
| Ранний апоптоз          | M±m     | 5,55±0,45  | 7,45±0,77    | 4,85±0,39  | 8,82±0,92 *  |
|                         | Min-Max | 4,10-7,00  | 5,30-10,60   | 3,70-6,30  | 6,80-11,90   |
| Поздний апоптоз         | M±m     | 0,15±0,02  | 0,72±0,07 *  | 0,22±0,03  | 0,68±0,14 *  |
|                         | Min-Max | 0,10-0,20  | 0,50-1,00    | 0,10-0,30  | 0,30-1,20    |
| Сумма клеток в апоптозе | M±m     | 5,70±0,45  | 8,17±0,80 *  | 5,07±0,39  | 9,50±0,90 *  |
|                         | Min-Max | 4,20-7,10  | 5,80-11,30   | 3,90-6,50  | 7,20-12,60   |
| Живые клетки            | M±m     | 94,02±0,42                                       | 91,58±0,79 * | 94,85±0,37                                       | 89,98±0,99 * |
|                         | Min-Max | 92,7-95,6  | 88,4-94,1    | 93,4-95,9  | 87,0-92,5    |
| Мертвые клетки          | M±m     | 0,30±0,16  | 0,22±0,05    | 0,10±0,04  | 0,48±0,13 *  |
|                         | Min-Max | 0,10-1,10  | 0,10-0,40    | 0,00-0,20  | 0,10-0,90    |

\* выявлены достоверные различия между соответствующими контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

Следует отметить, что интоксикация солями кадмия на фоне оптимального (75%) содержания витаминов и минеральных веществ в рационе вызывала более значительное повышение активности апоптоза, чем на фоне субмаргинального (19%) содержания. Усиление апоптоза у крыс опытных групп в условиях интоксикации высокими дозами солей кадмия можно объяснить особенностями механизма его токсического действия, заключающегося в связывании карбоксильных, аминных и, особенно, сульфгидрильных групп белковых молекул, приводящего к угнетению активности ферментных систем, нарушению снабжения кислородом тканей и нарушению обменных процессов фосфолипидов [49]. В итоге развивается окислительный стресс, приводящий к нарушению клеточного метаболизма и гибели клетки [150; 364]. Полученные данные согласуются с результатами третьей серии экспериментов.

При анализе данных третьей серии исследований (таблица 98), было отмечено выраженное повышение активности апоптоза в ряду снижения обеспеченности эссенциальными веществами: у крыс группы К-75 индекс апоптоза был на 11% ( $p > 0,05$ ) и 193% ( $p < 0,05$ ) ниже, чем у групп К-30 и К-19; у крыс группы О-75 и О-30 значения данного показателя находились примерно на одном уровне, в группе О-19 индекс апоптоза был на 57% выше ( $p < 0,05$ ), чем в группе О-75. Статистически значимые различия между фоновыми группами с оптимальной, маргинальной и субмаргинальной обеспеченностью эссенциальными веществами отсутствовали, однако прослеживалась противоположная тенденция снижения уровня апоптоза

в ряду  $\Phi-75 \rightarrow \Phi-30 \rightarrow \Phi-19$ , у крыс группы  $\Phi-75$  индекс апоптоза был на 17% и 21% ( $p > 0,05$ ) выше, чем у групп  $\Phi-30$  и  $\Phi-19$  [386].

Таблица 98 – Индекс апоптоза клеток печени на фоне интоксикации четыреххлористым углеродом

| Индекс апоптоза, %                                  | Группы                                     |                        |                        |
|---|--|------------------------|------------------------|
|   | Фоновые значения (без инъекций)<br>N*=3000 | Контроль<br>N=1500     | Опыт<br>N=1500         |
| <b>19% обеспеченность эссенциальными веществами</b> |  |                        |                        |
| M±m   | 1,58±0,42                                  | 5,97±1,01 <sup>1</sup> | 7,36±0,51              |
| Min-Max   | 0,20-6,79                                  | 1,80-7,59              | 6,22-8,66              |
| <b>30% обеспеченность эссенциальными веществами</b> |  |                        |                        |
| M±m   | 1,67±0,52                                  | 2,26±0,93              | 4,48±0,40 <sup>2</sup> |
| Min-Max   | 0,08-5,81                                  | 0,79-4,82              | 3,44-5,60              |
| <b>75% обеспеченность эссенциальными веществами</b> |  |                        |                        |
| M±m   | 2,01±0,32                                  | 2,04±0,97              | 4,68±0,65 <sup>2</sup> |
| Min-Max   | 0,39-3,58                                  | 0,35-5,60              | 3,26-6,86              |

<sup>1</sup> отличия от соответствующих фоновых значений достоверны при  $p < 0,05$

<sup>2</sup> отличия от соответствующих контрольных значений достоверны при  $p < 0,05$

N\*- количество исследованных клеток

Анализ данных выявил, что активность апоптоза во всех контрольных группах была выше фоновых значений: различия между группами K-75 и  $\Phi-75$ , K-30 и  $\Phi-30$ , K-19 и  $\Phi-19$  составляли 2% ( $p > 0,05$ ), 35% ( $p > 0,05$ ) и 277% ( $p < 0,05$ ), соответственно. При сравнении опытных групп с соответствующими им контрольными группами было отмечено, что в группе O-75 активность апоптоза была на 129% ( $p < 0,05$ ) выше, чем в группе K-75, в группах O-30 и O-19 – на 98% ( $p < 0,05$ ) и 23% ( $p > 0,05$ ) выше, чем в группах K-30 и K-19, соответственно.

Как видно из представленных данных, в условиях отсутствия стрессорной и токсической нагрузки активность апоптоза у крыс, получавших рационы с понижающимся содержанием витаминов B1, B2, B3 и B6 и минеральных веществ ( $Fe^{3+}$  и  $Mg^{2+}$ ), демонстрировала некоторое снижение. Вероятно, это обусловлено гиперэкспрессией генов антиапоптозных белков семейства Bcl-2, которую инициирует дефицит витаминов [221; 386].

Результаты сравнения контрольных групп с фоновыми значениями активности апоптоза, различавшихся только наличием/отсутствием внутрибрюшинных инъекций, позволяют предположить, что причиной активации апоптоза у животных всех контрольных групп являлся стресс, действие которого включает как нервные, так и гуморальные механизмы регуляции. В результате активации стресс-системы, нервные импульсы вызывают деполяризацию клеточной мембраны, открывают потенциал-зависимые кальциевые каналы и внеклеточный  $Ca^{2+}$  поступает в клетку. В цитоплазме  $Ca^{2+}$  соединяется с внутриклеточным рецептором кальмодулином, активируя кальмодулин-зависимую протеинкиназу, которая активирует

мобилизацию гликолиза, ингибирование ресинтеза гликогена, увеличение расхода АТФ и потребление кислорода, что обеспечивает адаптацию организма к стрессу [3; 79; 94; 386].

В связи с тем, что  $Mg^{2+}$  является естественным физиологическим антагонистом ионов кальция, дефицит магния в рационе приводит к изменению внутриклеточного соотношения  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$  и преобладанию  $Ca^{2+}$ , вследствие чего происходит активация  $Ca^{2+}$ -чувствительных протеаз и липаз, приводящих к повреждению мембран. Формирование дефицита  $Mg^{2+}$  у крыс подтверждено результатами биохимических исследований: его содержание в сыворотке крови животных контрольных и опытных групп было ниже нижней границы нормы на ~ 25%, 15% и 8% в условиях 19-, 30- и 75%-ной обеспеченности, соответственно. Принимая во внимание, что по уровню стрессорного воздействия группы не различались между собой, усиление активности апоптоза на фоне снижения обеспеченности эссенциальными веществами можно объяснить именно усиливающимся смещением равновесия  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$  [386].

Эту гипотезу подтверждает снижение активности апоптоза в ряду К-19→К-30→К-75, тогда как в «фоновых» группах тенденция была прямо противоположной, что позволяет предположить преобладающее влияние стресса и дисбаланса микроэлементов над действием антиапоптозных белков Bcl-2. Повышение активности апоптоза на фоне стресса и снижения обеспеченности эссенциальными веществами может быть также обусловлено общим снижением адаптационного потенциала, ведущему, в том числе, к усилению процессов свободнорадикального окисления липидов, что в итоге также способствует активации процессов апоптоза [103; 371; 386].

Усиление апоптоза у крыс опытных групп в условиях интоксикации  $CCl_4$  можно объяснить особенностями метаболизма этого токсиканта: являясь липофильным гепатотропным соединением, он аккумулируется в печени, вызывая жировую дегенерацию и центролобулярный некроз. Механизм повреждающего действия  $CCl_4$  связывают с развитием окислительного стресса, в тяжелых случаях приводящего к разрушению внутриклеточных мембран митохондрий, лизосом, с высвобождением гидролитических ферментов лизосом, денатурации белков и гибели клетки [237; 251; 342]. Следует отметить, что воздействие  $CCl_4$  повышало активность процессов апоптоза, однако степень выраженности различий между опытными и соответствующими контрольными снижалась в ряду 75%→30%→19%, это может свидетельствовать о лимитированности максимального уровня апоптоза в организме. Действительно, регуляция процессов программируемой клеточной гибели настолько сложна, многоэтапна и требует значительных энергетических затрат, что в условиях слишком сильных воздействий организму может быть выгоднее активировать механизмы некроза для избавления от поврежденных клеток [271; 292; 386].

Анализ полученных результатов позволяет сделать следующие выводы: во-первых, показатели активности апоптоза целесообразно использовать в токсикологических экспериментах с оптимальной обеспеченностью животных витаминами и минеральными веществами, поскольку в проведенном исследовании более выраженные отличия от контроля демонстрировала группа с максимальным (75%) содержанием эссенциальных веществ. Во-вторых, стресс, вызванный регулярными внутрибрюшинными инъекциями, усиливал апоптоз в печени, причем более выраженное усиление отмечалось у крыс с алиментарным дефицитом эссенциальных веществ. В данном случае одним из основных механизмов активации апоптоза можно считать возрастающий дисбаланс  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  и нарушение регуляции реакций биологического окисления, способствующее повышенному образованию свободных радикалов [126; 342]. Показатели активности апоптоза нецелесообразно использовать в экспериментах, предполагающих воздействие стресса, поскольку результаты могут быть завышены [386].

Таким образом, условия применения показателей активности апоптоза в качестве биомаркеров должны быть скорректированы с учетом дизайна эксперимента, характера питания животных, количества действующего вещества и метода введения токсиканта. Использование данного показателя целесообразно сочетать с изучением активности ферментов метаболизма ксенобиотиков, ферментов лизосом, ферментов антиоксидантной системы, а также процессов перекисного окисления липидов [386].

## **5.6 Разработка системы оценки безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения**

### **5.6.1 Система оценки безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения с изменением одного признака**

Основной целью проведенных исследований являлся поиск методических подходов, экспериментальных моделей и биомаркеров для расширения возможностей выявления потенциальных неблагоприятных эффектов ГМО и гарантирующих безопасность такой продукции как для нынешнего, так и для последующих поколений.

Создание новой расширенной системы оценки безопасности в первую очередь потребовало проведения ряда "технических" по форме, но необходимых исследований, касающихся стандартизации составов экспериментальных рационов и определения диапазонов физиологических значений показателей, изучаемых в токсикологических экспериментах. В рамках решения этих задач были разработаны оптимизированные полусинтетические рационы, рекомендованные для использования в исследованиях *in vivo* как наиболее современные, гармонизированные с международными подходами и соответствующие физиологическим потребностям крыс [74]. Дальнейшая работа с новым рационом позволила скорректировать состав солевой смеси в части содержания солей лития, влиявших на фертильность животных, и предложить новую формулу, оптимальную для экспериментов по изучению репродуктивной функции.

Также представлялось важным определение диапазонов физиологических значений параметров, изучение которых производится в рамках токсикологических и репротоксикологических экспериментов *in vivo*. Были проанализированы значения 101 показателя (биохимия сыворотки крови, активность ферментов антиоксидантной защиты и содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови и печени, массы внутренних органов самцов и беременных самок, пренатальное развитие потомства, зоометрические показатели плодов на 20-й день пренатального развития, динамика массы тела и роста крысят 1-го месяца жизни). После статистической обработки, систематизации и анализа всего массива значений, полученных более чем от 7100 крыс разного возраста и пола, были проведены расчеты частоты встречаемости каждого из значений рассматриваемых признаков, визуализированные с помощью гистограмм, и сформирована база данных, результаты которой использованы в дальнейшей работе, позволяя повысить объективность анализа и интерпретации результатов исследований в рамках токсиколого-гигиенической оценки безопасности ГМО.

Следующим этапом работы являлось формирование нового расширенного перечня показателей, определяемых в рамках токсикологических исследований. Как представлено на рисунке 55, для характеристики клинического состояния животных предложены параметры, традиционно применяющиеся в токсикологических экспериментах, а именно:

- гематологические, отражающие структуру и соотношение форменных элементов эритроцитарного, тромбоцитарного и лейкоцитарного звеньев, гематокрит и тромбокрит, содержание гемоглобина, эритроцитарные индексы, характеризующие состояние циркулирующей крови и кроветворной системы;
- биохимические исследования крови и мочи, характеризующие обменную, защитную, эндокринную и синтетическую функцию печени, экскреторную и регуляторную функцию почек, а также белковый, жировой и углеводный обмены, электролитный баланс;
- морфологические (расширен список внутренних органов, изучаемых и измеряемых как во время некропсии, так и позднее при выполнении гистологических исследований).



Рисунок 55 – Характеристика блока токсикологических исследований

Особое внимание было уделено выбору так называемых системных биомаркеров, характеризующих функциональное состояние адаптационных и защитных систем организма: были уточнены списки ферментов 1 и 2 фазы биотрансформации ксенобиотиков, а также системы антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов. Одним из важных преимуществ использования расширенного перечня показателей является возможность комплексной оценки

данных, что повышает диагностическую ценность исследований и позволяет нивелировать случайные единичные колебания, связанные с неоднородностью выборки.

Перспектива изучения активности апоптоза в качестве биомаркера токсической нагрузки на организм изучалась нами на протяжении нескольких лет [71] и была подтверждена результатами экспериментов, проведенных в условиях моделированных токсических воздействий *in vivo* [67; 386; 387]. На основании полученных данных об активности процессов апоптоза в разные периоды онтогенетического развития крыс, а также о влиянии на апоптоз токсических факторов (солей кадмия, четыреххлористого углерода) в условиях снижающейся обеспеченности рационов витаминами группы В, солями железа и магния, были определены оптимальные сроки и условия для оценки активности апоптоза. Показатели, характеризующие активность апоптоза, были включены в перечень системных биомаркеров, изучаемых в рамках токсикологических исследований ГМО (рисунок 55).

В оценке безопасности ГМО, безусловно, центральное место должны занимать исследования, доказывающие отсутствие отдаленных негативных последствий, которые могут проявиться только в следующем поколении. Именно поэтому характеристика репродуктивной функции и развития потомства представляется критически значимой.

В нескольких сериях экспериментов было проведено детальное изучение репродуктивной функции в поколениях, что позволило определить наиболее чувствительные показатели, реагирующие на токсические воздействия, оценить влияние фактора сезонности на репродуктивную функцию крыс, пре- и постнатальное развитие потомства. Были рассмотрены стадии онтогенеза, характеризующиеся существенными физиологическими особенностями и типом питания: 20-й день пренатального развития относится к периоду завершения внутриутробного развития и плацентарным питанием; 2-15 дни жизни – к периоду новорожденности и грудного вскармливания, 20-25-й дни жизни – переход на смешанное кормление, после 25-го дня – переход на общевиварный рацион. Следует отметить, все этапы развития потомства сопровождалось контактом с ГМО через плацентарное питание, молоко матери или корм. Результаты комплексного анализа накопленных данных послужили обоснованием необходимости изучения репродуктивной функции и развития потомства при оценке безопасности ГМО, выбраны наиболее значимые и репрезентативные показатели (рисунки 56-57).

По результатам проведенных поисковых исследований сформирован протокол комплексного токсиколого-гигиенического эксперимента на двух поколениях крыс, объединяющего изучение репродуктивной функции крыс поколения  $F_0$ , пре- и постнатальное развитие потомства поколения  $F_1$ , а также расширенные токсикологические исследования на крысах поколения  $F_0$  и аллергологические исследования на крысах поколения  $F_1$  (рисунок 58). Новый подход предусматривает изучение влияния ГМО на два поколения животных обоого

пола, при этом суммарная продолжительность эксперимента с учетом проведения подготовительной стадии, необходимой для получения стандартизованных животных, и аллергологических исследований на крысах поколения F1, в соответствии с предложенным нами протоколом пролонгируется до ~ 330-360 дней. Общий перечень изучаемых показателей расширился с 63 до 152, что значительно повышает информативность проводимых исследований, обеспечивая гарантии безопасности новых ГМО.



Рисунок 56 – Характеристика репродуктивной функции

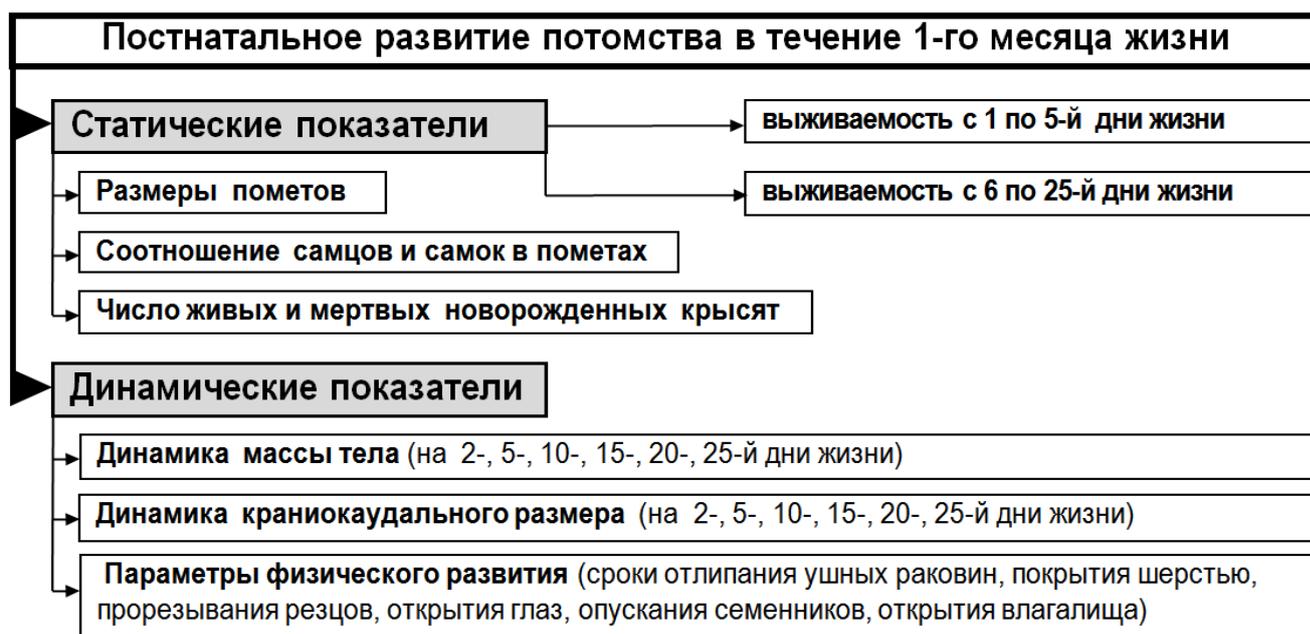


Рисунок 57 – Характеристика постнатального развития потомства



Рисунок 58 – Объединенные токсиколого-гигиенические исследования ГМО, включающие изучение репродуктивной токсичности, токсичности и аллергенности в эксперименте на двух поколениях крыс

Следует отметить, что подготовительная стадия предназначена для выведения животных (поколение  $F_0$ ), оптимально стандартизованных для целей данного исследования – в данном случае стандартизация животных подразумевает выбор самок и самцов из помётов со сходной численностью и выживаемостью потомства [13]. Введение данной стадии в эксперимент обусловлено отмеченной нами корреляцией между характеристиками репродуктивной функции у материнских и дочерних животных, особенно это проявлялось в отношении численности помётов, количества мертворожденных крысят и выживаемости потомства в течение 1-го месяца жизни. У самцов подобной взаимосвязи выявлено не было. Поскольку при получении животных из питомника невозможно отследить их родителей, и при формировании групп по принципу случайной выборки существует высокая вероятность попадания нестандартизованных самок в одну группу, что в дальнейшем может повлиять на получаемые результаты, выведение животных в условиях вивария ФГБУН "ФИЦ питания и биотехнологии" и отбор для исследований самок  $F_0$  из помётов численностью не менее 10-12 крысят позволяет исключить влияние данного фактора. В исследовании предусмотрено использование контрольной и опытной групп, получающих с рационом традиционный аналог исследуемого ГМО и, соответственно, исследуемый ГМО в максимально возможных количествах, не нарушающих баланса пищевых веществ, на протяжении всего периода

исследований. На основании анализа результатов предварительных исследований было установлено, что численность каждой группы в начале эксперимента должна составлять не менее 80 особей (55 самок и 25 самцов), 32 самки используются для получения потомства, предназначенного для изучения постнатального развития, 23 – для получения не менее 12-15 беременных самок, используемых для изучения потомства на 20-й день внутриутробного (пренатального) развития. При невозможности проведения подготовительного этапа количество животных, используемых при изучении репродуктивной функции, должно быть увеличено не менее чем в 2 раза.

Для изучения пренатального развития потомства нами была разработана упрощенная процедура определения беременности самок по динамике массы тела в течение 20 дней после ссаживания с самцом. Суть процедуры сводится к ссаживанию самца с двумя самками на 24 часа после чего самок отсаживают в отдельную клетку предварительно измерив их массу тела. Последующие взвешивания проводят с интервалом 5 дней. В случае наступления беременности самка за 12-14 дней после спаривания прибавляет порядка 50 г, к 20-му дню прибавка составляет в среднем 100 г, что легко отследить и отобрать беременных животных для сбора материала. Использование такой процедуры позволяет исключить проведение ежедневных исследований вагинальных смывов, полученных от ссаженных с самцами самок, целью которых является обнаружение сперматозоидов и определение даты начала беременности.

Сроки отбора материала для общетоксикологических исследований в новом дизайне эксперимента были также изменены: вместо двух точек отбора материала на 30-й и 180-й дни используется одна (~100-110-й дни). Поскольку 30-й день эксперимента соответствовал примерно 60-му дню жизни крыс, характеризующемуся нестабильным гормональным фоном вследствие полового созревания, интерпретация результатов, полученных на этом сроке эксперимента, была затруднена. Использование только одной точки отбора материала ни в коей мере не снижает объективность получаемой информации, поскольку перечень физиолого-биохимических показателей, определяемых в рамках общетоксикологических исследований, был значительно расширен.

Отдельный блок исследований был направлен на разработку так называемых "нагрузочных" проб, позволяющих отличить физиологическую адаптацию от компенсированного скрытого патологического процесса и выявить влияние малотоксичных объектов. Моделирование дополнительной нагрузки, снижающей адаптационный потенциал, и, соответственно, исключаяющей возможность псевдоадаптации, является перспективным инструментом повышения диагностической достоверности результатов эксперимента [70; 72]. Поскольку одним из наиболее простых и эффективных способов снижения адаптационного потенциала организма

лабораторных животных является модификация состава рациона, было проведено несколько серий исследований, результатом которых явилось создание и доказательство эффективности модели, повышающей восприимчивость организма к действию токсических факторов за счет снижения обеспеченности витаминами группы В (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub>) и минеральных веществ (Fe<sup>3+</sup> и Mg<sup>2+</sup>) [70; 72]. С учетом степени риска развития патологии были установлены три дозировки эссенциальных веществ, с определенной степенью условности обозначенные как "оптимальная", "маргинальная" и "субмаргинальная", обеспечивающие последовательное снижение адаптационного потенциала у лабораторных животных: 75, 30 и 19% для самцов, и 75, 28 и 18% для самок, соответственно. Предложенная модификация витаминно-минерального состава рационов была рекомендована для использования в качестве модели повышения чувствительности крыс к токсическим факторам при изучении малотоксичных объектов, в частности, новых видов пищевой продукции [70].

Разработанный подход к оценке безопасности ГМО был оформлен в виде методических указаний МУ 2.3.2.2306-07 [27], утвержденных в установленном порядке, и использован при медико-биологической оценке новых видов ГМ пищевой продукции, проходящих государственную регистрацию в странах ЕАЭС.

Некоторые результаты изучения ГМ линий сои и кукурузы, полученные в экспериментах за период 2010-2019 гг., представлены в главах 5.7.1 и 5.7.2.

### **5.6.2 Система оценки безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения с комбинированными признаками**

Значительно более сложной задачей представлялось формирование порядка оценки безопасности ГМО с комбинированными признаками. Растения, геном которых был изменен посредством "трансформационного" метода, основанного на включении нового гена (генов) в геном уже существующего и зарегистрированного ранее ГМО с помощью генной инженерии; а также растения, геном которых был изменен посредством "молекулярного" метода, основанного на использовании в процессе трансформации генома растения-донора вектора (векторов), несущих несколько целевых генов, во всех юрисдикциях рассматриваются как новые ГМО и подлежат регистрационным испытаниям в полном объеме. Растения, полученные посредством "гибридизационного" метода, основанного на получении гибрида двух (и более) уже существующих ГМО с помощью традиционной селекции, в разных юрисдикциях рассматриваются по-разному в диапазоне от "продукта обычной селекции", не требующего дополнительных исследований при регистрации, до "продукта генной инженерии", требующего проведения полномасштабных испытаний.

При разработке подходов к оценке безопасности ГМО с комбинированными признаками, полученными помощью метода гибридизации, мы исходили из двух предпосылок: во-первых – целесообразности требований (основаны на анализе мирового опыта, анализе подходов, существующих в других странах, анализе российских подходов к оценке безопасности ГМО, накопленной научной базе); во-вторых – возможности обеспечения выполнения этих требований (поскольку идентификация ГМО, полученных гибридизационным методом, может быть проведена только на основании экспертизы документации, так как результаты ПЦР-анализа таких ГМО указывают только на присутствие в образце родительских ГМ линий, как если бы образец содержал их смесь, у производителя всегда остается альтернативный путь регистрации отдельных линий, а не комбинированного события). ГМ сои линий MON87701×MON89788 и MON87751×MON87701×MON87708×MON89788 в настоящее время являются примерами ГМО с комбинированными признаками, которые могут быть однозначно определены методом ПЦР, это происходит за счет того, что линия MON87701 в коммерческом обращении существует лишь в комбинации с другими линиями (MON87751, MON87708, MON89788).

Очевидно, что при установлении максимально жестких требований к подтверждению безопасности ГМО с комбинированными признаками, родительские линии которых уже прошли весь комплекс исследований и зарегистрированы на территории Евразийского Экономического Союза, большинство таких ГМО останутся вне регулирования.

Целью работы была установка требований к проведению оценки безопасности ГМО с комбинированными признаками, применяемых на этапе государственной регистрации ГМО, впервые поступающих на продовольственный рынок Российской Федерации, и обеспечение единой, научно-обоснованной системы оценки безопасности таких ГМО, учитывающей новые методические подходы, как используемые в России, так и рекомендованные международными организациями [48].

Были определены перечень и объем исследований при оценке безопасности ГМО с комбинированными признаками с учетом метода получения ГМО (трансформационный метод, молекулярный метод, гибридизационный метод) и наличия государственной регистрации исходных ГМ-линий на территории ЕАЭС – для ГМО, полученных гибридизационным методом (рисунок 59) [48].

В случае если ГМО с комбинированными признаками получен трансформационным или молекулярным методами, оценка его безопасности должна включать экспертный анализ данных, представленных заявителем, содержащих сравнение химического состава ГМО и его традиционного аналога (композиционная эквивалентность), результаты токсикологических, аллергологических и других исследований, результаты пострегистрационного мониторинга в

стране-заявителе и других странах; экспертную оценку методов обнаружения, идентификации и количественного определения ГМО; медико-генетическую, медико-биологическую оценки ГМО; оценку функционально-технологических свойств ГМО [48]. Если ГМО с комбинированными



Рисунок 59 – Порядок исследований ГМО с комбинированными признаками

признаками получен гибридным методом, и исходные ГМ-линии имеют свидетельства о государственной регистрации на территории ЕАЭС, то оценка его безопасности должна включать экспертный анализ данных, представленных заявителем, или представленных на этапе регистрации исходных ГМ-линий, включающих [48]: сравнение химического состава исходных ГМ-линий с химическим составом их традиционных аналогов (композиционная эквивалентность); результаты токсикологических, аллергологических и других исследований, результаты пострегистрационного мониторинга, осуществляемого в странах, где ГМО с комбинированными признаками был зарегистрирован ранее, в случае если в процессе мониторинга были получены данные о незадаваемых эффектах генетической модификации; экспертная оценка методов обнаружения, идентификации и количественного определения ГМО; подтверждение соответствия показателей качества и безопасности ГМО (содержание

токсичных элементов, микотоксинов, радионуклидов, пестицидов и др.) требованиям Технических регламентов Таможенного Союза (ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», и/или соответствующих Технических регламентов, устанавливающих обязательные требования к отдельным видам пищевой продукции) [48].

Следует принимать во внимание, что регистрация ГМО с комбинированными признаками, полученного методом гибридизации трех и более линий, уже зарегистрированных на территории ЕАЭС, означает регистрацию и всех возможных комбинаций этих линий, сформировавшихся в результате генетической сегрегации (расщепления признаков в поколениях  $F_1$  и выше, в соответствии с законами Менделя). В случае если ГМО с комбинированными признаками получен гибридизационным методом и одна или несколько исходных ГМ-линий не имеют свидетельства о государственной регистрации на территории ЕАЭС, оценка безопасности такого ГМО должна быть выполнена в полном объеме [48].

Разработанный подход к оценке безопасности ГМО с комбинированными признаками был оформлен в виде методических указаний МУ 2.3.2.3388-16 [28], утвержденных в установленном порядке, и использован при проведении исследований ГМ сои линии MON87701×MON89788.

Объектом исследований являлась ГМ соя с комбинированными признаками линии MON87701×MON89788, устойчивая чешуекрылым насекомым-вредителям и к глифосату, полученная методом гибридизации двух исходных ГМ линий [48]. Родительские линии ГМ сои (линия MON89788 и линия MON87701), использованные для получения данного ГМО, ранее прошли медико-биологическую оценку безопасности и разрешены для использования в пищевой промышленности и для реализации населению на территории ЕАЭС (свидетельство о государственной регистрации линии MON89788, устойчивой к глифосату: RU.77.99.26.011.E.022757.06.11 от 29.06.2011 г.; свидетельство о государственной регистрации линии MON87701, устойчивой к чешуекрылым насекомым-вредителям: RU.77.99.88.011.E.003744.05.13 от 20.05.2013 г.) [48].

Устойчивость к вредителям обусловлена наличием кассеты экспрессии гена *cryIAc*, на основе которого синтезируется белок CryIAc, обладающий инсектицидными свойствами. Стойкая экспрессия *cry* генов в растениях сои обеспечена за счет использования синтетических аналогов *cry* генов, в которых природные кодоны заменены на оптимизированные для растений [102; 180]. Для получения ГМ сои линии MON87701 был использован частично модифицированный ген  $\delta$ -эндотоксина (Cry-белка) *CryIAc*, выделенный из *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* [48].

Широкое использование сельскохозяйственных инсектицидов на основе белков, синтезируемых *B. thuringiensis*, было начато в 1960 году [54], в настоящее время  $\delta$ -эндотоксины имеют длительную историю безопасного применения. Инсектицидное действие Cry-белков, образующихся в процессе споруляции *B. thuringiensis*, основано на специфическом связывании с рецепторами кишечного эпителия насекомого, что приводит к нарушению осмотического равновесия, набуханию и лизису клеток [48; 119]. Cry-белки синтезируются в бактериальной клетке в виде протоксинов, при попадании в кишечник насекомого процессируются, превращаясь в активный белок, токсичный для насекомых отрядов чешуекрылых, двукрылых, жесткокрылых. Для теплокровных животных и человека  $\delta$ -эндотоксин безвреден [48; 180; 368].

Устойчивость к глифосату обусловлена наличием кассеты экспрессии гена *CS-cp4 epsps*, на основе которого синтезируется фермент 5-енолпирувилшикимат-3-фосфат-синтаза нечувствительный к ингибированию данным гербицидом. Глифосат (N-(фосфонометил)глицина изопропиламмониевая соль) является неселективным гербицидом, механизм действия которого основан на блокировании синтеза шикимовой кислоты, относящейся к незаменимым ароматическим органическим кислотам [48]. Мишень действия глифосата – 5-енолпирувилшикимат-3-фосфат-синтаза (КФ 2.5.1.19) катализирует процесс синтеза 5-енолпирувилшикимат-3-фосфата из фосфоенолпирувата и шикимат-3-фосфата. Описанный путь метаболизма шикимовой кислоты характерен для растений, водорослей, бактерий, грибов и простейших одноклеточных; у других живых форм, включая насекомых, рептилий, рыб, птиц, млекопитающих и человека, такого метаболического пути нет [48; 184; 185].

Для получения ГМ сои с комбинированными признаками линии MON87701×MON89788 были использованы методы традиционной селекции, дополнительные генетические модификации не проводились. Стабильность вставок кассет экспрессии новых генов, присутствующих в геноме сои MON87701×MON89788 подтверждена результатами Саузерн-блот анализа [48; 356].

В соответствии с требованиями МУ 2.3.2.3388-16 медико-биологическая оценка безопасности ГМ линии MON87701×MON89788 включала:

- экспертный анализ и оценку данных, представленных (полученных) на этапе регистрации исходных ГМ-линий сои – линии MON87701, устойчивой к чешуекрылым насекомым-вредителям, и линии MON89788, устойчивой к глифосату;
- анализ данных о ГМ сое линии MON87701×MON89788, представленных в мировой литературе за весь период ее использования;
- экспертную оценку документации, содержащей сведения об объекте исследований, представленной заявителем.

- гигиенические исследования образцов ГМ сои линии MON87701×MON89788 и подтверждение отсутствия синтетических генетических конструкций, свойственных трансформационным событиям MON87701 и MON89788 [48].

Одним из важнейших этапов оценки безопасности являлся анализ информация о регистрации и разрешении использования ГМ сои линий MON89788, MON87701 и MON87701×MON89788 в питании населения стран мирового сообщества (таблица 99) [48; 217; 380].

Таблица 99 – Разрешения для использования линий ГМ сои MON89788, MON87701 и MON87701 × MON89788 в питании стран мирового сообщества [48]

| Страна           | ГМ соя MON89788           |                  | ГМ соя MON87701           |                  | MON87701×MON89788            |                      |
|------------------|---------------------------|------------------|---------------------------|------------------|------------------------------|----------------------|
|                  | Область применения        | Дата регистрации | Область применения        | Дата регистрации | Область применения           | Дата регистрации     |
| Австралия        | пища                      | 2008             | -                         | -                | -                            | -                    |
| Аргентина        | пища/корма                | 2016             | пища/корма<br>выращивание | 2016             | пища/корма<br>выращивание    | 2012<br>2012         |
| Бразилия         | -                         | -                | -                         | -                | пища/корма<br>выращивание    | 2010<br>2010         |
| Вьетнам          | пища/корма                | 2014             | пища/корма                | 2015             | -                            | -                    |
| Европейский Союз | пища/корма                | 2008             | пища/корма                | 2012             | пища/корма                   | 2012                 |
| Индия            | пища/корма                | 2010             | -                         | -                | пища/корма                   | 2014                 |
| Индонезия        | пища                      | 2011             | пища                      | 2015             | -                            | -                    |
| Иран             | пища                      | 2016             | пища                      | 2016             | пища                         | 2016                 |
| Канада           | пища/корма<br>выращивание | 2007<br>2007     | пища/корма<br>выращивание | 2010<br>2010     | Разрешение не требуется      |                      |
| Китай            | пища/корма                | 2011             | пища/корма                | 2013             | пища/корма                   | 2013                 |
| Колумбия         | пища/корма                | 2010             | -                         | -                | пища<br>корма                | 2012<br>2011         |
| Коста-Рика       | выращивание               | 2008             | -                         | -                | -                            | -                    |
| Малайзия         | пища/корма                | 2012             | -                         | -                | -                            | -                    |
| Мексика          | пища                      | 2008             | пища                      | 2010             | пища                         | 2011                 |
| Нигерия          | пища/корма                | 2018             | пища/корма                | 2019             | -                            | -                    |
| Новая Зеландия   | пища                      | 2008             | -                         | -                | -                            | -                    |
| Парагвай         | -                         | -                | -                         | -                | пища<br>выращивание          | 2013<br>2013         |
| Россия           | пища/корма                | 2010             | пища/корма                | 2013             | пища<br>корма                | 2016<br>2018         |
| Сингапур         | пища/корма                | 2014             | пища/корма                | 2016             | -                            | -                    |
| США              | пища/корма<br>выращивание | 2007<br>2007     | пища/корма<br>выращивание | 2010<br>2011     | Разрешение не требуется      |                      |
| Тайвань          | пища                      | 2007             | пища                      | 2011             | пища                         | 2012                 |
| Тайланд          | пища                      | 2013             | пища                      | 2013             | -                            | -                    |
| Турция           | корма                     | 2011             | корма                     | 2015             | корма                        | 2015                 |
| Уругвай          | выращивание               | 2009             | -                         | -                | пища<br>корма<br>выращивание | 2012<br>2012<br>2012 |
| Филиппины        | пища/корма                | 2007             | пища/корма                | 2012             | пища/корма                   | 2014                 |
| ЮАР              | пища/корма                | 2013             | -                         | -                | пища/корма                   | 2013                 |
| Южная Корея      | пища/корма                | 2009             | -                         | -                | пища/корма                   | 2012                 |
| Япония           | пища/корма<br>выращивание | 2007<br>2008     | пища/корма                | 2011             | пища/корма                   | 2011                 |

За весь период использования не было выявлено неблагоприятного воздействия ГМ сои линии MON89788, устойчивой к глифосату, линии MON87701, устойчивой к чешуекрылым насекомым-вредителям, и линии MON87701×MON89788, устойчивой к чешуекрылым насекомым-вредителям и к глифосату, на здоровье человека или животных [48].

Согласно заключению Европейского агентства по безопасности пищевых продуктов (European Food Safety Authority, EFSA), ГМ соя с комбинированными признаками MON87701×MON89788 является настолько же безопасной, как и ее традиционный аналог A5547 [48; 356].

На основании экспертного анализа и оценки данных, представленных (полученных) на этапе регистрации исходных ГМ линий сои – линии MON87701, устойчивой к чешуекрылым насекомым-вредителям, и линии MON89788, устойчивой к глифосату, подтверждено отсутствие у этих линий сои токсического, генотоксического, и аллергенного действия, а также композиционная эквивалентность их традиционным аналогам. Анализ научных данных и документации об объекте исследований – ГМ сое линии MON87701×MON89788, устойчивой к чешуекрылым насекомым-вредителям и к глифосату, представленных заявителем, свидетельствует о том, что линия MON87701×MON89788 получена методом гибридизации двух исходных ГМ линий и не подвергалась дополнительным генетическим модификациям. Отсутствуют данные о каких-либо негативных воздействиях ГМ сои линии MON87701×MON89788 на животных и человека, а также данные о незадаанных эффектах генетической модификации, полученные, в том числе, в процессе пострегистрационного мониторинга, осуществляемого в странах, где исследуемая линия была зарегистрирована ранее [48].

Параллельно, для подтверждения правильности предложенного подхода, были проведены исследования по оценке токсического, генотоксического и аллергенного действия сои линии MON87701×MON89788 (результаты представлены в главе 5.7.3), не выявившие какого-либо токсического, генотоксического и аллергенного действия этой линии ГМ сои по сравнению с ее традиционным аналогом.

Результаты проведенных исследований подтвердили безопасность данной линии сои для нынешнего последующих поколений, а также правильность предложенного нами подхода к исследованиям ГМО с комбинированными признаками, и послужили основанием для государственной регистрации ГМ сои линии MON87701×MON89788 и разрешения ее использования в пищевой промышленности и для реализации населению на территории ЕАЭС.

Таким образом, на основании анализа отечественного и международного опыта были разработаны требования к оценке безопасности ГМО с комбинированными признаками,

соответствующие принципам регулирования использования ГМО для пищевых целей [48]. Предложенный подход создает для производителей условия, максимально благоприятствующие выходу в правовое поле и обеспечивающие возможность регулирования обращения ГМО с комбинированными признаками, полученными методом гибридизации. Разумеется, такой подход возможен только для ГМО, родительские линии которых всесторонне изучены и разрешены для использования в питании населения. Сложность проблемы регулирования ГМО требует максимального взаимодействия контролирующих органов и производителей, создания открытой и прозрачной системы, которая позволит реализовать требования Федерального закона N 358-ФЗ от 03.07.2016 г. и поручения Президента Российской Федерации №Пр-1178 от 22.06.2016 г. по обеспечению мониторинга воздействия ГМО на человека и окружающую среду.

## 5.7 Использование новой системы для оценки безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения

Строго в соответствии с разработанной системой была проведена оценка безопасности 10 линий ГМО в рамках процедуры их государственной регистрации: 5 линии сои – MON87701×MON89788, SYHT0H2, FG72, MON87708, MON87701, 5 линий кукурузы – 5307, MON89034, 1507, MZHG0JG, DAS-40278-9.

Принимая во внимание требования конфиденциальности со стороны разработчиков ГМ линий, а также учитывая отсутствие каких-либо выраженных изменений изученных показателей между индивидуальными линиями, мы представили данные в виде обобщенных результатов, полученных при изучении ГМ сои (Глава 5.7.1) и ГМ кукурузы (Глава 5.7.2).

### 5.7.1 Результаты токсиколого-гигиенической оценки сои линий FG72, MON87701, SYHT0H2, MON87708

#### 5.7.1.1 Токсикологические исследования

Токсикологические исследования (дизайн эксперимента представлен на рисунке 58) проведены на крысах поколений F<sub>0</sub> (самках и самцах) и F<sub>1</sub> (плоды и крысята). В таблице 100 представлен состав и количество животных в экспериментальных группах.

Таблица 100 – Состав экспериментальных групп и количество животных

| Группа       | Животные F <sub>0</sub> | Потомство F <sub>1</sub> |         | Всего |      |
|--------------|-------------------------|--------------------------|---------|-------|------|
|              |                         | Плоды                    | Крысята |       |      |
| Соя SYHT0H2  | контроль                | 52♀+26♂                  | 139     | 214   | 923  |
|              | опыт                    | 52♀+26♂                  | 135     | 279   |      |
| Соя FG72     | контроль                | 52♀+25♂                  | 139     | 196   | 884  |
|              | опыт                    | 52♀+25♂                  | 146     | 249   |      |
| Соя MON87701 | контроль                | 60♀+32♂                  | 223     | 330   | 1336 |
|              | опыт                    | 60♀+32♂                  | 195     | 404   |      |
| Соя MON87708 | контроль                | 60♀+25♂                  | 184     | 277   | 1086 |
|              | опыт                    | 60♀+26♂                  | 181     | 273   |      |

Общее состояние крыс родительских поколений F<sub>0</sub> было удовлетворительным: по внешнему виду, качеству шерстного покрова, поведению и скорости роста самки и самцы опытных групп не отличались от животных контрольных групп. Еженедельный прирост массы тела крыс контрольных и опытных групп в возрасте 30-130 дней (таблица 101) соответствовал уровню прироста, характерному для крыс линии Вистар [209; 210; 307; 321]. Поедаемость корма самками всех групп составляла 17-19 г/крысу/сут. – в начале экспериментов и 23-25 г/крысу/сут. – в период беременности; поедаемость корма самцами составляла 20-22 г/крысу/сут. на протяжении всех экспериментов [57; 61; 82; 385].

Таблица 101 – Динамика массы тела крыс F<sub>0</sub>

| Срок эксперимента, дни |         | Масса тела самок, г         |                         | Масса тела самцов, г        |                         |
|------------------------|---------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------|
|                        |         | Контрольная группа<br>N=224 | Опытная группа<br>N=223 | Контрольная группа<br>N=108 | Опытная группа<br>N=107 |
| 0                      | M±m     | 87,9±1,0                    | 87,7±0,9                | 91,2±1,4                    | 90,8±1,4                |
|                        | Min-Max | 63,0-129,0                  | 56,0-128,0              | 61,0-132,0                  | 64,0-126,0              |
| 7                      | M±m     | 132,1±1,1                   | 131,8±1,1               | 142,9±2,1                   | 141,4±2,0               |
|                        | Min-Max | 79,0-184,0                  | 91,0-189,0              | 80,0-193,0                  | 97,0-193,0              |
| 14                     | M±m     | 166,9±1,4                   | 166,7±1,4               | 195,4±2,3                   | 192,7±2,4               |
|                        | Min-Max | 96,0-222,0                  | 93,0-224,0              | 121,0-244,0                 | 139,0-238,0             |
| 21                     | M±m     | 192,5±1,6                   | 193,0±1,6               | 240,9±2,5                   | 237,1±2,6               |
|                        | Min-Max | 112,0-248,0                 | 131,0-257,0             | 141,0-288,0                 | 168,0-297,0             |
| 28                     | M±m     | 210,5±1,7                   | 212,4±1,6               | 283,1±2,9                   | 279,3±3,1               |
|                        | Min-Max | 145,0-277,0                 | 143,0-273,0             | 181,0-344,0                 | 208,0-358,0             |
| 35                     | M±m     | 224,7±1,7                   | 226,5±1,8               | 314,76±3,0                  | 312,5±3,4               |
|                        | Min-Max | 155,0-281,0                 | 170,0-286,0             | 221,0-367,0                 | 229,0-397,0             |
| 42                     | M±m     | 238,4±1,8                   | 239,3±1,9               | 340,1±3,3                   | 339,4±3,8               |
|                        | Min-Max | 165,0-303,0                 | 174,0-300,0             | 231,0-405,0                 | 250,0-421,0             |
| 49                     | M±m     | 249,7±1,9                   | 248,2±2,0               | 367,4±3,4                   | 363,3±4,1               |
|                        | Min-Max | 169,0-313,0                 | 184,0-315,0             | 253,0-440,0                 | 268,0-466,0             |
| 56                     | M±m     | 258,6±2,0                   | 258,6±2,2               | 384,9±3,4                   | 381,7±4,2               |
|                        | Min-Max | 172,0-328,0                 | 191,0-339,0             | 297,0-468,0                 | 279,0-493,0             |
| 63                     | M±m     | 263,2±2,1                   | 263,6±2,2               | 394,2±3,1                   | 393,1±4,0               |
|                        | Min-Max | 175,0-337,0                 | 193,0-335,0             | 306,0-467,0                 | 286,0-490,0             |
| 70                     | M±m     | 273,4±2,2                   | 273,2±2,3               | 419,6±3,8                   | 416,7±4,9               |
|                        | Min-Max | 185,0-355,0                 | 200,0-356,0             | 313,0-513,0                 | 296,0-532,0             |
| 77                     | M±m     | 286,4±2,0                   | 285,8±2,0               | 431,9±4,6                   | 427,3±6,0               |
|                        | Min-Max | 231,0-361,0                 | 225,0-353,0             | 331,0-538,0                 | 305,0-550,0             |
| 84                     | M±m     | 295,1±2,1                   | 290,0±2,1               | 444,8±5,9                   | 433,9±9,5               |
|                        | Min-Max | 249,0-366,0                 | 237,0-354,0             | 334,0-546,0                 | 312,0-555,0             |
| 96                     | M±m     | 315,8±2,5                   | 313,7±2,6               | 462,6±7,1                   | 467,97±8,9              |
|                        | Min-Max | 251,0-380,0                 | 243,0-379,0             | 344,0-558,0                 | 320,0-573,0             |
| 104                    | M±m     | -                           | -                       | 478,7±7,8                   | 497,0±7,1               |
|                        | Min-Max | -                           | -                       | 354,0-612,0                 | 429,0-622,0             |

Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Эффективность спаривания (таблица 102) самок контрольных и опытных групп соответствовала ожидаемой при данных условиях экспериментов и составляла 76-85%. Количество условно стерильных (неоплодотворивших) самцов в контрольных группах было несколько выше физиологической нормы и составляло 14%, тогда как в опытных группах количество условно стерильных самцов находилось в пределах физиологической нормы [279] и составляло 3% [66; 73; 75]. Очевидно, что некоторое снижение эффективности спаривания самок контрольных групп обусловлено числом условно стерильных самцов. Отмеченное снижение количества фертильных самцов в контрольных группах не связано с условиями

содержания или составом рациона и, возможно, является следствием рандомизации при формировании групп по принципу случайной выборки [48].

Таблица 102 – Эффективность спаривания крыс F<sub>0</sub>

| Группа   | Пол | Количество ссаженных крыс* | Количество забеременевших ♀/<br>оплодотворивших ♂ | Эффективность спаривания, % |
|----------|-----|----------------------------|---|-----------------------------|
| Контроль | ♀   | 158                        | 120   | 76                          |
|          | ♂   | 65                         | 56  | 86                          |
| Опыт     | ♀   | 158                        | 134   | 85                          |
|          | ♂   | 65                         | 63  | 97                          |

\*количество крыс, использованных в исследованиях постнатального развития потомства

Общее состояние самок F<sub>0</sub> во время беременности было удовлетворительным, по внешнему виду, качеству шерстного покрова поведению и приросту массы тела самки опытных групп не отличались от контрольных животных. Масса внутренних органов беременных самок находилась в пределах физиологических колебаний, характерных для крыс линии Вистар (таблица 103) [48; 66; 73; 75]. Отмечено снижение массы сердца у самок опытных групп по сравнению с контролем – на 6% (p<0,05). Массы прочих внутренних органов у самок контрольных и опытных групп не имели значимых различий.

Таблица 103 – Масса внутренних органов беременных самок F<sub>0</sub>

| Показатели   | Группа           |              | Интегрированный контроль |
|--------------|------------------|--------------|--------------------------|
|              | Контроль<br>N=61 | Опыт<br>N=58 |                          |
| Печень       | M±m              | 12,56±0,23   | 7,63-20,33               |
|              | Min-Max          | 7,63-17,09   |                          |
| Почки        | M±m              | 1,846±0,041  | 1,11-3,63                |
|              | Min-Max          | 1,106-2,517  |                          |
| Селезенка    | M±m              | 0,779±0,035  | 0,398-2,530              |
|              | Min-Max          | 0,428-1,431  |                          |
| Сердце       | M±m              | 0,979±0,021  | 0,585-1,900              |
|              | Min-Max          | 0,690-1,332  |                          |
| Легкие       | M±m              | 1,616±0,050  | 0,964-4,457              |
|              | Min-Max          | 0,964-3,082  |                          |
| Тимус        | M±m              | 0,426±0,021  | 0,142-0,920              |
|              | Min-Max          | 0,142-0,859  |                          |
| Надпочечники | M±m              | 0,070±0,002  | 0,024-0,206              |
|              | Min-Max          | 0,036-0,120  |                          |
| Яичники      | M±m              | 0,114±0,004  | 0,037-0,324              |
|              | Min-Max          | 0,044-0,190  |                          |

\* выявлены достоверные различия между контрольными и опытными группами при p<0,05

Согласно данным собственных исследований (раздел 5.1), диапазон колебаний абсолютной массы сердца у беременных самок составляет 0,585-1,900 г, что соответствует разбросу значений в пределах 225%, поэтому выявленные различия являются минимальными из возможных в пределах физиологической нормы. Обзорные макроскопические исследования не выявили каких-либо патологических изменений внутренних органов. При изучении эндокринной функции гонад беременных самок на 20-й день беременности не было выявлено различий между группами, содержание половых гормонов находилось в пределах нормы [48; 75].

Таким образом, при изучении генеративной функции гонад самцов и самок, а также эндокринной функции яичников самок поколения  $F_0$ , не выявлено различий между животными, получавшими с рационом ГМ линии сои и их традиционные аналоги. Эффективность спаривания, физиологическое протекание беременности, содержание половых гормонов в крови беременных самок обеих групп находились в пределах нормы, что свидетельствует о нормальной генеративной и эндокринной функции половых желез экспериментальных животных [48; 66; 73; 75].

Отбор материала для исследований физиолого-биохимических показателей, характеризующих здоровье самцов  $F_0$ , проводили на 99-114-й дни экспериментов, результаты исследований представлены в таблицах 104-108.

Как показано в таблице 104, массы внутренних органов у крыс контрольных и опытных групп на протяжении всех экспериментов находились в пределах физиологических колебаний, характерных для животных данного вида, статистически значимых различий между группами не выявлено [52; 57; 61; 75; 385]. Исключение составляла масса надпочечников: у крыс опытных групп этот показатель был несколько ниже, чем у контрольных животных: абсолютная масса – на 9% ( $p < 0,05$ ), относительная – на 8% ( $p < 0,05$ ). По данным собственных исследований (раздел 5.1), в норме диапазон колебаний абсолютной массы надпочечников у половозрелых крыс составляет 0,019-0,113 г, относительной массы – 0,003-0,029 г/100 г массы тела. При визуальном осмотре внутренних органов патологические изменения отсутствовали, размеры и форма органов сердечно-сосудистой, пищеварительной, мочеполовой, нервной, иммунной и эндокринной систем у крыс опытных групп не имели отличий от аналогичных органов у крыс контрольных групп [61; 69; 57; 385].

Таблица 104 – Масса внутренних органов самцов F<sub>0</sub>

| Показатели   |                | Группа           |                | Интегрированный контроль |
|--------------|----------------|------------------|----------------|--------------------------|
|              |                | Контроль<br>N=64 | Опыт<br>N=64   |                          |
| Почки        | Абс.           | 2,783±0,050      | 2,689±0,053    | 1,099-4,624              |
|              | <i>Min-Max</i> | 1,753-3,815      | 1,915-3,638    |                          |
|              | Отн.           | 0,619±0,010      | 0,600±0,010    | 0,253-0,873              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,483-0,873      | 0,458-0,780    |                          |
| Надпочечники | Абс.           | 0,035±0,001      | 0,032±0,001*   | 0,019-0,113              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,020-0,078      | 0,021-0,050    |                          |
|              | Отн.           | 0,0077±0,0002    | 0,0071±0,0002* | 0,003-0,029              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,004-0,015      | 0,004-0,010    |                          |
| Семенники    | Абс.           | 3,339±0,059      | 3,289±0,063    | 1,460-5,511              |
|              | <i>Min-Max</i> | 1,757-4,394      | 1,187-4,325    |                          |
|              | Отн.           | 0,749±0,017      | 0,744±0,020    | 0,329-1,005              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,407-1,040      | 0,263-1,114    |                          |
| Легкие       | Абс.           | 1,941±0,056      | 1,911±0,044    | 1,399-3,776              |
|              | <i>Min-Max</i> | 1,324-3,776      | 1,260-2,983    |                          |
|              | Отн.           | 0,432±0,012      | 0,426±0,008    | 0,286-0,809              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,286-0,809      | 0,298-0,648    |                          |
| Печень       | Абс.           | 11,35±0,20       | 11,22±0,23     | 7,90-18,10               |
|              | <i>Min-Max</i> | 7,50-14,58       | 6,98-15,16     |                          |
|              | Отн.           | 2,516±0,035      | 2,484±0,026    | 2,13-3,92                |
|              | <i>Min-Max</i> | 1,774-3,396      | 2,000-3,047    |                          |
| Тимус        | Абс.           | 0,516±0,019      | 0,487±0,015    | 0,180-0,960              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,180-0,870      | 0,216-0,768    |                          |
|              | Отн.           | 0,114±0,004      | 0,108±0,003    | 0,038-0,223              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,038-0,184      | 0,050-0,208    |                          |
| Селезенка    | Абс.           | 1,080±0,046      | 1,000±0,035    | 0,581-2,964              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,598-2,245      | 0,559-1,565    |                          |
|              | Отн.           | 0,247±0,012      | 0,228±0,010    | 0,127-0,790              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,136-0,507      | 0,122-0,407    |                          |
| Сердце       | Абс.           | 1,268±0,017      | 1,266±0,019    | 0,890-1,808              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,862-1,576      | 0,968-1,680    |                          |
|              | Отн.           | 0,282±0,003      | 0,283±0,004    | 0,227-0,404              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,227-0,380      | 0,226-0,370    |                          |
| Простата     | Абс.           | 0,352±0,018      | 0,318±0,018    | 0,074-0,950              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,109-0,666      | 0,108-0,708    |                          |
|              | Отн.           | 0,079±0,004      | 0,073±0,005    | 0,013-0,244              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,023-0,157      | 0,022-0,166    |                          |
| Мозг         | Абс.           | 2,036±0,017      | 2,053±0,013    | 1,469-2,378              |
|              | <i>Min-Max</i> | 1,469-2,274      | 1,831-2,416    |                          |
|              | Отн.           | 0,456±0,007      | 0,464±0,009    | 0,272-0,531              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,329-0,604      | 0,368-0,650    |                          |
| Гипофиз      | Абс.           | 0,0093±0,0004    | 0,0089±0,0004  | 0,003-0,071              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,0030-0,0187    | 0,0030-0,0218  |                          |
|              | Отн.           | 0,0021±0,0001    | 0,0020±0,0001  | 0,0006-0,0155            |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,0007-0,0043    | 0,0007-0,00056 |                          |

\* выявлены достоверные различия между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Результаты исследования морфологической картины периферической крови представлены в таблице 105. Показано, что состав периферической крови крыс контрольных и опытных групп находился в пределах нормы. Достоверные различия между группами отсутствовали [48; 61].

Таблица 105 – Гематологические показатели самцов F<sub>0</sub>

| Показатели  |         | Группа        |             | Диапазон нормы | Интегрированный контроль |
|---|---------|---------------|-------------|----------------|--------------------------|
|   |         | Контроль N=59 | Опыт N=60   |                |                          |
| Общее количество эритроцитов, 10 <sup>12</sup> /л | M±m     | 8,776±0,055   | 8,753±0,052 | 4,4-8,9        | 7,51-9,94                |
|   | Min-Max | 7,650-9,710   | 7,960-9,610 |                |                          |
| Концентрация гемоглобина, г/л                     | M±m     | 157,0±0,9     | 158,2±0,9   | 86-173         | 135-177                  |
|   | Min-Max | 135,0-176,0   | 139,0-173,0 |                |                          |
| Гематокрит, %                                     | M±m     | 46,63±0,31    | 46,83±0,29  | 31,4-51,9      | 38,40- 52,00             |
|   | Min-Max | 39,0-53,5     | 41,4-50,7   |                |                          |
| Средний объем эритроцита, мкм <sup>3</sup>        | M±m     | 53,12±0,21    | 53,52±0,23  | 50,6-93,8      | 46,00-58,00              |
|   | Min-Max | 50,0-57,0     | 49,0-57,0   |                |                          |
| Среднее содержание Hb в эритроците, пг            | M±m     | 17,89±0,07    | 18,09±0,08  | 13,4-26,1      | 16,00-20,20              |
|   | Min-Max | 16,8-19,3     | 16,6-19,4   |                |                          |
| Средняя концентрация Hb в эритроците, г/л         | M±m     | 336,8±0,8     | 338,0±0,6   | 247-368        | 328-375                  |
|   | Min-Max | 325-352       | 325-349     |                |                          |
| Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л                     | M±m     | 8,839±0,391   | 8,002±0,344 | 1,4-34,3       | 4,40-19,10               |
|   | Min-Max | 2,0-18,1      | 4,4-16,8    |                |                          |
| Базофилы, %                                       | M±m     | 0,50±0,06     | 0,71±0,14   | 0              | 0,02-0,80                |
|   | Min-Max | 0,1-3,3       | 0,1-6,9     |                |                          |
| Эозинофилы, %                                     | M±m     | 3,15±0,17     | 3,39±0,19   | 0,0-5,5        | 1,00-6,10                |
|   | Min-Max | 0,9-7,1       | 1,1-9,1     |                |                          |
| Нейтрофилы, %                                     | M±m     | 28,31±0,99    | 28,58±0,81  | 0,4-53,8       | 5,00-46,80               |
|   | Min-Max | 15,0-53,8     | 14,1-41,1   |                |                          |
| Лимфоциты, %                                      | M±m     | 58,21±1,25    | 56,43±0,99  | 42,3-98,0      | 40,20-88,00              |
|   | Min-Max | 27,7-75,2     | 40,9-76,1   |                |                          |
| Моноциты, %                                       | M±m     | 9,71±0,47     | 10,89±0,56  | 0,0-7,9        | 1,50-17,55               |
|   | Min-Max | 2,5-18,1      | 1,2-19,3    |                |                          |
| Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л                    | M±m     | 621,6±13,1    | 638,5±11,5  | 409-1250       | 449-924                  |
|   | Min-Max | 298-806       | 470-800     |                |                          |
| Средний объем тромбоцита, мкм <sup>3</sup>        | M±m     | 6,541±0,044   | 6,560±0,048 | 5,0-8,0        | 6,00-7,80                |
|   | Min-Max | 5,9-7,6       | 5,900-7,400 |                |                          |
| Тромбокрит, %                                     | M±m     | 0,404±0,008   | 0,417±0,007 | 0,2-0,5        | 0,29-0,60                |
|   | Min-Max | 0,206-0,496   | 0,310-0,524 |                |                          |

Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при p<0,05

Таблица 106 – Биохимические показатели сыворотки крови самцов F<sub>0</sub>

| Показатели                 |         | Группа           |              | Диапазон нормы   | Интегрированный контроль |
|----------------------------|---------|------------------|--------------|------------------|--------------------------|
|                            |         | Контроль<br>N=64 | Опыт<br>N=64 |                  |                          |
| 1                          |         | 2                | 3            | 4                | 5                        |
| Общий белок, г/л           | M±m     | 65,17±0,87       | 65,11±0,86   | 56-82            | 53,9-97,6                |
|                            | Min-Max | 53,01-77,04      | 51,26-79,57  |                  |                          |
| Альбумин, г/л              | M±m     | 30,65±0,51       | 30,76±0,48   | 25-48            | 21,4-60,0                |
|                            | Min-Max | 23,21-36,92      | 23,09-36,83  |                  |                          |
| Глобулин, г/л              | M±m     | 35,52±0,40       | 34,35±0,46   | 12-57            | 11,2-62,9                |
|                            | Min-Max | 28,03-40,56      | 26,89-44,16  |                  |                          |
| Триглицериды, ммоль/л      | M±m     | 0,884±0,053      | 0,835±0,054  | 0,3-1,6          | 0,13-2,68                |
|                            | Min-Max | 0,109-2,682      | 0,088-1,949  |                  |                          |
| Общий билирубин, мкмоль/л  | M±m     | 3,112±0,089      | 3,293±0,108  | 1-4              | 0,89-9,00                |
|                            | Min-Max | 0,889-4,984      | 1,916-6,960  |                  |                          |
| Прямой билирубин, мкмоль/л | M±m     | 2,648±0,165      | 2,802±0,203  | -                | -                        |
|                            | Min-Max | 1,405-7,792      | 1,346-8,637  |                  |                          |
| Мочевина, ммоль/л          | M±m     | 6,051±0,139      | 6,380±0,139  | 4-10             | 2,25-10,60               |
|                            | Min-Max | 3,177-9,661      | 4,479-9,605  |                  |                          |
| Мочевая кислота, мкмоль/л  | M±m     | 71,79±1,77       | 75,15±1,87   | 12-118           | 23,9-103,4               |
|                            | Min-Max | 37,77-103,40     | 27,46-114,22 |                  |                          |
| Креатинин, мкмоль/л        | M±m     | 45,19±1,49       | 47,89±1,49   | 13-92            | 10,8-134,0               |
|                            | Min-Max | 10,84-68,08      | 23,02-68,03  |                  |                          |
| Глюкоза, ммоль/л           | M±m     | 5,877±0,126      | 6,186±0,110  | 4,5-10,0         | 3,07-10,92               |
|                            | Min-Max | 2,811-9,227      | 4,328-8,803  |                  |                          |
| Холестерин, ммоль/л        | M±m     | 1,861±0,063      | 1,757±0,050  | 0,6-4,3          | 0,11-4,39                |
|                            | Min-Max | 1,181-3,225      | 0,945-2,825  |                  |                          |
| Лактатдегидрогеназа, Е/л   | M±m     | 1129±42          | 1222±43      | до 5800          | 705-5712                 |
|                            | Min-Max | 543-2268         | 624-2112     |                  |                          |
| Альфа-амилаза, Е/л         | M±m     | 2169±87          | 2315±91      | до 3207          | 496-7033                 |
|                            | Min-Max | 1248-5048        | 1092-4249    |                  |                          |
| Креатинфосфокиназа, Е/л    | M±m     | 5591±190         | 5668±174     | 400 <sup>1</sup> | 491-21095                |
|                            | Min-Max | 624-7573         | 1121-7683    |                  |                          |
| Щелочная фосфатаза, Е/л    | M±m     | 88,40±3,77       | 92,11±3,50   | 112-814          | 33-816                   |
|                            | Min-Max | 38,6-197,8       | 44,75-172,35 |                  |                          |
| АЛТ, Е/л                   | M±m     | 49,75±1,54       | 50,08±1,67   | 33-120           | 20-116                   |
|                            | Min-Max | 25,23-95,59      | 18,37-85,01  |                  |                          |
| АСТ, Е/л                   | M±m     | 175,3±7,8        | 176,2±7,1    | 60-236           | 79-457                   |
|                            | Min-Max | 64,4-395,0       | 48,8-299,3   |                  |                          |
| Кальций, ммоль/л           | M±m     | 2,763±0,027      | 2,745±0,027  | 1,1-6,6          | 1,60-3,16                |
|                            | Min-Max | 2,246-3,157      | 2,266-3,1231 |                  |                          |
| Магний, ммоль/л            | M±m     | 0,860±0,015      | 0,803±0,022* | 1,0-1,5          | 0,41-2,74                |
|                            | Min-Max | 0,240-1,054      | 0,156-1,037  |                  |                          |
| Железо, мкмоль/л           | M±m     | 31,00±1,28       | 31,02±1,52   | 17,4-61,0        | 5,5-54,7                 |
|                            | Min-Max | 15,51-57,74      | 13,93-65,31  |                  |                          |
| Натрий, ммоль/л            | M±m     | 139,0±0,5        | 139,5±0,4    | 137-159          | 96-208                   |
|                            | Min-Max | 130,7-145,4      | 132,9-146,4  |                  |                          |
| Калий, ммоль/л             | M±m     | 5,663±0,106      | 5,074±0,156* | 3,9-7,2          | 3,3-10,5                 |
|                            | Min-Max | 3,793-6,844      | 3,075-6,783  |                  |                          |

| Продолжение таблицы 106 |         |             |              |         |           |
|-------------------------|---------|-------------|--------------|---------|-----------|
| 1                       |         | 2           | 3            | 4       | 5         |
| Фосфор, ммоль/л         | M±m     | 2,272±0,031 | 2,167±0,029* | 1,3-2,7 | 0,78-5,85 |
|                         | Min-Max | 1,531-2,841 | 1,587-2,679  |         |           |
| Хлор, ммоль/л           | M±m     | 101,9±0,3   | 102,6±0,3    | 97-115  | 46-224    |
|                         | Min-Max | 98,1-107,8  | 98,6-110,6   |         |           |

<sup>1</sup> Допустимые колебания значений, %

\* выявлены достоверные различия между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Как видно из таблицы 106, биохимические показатели сыворотки крови крыс контрольных и опытных групп не имели значимых различий за исключением некоторого снижения содержания магния, калия и фосфора у крыс опытных групп по сравнению с контролем – на 7, 10 и 5% ( $p < 0,05$ ), соответственно. Выявленные различия находились в рамках физиологических колебаний, характерных для крыс. Биохимические показатели мочи крыс контрольных и опытных групп не имели значимых различий и не выходили за пределы нормы [48; 57; 61; 385].

Показатели, характеризующие состояние антиоксидантного статуса, представлены в таблицах 107-108.

Таблица 107 – Активность ферментов системы антиоксидантной защиты самцов F<sub>0</sub>

| Показатели                               |         | Группа           |              | Интегрированный контроль |
|--|---------|------------------|--------------|--------------------------|
|  |         | Контроль<br>N=64 | Опыт<br>N=62 |                          |
| Глутатионредуктаза,<br>мкмоль/мин·г Нб   | M±m     | 34,59±0,80       | 34,22±0,66   | 18,10-73,73              |
|  | Min-Max | 20,74-50,11      | 23,50-48,99  |                          |
| Глутатионпероксидаза,<br>мкмоль/мин·г Нб | M±m     | 54,48±0,71       | 54,63±0,77   | 43,40-94,64              |
|  | Min-Max | 40,52-67,31      | 42,41-68,75  |                          |
| Каталаза,<br>ммоль/мин·г Нб              | M±m     | 544,5±8,6        | 537,7±6,7    | 278,9-816,0              |
|  | Min-Max | 416,7-708,9      | 434,0-649,7  |                          |
| Супероксиддисмутаза,<br>ЕД/мин·г Нб      | M±m     | 1729±15          | 1723±12      | 1262-2893                |
|  | Min-Max | 1462-2137        | 1552-1982    |                          |

Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Активность ферментов системы антиоксидантной защиты эритроцитов у крыс контрольных и опытных групп не имела статистически значимых различий; содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови также не имело достоверных различий между группами. Значения изученных показателей находились в пределах физиологических колебаний, характерных для крыс [48; 57; 61; 75; 385]. Отмечено незначительное снижение (на 7% при  $p < 0,05$ ) концентрации малонового диальдегида в печени крыс опытных групп, однако характер и амплитуда данного единичного изменения позволяет отнести его к естественным фоновым колебаниям, свойственным живым организмам. На основании анализа полученных

данных можно сделать вывод, что длительное употребление с рационом ГМ линий сои не оказывало влияния на антиоксидантный статус экспериментальных животных.

Таблица 108 – Содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови и печени самцов F<sub>0</sub>

| Показатели                         | Группа           |              | Интегрированный контроль |             |
|------------------------------------|------------------|--------------|--------------------------|-------------|
|                                    | Контроль<br>N=64 | Опыт<br>N=62 |                          |             |
| <b>э р и т р о ц и т ы</b>         |                  |              |                          |             |
| МДА, нмоль/мл                      | M±m              | 5,687±0,143  | 5,902±0,141              | 2,020-9,492 |
|                                    | Min-Max          | 3,635-8,886  | 3,866-9,694              |             |
| <b>с ы в о р о т к а к р о в и</b> |                  |              |                          |             |
| МДА, нмоль/мл                      | M±m              | 6,627±0,169  | 6,625±0,165              | 2,115-9,807 |
|                                    | Min-Max          | 4,327-10,961 | 3,846-9,903              |             |
| <b>п е ч е н ь</b>                 |                  |              |                          |             |
| МДА, нмоль/г                       | M±m              | 433,1±8,5    | 400,7±7,9*               | 214,1-855,1 |
|                                    | Min-Max          | 287,2-602,6  | 283,3-582,1              |             |

\* выявлены достоверные различия между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

В этих же экспериментах, в наших совместных исследованиях с Кравченко Л.В., Авреневой Л.И., Гусевой Г.В. [59; 60; 61], не было выявлено статистически достоверных различий между контрольными и опытными группами при изучении функционального состояния систем, осуществляющих защиту организма от воздействия токсичных соединений экзогенного и эндогенного происхождения – активности ферментов 1-й и 2-й фазы метаболизма ксенобиотиков, общая и неседиментируемая активность ферментов лизосом печени [16; 48; 57; 61; 385].

Таким образом, при изучении физиолого-биохимических показателей, характеризующих здоровье самцов F<sub>0</sub>, не было выявлено значимых различий между животными, получавшими с рационом ГМ линии сои и их традиционные аналоги. Результаты исследований антиоксидантного статуса, а также активности ферментов метаболизма ксенобиотиков и ферментов лизосом, свидетельствуют о наличии оптимального баланса защитно-адаптационных возможностей организма экспериментальных животных.

Анализ пренатального развития потомства F<sub>1</sub> (таблица 109), не выявил различий между опытными и контрольными группами: количество желтых тел, мест имплантации, количество живых и мертвых плодов, количество резорбций, пред- и постимплантационная гибель эмбрионов находились в пределах физиологических колебаний, характерных для крыс [66; 73; 82].

Зоометрические показатели плодов и масса внутренних органов плодов варьировали в пределах физиологической нормы [236; 321; 354], размеры и масса тела, а также масса внутренних органов у плодов опытных групп были несколько выше, чем у плодов

контрольных групп: масса тела – на 6% ( $p<0,05$ ), кранио-каудальный размер – на 3% ( $p<0,05$ ), абсолютная масса печени, почек, сердца и легких – на 8, 11, 7 и 4% ( $p<0,05$ ), соответственно (таблица 110) [48].

Таблица 109 – Пренатальное развитие потомства F<sub>1</sub>

| Показатели                  |         | Группа     |            | Интегрированный контроль |
|-----------------------------|---------|------------|------------|--------------------------|
|                             |         | Контроль   | Опыт       |                          |
| Количество беременных самок |         | 60         | 58         | -                        |
| Количество желтых тел       | Всего   | 877        | 834        | 5-23                     |
|                             | M±m     | 14,62±0,36 | 14,38±0,33 |                          |
|                             | min-max | 10-25      | 9-21       |                          |
| Количество мест имплантации | Всего   | 775        | 696        | 3-18                     |
|                             | M±m     | 12,70±0,37 | 12,00±0,40 |                          |
|                             | min-max | 3-17       | 1-17       |                          |
| Количество живых плодов     | Всего   | 720        | 658        | 2-18                     |
|                             | M±m     | 11,80±0,40 | 11,34±0,43 |                          |
|                             | min-max | 2-17       | 1-17       |                          |
| Количество резорбций        | Всего   | 53         | 35         | 0-10                     |
|                             | M±m     | 0,90±0,19  | 0,62±0,12  |                          |
|                             | min-max | 0-7        | 0-4        |                          |
| Количество мертвых плодов   |         | 0          | 0          | -                        |
| Предимплантационная гибель  |         |            |            |                          |
| %                           | M±m     | 12,10±2,14 | 15,84±2,48 | 0-80                     |
|                             | min-max | 0-80       | 0-91       |                          |
| Абс.                        | Всего   | 113        | 138        | 0-13                     |
|                             | M±m     | 1,88±0,35  | 2,38±0,38  |                          |
|                             | min-max | 0-12       | 0-13       |                          |
| Постимплантационная гибель  |         |            |            |                          |
| %                           | M±m     | 7,48±1,45  | 5,70±1,20  | 0-100                    |
|                             | min-max | 0-58       | 0-40       |                          |
| Абс.                        | Всего   | 55         | 36         | 0-10                     |
|                             | M±m     | 0,90       | 0,62±0,12  |                          |
|                             | min-max | 0-7        | 0-4        |                          |

Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p<0,05$

При оценке развития скелета плодов F<sub>1</sub> по методу Dawson A.B. [77; 130] аномалий развития не выявлено. Длина участков оссификации в закладках костей конечностей и черепа плодов F<sub>1</sub> не имела значимых различий между группами (таблица 111) [48; 66; 73; 75].

При обследовании плодов F<sub>1</sub> по методу Wilson J.G. [77; 406] аномалий развития внутренних органов выявлено не было. Следовательно, формирование нервной, сенсорной, сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной, мочевыделительной, половой, локомоторной, у плодов контрольных и опытных групп протекало без особенностей (таблица 112) [48; 66; 73; 75].

Таблица 110 – Зоометрические показатели плодов F<sub>1</sub> на 20-й день пренатального развития

| Показатели                   |         | Группа               |                  | Интегрированный контроль |
|------------------------------|---------|----------------------|------------------|--------------------------|
|                              |         | Контрольная<br>N=296 | Опытная<br>N=283 |                          |
| Масса тела, г                | M±m     | 3,676±0,039          | 3,904±0,037*     | 1,51-6,12                |
|                              | Min-max | 1,514-5,959          | 2,203-6,204      |                          |
| Кранио-каудальный размер, см | M±m     | 3,614±0,019          | 3,724±0,016*     | 2,4-5,1                  |
|                              | Min-max | 2,4-4,5              | 2,9-4,6          |                          |
| Масса печени                 | Абс.    | 0,293±0,004          | 0,317±0,004*     | 0,058-0,648              |
|                              | Min-max | 0,111-0,511          | 0,089-0,587      |                          |
|                              | Отн.    | 7,958±0,072          | 8,125±0,081      | 2,08-13,68               |
|                              | Min-max | 4,236-11,485         | 2,500-13,145     |                          |
| Масса почек                  | Абс.    | 0,028±0,001          | 0,031±0,001*     | 0,006-0,098              |
|                              | Min-max | 0,007-0,098          | 0,011-0,071      |                          |
|                              | Отн.    | 0,765±0,010          | 0,788±0,009      | 0,227-2,538              |
|                              | Min-max | 0,358-2,538          | 0,336-1,407      |                          |
| Масса сердца                 | Абс.    | 0,0205±0,0003        | 0,0219±0,0003*   | 0,005-0,050              |
|                              | Min-max | 0,006-0,037          | 0,010-0,042      |                          |
|                              | Отн.    | 0,560±0,006          | 0,564±0,006      | 0,184-1,598              |
|                              | Min-max | 0,294-0,929          | 0,256-1,033      |                          |
| Масса легких                 | Абс.    | 0,117±0,001          | 0,122±0,001*     | 0,020-0,213              |
|                              | Min-max | 0,039-0,170          | 0,068-0,214      |                          |
|                              | Отн.    | 3,178±0,026          | 3,151±0,029      | 0,761-5,789              |
|                              | Min-max | 1,798-4,719          | 1,874-5,011      |                          |

\* выявлены достоверные различия между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Таблица 111 – Длина участков ossификации в закладках костей плодов F<sub>1</sub>

| Показатели               |         | Группа           |              | Интегрированный контроль |
|--------------------------|---------|------------------|--------------|--------------------------|
|                          |         | Контроль<br>N=43 | Опыт<br>N=43 |                          |
| Нижняя челюсть, мм       | M±m     | 9,19±0,23        | 8,98±0,20    | 5,8-12,0                 |
|                          | Min-max | 6,23-11,90       | 6,00-12,00   |                          |
| Плечевая кость, мм       | M±m     | 3,89±0,09        | 3,77±0,06    | 2,1-5,3                  |
|                          | Min-max | 2,70-5,20        | 2,81-5,30    |                          |
| Локтевая кость, мм       | M±m     | 4,17±0,10        | 4,05±0,08    | 2,3-5,7                  |
|                          | Min-max | 2,50-5,70        | 2,39-5,60    |                          |
| Лучевая кость, мм        | M±m     | 3,14±0,08        | 3,14±0,07    | 1,9-6,4                  |
|                          | Min-max | 2,00-4,60        | 1,60-4,30    |                          |
| Бедренная кость, мм      | M±m     | 2,95±0,08        | 2,84±0,04    | 1,5-4,3                  |
|                          | Min-max | 1,50-4,30        | 1,86-3,60    |                          |
| Большеберцовая кость, мм | M±m     | 3,30±0,09        | 3,29±0,06    | 1,7-4,9                  |
|                          | Min-max | 1,70-4,90        | 2,10-4,10    |                          |
| Малоберцовая кость, мм   | M±m     | 3,24±0,10        | 3,22±0,06    | 1,8-4,9                  |
|                          | Min-max | 1,80-4,90        | 2,12-4,30    |                          |

Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Таблица 112 – Развитие внутренних органов плодов F<sub>1</sub>

| Анатомические структуры (срезы)   | Группа           |                                   |
|---|------------------|-----------------------------------|
|   | Контроль<br>N=60 | Опыт<br>N=60                      |
| 1 – нижняя челюсть, язык, ротовая и носовая полости   | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 2 – глазные яблоки, обонятельные луковицы   | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 3 – кора больших полушарий, боковые и третий желудочки головного мозга  | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 4 – мозжечок, четвертый желудочек   | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 5 – гортань, пищевод, спинной мозг, позвоночник, подчелюстные слюнные железы  | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 6 – спинной мозг, позвоночник, пищевод, трахея  | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 7 – сердце, легкие, бронхи, спинной мозг, позвоночник   | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 8 – печень, диафрагма, спинной мозг   | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 9 – (а) почки, печень, желудок, кишечник;<br>(б) органы таза: почки, мочевой пузырь, прямая кишка, внутренние половые органы (у самок – матка с яйчниками, у самцов – яички с придатками) | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |

Таким образом, результаты исследований пренатального развития потомства F<sub>1</sub> опытных и контрольных групп свидетельствуют об отсутствии различий между животными, получавшими с рационом ГМ и традиционные линии сои. Зоометрические показатели соответствовали физиологической норме, аномалий развития плодов не выявлено [48; 66; 73; 75].

Постнатальное развитие потомства F<sub>1</sub> характеризовалось высокой выживаемостью в обеих группах: в период с 1-го по 25-й дни жизни выживаемость составляла 98-99% (таблица 113). Согласно данным литературы, линии Вистар в целом свойственна вариабельность ряда показателей репродуктивной функции (таблица 79), поэтому 98-99 %-ная выживаемость потомства соответствовала оптимальному уровню для крыс данной линии. Средняя величина пометов, соотношение самцов и самок в пометах находилась в пределах физиологических колебаний. Как видно из таблицы 114, масса тела крысят контрольных и опытных групп не имела статистически достоверных различий на 2-20-й дни жизни, на 25-й день масса тела крысят опытных групп была на 1% ниже ( $p < 0,05$ ), чем у крысят контрольных групп.

Таблица 113 – Постнатальное развитие потомства F<sub>1</sub>

| Показатели   |         | Группа          |                 |
|--|---------|-----------------|-----------------|
|  |         | Контрольная     | Опытная         |
| Общее количество забеременевших самок  |         | 92              | 109             |
| Общее количество родивших самок  |         | 92              | 108             |
| Смертность, связанная с родами (общее количество умерших самок)              |         | -               | 1 <sup>a)</sup> |
| Общее количество пометов, уничтоженных материнским животным в 1-й день жизни |         | 1 <sup>b)</sup> | 1 <sup>b)</sup> |
| Общее количество крысят  |         | 1017            | 1205            |
| Из них мертворожденных   |         | 2               | 3               |
| Средняя величина помета  | M±m     | 11,15±0,34      | 11,31±0,33      |
|  | Min-Max | 1-18            | 1-19            |
| Соотношение ♂/♀, %   |         | 49/51           | 53/47           |
| <b>Выживаемость потомства</b>  |         |                 |                 |
| Выживаемость с 1-го по 5-й дни жизни, %                                      |         | 99%             | 99%             |
| количество живых (исходное) / количество умерших                             |         | 1017/8          | 1205/14         |
| Выживаемость с 6-го по 25-й дни жизни, %                                     |         | 99%             | 98%             |
| количество живых (исходное) / количество умерших                             |         | 1009/10         | 1191/21         |

- a) самка умерла в результате недостаточности родовой деятельности, все крысята в матке, этот помет не учитывали при подсчете общего количества крысят и выживаемости потомства [72];
- b) самки уничтожили потомство в течение первых суток после родов, количество крысят неизвестно, этот помет не учитывали при подсчете общего количества крысят и выживаемости [48; 72]. Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Таблица 114 – Динамика массы тела и роста потомства F<sub>1</sub> в 1-й месяц жизни

| Группа        |         | Дни жизни |            |            |            |            |             |
|---------------|---------|-----------|------------|------------|------------|------------|-------------|
|               |         | 2         | 5          | 10         | 15         | 20         | 25          |
| Масса тела, г |         |           |            |            |            |            |             |
| Контроль      | M±m     | 6,62±0,03 | 10,44±0,05 | 18,41±0,09 | 27,67±0,13 | 39,73±0,19 | 61,33±0,27  |
|               | Min-Max | 4,3-10,0  | 5,6-16,2   | 8,7-27,8   | 12,1-43,3  | 17,7-64,4  | 30,2-93,3   |
| Опыт          | M±m     | 6,67±0,02 | 10,44±0,04 | 18,22±0,08 | 27,47±0,13 | 39,75±0,21 | 60,56±0,28* |
|               | Min-Max | 4,1-9,8   | 6,6-15,1   | 10,0-32,1  | 12,6-43,3  | 19,3-68,9  | 30,7-91,2   |
| Рост, см      |         |           |            |            |            |            |             |
| Контроль      | M±m     | 5,27±0,01 | 6,37±0,01  | 7,90±0,02  | 9,58±0,02  | 11,22±0,03 | 13,10±0,03  |
|               | Min-Max | 4,4-6,6   | 5,0-7,7    | 5,8-9,7    | 7,1-11,6   | 8,3-14,2   | 10,3-15,4   |
| Опыт          | M±m     | 5,26±0,01 | 6,36±0,01  | 7,84±0,02* | 9,55±0,02  | 11,21±0,03 | 13,07±0,03  |
|               | Min-Max | 4,0-6,3   | 4,6-7,8    | 5,8-10,0   | 6,7-11,3   | 7,7-13,5   | 9,8-15,2    |

Здесь и в таблице 115 N = все крысята.

\* выявлены достоверные различия между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Рост крысят опытных групп на 10-й день жизни был на 0,8% ниже ( $p < 0,05$ ), чем у крысят контрольных групп. В абсолютных величинах выявленные различия массы тела и роста составляли 0,77 г и 0,06 см [48; 66; 73; 75]. В соответствии с данными собственных исследований (раздел 5.1) в норме колебания роста крысят первого месяца жизни могут составлять от 4,4 до 61,1 г и от 1,6 до 6,4 см, поэтому выявленные различия между группами не выходили за пределы физиологических колебаний, характерных для крыс линии Вистар.

Таблица 115 – Физическое развитие потомства  $F_1$  в 1-й месяц жизни

| Показатели                         |                | Группа     |            | Норма по [77] |
|------------------------------------|----------------|------------|------------|---------------|
|                                    |                | Контроль   | Опыт       |               |
| Отлипание ушных раковин, день      | $M \pm m$      | 3,04±0,05  | 3,05±0,05  | со 2-го дня   |
|                                    | <i>Min-Max</i> | 2-4        | 2-4        |               |
| Появление волосяного покрова, день | $M \pm m$      | 6,82±0,10  | 6,64±0,14  | с 5-го дня    |
|                                    | <i>Min-Max</i> | 5-9        | 4-11       |               |
| Прорезывание резцов, день          | $M \pm m$      | 9,72±0,12  | 9,74±0,15  | с 6-го дня    |
|                                    | <i>Min-Max</i> | 7-13       | 7-20       |               |
| Открытие глаз, день                | $M \pm m$      | 14,95±0,09 | 14,85±0,07 | с 12-го дня   |
|                                    | <i>Min-Max</i> | 12-17      | 13-17      |               |
| Опускание семенников, день         | $M \pm m$      | 24,21±0,08 | 24,25±0,08 | с 18-го дня   |
|                                    | <i>Min-Max</i> | 23-26      | 23-26      |               |
| Открытие влагалища, день           | $M \pm m$      | 31,29±0,08 | 31,29±0,08 | с 28-го дня   |
|                                    | <i>Min-Max</i> | 30-33      | 30-33      |               |

Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Параметры физического развития потомства  $F_1$  – сроки отлипания ушных раковин, появления волосяного покрова, прорезывания резцов и др. (таблица 115) соответствовали норме, характерной для крыс линии Вистар [48; 66; 73; 75; 151; 177; 279; 299; 306; 354].

Результаты исследований постнатального развития потомства  $F_1$  опытных и контрольных групп свидетельствуют об отсутствии различий между животными, получавшими с рационом ГМ и традиционные линии сои. Физическое развитие потомства находилось в пределах физиологической нормы, выживаемость потомства во всех группах соответствовала оптимальному уровню для крыс Вистар [48; 66; 73; 75].

Таким образом, обобщенные результаты токсикологических исследований сои линий FG72, MON87701, SYHT0H2, MON87708 и их традиционных аналогов в экспериментах на крысах, во время которых были изучены репродуктивная функция, пре- и постнатальное развитие потомства, интегральные, гематологические, биохимические, морфологические показатели, а также системные биомаркеры, не выявили какого-либо токсического действия ГМ линий сои по сравнению с их традиционными аналогами [48; 61; 66; 73; 75].

### 5.7.1.2 Генотоксикологические исследования

На протяжении экспериментов не было отмечено гибели мышей контрольных и опытных групп, общее состояние животных всех групп было удовлетворительным. По внешнему виду, качеству шерстного покрова, поведению и скорости роста мыши, в рацион которых была включена ГМ соя, не отличались от контрольных животных. Поедаемость корма не имела достоверных различий между группами [48; 52; 69].

Результаты цитогенетического исследования костного мозга и оценки целостности структуры ДНК представлены в таблицах 116-117.

Таблица 116 – Хромосомные повреждения в клетках костного мозга мышей

| Группа   | Количество клеток | на 100 клеток |                      |                   |         |              | Всего поврежденных метафаз, % |
|----------|-------------------|---------------|----------------------|-------------------|---------|--------------|-------------------------------|
|          |                   | Гепов         | одиночных фрагментов | парных фрагментов | обменов | клеток с МП* |                               |
| Контроль | 2000              | 0,85          | 1,30                 | -                 | 0,05    | 0,05         | 2,2±0,6                       |
| Опыт     | 2000              | 0,80          | 1,35                 | 0,05              | 0,10    | -            | 2,3±0,6                       |

\* более пяти хромосомных aberrаций в клетке (МП – множественные повреждения) [61; 64; 65; 69]  
Не выявлено достоверных различий между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

Таблица 117 – Уровень повреждений структуры ДНК (% ДНК) в органах мышей

| Исследуемый орган,<br>количество клеток |                | Группа       |              |
|---|----------------|--------------|--------------|
|   |                | Контроль     | Опыт         |
| Печень,<br>2500 клеток                  | $M \pm m$      | 7,521±0,843  | 6,581±0,863  |
|   | <i>Min-Max</i> | 0,831-11,919 | 0,235-10,776 |
| Почки,<br>3000 клеток                   | $M \pm m$      | 6,924±0,975  | 7,621±0,701  |
|   | <i>Min-Max</i> | 0,583-10,835 | 1,493-11,116 |
| Костный мозг,<br>3000 клеток            | $M \pm m$      | 7,656±0,788  | 7,920±0,639  |
|   | <i>Min-Max</i> | 0,405-10,322 | 3,967-11,545 |
| Прямая кишка,<br>2000 клеток            | $M \pm m$      | 6,964±0,869  | 7,993±0,589  |
|   | <i>Min-Max</i> | 0,446-9,750  | 3,181-11,575 |

Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Как видно из таблиц 116-117, средние показатели хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей контрольных и опытных групп не имели достоверных различий и не превышали уровень спонтанного мутагенеза, характерного для мышей линии C57Bl/6; при сравнении показателей, характеризующих уровень повреждений структуры ДНК в костном мозге, печени, почках и прямой кишке мышей, не было выявлено различий между группами [61; 64; 65; 69].

Таким образом, обобщенные результаты генотоксикологических исследований сои линий FG72, MON87701, SYHT0H2, MON87708 и их традиционных аналогов в экспериментах на мышцах, во время которых были изучены целостность структуры ДНК и уровень хромосомных aberrаций, не выявили какого-либо генотоксического действия ГМ сои по сравнению с их традиционными аналогами [61; 64; 65; 69].

### 5.7.1.3 Аллергологические исследования

На протяжении исследований общее состояние крыс всех групп было удовлетворительным. По внешнему виду, состоянию шерстного покрова, поведению и скорости роста животные, в рацион которых была включена ГМ соя, не отличались от животных контрольных групп.

Показано, что тяжесть реакции анафилактического шока и интенсивность гуморального иммунного ответа (уровень специфических IgG антител к овальбумину) у крыс опытных групп не имели статистически достоверных отличий от аналогичных показателей у крыс контрольных групп. Анализ распределений изучаемых показателей в группах, выполненный с использованием критерия ANOVA, указывает на их однородность ( $p > 0,05$ ) [48; 57; 61; 64; 65; 69].

Таким образом, обобщенные результаты аллергологических исследований сои линий FG72, MON87701, SYHT0H2, MON87708 и их традиционных аналогов в экспериментах на крысах, во время которых была воспроизведена модель системной анафилаксии и изучены показатели тяжести активного анафилактического шока и интенсивность гуморального иммунного ответа, не выявили какого-либо аллергенного действия ГМ сои по сравнению с их традиционными аналогами [48; 57; 61; 64; 65; 69].

---

**Результаты комплексных медико-биологических исследований генно-инженерно-модифицированных линий сои FG72, MON87701, SYHT0H2, MON87708, свидетельствуют об отсутствии у этих линий токсического, генотоксического, и аллергенного действия, что, наряду с данными экспертной оценки представленных материалов и анализа композиционной эквивалентности ГМО и их традиционных аналогов, позволило рекомендовать их для государственной регистрации в Российской Федерации.**

## 5.7.2 Результаты токсиколого-гигиенической оценки кукурузы линий 5307, MON89034, 1507, MZHG0JG, DAS-40278-9

### 5.7.2.1 Токсикологические исследования

Токсикологические исследования (дизайн эксперимента представлен на рисунке 59) проведены на крысах поколений F<sub>0</sub> (самках и самцах) и F<sub>1</sub> (плоды и крысята). В Таблице 118 представлен состав и количество животных в экспериментальных группах.

Таблица 118 – Состав экспериментальных групп и количество животных

| Группа               | Взрослые животные, F <sub>0</sub> | Потомство, F <sub>1</sub> |         | Всего |      |
|----------------------|-----------------------------------|---------------------------|---------|-------|------|
|                      |                                   | Плоды                     | Крысята |       |      |
| Кукуруза 5307        | контроль                          | 60♀+26♂                   | 132     | 266   | 1002 |
|                      | опыт                              | 60♀+26♂                   | 183     | 249   |      |
| Кукуруза MON89034    | контроль                          | 53♀+28♂                   | 330     | 266   | 1250 |
|                      | опыт                              | 53♀+28♂                   | 328     | 164   |      |
| Кукуруза 1507        | контроль                          | 56♀+30♂                   | 159     | 250   | 1014 |
|                      | опыт                              | 56♀+30♂                   | 140     | 293   |      |
| Кукуруза MZHG0JG     | контроль                          | 58♀+30♂                   | 139     | 306   | 1133 |
|                      | опыт                              | 58♀+30♂                   | 167     | 345   |      |
| Кукуруза DAS-40278-9 | контроль                          | 62♀+30♂                   | 155     | 315   | 1197 |
|                      | опыт                              | 62♀+30♂                   | 196     | 347   |      |

Общее состояние крыс родительского поколения F<sub>0</sub> было удовлетворительным: по внешнему виду, качеству шерстного покрова, поведению и скорости роста самки и самцы опытных групп не отличались от животных контрольных групп. Еженедельный прирост массы тела крыс всех групп в возрасте 30-130 дней (таблица 119) соответствовал уровню прироста, характерному для крыс линии Вистар [209; 210; 307; 321]. Поедаемость корма самками всех групп составляла 17-19 г/крысу/сут. – в начале эксперимента и 23-25 г/крысу/сут. – в период беременности; поедаемость корма самцами составляла 20-22 г/крысу/сут. на протяжении всего эксперимента [48; 57; 59; 60; 82].

Эффективность спаривания самок контрольных и опытных групп соответствовала ожидаемым величинам при данных условиях эксперимента: при продолжительности ссаживания 7 сут., соответствующей средней длительности эстрального цикла крысы [47; 77], количество не забеременевших самок в группах варьировало в пределах 20-21% (таблица 120). Количество условно стерильных (неоплодотворивших) самцов во всех группах не превышало среднего уровня, характерного для крыс и составляло 3-5% [66; 73; 75; 82].

Общее состояние самок F<sub>0</sub> во время беременности было удовлетворительным, по внешнему виду, качеству шерстного покрова, поведению и приросту массы тела самки опытных групп не отличались от контрольных животных [48; 66; 73; 75; 82].

Таблица 119 – Динамика массы тела крыс F<sub>0</sub>

| Срок эксперимента, дни |         | Масса тела самок, г         |                         | Масса тела самцов, г        |                         |
|------------------------|---------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------|
|                        |         | Контрольная группа<br>N=285 | Опытная группа<br>N=289 | Контрольная группа<br>N=143 | Опытная группа<br>N=142 |
| 0                      | M±m     | 75,53±0,70                  | 73,48±0,68              | 78,19±0,96                  | 78,19±0,93              |
|                        | Min-Max | 39,5-99,0                   | 45,0-103,0              | 57,0-106,9                  | 60,0-106,3              |
| 7                      | M±m     | 108,8±1,0                   | 110,1±0,9               | 121,2±1,5                   | 120,4±1,5               |
|                        | Min-Max | 66,0-145,0                  | 70,0-156,0              | 72,0-161,0                  | 76,0-164,0              |
| 14                     | M±m     | 147,1±1,0                   | 147,9±1,0               | 173,5±1,7                   | 172,5±1,8               |
|                        | Min-Max | 90,0-192,0                  | 106,0-199,0             | 93,0-216,0                  | 91,0-222,0              |
| 21                     | M±m     | 176,1±1,1                   | 177,2±1,1               | 221,1±2,1                   | 222,4±1,9               |
|                        | Min-Max | 124,0-224,0                 | 131,0-225,0             | 140,0-267,0                 | 138,0-272,0             |
| 28                     | M±m     | 202,6±1,2                   | 202,8±1,3               | 271,2±2,5                   | 273,5±2,2               |
|                        | Min-Max | 142,0-258,0                 | 153,0-328,0             | 184,0-342,0                 | 202,0-340,0             |
| 35                     | M±m     | 223,6±1,3                   | 224,3±1,3               | 313,2±2,5                   | 315,8±2,5               |
|                        | Min-Max | 164,0-289,0                 | 156,0-281,0             | 241,0-390,0                 | 236,0-396,0             |
| 42                     | M±m     | 240,4±1,5                   | 239,9±1,4               | 345,1±2,6                   | 348,6±2,8               |
|                        | Min-Max | 182,0-338,0                 | 179,0-313,0             | 272,0-428,0                 | 251,0-433,0             |
| 49                     | M±m     | 253,1±1,6                   | 253,6±1,4               | 368,1±2,6                   | 369,6±3,0               |
|                        | Min-Max | 193,0-363,0                 | 194,0-332,0             | 295,0-454,0                 | 248,0-461,0             |
| 56                     | M±m     | 264,8±1,7                   | 264,9±1,5               | 390,1±2,6                   | 392,0±3,0               |
|                        | Min-Max | 206,0-366,0                 | 209,0-345,0             | 314,0-480,0                 | 307,0-498,0             |
| 63                     | M±m     | 276,8±1,8                   | 276,1±1,7               | 413,0±3,1                   | 414,9±3,4               |
|                        | Min-Max | 215,0-383,0                 | 214,0-366,0             | 326,0-515,5                 | 320,0-535,0             |
| 70                     | M±m     | 285,9±2,3                   | 287,2±2,1               | 428,2±3,3                   | 434,0±3,9               |
|                        | Min-Max | 219,0-397,0                 | 217,0-399,0             | 339,0-534,0                 | 336,0-574,0             |
| 77                     | M±m     | -                           | -                       | 447,6±3,7                   | 446,2±4,2               |
|                        | Min-Max | -                           | -                       | 350,0-547,0                 | 335,0-601,0             |
| 85                     | M±m     | -                           | -                       | 455,0±3,9                   | 459,1±3,7               |
|                        | Min-Max | -                           | -                       | 363,0-566,0                 | 349,0-616,0             |
| 92                     | M±m     | -                           | -                       | 459,0±3,5                   | 460,8±5,1               |
|                        | Min-Max | -                           | -                       | 366,0-559,0                 | 360,0-632,0             |
| 100                    | M±m     | -                           | -                       | 476,5±4,5                   | 475,5±4,6               |
|                        | Min-Max | -                           | -                       | 368,0-581,0                 | 386,0-647,0             |
| 107                    | M±m     | -                           | -                       | 485,9±9,5                   | 488,8±5,8               |
|                        | Min-Max | -                           | -                       | 389,0-596,0                 | 436,0-653,0             |

Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Таблица 120 – Эффективность спаривания крыс F<sub>0</sub>

| Группа   | Пол | Количество<br>ссаженных крыс* | Количество<br>забеременевших ♀/<br>оплодотворивших ♂ | Эффективность<br>спаривания, % |
|----------|-----|-------------------------------|--|--------------------------------|
| Контроль | ♀   | 183                           | 145  | 79                             |
|          | ♂   | 104                           | 99   | 95                             |
| Опыт     | ♀   | 181                           | 143  | 79                             |
|          | ♂   | 103                           | 100  | 97                             |

\* количество крыс, использованных в исследованиях постнатального развития потомства

Масса внутренних органов беременных самок поколения  $F_0$  находилась в пределах физиологических колебаний, характерных для крыс линии Вистар (таблица 121) [48; 75; 82]. Отмечено повышение массы сердца у самок опытных групп по сравнению с контролем на 5% ( $p < 0,05$ ). Массы прочих внутренних органов у самок контрольных и опытных групп не имели значимых различий. Согласно данным собственных исследований (раздел 5.1), в норме диапазон колебаний абсолютной массы сердца у беременных самок составляет 0,585-1,900 г, поэтому выявленные различия можно объяснить фактором случайности выборки. Обзорные макроскопические исследования не выявили каких-либо патологических изменений внутренних органов.

Таблица 121 – Масса внутренних органов беременных самок  $F_0$

| Показатели   |         | Группа           |              | Интегрированный контроль |
|--------------|---------|------------------|--------------|--------------------------|
|              |         | Контроль<br>N=69 | Опыт<br>N=73 |                          |
| Печень       | M±m     | 12,89±0,26       | 12,65±0,26   | 7,63-20,33               |
|              | Min-Max | 9,23-17,06       | 8,29-19,12   |                          |
| Почки        | M±m     | 1,966±0,042      | 1,933±0,041  | 1,11-3,63                |
|              | Min-Max | 1,316-3,000      | 1,202-3,190  |                          |
| Селезенка    | M±m     | 0,943±0,046      | 0,874±0,032  | 0,398-2,530              |
|              | Min-Max | 0,398-1,988      | 0,445-1,951  |                          |
| Сердце       | M±m     | 0,988±0,016      | 1,037±0,018* | 0,585-1,900              |
|              | Min-Max | 0,585-1,360      | 0,763-1,610  |                          |
| Легкие       | M±m     | 1,570±0,040      | 1,643±0,037  | 0,964-4,457              |
|              | Min-Max | 0,997-2,720      | 1,235-2,920  |                          |
| Тимус        | M±m     | 0,433±0,019      | 0,444±0,015  | 0,142-0,920              |
|              | Min-Max | 0,161-0,901      | 0,190-0,819  |                          |
| Надпочечники | M±m     | 0,071±0,002      | 0,073±0,002  | 0,024-0,206              |
|              | Min-Max | 0,048-0,120      | 0,047-0,120  |                          |
| Яичники      | M±m     | 0,116±0,003      | 0,117±0,003  | 0,037-0,324              |
|              | Min-Max | 0,077-0,160      | 0,063-0,170  |                          |

\* выявлены достоверные различия между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

При изучении эндокринной функции гонад самок на 20-й день беременности не было выявлено различий между группами, содержание эстрадиола, прогестерона, тестостерона в сыворотке крови находилось в пределах нормы [48; 66; 73; 75].

Таким образом, при изучении генеративной функции гонад самцов и самок, а также эндокринной функции яичников самок поколения  $F_0$ , не выявлено различий между животными, получавшими с рационом ГМ линии кукурузы и их традиционные аналоги. Эффективность спаривания, физиологическое протекание беременности, содержание половых гормонов в крови беременных самок всех групп находились в пределах нормы, что свидетельствует о нормальной генеративной и эндокринной функции половых желез экспериментальных животных [48; 66; 73; 75].

Отбор материала для исследований физиолого-биохимических показателей, характеризующих здоровье самцов F<sub>0</sub>, проводили на 97-113-й дни экспериментов. Данные измерения массы внутренних органов представлены в таблице 122.

Таблица 122 – Масса внутренних органов самцов F<sub>0</sub>

| Показатели   | Группа           |               | Интегрированный контроль |             |
|--------------|------------------|---------------|--------------------------|-------------|
|              | Контроль<br>N=80 | Опыт<br>N=79  |                          |             |
| 1            | 2                | 3             | 4                        |             |
| Почки        | Абс.             | 2,875±0,067   | 2,839±0,058              | 1,099-4,624 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 2,078-4,624   | 2,123-5,190              |             |
|              | Отн.             | 0,595±0,008   | 0,586±0,008              | 0,253-0,873 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 0,455-0,845   | 0,437-0,911              |             |
| Надпочечники | Абс.             | 0,037±0,001   | 0,035±0,001              | 0,019-0,113 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 0,019-0,057   | 0,023-0,051              |             |
|              | Отн.             | 0,0078±0,0002 | 0,0073±0,0002*           | 0,003-0,029 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 0,003-0,013   | 0,005-0,011              |             |
| Семенники    | Абс.             | 3,560±0,056   | 3,388±0,040*             | 1,460-5,511 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 2,783-5,511   | 2,241-4,348              |             |
|              | Отн.             | 0,741±0,009   | 0,706±0,008*             | 0,329-1,005 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 0,560-0,972   | 0,499-0,955              |             |
| Легкие       | Абс.             | 2,143±0,056   | 2,042±0,050              | 1,399-3,776 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 1,418-3,902   | 1,399-3,947              |             |
|              | Отн.             | 0,449±0,013   | 0,428±0,012              | 0,286-0,809 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 0,301-0,998   | 0,289-0,953              |             |
| Печень       | Абс.             | 11,62±0,16    | 11,74±0,17               | 7,90-18,10  |
|              | <i>Min-Max</i>   | 8,21-16,70    | 9,36-17,14               |             |
|              | Отн.             | 2,422±0,030   | 2,466-0,028±             | 2,13-3,92   |
|              | <i>Min-Max</i>   | 1,836-3,394   | 1,904-3,186              |             |
| Тимус        | Абс.             | 0,483±0,015   | 0,482±0,016              | 0,180-0,960 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 0,209-0,859   | 0,169-0,936              |             |
|              | Отн.             | 0,102±0,003   | 0,102±0,004              | 0,038-0,223 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 0,044-0,178   | 0,028-0,204              |             |
| Селезенка    | Абс.             | 1,064±0,044   | 1,035±0,038              | 0,581-2,964 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 0,536-2,467   | 0,514-1,842              |             |
|              | Отн.             | 0,225±0,011   | 0,218±0,009              | 0,127-0,790 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 0,121-0,579   | 0,118-0,427              |             |
| Сердце       | Абс.             | 1,342±0,019   | 1,309±0,016              | 0,890-1,808 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 1,070-1,808   | 1,049-1,824              |             |
|              | Отн.             | 0,280±0,003   | 0,273±0,003              | 0,227-0,404 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 0,238-0,404   | 0,236-0,326              |             |
| Простата     | Абс.             | 0,386±0,024   | 0,400±0,022              | 0,074-0,950 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 0,069-0,863   | 0,093-0,760              |             |
|              | Отн.             | 0,081±0,005   | 0,086±0,005              | 0,013-0,244 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 0,012-0,190   | 0,015-0,178              |             |
| Мозг         | Абс.             | 2,054±0,018   | 2,068±0,018              | 1,469-2,378 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 1,538-2,378   | 1,442-2,447              |             |
|              | Отн.             | 0,433±0,006   | 0,435±0,007              | 0,272-0,531 |
|              | <i>Min-Max</i>   | 0,272-0,531   | 0,306-0,584              |             |

| Продолжение таблицы 122 |                |               |               |               |
|-------------------------|----------------|---------------|---------------|---------------|
| 1                       | 2              | 3             | 4             |               |
| Гипофиз                 | Абс.           | 0,0092±0,0003 | 0,0093±0,0003 | 0,003-0,071   |
|                         | <i>Min-Max</i> | 0,004--0,016  | 0,005-0,016   |               |
|                         | Отн.           | 0,0020±0,0001 | 0,0020±0,0001 | 0,0006-0,0155 |
|                         | <i>Min-Max</i> | 0,0008-0,0033 | 0,0008-0,0036 |               |

\* выявлены достоверные различия между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Как показано в таблице 122, массы внутренних органов у крыс контрольной и опытной групп на протяжении экспериментов находились в пределах физиологических колебаний, характерных для животных данного вида [48; 59; 60; 75]. Исключение составляли массы надпочечников и семенников, у крыс опытных групп эти показатели были несколько ниже, чем у крыс контрольных групп: относительная масса надпочечников – на 6% ( $p < 0,05$ ), абсолютная и относительная массы семенников – на 5 и 5% ( $p < 0,05$ ). По данным собственных исследований (5.1), у половозрелых крыс в норме диапазон колебаний относительной массы надпочечников составляет 0,003-0,029 г/100 г, абсолютной и относительной массы семенников – 1,46-5,51 г и 0,329-1,005 г/100 г. Очевидно, что некоторое снижение массы семенников у крыс опытных групп никоим образом не влияло на их фертильность, которая была на 2% выше, чем у крыс контрольных групп (таблица 120). При визуальном осмотре внутренних органов патологических изменений не выявлено, размеры и форма органов сердечно-сосудистой, пищеварительной, мочеполовой, нервной, иммунной и эндокринной систем у крыс опытных групп не имели визуальных отличий от аналогичных показателей у крыс контрольных групп [48; 59; 60; 64; 65].

Результаты исследования морфологической картины периферической крови представлены в таблице 123. Состав периферической крови крыс контрольных и опытных групп находился в пределах нормы. Достоверные различия между группами отсутствовали за исключением некоторого повышения содержания эозинофилов в крови крыс опытной группы по сравнению с контролем – на 18% ( $p < 0,05$ ) [48; 59; 60]. По данным собственных исследований [35], в норме уровень эозинофилов в периферической крови половозрелых крыс колеблется в диапазоне от 1,4 до 5,0, поэтому выявленные различия между группами не выходили за пределы физиологических колебаний, характерных для крыс линии Вистар [48; 59; 60].

Биохимические показатели сыворотки крови представлены в таблице 124. Содержание общего белка, прямого билирубина и мочевины, а также активность альфа-амилазы в сыворотке крови крыс опытных групп были несколько выше, чем у контрольных животных – на 3, 10, 10 и 11% ( $p < 0,05$ ), соответственно. Содержание магния у опытных животных было на

4% ниже ( $p < 0,05$ ), чем у контрольных. Прочие изученные показатели не имели достоверных различий между группами. Отмеченные колебания вышеперечисленных показателей не выходили за границы нормы и, вероятно, обусловлены фактором случайности выборки [99; 252; 261; 262; 373]. Биохимические показатели мочи крыс контрольной и опытной групп не имели значимых различий и находились в пределах нормы [48; 59; 60].

Таблица 123 – Гематологические показатели самцов F<sub>0</sub>

| Показатели  |         | Группа           |              | Диапазон нормы | Интегрированный контроль |
|---|---------|------------------|--------------|----------------|--------------------------|
|   |         | Контроль<br>N=78 | Опыт<br>N=74 |                |                          |
| Общее количество эритроцитов, 10 <sup>12</sup> /л | M±m     | 9,046±0,064      | 9,093±0,089  | 4,4-8,9        | 7,51-9,94                |
|   | Min-Max | 5,610-9,970      | 7,580-14,100 |                |                          |
| Концентрация гемоглобина, г/л                     | M±m     | 158,7±1,11       | 160,4±0,9    | 86-173         | 135-177                  |
|   | Min-Max | 103-177          | 139-181      |                |                          |
| Гематокрит, %                                     | M±m     | 47,56±0,34       | 48,14±0,29   | 31,4-51,9      | 38,40- 52,00             |
|   | Min-Max | 30,3-52,0        | 40,7-54,4    |                |                          |
| Средний объем эритроцита, мкм <sup>3</sup>        | M±m     | 52,58±0,25       | 53,11±0,21   | 50,6-93,8      | 46,00-58,00              |
|   | Min-Max | 48,0-59,0        | 49,0-58,0    |                |                          |
| Среднее содержание Нб в эритроците, пг            | M±m     | 17,56±0,09       | 17,77±0,08   | 13,4-26,1      | 16,00-20,20              |
|   | Min-Max | 16,0-19,5        | 16,1-19,2    |                |                          |
| Средняя концентрация Нб в эритроците, г/л         | M±m     | 333,7±0,7        | 334,5±0,7    | 247-368        | 328-375                  |
|   | Min-Max | 321-345          | 319,0-349,0  |                |                          |
| Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л                     | M±m     | 8,570±0,417      | 9,044±0,329  | 1,4-34,3       | 4,40-19,10               |
|   | Min-Max | 3,50-19,40       | 4,00-17,60   |                |                          |
| Базофилы, %                                       | M±m     | 0,490±0,038      | 0,456±0,040  | 0              | 0,02-0,80                |
|   | Min-Max | 0-1,7            | 0,1-1,5      |                |                          |
| Эозинофилы, %                                     | M±m     | 3,559±0,175      | 4,193±0,193* | 0,0-5,5        | 1,00-6,10                |
|   | Min-Max | 1,4-9,9          | 1,9-11,0     |                |                          |
| Нейтрофилы, %                                     | M±m     | 26,36±0,83       | 25,17±0,98   | 0,4-53,8       | 5,00-46,80               |
|   | Min-Max | 9,3-47,9         | 10,4-48,4    |                |                          |
| Лимфоциты, %                                      | M±m     | 57,83±0,88       | 56,10±0,93   | 42,3-98,0      | 40,20-88,00              |
|   | Min-Max | 35,8-75,4        | 39,1-72,8    |                |                          |
| Моноциты, %                                       | M±m     | 11,69±0,55       | 13,25±0,66   | 0,0-7,9        | 1,50-17,55               |
|   | Min-Max | 3,60-26,10       | 5,80-28,80   |                |                          |
| Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л                    | M±m     | 646,9±10,6       | 662,8±13,2   | 409-1250       | 449-924                  |
|   | Min-Max | 375-861          | 410-1126     |                |                          |
| Средний объем тромбоцита, мкм <sup>3</sup>        | M±m     | 6,757±0,049      | 6,762±0,065  | 5,0-8,0        | 6,00-7,80                |
|   | Min-Max | 6,00-8,40        | 3,70-8,30    |                |                          |
| Тромбокрит, %                                     | M±m     | 0,437±0,007      | 0,450±0,009  | 0,2-0,5        | 0,29-0,60                |
|   | Min-Max | 0,250-0,628      | 0,247-0,793  |                |                          |

\* выявлены достоверные различия между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Таблица 124 – Биохимические показатели сыворотки крови самцов F<sub>0</sub>

| Показатели                 |         | Группа           |              | Диапазон норм    | Интегрированный контроль |
|----------------------------|---------|------------------|--------------|------------------|--------------------------|
|                            |         | Контроль<br>N=80 | Опыт<br>N=78 |                  |                          |
| 1                          |         | 2                | 3            | 4                | 5                        |
| Общий белок, г/л           | M±m     | 65,14±0,53       | 66,99±0,65*  | 56-82            | 53,9-97,6                |
|                            | Min-Max | 55,71-76,96      | 54,46-77,44  |                  |                          |
| Альбумин, г/л              | M±m     | 28,58±0,23       | 29,08±0,24   | 25-48            | 21,4-60,0                |
|                            | Min-Max | 21,37-33,40      | 20,56-34,14  |                  |                          |
| Глобулин, г/л              | M±m     | 36,56±0,51       | 37,91±0,56   | 12-57            | 11,2-62,9                |
|                            | Min-Max | 26,33-46,62      | 27,11-47,21  |                  |                          |
| Триглицериды, ммоль/л      | M±m     | 0,846±0,038      | 0,849±0,035  | 0,3-1,6          | 0,13-2,68                |
|                            | Min-Max | 0,334-1,918      | 0,429-1,994  |                  |                          |
| Общий билирубин, мкмоль/л  | M±m     | 4,096±0,133      | 4,196±0,129  | 1-4              | 0,89-9,00                |
|                            | Min-Max | 1,903-7,816      | 2,228-7,380  |                  |                          |
| Прямой билирубин, мкмоль/л | M±m     | 2,692±0,080      | 2,973±0,098* | -                | -                        |
|                            | Min-Max | 1,733-4,976      | 1,867-4,946  |                  |                          |
| Мочевина, ммоль/л          | M±m     | 5,839±0,182      | 6,450±0,170* | 4-10             | 2,25-10,60               |
|                            | Min-Max | 3,067-9,847      | 3,643-11,250 |                  |                          |
| Мочевая кислота, мкмоль/л  | M±m     | 57,56±1,81       | 63,12±2,22   | 12-118           | 23,9-103,4               |
|                            | Min-Max | 23,94-97,07      | 15,21-121    |                  |                          |
| Креатинин, мкмоль/л        | M±m     | 53,72±0,53       | 55,09±0,61   | 13-92            | 10,8-134,0               |
|                            | Min-Max | 43,70-67,84      | 42,88-66,84  |                  |                          |
| Глюкоза, ммоль/л           | M±m     | 7,357±0,180      | 7,314±0,135  | 4,5-10,0         | 3,07-10,92               |
|                            | Min-Max | 4,17-11,86       | 5,38-10,43   |                  |                          |
| Холестерин, ммоль/л        | M±m     | 1,758±0,046      | 1,792±0,037  | 0,6-4,3          | 0,11-4,39                |
|                            | Min-Max | 1,004-2,750      | 1,201-2,609  |                  |                          |
| Лактатдегидрогеназа, Е/л   | M±m     | 1225±29          | 1282±29      | до 5800          | 705-5712                 |
|                            | Min-Max | 728-2036         | 791-2257     |                  |                          |
| Альфа-амилаза, Е/л         | M±m     | 2294±70          | 2545±84*     | до 3207          | 496-7033                 |
|                            | Min-Max | 998-4090         | 1345-4447    |                  |                          |
| Креатинфосфокиназа, Е/л    | M±m     | 4299±233         | 4040±235     | 400 <sup>1</sup> | 491-21095                |
|                            | Min-Max | 933-9102         | 825-8920     |                  |                          |
| Щелочная фосфатаза, Е/л    | M±m     | 196,4±10,9       | 193,0±7,7    | 112-814          | 33-816                   |
|                            | Min-Max | 101,7-765,4      | 100,1-339,3  |                  |                          |
| АЛТ, Е/л                   | M±m     | 43,89±1,25       | 43,57±1,19   | 33-120           | 20-116                   |
|                            | Min-Max | 23,14-76,04      | 19,91-74,54  |                  |                          |
| АСТ, Е/л                   | M±m     | 151,7±4,7        | 155,6±5,2    | 60-236           | 79-457                   |
|                            | Min-Max | 41,5-235,3       | 45,5-252,6   |                  |                          |
| Кальций, ммоль/л           | M±m     | 2,695±0,031      | 2,709±0,032  | 1,1-6,6          | 1,60-3,16                |
|                            | Min-Max | 2,153-3,150      | 2,138-3,104  |                  |                          |
| Магний, ммоль/л            | M±m     | 0,850±0,008      | 0,816±0,007* | 1,0-1,5          | 0,41-2,74                |
|                            | Min-Max | 0,660-1,007      | 0,688-1,006  |                  |                          |
| Железо, мкмоль/л           | M±m     | 26,29±0,86       | 27,10±0,90   | 17,4-61,0        | 5,5-54,7                 |
|                            | Min-Max | 15,06-45,57      | 16,96-45,57  |                  |                          |
| Натрий, ммоль/л            | M±m     | 143,7±0,8        | 142,6±0,8    | 137-159          | 96-208                   |
|                            | Min-Max | 133,6-156,3      | 136,5-162,2  |                  |                          |
| Калий, ммоль/л             | M±m     | 5,722±0,059      | 5,792±0,045  | 3,9-7,2          | 3,3-10,5                 |
|                            | Min-Max | 4,736-6,833      | 5,196-6,385  |                  |                          |

| Продолжение таблицы 124 |         |             |             |         |           |
|-------------------------|---------|-------------|-------------|---------|-----------|
| 1                       |         | 2           | 3           | 4       | 5         |
| Фосфор, ммоль/л         | M±m     | 2,059±0,033 | 2,044±0,029 | 1,3-2,7 | 0,78-5,85 |
|                         | Min-Max | 1,352-2,711 | 1,503-2,607 |         |           |
| Хлор, ммоль/л           | M±m     | 103,0±0,4   | 102,6±0,5   | 97-115  | 46-224    |
|                         | Min-Max | 99,9-108,7  | 98,5-115,1  |         |           |

<sup>1</sup> Допустимые колебания значений, %

\* выявлены достоверные различия между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Показатели, характеризующие состояние антиоксидантного статуса, представлены в таблицах 125-126.

Таблица 125 – Активность ферментов системы антиоксидантной защиты самцов F<sub>0</sub>

| Показатели                               |         | Группа           |              | Интегрированный контроль |
|--|---------|------------------|--------------|--------------------------|
|  |         | Контроль<br>N=80 | Опыт<br>N=78 |                          |
| Глутатионредуктаза,<br>мкмоль/мин·г Hb   | M±m     | 33,95±0,63       | 33,37±0,58   | 18,10-73,73              |
|  | Min-Max | 18,74-45,71      | 17,98-46,01  |                          |
| Глутатионпероксидаза,<br>мкмоль/мин·г Hb | M±m     | 53,60±0,74       | 55,05±0,63   | 43,40-94,64              |
|  | Min-Max | 40,94-72,15      | 42,33-65,51  |                          |
| Каталаза,<br>ммоль/мин·г Hb              | M±m     | 524,3±10,6       | 514,2±12,5   | 278,9-816,0              |
|  | Min-Max | 330,2-724,8      | 257,5-704,6  |                          |
| Супероксиддисмутаза,<br>ЕД/мин·г Hb      | M±m     | 1716±20          | 1684±17      | 1262-2893                |
|  | Min-Max | 1309-2678        | 1352-1990    |                          |

Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Таблица 126 – Содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови и печени самцов F<sub>0</sub>

| Показатели                  |         | Группа           |              | Интегрированный контроль |
|-----------------------------|---------|------------------|--------------|--------------------------|
|                             |         | Контроль<br>N=80 | Опыт<br>N=78 |                          |
| э р и т р о ц и т ы         |         |                  |              |                          |
| МДА, нмоль/мл               | M±m     | 5,290±0,138      | 5,191±0,151  | 2,020-9,492              |
|                             | Min-Max | 2,712-8,924      | 3,116-9,347  |                          |
| с ы в о р о т к а к р о в и |         |                  |              |                          |
| МДА, нмоль/мл               | M±m     | 7,485±0,137      | 7,746±0,142  | 2,115-9,807              |
|                             | Min-Max | 4,904-10,769     | 5,192-10,480 |                          |
| п е ч е н ь                 |         |                  |              |                          |
| МДА, нмоль/г                | M±m     | 377,0±9,6        | 393,3±9,3    | 214,1-855,1              |
|                             | Min-Max | 243,6-624,4      | 260,3-671,8  |                          |

Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Как видно из таблиц 125-126, активность ферментов системы антиоксидантной защиты эритроцитов и содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови и печени крыс контрольных и опытных групп не имели статистически значимых различий. Значения изученных показателей находились в пределах физиологических колебаний, характерных для

крыс. Принимая во внимание отсутствие различий между группами, можно сделать вывод, что длительное употребление с рационом ГМ линий кукурузы не оказывало влияния на антиоксидантный статус экспериментальных животных [48; 59; 60].

В этих же экспериментах, в наших совместных исследованиях с Кравченко Л.В., Авреньева Л.И., Гусевой Г.В. [59; 60; 61], не было выявлено статистически достоверных различий между контрольными и опытными группами при изучении функционального состояния систем, осуществляющих защиту организма от воздействия токсичных соединений экзогенного и эндогенного происхождения – активности ферментов 1-й и 2-й фазы метаболизма ксенобиотиков, общая и неседиментируемая активность ферментов лизосом печени [48; 59; 60].

Таким образом, при изучении физиолого-биохимических показателей, характеризующих здоровье самцов  $F_0$ , не было выявлено значимых различий между животными, получавшими с рационом ГМ линии кукурузы и их традиционные аналоги. Результаты исследований антиоксидантного статуса, а также активности ферментов метаболизма ксенобиотиков и ферментов лизосом, свидетельствуют о наличии оптимального баланса защитно-адаптационных возможностей организма экспериментальных животных [48; 59; 60].

Анализ пренатального развития потомства  $F_1$  (таблица 127), не выявил значимых различий между опытными и контрольными группами: количество желтых тел, мест имплантации, количество живых и мертвых плодов, количество резорбций, пред- и постимплантационная гибель эмбрионов находились в пределах физиологических колебаний, характерных для крыс линии Вистар [48; 66; 73; 75; 82].

Зоометрические показатели плодов и масса внутренних органов плодов (таблица 128) варьировали в пределах физиологической нормы [236; 321; 354], отмечено небольшое повышение массы легких у плодов опытной группы по сравнению с контролем: абсолютной – на 3% ( $p < 0,05$ ), относительной – на 4% ( $p < 0,05$ ). Согласно данным собственных исследований (раздел 5.1), в норме колебания массы легких у плодов на 20-й день пренатального развития могут составлять от 0,020 до 0,213 г и 0,761-5,789 г/100 г массы тела, поэтому выявленные различия можно объяснить естественными вариациями размеров внутренних органов обследованных плодов [48; 66; 73; 75; 82].

При оценке развития скелета плодов  $F_1$  по методу Dawson A.B. [77; 130] аномалий развития не выявлено. Длина участков ossификации в закладках костей конечностей и черепа плодов  $F_1$  не имела значимых различий между группами (таблица 129). При обследовании плодов  $F_1$  по методу Wilson J.G. [77; 406] аномалий развития внутренних органов выявлено не было. Следовательно, формирование нервной, сенсорной, сердечно-сосудистой, дыхательной,

пищеварительной, мочевыделительной, половой, локомоторной, у плодов контрольных и опытных групп протекало без особенностей (таблица 130) [48; 66; 73; 75; 82].

Таблица 127 – Пренатальное развитие потомства F<sub>1</sub>

| Регистрируемые показатели   |         | Группа     |            | Интегрированный контроль |
|-----------------------------|---------|------------|------------|--------------------------|
|                             |         | Контроль   | Опыт       |                          |
| Количество беременных самок |         | 67         | 73         | -                        |
| Количество желтых тел       | Всего   | 1067       | 1083       | 5-23                     |
|                             | M±m     | 15,46±0,35 | 14,84±0,30 |                          |
|                             | min-max | 10-23      | 7-23       |                          |
| Количество мест имплантации | Всего   | 826        | 880        | 3-18                     |
|                             | M±m     | 11,97±0,34 | 12,05±0,37 |                          |
|                             | min-max | 4-18       | 2-18       |                          |
| Количество живых плодов     | Всего   | 753        | 813        | 2-18                     |
|                             | M±m     | 10,91±0,40 | 11,14±0,38 |                          |
|                             | min-max | 3-18       | 2-17       |                          |
| Количество резорбций        | Всего   | 73         | 67         | 0-10                     |
|                             | M±m     | 1,06±0,19  | 0,92±0,16  |                          |
|                             | min-max | 0-8        | 0-6        |                          |
| Количество мертвых плодов   |         | -          | -          | -                        |
| Предимплантационная гибель  |         |            |            |                          |
| %                           | M±m     | 20,69±2,43 | 17,94±2,30 | 0-80                     |
|                             | min-max | 0-83       | 0-89       |                          |
| Абс.                        | Всего   | 241        | 203        | 0-13                     |
|                             | M±m     | 3,49±0,46  | 2,78±0,37  |                          |
|                             | min-max | 0-19       | 0-17       |                          |
| Постимплантационная гибель  |         |            |            |                          |
| %                           | M±m     | 9,30±1,76  | 7,58±1,43  | 0-100                    |
|                             | min-max | 0-67       | 0-57       |                          |
| Абс.                        | Всего   | 73         | 67         | 0-10                     |
|                             | M±m     | 1,06±0,19  | 0,92±0,16  |                          |
|                             | min-max | 0-8        | 0-6        |                          |

Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Таким образом, результаты исследований пренатального развития потомства F<sub>1</sub> опытных и контрольных групп свидетельствуют об отсутствии различий между животными, получавшими с рационом ГМ и традиционные линии кукурузы. Зоометрические показатели соответствовали физиологической норме, аномалий развития плодов не выявлено [48; 66; 73; 75; 82].

Постнатальное развитие потомства F<sub>1</sub> характеризовалось высокой выживаемостью во всех группах: в период с 1-го по 5-й дни жизни выживаемость составляла 99%, в период с 6-го по 25-й дни жизни – 97-98% (таблица 131). Согласно данным литературы, линия Вистар в целом характеризуется относительной вариабельностью ряда показателей репродуктивной функции (таблица 79), поэтому 97-99 %-ная выживаемость потомства соответствовала оптимальному уровню для крыс данной линии. Средняя величина пометов, соотношение

самцов и самок в пометах находилась в пределах физиологических колебаний (таблица 131) [48; 66; 73; 75; 82].

Таблица 128 – Зоометрические показатели плодов F<sub>1</sub> на 20-й день пренатального развития

| Показатели                   |         | Группа               |                  | Интегрированный контроль |
|------------------------------|---------|----------------------|------------------|--------------------------|
|                              |         | Контрольная<br>N=339 | Опытная<br>N=349 |                          |
| Масса тела, г                | M±m     | 3,876±0,034          | 3,863±0,035      | 1,51-6,12                |
|                              | Min-max | 2,275-5,800          | 1,610-5,965      |                          |
| Кранио-каудальный размер, см | M±m     | 3,712±0,016          | 3,706±0,015      | 2,4-5,1                  |
|                              | Min-max | 2,8-4,5              | 2,4-4,8          |                          |
| Масса печени                 | Абс.    | 0,299±0,005          | 0,294±0,004      | 0,058-0,648              |
|                              | Min-max | 0,102-0,648          | 0,084-0,536      |                          |
|                              | Отн.    | 7,654±0,087          | 7,574±0,083      | 2,08-13,68               |
|                              | Min-max | 2,684-12,610         | 3,836-13,888     |                          |
| Масса почек                  | Абс.    | 0,0303±0,0004        | 0,0293±0,004     | 0,006-0,098              |
|                              | Min-max | 0,014-0,059          | 0,011-0,056      |                          |
|                              | Отн.    | 0,780±0,008          | 0,760±0,008      | 0,227-2,538              |
|                              | Min-max | 0,439-1,740          | 0,305-1,342      |                          |
| Масса сердца                 | Абс.    | 0,0225±0,0003        | 0,0218±0,0003    | 0,005-0,050              |
|                              | Min-max | 0,011-0,039          | 0,012-0,038      |                          |
|                              | Отн.    | 0,584±0,007          | 0,572±0,007      | 0,184-1,598              |
|                              | Min-max | 0,310-1,003          | 0,327-1,030      |                          |
| Масса легких                 | Абс.    | 0,119±0,001          | 0,123±0,001*     | 0,020-0,213              |
|                              | Min-max | 0,050-0,178          | 0,047-0,204      |                          |
|                              | Отн.    | 3,073±0,025          | 3,194±0,030*     | 0,761-5,789              |
|                              | Min-max | 1,604-4,726          | 1,681-6,418      |                          |

\* выявлены достоверные различия между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Таблица 129 – Длина участков ossификации в закладках костей плодов F<sub>1</sub>

| Показатели               |         | Группа           |              | Интегрированный контроль |
|--------------------------|---------|------------------|--------------|--------------------------|
|                          |         | Контроль<br>N=43 | Опыт<br>N=43 |                          |
| Нижняя челюсть, мм       | M±m     | 8,016±0,182      | 7,843±0,175  | 5,8-12,0                 |
|                          | Min-max | 2,100-10,266     | 2,100-9,654  |                          |
| Плечевая кость, мм       | M±m     | 3,479±0,053      | 3,427±0,048  | 2,1-5,3                  |
|                          | Min-max | 2,100-4,195      | 2,100-4,185  |                          |
| Локтевая кость, мм       | M±m     | 3,632±0,056      | 3,592±0,059  | 2,3-5,7                  |
|                          | Min-max | 2,100-4,646      | 2,100-4,385  |                          |
| Лучевая кость, мм        | M±m     | 2,776±0,047      | 2,677±0,046  | 1,9-6,4                  |
|                          | Min-max | 2,000-3,633      | 1,780-3,432  |                          |
| Бедренная кость, мм      | M±m     | 2,717±0,042      | 2,691±0,048  | 1,5-4,3                  |
|                          | Min-max | 2,050-3,522      | 2,070-3,532  |                          |
| Большеберцовая кость, мм | M±m     | 2,969±0,050      | 3,013±0,056  | 1,7-4,9                  |
|                          | Min-max | 2,100-3,823      | 2,100-3,863  |                          |
| Малоберцовая кость, мм   | M±m     | 2,966±0,049      | 2,819±0,047  | 1,8-4,9                  |
|                          | Min-max | 2,100-3,723      | 2,100-3,623  |                          |

Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Таблица 130 – Развитие внутренних органов плодов F<sub>1</sub>

| Анатомические структуры (срезы)  | Группа           |                                   |
|--|------------------|-----------------------------------|
|  | Контроль<br>n=60 | Опыт<br>n=60                      |
| 1 – нижняя челюсть, язык, ротовая и носовая полости  | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 2 – глазные яблоки, обонятельные луковицы  | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 3 – кора больших полушарий, боковые и третий желудочки головного мозга   | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 4 – мозжечок, четвертый желудочек  | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 5 – гортань, пищевод, спинной мозг, позвоночник, подчелюстные слюнные железы   | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 6 – спинной мозг, позвоночник, пищевод, трахея   | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 7 – сердце, легкие, бронхи, спинной мозг, позвоночник  | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 8 – печень, диафрагма, спинной мозг  | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 9 – (а) почки, печень, желудок, кишечник;<br>(б) органы таза: почки, мочевого пузыря, прямая кишка, внутренние половые органы (у самок – матка с яйчниками, у самцов – яички с придатками) | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |

Как видно из таблицы 132, масса тела крысят опытных групп на 2-й день жизни была на 2% ( $p < 0,05$ ) ниже, а на 25-й день жизни – на 1% ( $p < 0,05$ ) ниже, чем у крысят контрольной группы, при этом в период с 5-го по 20-й дни жизни различия между группами отсутствовали. Рост крысят опытной группы на 2-й, 5-й и 25-й день жизни был, соответственно, на 1, 1 и 1% ( $p < 0,05$ ) ниже, чем у крысят контрольной группы, при этом с 10-го и 20-й дни жизни различия между группами отсутствовали. В абсолютных величинах выявленные различия массы тела составляли 0,16 и 0,88 г, роста – 0,04, 0,03 и 0,06 см. В соответствии с данными собственных исследований (раздел 5.1) в норме колебания роста крысят первого месяца жизни могут составлять от 4,4 до 61,1 г и от 1,6 до 6,4 см, поэтому выявленные различия между группами не выходили за пределы физиологических колебаний, характерных для крыс линии Вистар [48; 66; 73; 75; 82].

Параметры физического развития потомства F<sub>1</sub> – сроки отлипания ушных раковин, появления волосяного покрова, прорезывания резцов и др. (таблица 133), не имели значимых

различий и соответствовали норме, характерной для крыс линии Вистар [151; 177; 278; 299; 306; 354].

Таблица 131 – Постнатальное развитие потомства F<sub>1</sub>

| Показатели   |         | Группа      |            |
|--|---------|-------------|------------|
|  |         | Контрольная | Опытная    |
| Общее количество забеременевших самок  |         | 120         | 118        |
| Общее количество родивших самок  |         | 120         | 118        |
| Общее количество пометов, уничтоженных материнским животным в 1-й день жизни |         | 1           | 2          |
| Общее количество крысят  |         | 1403        | 1398       |
| Из них мертворожденных   |         | 2           | 4          |
| Средняя величина помета  | M±m     | 11,24±1,00  | 12,01±0,26 |
|  | Min-Max | 1-17        | 2-18       |
| Соотношение ♂/♀, %   |         | 51/49       | 50/50      |
| <b>Выживаемость потомства</b>  |         |             |            |
| Выживаемость с 1-го по 5-й дни жизни, %                                      |         | 99%         | 99%        |
| количество живых (исходное) / количество умерших                             |         | 1403/18     | 1398/17    |
| Выживаемость с 6-го по 25-й дни жизни, %                                     |         | 97%         | 98%        |
| количество живых (исходное) / количество умерших                             |         | 1385/39     | 1381/25    |

Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Таблица 132 – Динамика массы тела и роста потомства F<sub>1</sub> в 1-й месяц жизни

| Группа        |         | Дни жизни  |            |             |            |            |             |
|---------------|---------|------------|------------|-------------|------------|------------|-------------|
|               |         | 2          | 5          | 10          | 15         | 20         | 25          |
| Масса тела, г |         |            |            |             |            |            |             |
| Контроль      | M±m     | 6,66±0,02  | 10,53±0,04 | 19,48±0,099 | 29,88±0,14 | 42,38±0,20 | 62,81±0,28  |
|               | Min-Max | 3,5-9,6    | 4,4-16,0   | 5,5-30,2    | 10,0-45,8  | 20,2-63,6  | 32,0-96,0   |
| Опыт          | M±m     | 6,50±0,02* | 10,55±0,04 | 19,53±0,09  | 30,03±0,14 | 41,92±0,20 | 61,93±0,28* |
|               | Min-Max | 3,8-9,2    | 5,8-16,5   | 6,3-30,6    | 12,0-50,1  | 17,3-74,2  | 27,5-101,5  |
| Рост, см      |         |            |            |             |            |            |             |
| Контроль      | M±m     | 5,36±0,01  | 6,43±0,01  | 8,03±0,02   | 9,63±0,02  | 11,31±0,02 | 12,92±0,02  |
|               | Min-Max | 4,4-6,4    | 4,8-8,5    | 4,6-10,5    | 6,9-12,0   | 8,9-13,1   | 10,5-15,0   |
| Опыт          | M±m     | 5,32±0,01* | 6,40±0,01* | 8,04±0,01   | 9,61±0,02  | 11,28±0,02 | 12,86±0,02* |
|               | Min-Max | 4,3-6,3    | 4,9-7,9    | 5,2-9,7     | 6,6-11,5   | 8,5-13,1   | 9,5-15,3    |

Здесь и в таблице 133 n = все крысята

\* выявлены достоверные различия между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Таблица 133 – Физическое развитие потомства F<sub>1</sub> в 1-й месяц жизни

| Показатели                         |         | Группа     |            | Норма по [77] |
|------------------------------------|---------|------------|------------|---------------|
|                                    |         | Контроль   | Опыт       |               |
| Отлипание ушных раковин, день      | M±m     | 2,79±0,04  | 2,86±0,04  | со 2-го дня   |
|                                    | Min-Max | 2,0-3,5    | 2,0-3,5    |               |
| Появление волосяного покрова, день | M±m     | 6,74±0,09  | 6,87±0,09  | с 5-го дня    |
|                                    | Min-Max | 4,0-9,0    | 4,0-9,5    |               |
| Прорезывание резцов, день          | M±m     | 9,47±0,07  | 9,59±0,07  | с 6-го дня    |
|                                    | Min-Max | 8,0-11,0   | 6,5-14,0   |               |
| Открытие глаз, день                | M±m     | 14,74±0,07 | 14,78±0,08 | с 12-го дня   |
|                                    | Min-Max | 14,0-17,0  | 13,5-18,0  |               |
| Опускание семенников, день         | M±m     | 24,27±0,10 | 24,22±0,10 | с 18-го дня   |
|                                    | Min-Max | 21,5-26,0  | 21,5-26,0  |               |
| Открытие влагалища, день           | M±m     | 31,54±0,10 | 31,53±0,10 | с 28-го дня   |
|                                    | Min-Max | 28,5-33,5  | 28,5-36,0  |               |

Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Результаты исследований постнатального развития потомства F<sub>1</sub> опытных и контрольных групп свидетельствуют об отсутствии различий между животными, получавшими с рационом ГМ и традиционные линии кукурузы. Физическое развитие потомства находилось в пределах физиологической нормы, выживаемость потомства во всех группах соответствовала оптимальному уровню для крыс данной линии [48; 66; 73; 75; 82].

Таким образом, обобщенные результаты токсикологических исследований кукурузы линий 5307, MON89034, 1507, MZHGOJG, DAS-40278-9 и их традиционных аналогов в экспериментах на крысах, во время которых были изучены репродуктивная функция, пре- и постнатальное развитие потомства, интегральные, гематологические, биохимические, морфологические показатели, а также системные биомаркеры, не выявили какого-либо токсического действия ГМ линий кукурузы по сравнению с их традиционными аналогами [48; 66; 73; 75; 82].

### 5.7.2.2 Генотоксикологические исследования

На протяжении экспериментов не было отмечено гибели мышей контрольной и опытной групп, общее состояние животных всех групп было удовлетворительным. По внешнему виду, качеству шерстного покрова, поведению и скорости роста мыши, в рацион которых была включена ГМ кукуруза, не отличались от контрольных животных. Поедаемость корма не имела достоверных различий между группами [52; 64; 65].

Результаты цитогенетического исследования костного мозга и оценки целостности структуры ДНК представлены в таблицах 134-135.

Таблица 134 – Хромосомные повреждения в клетках костного мозга мышей

| Группа   | Количество клеток | на 100 клеток |                      |                   |         |              | Всего поврежденных метафаз, % |
|----------|-------------------|---------------|----------------------|-------------------|---------|--------------|-------------------------------|
|          |                   | Гепов         | одиночных фрагментов | парных фрагментов | обменов | клеток с МП* |                               |
| Контроль | 2500              | 0,8           | 1,1                  | 0,04              | -       | 0,04         | 2,0±0,6                       |
| Опыт     | 2500              | 1,0           | 1,0                  | -                 | -       | -            | 2,0±0,6                       |

\* более пяти хромосомных aberrаций в клетке (МП – множественные повреждения) [64; 65; 69]  
Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Таблица 135 – Уровень повреждений структуры ДНК (% ДНК) в органах мышей

| Исследуемый орган,<br>количество клеток | Группа  | Группа          |              |
|---|---------|-----------------|--------------|
|   |         | Контроль n = 15 | Опыт n = 15  |
| Печень,<br>3000 клеток                  | M±m     | 7,532±0,560     | 6,804±0,534  |
|   | Min-Max | 3,656-13,292    | 3,146-10,839 |
| Почки,<br>3000 клеток                   | M±m     | 8,610±0,694     | 8,003±0,460  |
|   | Min-Max | 5,767-14,688    | 5,609-11,188 |
| Костный мозг,<br>3000 клеток            | M±m     | 7,832±0,461     | 7,562±0,500  |
|   | Min-Max | 4,683-10,341    | 3,982-10,825 |
| Прямая кишка,<br>2000 клеток            | M±m     | 8,818±0,461     | 8,037±0,283  |
|   | Min-Max | 5,032-11,514    | 5,858-9,904  |

Не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами при  $p < 0,05$

Как видно из таблиц 134-135, средние показатели хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей контрольных и опытных групп не имели достоверных различий и не превышали уровень спонтанного мутагенеза, характерного для мышей линии C57Bl/6; при сравнении показателей, характеризующих уровень повреждений структуры ДНК в костном мозге, печени, почках и прямой кишке мышей, не было выявлено различий между группами [64; 65; 69].

Таким образом, обобщенные результаты генотоксикологических исследований ГМ кукурузы линий 5307, MON89034, 1507, MZHGOJG, DAS-40278-9 и их традиционных аналогов в экспериментах на мышах, во время которых были изучены целостность структуры ДНК и уровень хромосомных aberrаций, не выявили какого-либо генотоксического действия ГМ кукурузы по сравнению с их традиционными аналогами [64; 65; 69].

### 5.7.2.3 Аллергологические исследования

На протяжении исследований общее состояние крыс всех групп было удовлетворительным. По внешнему виду, состоянию шерстного покрова, поведению и скорости роста животные, в рацион которых была включена ГМ кукуруза, не отличались от животных контрольных групп [52; 64; 65].

Показано, что тяжесть реакции анафилактического шока и интенсивность гуморального иммунного ответа (уровень специфических IgG антител к овальбумину) у крыс опытных групп не имели статистически достоверных отличий от аналогичных показателей у крыс контрольных групп. Анализ распределений изучаемых показателей в группах, выполненный с использованием критерия ANOVA, указывает на их однородность ( $p > 0,05$ ) [64; 65; 69].

Таким образом, обобщенные результаты аллергологических исследований кукурузы линий 5307, MON89034, 1507, MZHG0JG, DAS-40278-9 и их традиционных аналогов, во время которых была воспроизведена модель системной анафилаксии и изучены показатели тяжести активного анафилактического шока и интенсивность гуморального иммунного ответа, не выявили какого-либо аллергенного действия ГМ кукурузы по сравнению с их традиционными аналогами [64; 65; 69].

---

**Результаты комплексных медико-биологических исследований генно-инженерно-модифицированных линий кукурузы 5307, MON89034, 1507, MZHG0JG, DAS-40278-9, свидетельствуют об отсутствии у этих линий токсического, генотоксического, и аллергенного действия, что, наряду с данными экспертной оценки представленных материалов и анализа композиционной эквивалентности ГМО и их традиционных аналогов, позволило рекомендовать их для государственной регистрации в Российской Федерации.**

### 5.7.3 Результаты токсиколого-гигиенической оценки сои с комбинированными признаками линии MON87701×MON89788

ГМ линия сои MON87701×MON89788 является гибридом двух ГМ линий MON87701 и MON89788, полученным методом традиционной селекции.

#### 5.7.3.1 Токсикологические исследования

Токсикологические исследования продолжительностью 182 дня проведены на крысах поколений F<sub>0</sub> (по 60 самок и 25 самцов в контрольной и опытной группах) и F<sub>1</sub> (133 плода и 298 крысят в контрольной группе, 184 плода и 296 крысят в опытной группе).

Общее состояние крыс родительского поколения F<sub>0</sub> было удовлетворительным: по внешнему виду, качеству шерстного покрова, поведению и скорости роста самки и самцы опытной группы не отличались от животных контрольной группы. Ежедневный прирост массы тела крыс обеих групп в возрасте 30-210 дней (таблица 136) соответствовал уровню прироста, характерному для крыс линии Вистар [209; 210; 307; 321]. Поедаемость корма самками обеих групп составляла 17-19 г/крысу/сут. – в начале эксперимента и 24-26 г/крысу/сут. – в период беременности; поедаемость корма самцами составляла 19-22 г/крысу/сут. на протяжении всего эксперимента [48].

Эффективность спаривания (таблица 137) самок контрольной и опытной групп соответствовала оптимальной при данных условиях эксперимента и составляла 88-90%. Количество условно стерильных (неоплодотворивших) самцов в контрольной и опытной группах соответствовало физиологической норме и составляло 6% [48; 279].

Общее состояние самок F<sub>0</sub> во время беременности было удовлетворительным, по внешнему виду, качеству шерстного покрова и поведению самки опытной группы не отличались от контрольных животных. Ежедневный прирост массы тела самок с 1-го по 20-й дни беременности не имел значимых различий между группами (рисунок 60) [48].

Таблица 136 – Динамика массы тела крыс F<sub>0</sub>

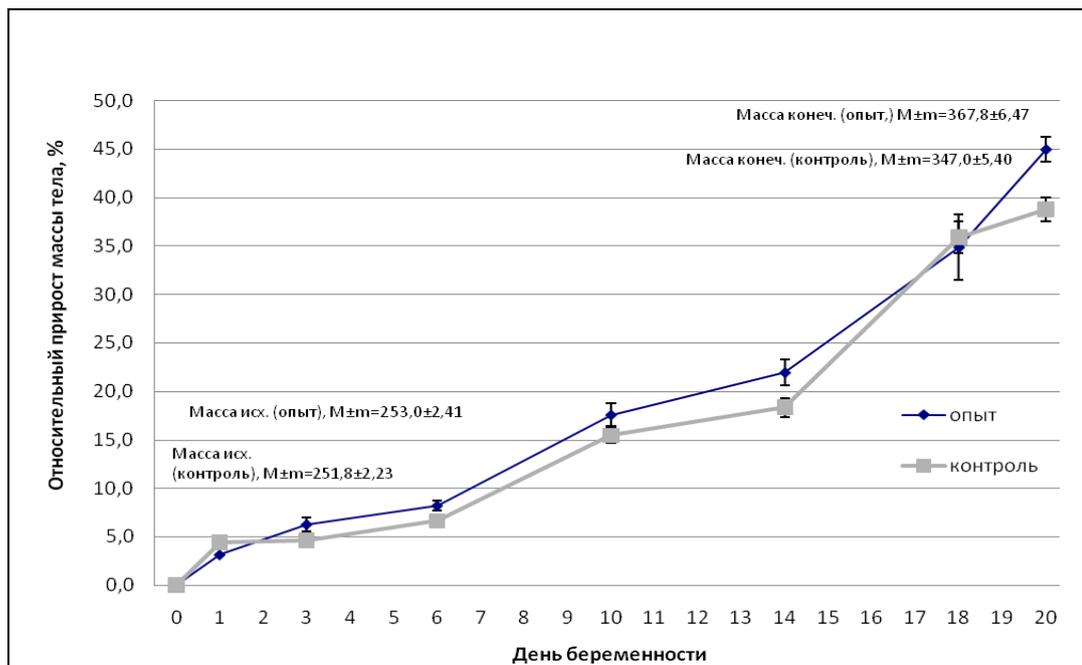
| Срок эксперимента, дни |         | Масса тела самок, г        |                        | Масса тела самцов, г       |                        |
|------------------------|---------|----------------------------|------------------------|----------------------------|------------------------|
|                        |         | Контрольная группа<br>N=60 | Опытная группа<br>N=60 | Контрольная группа<br>N=25 | Опытная группа<br>N=25 |
| 1                      |         | 2                          | 3                      | 4                          | 5                      |
| 0                      | M±m     | 88,48±1,18                 | 88,48±1,17             | 87,44±0,78                 | 87,42±0,82             |
|                        | Min-Max | 73-107                     | 73-107                 | 81-95                      | 81-95                  |
| 7                      | M±m     | 132,48±1,56                | 128,27±1,83            | 129,64±1,96                | 124,35±2,16            |
|                        | Min-Max | 99-158                     | 102-161                | 107-145                    | 87-143                 |
| 14                     | M±m     | 152,27±2,32                | 147,93±2,13            | 165,60±3,24                | 160,35±4,11            |
|                        | Min-Max | 74-186                     | 101-192                | 128-201                    | 81-195                 |
| 21                     | M±m     | 174,71±2,05                | 170,67±2,43            | 209,48±4,90                | 202,12±3,58            |
|                        | Min-Max | 134-207                    | 129-216                | 167-260                    | 173-246                |

| Продолжение таблицы 136 |         |             |              |              |              |
|-------------------------|---------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| 1                       |         | 2           | 3            | 4            | 5            |
| 28                      | M±m     | 190,53±1,96 | 190,35±2,13  | 248,56±6,52  | 251,00±4,48  |
|                         | Min-Max | 144-227     | 156-223      | 200-318      | 219-300      |
| 35                      | M±m     | 202,81±2,19 | 206,72±2,13  | 284,28±7,32  | 288,60±5,88  |
|                         | Min-Max | 160-243     | 174-242      | 231-361      | 251-351      |
| 42                      | M±m     | 211,24±2,36 | 218,95±2,30* | 311,04±8,11  | 318,12±6,43  |
|                         | Min-Max | 168-256     | 184-260      | 243-397      | 277-379      |
| 49                      | M±m     | 222,32±2,49 | 234,20±2,35* | 338,08±9,23  | 347,92±6,87  |
|                         | Min-Max | 182-278     | 197-272      | 260-428      | 298-413      |
| 56                      | M±m     | 227,15±2,52 | 239,13±2,47* | 355,56±10,17 | 370,08±7,45  |
|                         | Min-Max | 186-278     | 193-277      | 275-458      | 314-440      |
| 63                      | M±m     | 231,15±2,61 | 243,67±2,57* | 368,96±10,79 | 387,24±8,27  |
|                         | Min-Max | 187-287     | 198-286      | 287-487      | 332-465      |
| 70                      | M±m     | 238,73±2,87 | 251,93±2,81* | 385,04±11,29 | 404,32±8,44  |
|                         | Min-Max | 187-297     | 206-304      | 303-501      | 341-478      |
| 77                      | M±m     | -           | -            | 396,68±11,63 | 421,60±9,19  |
|                         | Min-Max | -           | -            | 311-523      | 354-504      |
| 84                      | M±m     | -           | -            | 414,79±12,42 | 431,12±9,91  |
|                         | Min-Max | -           | -            | 304-540      | 342-522      |
| 91                      | M±m     | -           | -            | 424,63±12,81 | 444,20±10,90 |
|                         | Min-Max | -           | -            | 305-564      | 325-555      |
| 98                      | M±m     | -           | -            | 431,67±13,36 | 454,64±10,27 |
|                         | Min-Max | -           | -            | 306-583      | 365-560      |
| 105                     | M±m     | -           | -            | 439,25±13,51 | 469,36±10,26 |
|                         | Min-Max | -           | -            | 309-596      | 380-577      |
| 112                     | M±m     | -           | -            | 451,46±13,45 | 479,52±10,21 |
|                         | Min-Max | -           | -            | 338-618      | 383-576      |
| 119                     | M±m     | -           | -            | 462,58±13,84 | 487,48±10,15 |
|                         | Min-Max | -           | -            | 357-637      | 383-588      |
| 126                     | M±m     | -           | -            | 464,04±13,64 | 490,00±9,47  |
|                         | Min-Max | -           | -            | 366-594      | 388-580      |
| 133                     | M±m     | -           | -            | 476,40±14,12 | 499,44±10,03 |
|                         | Min-Max | -           | -            | 382-616      | 390-594      |
| 140                     | M±m     | -           | -            | 483,72±14,17 | 502,89±9,76  |
|                         | Min-Max | -           | -            | 385-641      | 402-600      |
| 147                     | M±m     | -           | -            | 488,19±13,68 | 507,96±9,39  |
|                         | Min-Max | -           | -            | 389-654      | 405-590      |
| 154                     | M±m     | -           | -            | 492,84±13,82 | 511,93±9,64  |
|                         | Min-Max | -           | -            | 397-661      | 409-609      |
| 161                     | M±m     | -           | -            | 492,36±13,28 | 516,81±9,56  |
|                         | Min-Max | -           | -            | 391-651      | 413-608      |
| 168                     | M±m     | -           | -            | 507,43±16,35 | 527,93±9,81  |
|                         | Min-Max | -           | -            | 409-670      | 423-614      |
| 175                     | M±m     | -           | -            | 512,76±17,67 | 533,85±10,12 |
|                         | Min-Max | -           | -            | 408-700      | 423-628      |
| 180                     | M±m     | -           | -            | 498,50±12,38 | 501,63±6,94  |
|                         | Min-Max | -           | -            | 440-588      | 457-548      |

\* выявлены достоверные различия между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

Таблица 137 – Эффективность спаривания крыс F<sub>0</sub>

| Группа   | Пол | Количество ссаженных крыс | Количество забеременевших ♀/оплодотворивших ♂ | Эффективность спаривания, % |
|----------|-----|---------------------------|---|-----------------------------|
| Контроль | ♀   | 32                        | 29 (+2 потенциально фертильные)               | 90 (97)                     |
|          | ♂   | 16                        | 15  | 94                          |
| Опыт     | ♀   | 32                        | 28 (+2 потенциально фертильные)               | 88 (94)                     |
|          | ♂   | 16                        | 15  | 94                          |

Рисунок 60 – Относительный прирост массы тела беременных крыс F<sub>0</sub>

Масса внутренних органов беременных самок поколения F<sub>0</sub> не имела значимых различий между контрольной и опытной группами и находилась в пределах физиологических колебаний, характерных для крыс линии Вистар (таблица 138) [48]. У самок опытной группы отмечено некоторое повышение массы сердца (на 10% при  $p < 0,05$ ) и яичников (на 17% при  $p < 0,05$ ). Поскольку масса яичников напрямую связана с количеством желтых тел, которое было выше у самок опытной группы (таблица 144), причина отмеченных различий не вызывает сомнений. Повышение массы сердца у крыс опытной группы также может быть опосредовано особенностями протекания беременности, а именно, количеством плодов в матках, которое было на 29% выше, чем у контрольных животных (таблица 144). Обеспечение маточно-плацентарного кровообращения для большего числа плодов повышает нагрузку на сердце, что могло привести к приспособительной гипертрофии в физиологических условиях [148; 263]. Общее состояние, внешний вид и обзорные макроскопические исследования внутренних органов не выявили каких-либо патологических изменений у самок обеих групп [48].

Таблица 138 – Масса внутренних органов беременных самок F<sub>0</sub>

| Показатели   |         | Группа           |                | Интегрированный контроль |
|--------------|---------|------------------|----------------|--------------------------|
|              |         | Контроль<br>N=14 | Опыт<br>N=15   |                          |
| Печень       | M±m     | 11,91±0,53       | 12,10±0,41     | 7,63-20,33               |
|              | Min-Max | 8,89-14,61       | 9,36-14,79     |                          |
| Почки        | M±m     | 1,506±0,038      | 1,536±0,054    | 1,11-3,63                |
|              | Min-Max | 1,231-1,745      | 1,301-1,942    |                          |
| Селезенка    | M±m     | 0,610±0,030      | 0,599±0,023    | 0,398-2,530              |
|              | Min-Max | 0,454-0,868      | 0,476-0,850    |                          |
| Сердце       | M±m     | 0,825±0,025      | 0,905±0,030*   | 0,585-1,900              |
|              | Min-Max | 0,636-1,019      | 0,734-1,170    |                          |
| Легкие       | M±m     | 1,448±0,086      | 1,803±0,185    | 0,964-4,457              |
|              | Min-Max | 1,050-2,231      | 1,131-3,648    |                          |
| Тимус        | M±m     | 0,387±0,032      | 0,376±0,032    | 0,142-0,920              |
|              | Min-Max | 0,205-0,666      | 0,231-0,600    |                          |
| Надпочечники | M±m     | 0,0621±0,0038    | 0,0638±0,0013  | 0,024-0,206              |
|              | Min-Max | 0,0400-0,0910    | 0,0561-0,0735  |                          |
| Яичники      | M±m     | 0,0902±0,0062    | 0,1059±0,0042* | 0,037-0,324              |
|              | Min-Max | 0,0317-0,1193    | 0,0733-0,1252  |                          |

\* выявлены достоверные различия между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

При изучении эндокринной функции гонад беременных самок на 20-й день беременности не было выявлено различий между группами, содержание эстрадиола, прогестерона и тестостерона находилось в пределах нормы [48].

Таким образом, при изучении генеративной функции гонад самцов и самок, а также эндокринной функции яичников самок поколения F<sub>0</sub>, не выявлено различий между животными, получавшими с рационом ГМ сою и ее традиционный аналог. Эффективность спаривания, физиологическое протекание беременности, содержание половых гормонов в крови беременных самок обеих групп находились в пределах нормы, что свидетельствует о нормальной генеративной и эндокринной функции половых желез экспериментальных животных [48; 66; 73; 75].

Отбор материала для исследований физиолого-биохимических показателей, характеризующих здоровье самцов F<sub>0</sub>, проводили на 182-й день эксперимента. Данные измерения массы внутренних органов представлены в таблице 139.

Как показано в таблице 139, массы внутренних органов у крыс контрольной и опытной групп не имели статистически значимых различий и находились в пределах физиологических колебаний, характерных для крыс. При визуальном осмотре внутренних органов патологических изменений не выявлено, размеры и форма органов сердечно-сосудистой, пищеварительной, мочеполовой, нервной, иммунной и эндокринной систем у крыс опытной группы не имели визуальных отличий от аналогичных показателей у крыс контрольной группы [48; 59; 60; 61; 64; 65; 69; 75; 82].

Таблица 139 – Масса внутренних органов самцов F<sub>0</sub>

| Показатели   |                | Группа        |               | Интегрированный контроль |
|--------------|----------------|---------------|---------------|--------------------------|
|              |                | Контроль      | Опыт          |                          |
| Почки        | Абс.           | 2,776±0,101   | 2,737±0,075   | 1,099-4,624              |
|              | <i>Min-Max</i> | 2,192-3,646   | 2,328-3,368   |                          |
|              | Отн.           | 0,557±0,016   | 0,546±0,012   | 0,253-0,873              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,458-0,705   | 0,464-0,634   |                          |
| Надпочечники | Абс.           | 0,0358±0,0023 | 0,0404±0,0026 | 0,019-0,113              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,0189-0,0531 | 0,0222-0,0622 |                          |
|              | Отн.           | 0,0072±0,0005 | 0,0081±0,0005 | 0,003-0,029              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,0038-0,0110 | 0,0044-0,0123 |                          |
| Семенники    | Абс.           | 3,909±0,084   | 3,697±0,081   | 1,460-5,511              |
|              | <i>Min-Max</i> | 3,393-4,453   | 3,311-4,497   |                          |
|              | Отн.           | 0,790±0,023   | 0,739±0,018   | 0,329-1,005              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,639-0,979   | 0,662-0,920   |                          |
| Легкие       | Абс.           | 1,914±0,079   | 1,990±0,072   | 1,399-3,776              |
|              | <i>Min-Max</i> | 1,424-2,603   | 1,661-2,668   |                          |
|              | Отн.           | 0,386±0,015   | 0,397±0,015   | 0,286-0,809              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,243-0,462   | 0,328-0,541   |                          |
| Печень       | Абс.           | 11,94±0,40    | 12,06±0,30    | 7,90-18,10               |
|              | <i>Min-Max</i> | 9,88-15,21    | 10,24-14,13   |                          |
|              | Отн.           | 2,393±0,046   | 2,404±0,050   | 2,13-3,92                |
|              | <i>Min-Max</i> | 2,077-2,781   | 2,058-2,751   |                          |
| Тимус        | Абс.           | 0,465±0,026   | 0,482±0,040   | 0,180-0,960              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,259-0,627   | 0,222-0,864   |                          |
|              | Отн.           | 0,095±0,006   | 0,096±0,008   | 0,038-0,223              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,048-0,143   | 0,047-0,172   |                          |
| Селезенка    | Абс.           | 1,431±0,057   | 1,415±0,042   | 0,581-2,964              |
|              | <i>Min-Max</i> | 1,126-1,831   | 1,103-1,729   |                          |
|              | Отн.           | 0,287±0,008   | 0,282±0,008   | 0,127-0,790              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,228-0,337   | 0,211-0,344   |                          |
| Сердце       | Абс.           | 1,504±0,038   | 1,493±0,043   | 0,890-1,808              |
|              | <i>Min-Max</i> | 1,264-1,776   | 1,221-1,807   |                          |
|              | Отн.           | 0,303±0,007   | 0,298±0,010   | 0,227-0,404              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,253-0,369   | 0,243-0,388   |                          |
| Простата     | Абс.           | 0,671±0,025   | 0,625±0,046   | 0,074-0,950              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,479-0,851   | 0,293-0,995   |                          |
|              | Отн.           | 0,135±0,005   | 0,125±0,009   | 0,013-0,244              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,101-0,163   | 0,062-0,182   |                          |
| Мозг         | Абс.           | 2,098±0,024   | 2,118±0,027   | 1,469-2,378              |
|              | <i>Min-Max</i> | 1,969-2,263   | 1,798-2,264   |                          |
|              | Отн.           | 0,424±0,012   | 0,423±0,008   | 0,272-0,531              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,351-0,507   | 0,363-0,483   |                          |
| Гипофиз      | Абс.           | 0,0128±0,0005 | 0,0115±0,0004 | 0,003-0,071              |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,0089-0,0158 | 0,0087-0,0138 |                          |
|              | Отн.           | 0,0026±0,0001 | 0,0023±0,0001 | 0,0006-0,0155            |
|              | <i>Min-Max</i> | 0,0019-0,0031 | 0,0018-0,0030 |                          |

Здесь и в таблицах 140-143 представлены средние данные от N = 16

\* выявлены достоверные различия между контрольной и опытной группами при p<0,05

Результаты исследования морфологической картины периферической крови представлены в таблице 140.

Таблица 140 – Гематологические показатели самцов F<sub>0</sub>

| Показатели  |         | Группа       |              | Диапазон нормы | Интегрированный контроль |
|---|---------|--------------|--------------|----------------|--------------------------|
|   |         | Контроль     | Опыт         |                |                          |
| Общее количество эритроцитов, 10 <sup>12</sup> /л | M±m     | 8,760±0,101  | 8,656±0,095  | 4,4-8,9        | 7,51-9,94                |
|   | Min-Max | 8,000-9,450  | 8,170-9,420  |                |                          |
| Концентрация гемоглобина, г/л                     | M±m     | 152,9±1,4    | 151,3±1,9    | 86-173         | 135-177                  |
|   | Min-Max | 141,0-163,0  | 137,0-167,0  |                |                          |
| Гематокрит, %                                     | M±m     | 45,19±0,41   | 44,94±0,54   | 31,4-51,9      | 38,40- 52,00             |
|   | Min-Max | 41,90-48,40  | 41,40-50,20  |                |                          |
| Средний объем эритроцита, мкм <sup>3</sup>        | M±m     | 51,63±0,46   | 51,88±0,49   | 50,6-93,8      | 46,00-58,00              |
|   | Min-Max | 48,00-55,00  | 48,00-56,00  |                |                          |
| Среднее содержание Hb в эритроците, пг            | M±m     | 17,49±0,16   | 17,51±0,18   | 13,4-26,1      | 16,00-20,20              |
|   | Min-Max | 16,10-18,70  | 16,10-18,60  |                |                          |
| Средняя концентрация Hb в эритроците, г/л         | M±m     | 338,5±1,1    | 336,8±1,1    | 247-368        | 328-375                  |
|   | Min-Max | 332,0-347,0  | 331,0-344,0  |                |                          |
| Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л                     | M±m     | 12,025±0,661 | 13,075±1,200 | 1,4-34,3       | 4,40-19,10               |
|   | Min-Max | 7,200-15,900 | 7,200-26,600 |                |                          |
| Базофилы, %                                       | M±m     | 0,606±0,083  | 0,644±0,093  | 0              | 0,02-0,80                |
|   | Min-Max | 0,200-1,400  | 0,200-1,600  |                |                          |
| Эозинофилы, %                                     | M±m     | 4,250±0,212  | 3,050±0,312* | 0,0-5,5        | 1,00-6,10                |
|   | Min-Max | 2,500-5,900  | 1,500-6,000  |                |                          |
| Нейтрофилы, %                                     | M±m     | 28,49±1,83   | 32,66±2,47   | 0,4-53,8       | 5,00-46,80               |
|   | Min-Max | 18,40-44,90  | 20,50-54,40  |                |                          |
| Лимфоциты, %                                      | M±m     | 57,39±2,20   | 53,46±2,30   | 42,3-98,0      | 40,20-88,00              |
|   | Min-Max | 40,20-70,90  | 35,10-66,30  |                |                          |
| Моноциты, %                                       | M±m     | 9,26±1,03    | 10,21±0,53   | 0,0-7,9        | 1,50-17,55               |
|   | Min-Max | 3,50-19,50   | 6,90-14,80   |                |                          |
| Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л                    | M±m     | 666,6±26,1   | 682,8±18,4   | 409-1250       | 449-924                  |
|   | Min-Max | 502,0-879,0  | 548,0-795,0  |                |                          |
| Средний объем тромбоцита, мкм <sup>3</sup>        | M±m     | 6,725±0,091  | 6,613±0,075  | 5,0-8,0        | 6,00-7,80                |
|   | Min-Max | 6,300-7,400  | 6,300-7,300  |                |                          |
| Тромбокрит, %                                     | M±m     | 0,447±0,016  | 0,452±0,015  | 0,2-0,5        | 0,29-0,60                |
|   | Min-Max | 0,363-0,574  | 0,355-0,574  |                |                          |

\* выявлены достоверные различия между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

Как видно из таблицы 140, состав периферической крови крыс контрольной и опытной групп находился в пределах нормы. Достоверные различия между группами отсутствовали за исключением некоторого снижения содержания эозинофилов в крови крыс опытной группы по сравнению с контролем – на 28% ( $p < 0,05$ ). Отмеченные различия содержания не выходили за пределы нормальных значений данных показателей для крыс линии Вистар [35; 48; 75; 261; 262; 373; 384].

Таблица 141 – Биохимические показатели сыворотки крови самцов F<sub>0</sub>

| Показатели                 |         | Группа        |               | Диапазон нормы   | Интегрированный контроль |
|----------------------------|---------|---------------|---------------|------------------|--------------------------|
|                            |         | Контроль      | Опыт          |                  |                          |
| Общий белок, г/л           | M±m     | 63,07±0,84    | 68,80±0,83*   | 56-82            | 53,9-97,6                |
|                            | Min-Max | 57,36-69,35   | 62,27-76,00   |                  |                          |
| Альбумин, г/л              | M±m     | 28,05±0,47    | 29,11±0,40    | 25-48            | 21,4-60,0                |
|                            | Min-Max | 25,34-31,79   | 27,12-33,63   |                  |                          |
| Глобулин, г/л              | M±m     | 35,02±0,79    | 39,69±0,68*   | 12-57            | 11,2-62,9                |
|                            | Min-Max | 30,80-40,31   | 34,17-43,33   |                  |                          |
| Триглицериды, ммоль/л      | M±m     | 0,918±0,055   | 1,039±0,108   | 0,3-1,6          | 0,13-2,68                |
|                            | Min-Max | 0,518-1,249   | 0,479-1,746   |                  |                          |
| Общий билирубин, мкмоль/л  | M±m     | 3,232±0,154   | 3,643±0,250   | 1-4              | 0,89-9,00                |
|                            | Min-Max | 2,306-4,211   | 2,687-6,750   |                  |                          |
| Прямой билирубин, мкмоль/л | M±m     | 2,979±0,173   | 3,434±0,274   | -                | -                        |
|                            | Min-Max | 2,219-4,416   | 2,422-6,627   |                  |                          |
| Мочевина, ммоль/л          | M±m     | 7,795±0,307   | 8,316±0,445   | 4-10             | 2,25-10,60               |
|                            | Min-Max | 5,909-9,862   | 6,250-13,767  |                  |                          |
| Мочевая кислота, мкмоль/л  | M±m     | 89,94±3,85    | 74,90±3,72*   | 12-118           | 23,9-103,4               |
|                            | Min-Max | 65,04-113,58  | 45,56-95,35   |                  |                          |
| Креатинин, мкмоль/л        | M±m     | 55,56±1,32    | 51,83±0,60*   | 13-92            | 10,8-134,0               |
|                            | Min-Max | 48,67-71,74   | 47,73-56,32   |                  |                          |
| Глюкоза, ммоль/л           | M±m     | 7,092±0,166   | 8,115±0,297*  | 4,5-10,0         | 3,07-10,92               |
|                            | Min-Max | 5,850-8,038   | 6,614-10,430  |                  |                          |
| Холестерин, ммоль/л        | M±m     | 1,740±0,067   | 2,100±0,105*  | 0,6-4,3          | 0,11-4,39                |
|                            | Min-Max | 1,414-2,454   | 1,387-2,811   |                  |                          |
| Лактатдегидрогеназа, Е/л   | M±m     | 1780±98       | 1622±107      | до 5800          | 705-5712                 |
|                            | Min-Max | 919-2549      | 393-2175      |                  |                          |
| Альфа-амилаза, Е/л         | M±m     | 1944±107      | 2269±134      | до 3207          | 496-7033                 |
|                            | Min-Max | 1104-2627     | 1346-3544     |                  |                          |
| Креатинфосфокиназа, Е/л    | M±m     | 5918±92       | 5828±86       | 400 <sup>1</sup> | 491-21095                |
|                            | Min-Max | 4798-6365     | 4735-6362     |                  |                          |
| Щелочная фосфатаза, Е/л    | M±m     | 116,95±7,88   | 127,41±6,52   | 112-814          | 33-816                   |
|                            | Min-Max | 76,14-186,69  | 87,97-168,40  |                  |                          |
| АЛТ, Е/л                   | M±m     | 59,64±2,61    | 50,23±1,95*   | 33-120           | 20-116                   |
|                            | Min-Max | 38,92-76,30   | 35,67-68,02   |                  |                          |
| АСТ, Е/л                   | M±m     | 200,74±6,85   | 184,15±9,49   | 60-236           | 79-457                   |
|                            | Min-Max | 161,99-247,59 | 135,68-296,88 |                  |                          |
| Кальций, ммоль/л           | M±m     | 2,600±0,020   | 2,595±0,022   | 1,1-6,6          | 1,60-3,16                |
|                            | Min-Max | 2,479-2,736   | 2,439-2,737   |                  |                          |
| Магний, ммоль/л            | M±m     | 0,907±0,012   | 0,844±0,011*  | 1,0-1,5          | 0,41-2,74                |
|                            | Min-Max | 0,819-0,993   | 0,753-0,927   |                  |                          |
| Железо, мкмоль/л           | M±m     | 22,41±0,90    | 25,20±1,05*   | 17,4-61,0        | 5,5-54,7                 |
|                            | Min-Max | 18,11-29,13   | 15,39-33,11   |                  |                          |
| Фосфор, ммоль/л            | M±m     | 1,644±0,048   | 1,648±0,055   | 1,3-2,7          | 0,78-5,85                |
|                            | Min-Max | 1,254-2,085   | 1,188-2,060   |                  |                          |

<sup>1</sup> Допустимые колебания значений, %

\* выявлены достоверные различия между контрольными и опытными группами при p&lt;0,05

Как видно из таблицы 141, содержание общего белка, глобулина, глюкозы, холестерина и железа в сыворотке крови крыс опытной группы были на 9, 13, 14, 21 и 12% выше (при  $p < 0,05$ ), чем у крыс контрольной группы, а содержание мочевой кислоты, креатинина, магния и активность аланинаминотрансферазы – на 17, 7, 7 и 16% ( $p < 0,05$ ) ниже, чем у контрольных животных [48; 74]. Отмеченные различия находились в рамках физиологических колебаний, характерных для крыс [99; 252; 261; 262; 373]. Биохимические показатели мочи крыс контрольной и опытной групп не имели значимых различий и находились в пределах нормы [48].

Показатели, характеризующие состояние антиоксидантного статуса, представлены в таблицах 142-143.

Таблица 142 – Активность ферментов системы антиоксидантной защиты крыс

| Показатели                               |         | Группа      |             | Интегрированный контроль |
|--|---------|-------------|-------------|--------------------------|
|  |         | Контроль    | Опыт        |                          |
| Глутатионредуктаза,<br>мкмоль/мин·г Нб   | M±m     | 37,70±0,85  | 39,85±0,62  | 18,10-73,73              |
|  | Min-Max | 32,06-41,67 | 35,43-44,68 |                          |
| Глутатионпероксидаза,<br>мкмоль/мин·г Нб | M±m     | 62,41±1,48  | 63,26±1,62  | 43,40-94,64              |
|  | Min-Max | 52,63-75,89 | 53,89-78,10 |                          |
| Каталаза,<br>ммоль/мин·г Нб              | M±m     | 600,1±22,0  | 638,2±21,7  | 278,9-816,0              |
|  | Min-Max | 400,0-743,3 | 461,0-726,0 |                          |
| Супероксиддисмутаза,<br>ЕД/мин·г Нб      | M±m     | 1843±33     | 1924±33     | 1262-2893                |
|  | Min-Max | 1637-2075   | 1679-2168   |                          |

Не выявлено достоверных различий между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

Таблица 143 – Содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови и печени крыс

| Показатели      |         | Группа      |             | Интегрированный контроль |
|-----------------|---------|-------------|-------------|--------------------------|
|                 |         | Контроль    | Опыт        |                          |
| эритроциты      |         |             |             |                          |
| МДА, нмоль/мл   | M±m     | 5,225±0,164 | 5,171±0,140 | 2,020-9,492              |
|                 | Min-Max | 3,981-6,001 | 4,270-6,174 |                          |
| сыворотка крови |         |             |             |                          |
| МДА, нмоль/мл   | M±m     | 8,059±0,218 | 7,794±0,215 | 2,115-9,807              |
|                 | Min-Max | 6,538-9,327 | 6,346-9,615 |                          |
| печень          |         |             |             |                          |
| МДА, нмоль/г    | M±m     | 351,0±6,3   | 340,6±7,8   | 214,1-855,1              |
|                 | Min-Max | 305,1-387,2 | 283,3-409,0 |                          |

Не выявлено достоверных различий между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

Как видно из таблиц 142-143, активность ферментов системы антиоксидантной защиты эритроцитов у крыс контрольной и опытной групп не имела статистически значимых различий; содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови и печени крыс обеих групп также не имело достоверных различий. Значения изученных показателей находились в пределах физиологических колебаний, характерных для крыс. Принимая во внимание

отсутствие различий между группами, можно сделать вывод, что длительное употребление с рационом ГМ сои не оказывало влияния на антиоксидантный статус экспериментальных животных [48; 66; 73; 75].

В этих же экспериментах, в наших совместных исследованиях с Кравченко Л.В., Авреньева Л.И., Гусевой Г.В. [59; 60; 61], не было выявлено статистически достоверных различий между контрольными и опытными группами при изучении функционального состояния систем, осуществляющих защиту организма от воздействия токсичных соединений экзогенного и эндогенного происхождения – активности ферментов 1-й и 2-й фазы метаболизма ксенобиотиков, общая и неседиментируемая активность ферментов лизосом печени [16; 48; 59; 60; 61].

Таким образом, при изучении физиолого-биохимических показателей, характеризующих здоровье самцов F<sub>0</sub>, не было выявлено значимых различий между животными, получавшими с рационом ГМ сою и ее традиционный аналог. Результаты исследований антиоксидантного статуса, а также активности ферментов метаболизма ксенобиотиков и ферментов лизосом, свидетельствуют о наличии оптимального баланса защитно-адаптационных возможностей организма экспериментальных животных [48].

Пренатальное развитие потомства F<sub>1</sub> (таблица 144) в контрольной группе в целом соответствовало физиологической норме, характерной для крыс линии Вистар, тогда как показатели пренатального развития потомства у крыс опытной группы соответствовали оптимальному уровню: количество живых плодов было на 29% ( $p < 0,05$ ) выше, чем у крыс контрольной группы, количество мест имплантации – выше на 21% ( $p < 0,05$ ), количество желтых тел – выше на 8% ( $p > 0,05$ ) соответственно; при этом предимплантационная и постимплантационная гибель у крыс опытной группы была, соответственно, на 52% и 68% ( $p < 0,05$ ) ниже, чем у контрольных животных [48; 72].

Зоометрические показатели плодов и масса внутренних органов плодов (таблица 145) варьировали в пределах физиологической нормы [236; 321; 354], отмечено небольшое снижение относительной массы печени и легких у плодов опытной группы по сравнению с контролем – на 5% и 4% ( $p < 0,05$ ), соответственно. Принимая во внимание, что диапазон колебаний относительной массы печени составляет около 500%, легких – более 1000%, выявленные различия не представляются значимыми и обусловлены, по всей вероятности, фактором случайности выборки [48].

Таблица 144 – Пренатальное развитие потомства F<sub>1</sub>

| Показатели                  |         | Группа      |             | Интегрированный контроль |
|-----------------------------|---------|-------------|-------------|--------------------------|
|                             |         | Контроль    | Опыт        |                          |
| Количество беременных самок |         | 14          | 15          | -                        |
| Количество желтых тел       | Всего   | 185         | 213         | 5-23                     |
|                             | M±m     | 13,21±0,60  | 14,20±0,71  |                          |
|                             | min-max | 10-18       | 9-21        |                          |
| Количество мест имплантации | Всего   | 147         | 190         | 3-18                     |
|                             | M±m     | 10,50±0,72  | 12,67±0,55* |                          |
|                             | min-max | 5-15        | 9-16        |                          |
| Количество живых плодов     | Всего   | 133         | 184         | 2-18                     |
|                             | M±m     | 9,50±0,69   | 12,27±0,55* |                          |
|                             | min-max | 4-13        | 8-15        |                          |
| Количество резорбций        | Всего   | 13          | 6           | 0-10                     |
|                             | M±m     | 0,929±0,245 | 0,400±0,163 |                          |
|                             | min-max | 0-2         | 0-2         |                          |
| Количество мертвых плодов   |         | 1           | 0           | -                        |
| Предимплантационная гибель  |         |             |             |                          |
| %                           | M±m     | 20,7±4,3    | 10,0±2,5*   | 0-80                     |
|                             | min-max | 0-50        | 0-29        |                          |
| Абс.                        | Всего   | 38          | 23          | 0-13                     |
|                             | M±m     | 2,714±0,559 | 1,533±0,435 |                          |
|                             | min-max | 0-7         | 0-6         |                          |
| Постимплантационная гибель  |         |             |             |                          |
| %                           | M±m     | 9,2±2,5     | 3,1±1,3*    | 0-100                    |
|                             | min-max | 0-25        | 0-15        |                          |
| Абс.                        | Всего   | 13          | 6           | 0-10                     |
|                             | M±m     | 0,929±0,245 | 0,400±0,163 |                          |
|                             | min-max | 0-2         | 0-2         |                          |

\* выявлены достоверные различия между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

При обследовании плодов F<sub>1</sub> по методу Wilson J.G. [77; 130] аномалий развития внутренних органов выявлено не было. Следовательно, формирование основных анатомических систем: нервной (головной, спинной мозг), сенсорной (глазные яблоки, обонятельные луковицы), сердечно-сосудистой (сердце), дыхательной (трахея, легкие, бронхи), пищеварительной (слюнные железы, язык, пищевод, желудок, кишечник, печень), мочевыделительной (почки, мочевой пузырь), половой (внутренние половые органы), локомоторной (лицевой череп, позвоночник, диафрагма), у плодов контрольной и опытной групп протекало без особенностей (таблица 146) [48; 66; 73; 75].

Таблица 145 – Зоометрические показатели плодов F<sub>1</sub> на 20-й день пренатального развития

| Показатели                   |                   | Группа              |                 | Интегрированный контроль |
|------------------------------|-------------------|---------------------|-----------------|--------------------------|
|                              |                   | Контрольная<br>N=69 | Опытная<br>N=75 |                          |
| Масса тела, г                | M±m               | 4,120±0,084         | 4,140±0,054     | 1,51-6,12                |
|                              | Min-max           | 2,328-6,120         | 3,111-6,930     |                          |
| Кранио-каудальный размер, см | M±m               | 3,770±0,038         | 3,784±0,020     | 2,4-5,1                  |
|                              | Min-max           | 2,800-4,500         | 3,400-4,200     |                          |
| Масса печени                 | абс. <sup>1</sup> | 0,373±0,010         | 0,356±0,007     | 0,058-0,648              |
|                              | Min-max           | 0,204-0,645         | 0,195-0,481     |                          |
|                              | отн. <sup>2</sup> | 9,086±0,156         | 8,603±0,137*    | 2,08-13,68               |
|                              | Min-max           | 5,433-11,439        | 5,610-11,060    |                          |
| Масса почек                  | абс.              | 0,031±0,001         | 0,031±0,001     | 0,006-0,098              |
|                              | Min-max           | 0,014-0,054         | 0,012-0,050     |                          |
|                              | отн.              | 0,760±0,017         | 0,743±0,020     | 0,227-2,538              |
|                              | Min-max           | 0,313-1,182         | 0,348-1,221     |                          |
| Масса сердца                 | абс.              | 0,0221±0,0007       | 0,0231±0,0004   | 0,005-0,050              |
|                              | Min-max           | 0,0130-0,0399       | 0,0166-0,0353   |                          |
|                              | отн.              | 0,539±0,012         | 0,563±0,011     | 0,184-1,598              |
|                              | Min-max           | 0,321-0,762         | 0,339-1,016     |                          |
| Масса легких                 | абс.              | 0,131±0,003         | 0,126±0,002     | 0,020-0,213              |
|                              | Min-max           | 0,086-0,193         | 0,083-0,181     |                          |
|                              | отн.              | 3,189±0,038         | 3,063±0,049*    | 0,761-5,789              |
|                              | Min-max           | 2,590-4,214         | 1,949-3,967     |                          |

<sup>1</sup> Абсолютная масса внутренних органов, M±m, г

<sup>2</sup> Относительная масса внутренних органов, M±m, г /100 г массы

\* выявлены достоверные различия между контрольной и опытной группами при p<0,05

Таблица 146 – Развитие внутренних органов плодов F<sub>1</sub>

| Анатомические структуры (срезы)  | Группа           |                                   |
|--|------------------|-----------------------------------|
|  | Контроль<br>N=15 | Опыт<br>N=15                      |
| 1  | 2                | 3                                 |
| 1 – нижняя челюсть, язык, ротовая и носовая полости                          | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 2 – глазные яблоки, обонятельные луковицы                                    | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 3 – кора больших полушарий, боковые и третий желудочки головного мозга       | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 4 – мозжечок, четвертый желудочек  | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 5 – гортань, пищевод, спинной мозг, позвоночник, подчелюстные слюнные железы | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |

| Продолжение таблицы 146  |                  |                                   |
|--|------------------|-----------------------------------|
| 1  | 2                | 3                                 |
| 6 – спинной мозг, позвоночник, пищевод, трахея   | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 7 – сердце, легкие, бронхи, спинной мозг, позвоночник  | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 8 – печень, диафрагма, спинной мозг  | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |
| 9 – (а) почки, печень, желудок, кишечник;<br>(б) органы таза: почки, мочевого пузыря, прямая кишка, внутренние половые органы (у самок – матка с яичниками, у самцов – яички с придатками) | без особенностей | не обнаружено отличий от контроля |

При оценке развития скелета плодов F<sub>1</sub> по методу Dawson A.B. [77; 406] аномалий развития не выявлено. Длина участков оссификации в закладках костей конечностей и черепа плодов F<sub>1</sub> не имела значимых различий между группами (таблица 147) [48; 66; 73; 75].

Таблица 147 – Длина участков оссификации в закладках костей плодов F<sub>1</sub>

| Показатели               |         | Группа           |              | Интегрированный контроль |
|--------------------------|---------|------------------|--------------|--------------------------|
|                          |         | Контроль<br>N=15 | Опыт<br>N=15 |                          |
| Нижняя челюсть, мм       | M±m     | 8,098±0,067      | 8,091±0,044  | 5,8-12,0                 |
|                          | Min-max | 7,060-8,900      | 7,330-,800   |                          |
| Плечевая кость, мм       | M±m     | 3,177±0,042      | 3,119±0,030  | 2,1-5,3                  |
|                          | Min-max | 2,620-3,930      | 2,700-3,510  |                          |
| Локтевая кость, мм       | M±m     | 3,384±0,041      | 3,409±0,021  | 2,3-5,7                  |
|                          | Min-max | 2,660-4,000      | 3,100-3,700  |                          |
| Лучевая кость, мм        | M±m     | 2,506±0,037      | 2,559±0,018  | 1,9-6,4                  |
|                          | Min-max | 1,910-3,190      | 2,300-2,790  |                          |
| Бедренная кость, мм      | M±m     | 2,423±0,034      | 2,337±0,018  | 1,5-4,3                  |
|                          | Min-max | 1,870-3,050      | 2,100-2,660  |                          |
| Большеберцовая кость, мм | M±m     | 2,741±0,049      | 2,719±0,019  | 1,7-4,9                  |
|                          | Min-max | 2,050-3,830      | 2,390-2,970  |                          |
| Малоберцовая кость, мм   | M±m     | 2,667±0,038      | 2,688±0,019  | 1,8-4,9                  |
|                          | Min-max | 1,960-3,210      | 2,400-2,940  |                          |

Не выявлено достоверных различий между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

Таким образом, результаты исследований пренатального развития потомства F<sub>1</sub> опытной и контрольной групп свидетельствуют об отсутствии различий между животными, получавшими с рационом ГМ и традиционную сою. Зоометрические показатели соответствовали физиологической норме, аномалий развития плодов не выявлено [48; 66; 73; 75].

Постнатальное развитие потомства F<sub>1</sub> характеризовалось высокой выживаемостью в обеих группах: в период с 1-го по 5-й дни жизни выживаемость составляла 99-100%, в период с 6-го по 25-й дни жизни – 99%, в период с 1-го по 30-й дни жизни – 99% (таблица 148). Согласно данным литературы, линия Вистар в целом характеризуется относительной вариабельностью ряда показателей репродуктивной функции (таблица 75), поэтому 99-100 %-ная выживаемость потомства соответствовала оптимальному уровню для крыс данной линии [48; 66; 73; 75].

Таблица 148 – Постнатальное развитие потомства F<sub>1</sub>

| Показатели   |         | Группа         |                |
|--|---------|----------------|----------------|
|  |         | Контроль       | Опыт           |
| Общее количество забеременевших самок  |         | 29             | 28             |
| Общее количество родивших самок  |         | 29             | 28             |
| Общее количество пометов, уничтоженных материнским животным в 1-й день жизни |         | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> |
| Общее количество крысят  |         | 298            | 296            |
| Из них мертворожденных   |         | 0              | 0              |
| Средняя величина помета  | M±m     | 10,64±0,47     | 10,96±0,42     |
|  | Min-Max | 4-14           | 5-14           |
| Соотношение ♂/♀ в помете, %  |         | 50/50          | 47/53          |
| <b>Выживаемость потомства</b>  |         |                |                |
| Выживаемость с 1-го по 5-й дни жизни, %                                      |         | 100,0          | 99,7           |
| количество живых (исходное) / количество умерших                             |         | 298/0          | 296/1          |
| Выживаемость с 6-го по 25-й дни жизни, %                                     |         | 99,3           | 99,7           |
| количество живых (исходное) / количество умерших                             |         | 298/2          | 295/1          |
| Выживаемость с 1-го по 30-й дни жизни, %                                     |         | 99,3           | 99,3           |
| количество живых (исходное) / количество умерших                             |         | 298/2          | 296/2          |

Не выявлено достоверных различий между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

<sup>a)</sup> самки уничтожили потомство в течение первых суток после родов, количество крысят неизвестно, эти пометы не учитывали при подсчете общего количества крысят и выживаемости

Средняя величина пометов, соотношение самцов и самок в пометах находилась в пределах физиологических колебаний (таблица 148). Параметры физического развития потомства F<sub>1</sub> – сроки отлипания ушных раковин, появления волосяного покрова, прорезывания резцов и др. (таблица 149), не имели значимых различий и соответствовали норме, характерной для крыс линии Вистар [48; 151; 177; 279; 299; 306; 354].

Таблица 149 – Физическое развитие потомства F<sub>1</sub> в 1-й месяц жизни

| Показатели                         | Группа     |            | Норма по [Хабриев, 2005] |
|------------------------------------|------------|------------|--------------------------|
|                                    | Контроль   | Опыт       |                          |
| Отлипание ушных раковин, день      | 3,07±0,07  | 3,15±0,07  | со 2-го дня              |
| Появление волосяного покрова, день | 7,25±0,11  | 7,24±0,10  | с 5-го дня               |
| Прорезывание резцов, день          | 10,05±0,07 | 10,15±0,07 | с 6-го дня               |
| Открытие глаз, день                | 14,55±0,07 | 14,63±0,08 | с 12-го дня              |
| Опускание семенников, день         | 24,43±0,21 | 24,57±0,18 | с 18-го дня              |
| Открытие влагалища, день           | 31,93±0,14 | 31,96±0,13 | с 28-го дня              |

Здесь и в таблице 150 N = все крысята.

Не выявлено достоверных различий между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

Как видно из таблицы 150, на 2-й и 5-й дни жизни масса тела крысят не имела значимых различий между группами, на 10-25-й дни жизни масса тела крысят опытной группы была на 2-4% ниже ( $p < 0,05$ ), чем у крысят контрольной группы, рост крысят опытной группы на 2-й и 15-25-й дни жизни был на 1-2% ниже ( $p < 0,05$ ), чем в контрольной группе. По данным ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» в норме колебания массы тела и роста крысят первого месяца жизни могут составлять от 4,4 до 61,1 г, и от 1,6 до 6,4 см, поэтому выявленные различия между группами не выходили за пределы физиологических колебаний, характерных для крыс линии Вистар [48].

Таблица 150 – Динамика массы тела и роста потомства F<sub>1</sub> в 1-й месяц жизни

| Группа        |         | Дни жизни  |            |             |             |             |             |
|---------------|---------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|               |         | 2          | 5          | 10          | 15          | 20          | 25          |
| Масса тела, г |         |            |            |             |             |             |             |
| Контроль      | M±m     | 7,06±0,05  | 11,31±0,09 | 19,68±0,16  | 29,13±0,25  | 41,03±0,40  | 60,40±0,56  |
|               | Min-Max | 4,60-9,60  | 7,00-18,10 | 13,30-29,40 | 21,10-45,00 | 30,20-71,30 | 43,70-93,30 |
| Опыт          | M±m     | 6,93±0,05  | 11,27±0,08 | 19,16±0,11* | 28,43±0,19* | 39,59±0,28* | 58,09±0,40* |
|               | Min-Max | 4,70-10,00 | 8,00-15,20 | 15,20-24,70 | 21,20-37,50 | 29,80-52,50 | 41,40-81,10 |
| Рост, см      |         |            |            |             |             |             |             |
| Контроль      | M±m     | 5,36±0,02  | 6,54±0,02  | 7,87±0,03   | 9,83±0,03   | 11,30±0,04  | 12,91±0,04  |
|               | Min-Max | 4,40-6,40  | 5,30-7,70  | 6,80-9,60   | 8,40-11,50  | 10,10-14,10 | 11,50-15,10 |
| Опыт          | M±m     | 5,27±0,02* | 6,50±0,02  | 7,86±0,03   | 9,67±0,03*  | 11,18±0,03* | 12,77±0,03* |
|               | Min-Max | 4,10-6,20  | 5,60-7,50  | 6,90-10,20  | 6,40-10,90  | 10,00-12,40 | 11,60-14,00 |

\* выявлены достоверные различия между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

Результаты исследований постнатального развития потомства F<sub>1</sub> опытной и контрольной групп свидетельствуют об отсутствии различий между животными, получавшими с рационом ГМ и традиционную сою. Физическое развитие потомства находилось в пределах физиологической нормы, выживаемость потомства в обеих группах соответствовала оптимальному уровню для крыс данной линии [48].

Таким образом, токсикологические исследования ГМ сои линии MON87701×MON89788 и ее традиционного аналога в эксперименте на крысах, во время которого были изучены репродуктивная функция, пре- и постнатальное развитие потомства, интегральные, гематологические, биохимические, морфологические показатели, а также системные биомаркеры, не выявили какого-либо токсического действия ГМ сои линии MON87701×MON89788 по сравнению с ее традиционным аналогом [48].

### 5.7.3.2 Генотоксикологические исследования

На протяжении эксперимента не было отмечено гибели мышей контрольной и опытной групп, общее состояние животных обеих групп было удовлетворительным. По внешнему виду, состоянию шерстного покрова, поведению и скорости роста мыши, в рацион которых была включена ГМ соя, не отличались от контрольных животных. Поедаемость корма не имела достоверных различий между группами. Масса тела мышей через 30 дней от начала эксперимента составляла 20-25 г [48; 52; 64; 65; 69].

Результаты цитогенетического исследования костного мозга и оценки целостности структуры ДНК представлены в таблицах 151-152.

Таблица 151 – Хромосомные повреждения в клетках костного мозга мышей

| Группа   | Количество клеток | на 100 клеток |                      |                   |         |              | Всего поврежденных метафаз, % |
|----------|-------------------|---------------|----------------------|-------------------|---------|--------------|-------------------------------|
|          |                   | Гепов         | одиночных фрагментов | парных фрагментов | обменов | клеток с МП* |                               |
| Контроль | 500               | 0,45          | 1,45                 | -                 | 0,2     | -            | 2,1±0,4                       |
| Опыт     | 500               | 0,60          | 1,20                 | -                 | 0,2     | -            | 2,0±0,4                       |

\* более пяти хромосомных aberrаций в клетке (МП – множественные повреждения) [48; 64; 65; 69]  
Не выявлено достоверных различий между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

Таблица 152 – Уровень повреждений структуры ДНК (% ДНК) в органах мышей

| Группа   | Кол-во клеток | Исследуемый орган |           |              |              |
|----------|---------------|-------------------|-----------|--------------|--------------|
|          |               | Печень            | Почки     | Костный мозг | Прямая кишка |
| Контроль | 500           | 5,62±0,30         | 5,47±0,17 | 7,73±0,20    | 5,91±0,25    |
| Опыт     | 500           | 5,68±0,21         | 5,87±0,55 | 7,65±0,19    | 5,61±0,20    |

Не выявлено достоверных различий между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$

Как видно из таблиц 151-152, средние показатели хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей контрольной и опытной групп не имели достоверных различий и не превышали уровень спонтанного мутагенеза, характерного для мышей линии C57Bl/6. При сравнении показателей, характеризующих уровень повреждений структуры ДНК в костном мозге, печени, почках и прямой кишке мышей, не было выявлено различий между группами [48; 64; 65; 69].

Таким образом, генотоксикологические исследования ГМ сои линии MON87701×MON89788 и ее традиционного аналога в эксперименте на мышах, во время которого были изучены целостность структуры ДНК и уровень хромосомных aberrаций, не выявили какого-либо генотоксического действия ГМ сои линии MON87701×MON89788 по сравнению с ее традиционным аналогом [48; 64; 65; 69].

### 5.7.3.3 Аллергологические исследования

На протяжении эксперимента общее состояние крыс обеих групп было удовлетворительным. По внешнему виду, состоянию шерстного покрова, поведению и скорости роста животные, в рацион которых была включена ГМ соя, не отличались от животных контрольной группы [48; 64; 65; 69].

Показано, что тяжесть реакции анафилактического шока и интенсивность гуморального иммунного ответа (уровень специфических IgG антител к овальбумину) у крыс опытной группы не имели статистически достоверных отличий от аналогичных показателей у крыс контрольной группы. Анализ распределений изучаемых показателей в группах, выполненный с использованием критерия ANOVA, указывает на их однородность ( $p > 0,05$ ) [48; 64; 65; 69].

Таким образом, аллергологические исследования ГМ сои линии MON87701×MON89788 в эксперименте на крысах, во время которого была воспроизведена модель системной анафилаксии и изучены показатели тяжести активного анафилактического шока и интенсивность гуморального иммунного ответа, не выявили какого-либо аллергенного действия ГМ сои линии MON87701×MON89788 по сравнению с ее традиционным аналогом [48; 64; 65; 69].

---

**Результаты комплексных медико-биологических исследований генно-инженерно-модифицированной сои линии MON87701×MON89788, свидетельствуют об отсутствии у данной линии сои токсического, генотоксического, и аллергенного действия, что, наряду с данными экспертной оценки представленных (полученных) на этапе регистрации исходных ГМ линий сои – линии MON87701 и линии MON89788, позволило рекомендовать ГМ сою линии MON87701×MON89788 для государственной регистрации в Российской Федерации.**

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В соответствии с положениями "Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации", утвержденной указом Президента Российской Федерации от 30 января 2010 г. № 120, обеспечение продовольственной независимости страны является одной из приоритетных задач государства, в решении которой первое место занимает устойчивое развитие сельскохозяйственного производства. Ключевым элементом формирования современного агропромышленного комплекса является использование инновационных биотехнологий, позволяющих значительно повысить производительность в условиях снижения зависимости от природных ресурсов, использовать наиболее экологически и экономически выгодные способы ведения хозяйства [13; 57; 385].

Поскольку последние десятилетия характеризуются повышенным интересом к маркер-ориентированной и геном-ориентированной селекции, а также к генно-инженерным технологиям, позволяющим получить растения с заданными свойствами в кратчайшие сроки, проблема обеспечения безопасности таких организмов выходит на первый план. Именно необходимость создания системы оценки новой продукции, гарантирующей ее безопасность как для нынешнего, так и для последующих поколений, определила направление работы, целью которой являлся поиск методических подходов, экспериментальных моделей и биомаркеров для расширения возможностей обнаружения потенциальных неблагоприятных эффектов ГМО и гарантирующих безопасность такой продукции как для нынешнего, так и для последующих поколений.

На первом этапе реализации данной цели были проведены предварительные исследования, направленные на повышение валидности экспериментальных данных и касающиеся стандартизации составов экспериментальных рационов и определения диапазонов физиологических значений показателей, изучаемых в токсикологических экспериментах. В результате были разработаны оптимизированные полусинтетические рационы, рекомендованные для использования в исследованиях *in vivo* как наиболее современные, гармонизированные с международными требованиями и соответствующие физиологическим потребностям крыс на разных стадиях онтогенетического развития, в частности, при изучении репродуктивной функции [74]. Дальнейшая работа с новым рационом позволила скорректировать состав солевой смеси в части содержания солей лития, влиявших на фертильность животных, и предложить новую формулу, оптимальную для экспериментов по изучению репродуктивной функции [388].

Также представлялось важным определение диапазонов физиологических значений параметров, изучение которых производится в рамках токсикологических и

репротоксикологических экспериментов *in vivo*. Были проанализированы значения 101 показателя (биохимия сыворотки крови, активность ферментов антиоксидантной защиты и содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови и печени, массы внутренних органов самцов и беременных самок, пренатальное развитие потомства, зоометрические показатели плодов на 20-й день пренатального развития, динамика массы тела и роста крысят 1-го месяца жизни). После статистической обработки, систематизации и анализа всего массива значений, полученных более чем от 7100 крыс разного возраста и пола, были проведены расчеты частоты встречаемости каждого из значений рассматриваемых признаков, визуализированные с помощью гистограмм, и сформирована база данных, результаты которой использованы в дальнейшей работе, позволяя повысить объективность анализа и интерпретации результатов исследований в рамках токсиколого-гигиенической оценки безопасности ГМО [35].

Следующим этапом работы являлось расширение спектра изучаемых в рамках токсикологических исследований показателей, позволяющего наиболее комплексно охарактеризовать клинический статус экспериментальных животных. Были предложены параметры, традиционно применявшиеся в токсикологии, а именно: гематологические, отражающие структуру и соотношение форменных элементов эритроцитарного, тромбоцитарного и лейкоцитарного звеньев, гематокрит и тромбокрит, содержание гемоглобина, эритроцитарные индексы, характеризующие состояние циркулирующей крови и кроветворной системы; биохимические исследования крови и мочи, характеризующие обменную, защитную, эндокринную и синтетическую функцию печени, экскреторную и регуляторную функцию почек, а также белковый, жировой и углеводный обмены, электролитный баланс; морфологические (расширен список внутренних органов, изучаемых и измеряемых как во время некропсии, так и позднее при выполнении гистологических исследований). Особое внимание было уделено выбору так называемых системных биомаркеров, характеризующих функциональное состояние адаптационных и защитных систем организма: были уточнены перечни ферментов 1 и 2 фазы биотрансформации ксенобиотиков и ферментов системы антиоксидантной защиты, а также продуктов перекисного окисления липидов. Одним из важных преимуществ использования расширенного набора показателей является возможность комплексной оценки данных, что повышает диагностическую ценность исследований и позволяет нивелировать случайные колебания, связанные с неоднородностью выборки [57; 59; 60; 61; 385].

Перспектива изучения активности апоптоза в качестве биомаркера токсической нагрузки на организм изучалась нами на протяжении нескольких лет [52; 71] и была

подтверждена результатами экспериментов, проведенных в условиях моделированных токсических воздействий *in vivo*. На основании полученных данных об активности процессов апоптоза в разные периоды онтогенетического развития крыс [56; 67; 387], а также о влиянии на апоптоз токсических факторов (солей кадмия, четыреххлористого углерода) в условиях сниженной обеспеченности рационов витаминами группы В, солями железа и магния, были определены оптимальные сроки и условия для оценки активности апоптоза [386]. Комплексный анализ полученных данных позволил нам отнести показатели активности апоптоза к чувствительным биомаркерам токсической нагрузки, что послужило основанием для их включения в программу токсикологических исследований ГМО.

В оценке безопасности ГМО, безусловно, центральное место должны занимать исследования, доказывающие отсутствие отдаленных негативных последствий, которые могут проявиться только в следующих поколениях. Именно поэтому характеристика репродуктивной функции и развития потомства представляется критически значимой. В нескольких сериях экспериментов было проведено детальное изучение репродуктивной функции в поколениях, что позволило определить наиболее чувствительные показатели, реагирующие на токсические воздействия [72], оценить влияние фактора сезонности на репродуктивную функцию крыс, пре- и постнатальное развитие потомства [76]. Были рассмотрены стадии онтогенеза, характеризующиеся существенными физиологическими особенностями и типом питания: 20-й день пренатального развития – период завершения внутриутробного развития с плацентарным питанием; 2-15 дни жизни – период новорожденности с грудным вскармливанием, 15-20-й дни жизни – переход на смешанное кормление (грудное молоко и общевиварный корм), после 25-го дня – полный переход на общевиварный рацион. Следует отметить, все этапы развития потомства сопровождалась контактом с ГМО через плацентарное питание, молоко матери или корм [66; 73]. Комплексный анализ накопленных данных послужил обоснованием необходимости изучения репродуктивной функции и развития потомства при оценке безопасности ГМО, для чего были выбраны наиболее значимые и репрезентативные показатели.

Таким образом, результаты проведенной поисковой работы легли в основу формирования принципиально новой системы комплексных токсиколого-гигиенических исследований на двух поколениях крыс, объединяющий изучение репродуктивной функции крыс поколения  $F_0$ , пре- и постнатальное развитие потомства поколения  $F_1$ , а также расширенные токсикологические исследования на крысах поколения  $F_0$  и аллергологические исследования на крысах поколения  $F_1$  (рисунок 61). Новый подход предусматривает изучение влияния ГМО на два поколения животных обоего пола, при этом суммарная

продолжительность эксперимента с учетом проведения подготовительной стадии, необходимой для получения стандартизованных животных, и алергологических исследований на крысах поколения F<sub>1</sub>, в соответствии с предложенным нами протоколом пролонгируется до ~ 330-360 дней. Число изучаемых показателей увеличилось с 63 до 152, что значительно повысило информативность и комплексность проводимых исследований, обеспечивая гарантии безопасности новых ГМО.

Отдельный блок исследований был направлен на разработку так называемых "нагрузочных" проб, позволяющих отличить физиологическую адаптацию от компенсированного скрытого патологического процесса и выявить влияние малотоксичных объектов. Моделирование дополнительной нагрузки, снижающей адаптационный потенциал, и, соответственно, исключающей возможность псевдоадаптации, является перспективным инструментом повышения диагностической достоверности результатов эксперимента. Поскольку одним из наиболее простых и эффективных способов снижения адаптационного потенциала организма лабораторных животных является модификация состава рациона, было проведено несколько серий экспериментов [68; 70; 386], результатом которых явилось создание и доказательство эффективности модели, повышающей восприимчивость организма к действию токсических факторов за счет снижения обеспеченности витаминами группы В (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub>) и минеральных веществ (Fe<sup>3+</sup> и Mg<sup>2+</sup>). С учетом степени риска развития патологии были установлены три дозировки эссенциальных веществ, с определенной степенью условности обозначенные как "оптимальная", "маргинальная" и "субмаргинальная", обеспечивающие последовательное снижение адаптационного потенциала у лабораторных животных: 75, 30 и 19% для самцов, и 75, 28 и 18% для самок, соответственно. Предложенная модификация витаминно-минерального состава рационов была рекомендована для использования в качестве модели повышения чувствительности крыс к токсическим факторам при изучении малотоксичных объектов, в частности, новых видов пищевой продукции [70].

Разработанный подход к оценке безопасности ГМО (Рисунок 61) был положен в основу методических указаний МУ 2.3.2.2306-07 [27], утвержденных в установленном порядке и использован при исследованиях 9 линий ГМО (4 линий сои и 5 линий кукурузы) в рамках процедуры их государственной регистрации, а именно:

— **ГМ сои MON87701**, устойчивой к чешуекрылым насекомым-вредителям. Устойчивость к вредителям обусловлена наличием кассеты экспрессии гена *cry1Ac*, на основе которого синтезируется белок Cry1Ac, обладающий инсектицидными свойствами. Общая продолжительность исследований составляла 167 дней, в экспериментах использовано 1392 крысы.

— **ГМ сои SYHT0H2**, устойчивой к глюфосинату аммония и к гербицидам, ингибирующим фермент гидроксифенилпируват диоксигеназу. Устойчивость к глюфосинату аммония обусловлена наличием кассеты экспрессии гена *pat*, на основе которого синтезируется фермент фосфинотрицин ацетилтрансфераза, ацетилирующий свободную NH<sub>2</sub> группу фосфинотрицина, дезактивируя таким образом действующее вещество данного гербицида. Устойчивость к гербицидам, ингибирующим фермент гидроксифенилпируват диоксигеназу, обусловлена наличием кассеты экспрессии гена *avhppd-03*, на основе которого синтезируется изофермент *p*-гидроксифенилпируват-диоксигеназа, слабочувствительный к действию пестицидов-ингибиторов. Общая продолжительность исследований составляла 208 дней, в экспериментах использовано 979 крыс.

— **ГМ сои FG72**, устойчивой к гербицидам изоксафлютолу и глифосату. Устойчивость к изоксафлютолу обусловлена наличием кассеты экспрессии гена *hppdPf W336*, на основе которого синтезируется белок 4-гидроксифенилпируват диоксигеназа W336, обеспечивающий устойчивость сои к изоксафлютолу. Устойчивость к глифосату обусловлена наличием кассеты экспрессии гена *2mEPSPS*, на основе которого синтезируется белок 5-енолпирувилшिकимат-3-фосфат-синтаза, не чувствительный к действию данного гербицида. Общая продолжительность исследований составляла 209 дней, в экспериментах использовано 940 крыс.

— **ГМ сои MON87708**, устойчивой к гербициду Дикамба (3,6-дихлор-2-метоксибензойная кислота). Устойчивость к Дикамба обусловлена наличием кассеты экспрессии кодирующей последовательности Дикамба-монооксигеназы *CS DMO*, на основе которой синтезируется фермент Дикамба-монооксигеназа (DMO), инактивирующий данный гербицид. Общая продолжительность исследований составляла 121 день, в экспериментах использовано 1147 крыс.

— **ГМ кукурузы 5307**, устойчивой к жесткокрылым насекомым-вредителям рода *Diabrotica*. Устойчивость к вредителям обусловлена наличием кассеты экспрессии гена *ecry3.1Ab*, на основе которого синтезируется белок eCry3.1Ab (ген δ-эндотоксина (Cry-белка), выделенный из *Bacillus thuringiensis*), обладающий инсектицидными свойствами. Общая продолжительность исследований составляла 180 дней, в экспериментах использовано 1058 крыс.

— **ГМ кукурузы MON89034**, устойчивой к чешуекрылым насекомым-вредителям. Устойчивость к вредителям обусловлена наличием кассеты экспрессии генов *cry1A.105* и *cry2Ab2*, на основе которых синтезируются белки Cry1A.105 и Cry2Ab2 (гены δ-эндотоксинов (Cry-белков), выделенные из *Bacillus thuringiensis*), обладающие инсектицидными свойствами. Общая продолжительность исследований составляла 294 дня, в экспериментах использовано 1310 крыс.

# Российская система оценки безопасности ГМО растительного происхождения \*\*

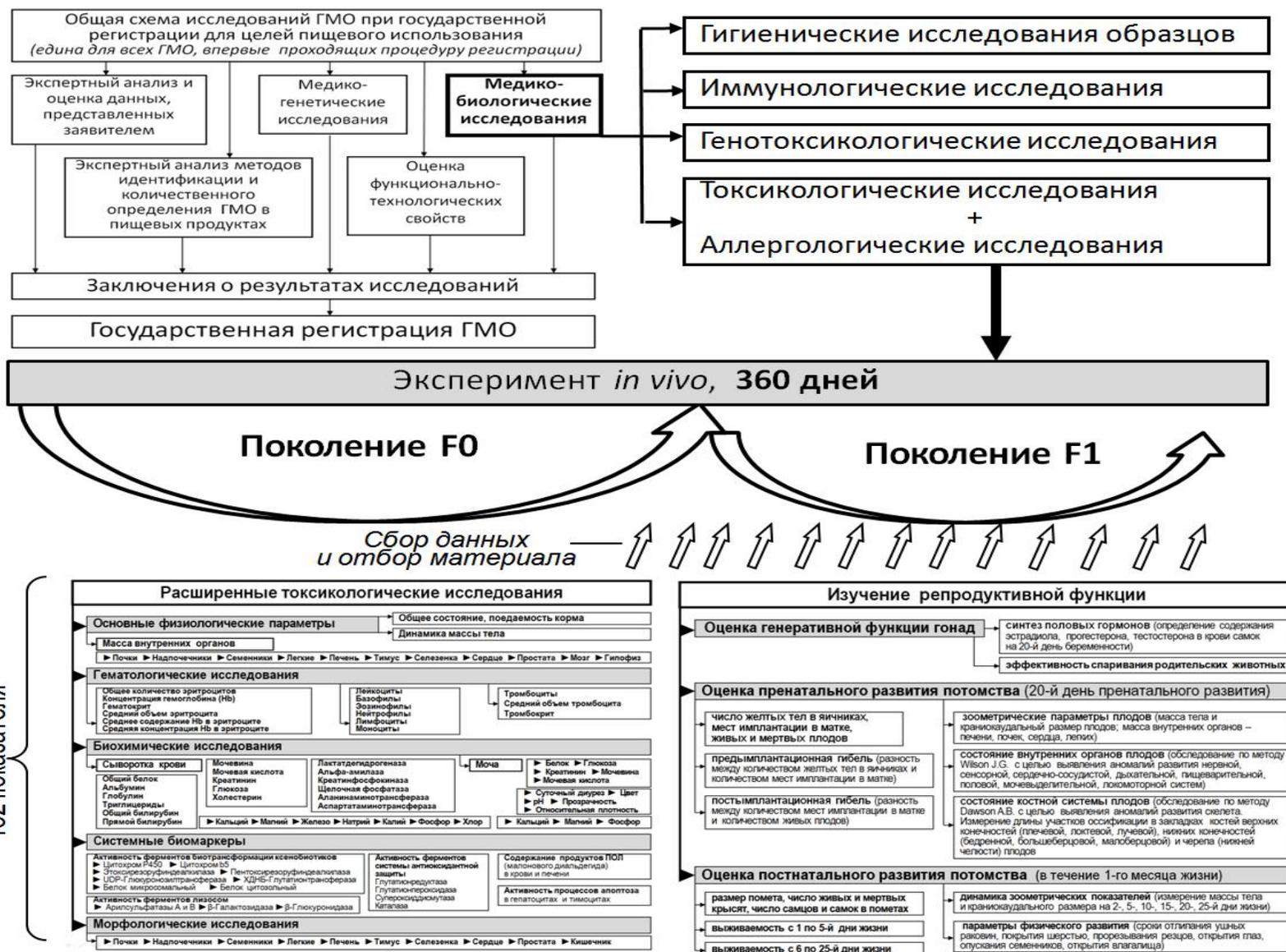


Рисунок 61 – Новая система оценки безопасности ГМО

\*\* МУ 2.3.2.2306-07, МУ 2.3.2.3388-16

— **ГМ кукурузы 1507**, устойчивой к определенным видам чешуекрылых насекомых-вредителей и глюфосинату аммония. Устойчивость к вредителям обусловлена наличием кассеты экспрессии гена *cry1F*, на основе которого синтезируется белок Cry1F, обладающий инсектицидными свойствами. Устойчивость к глюфосинату аммония обусловлена наличием кассеты экспрессии синтетического гена *pat*, на основе которого синтезируется фермент фосфинотрицин ацетилтрансфераза, обеспечивающий ускоренный метаболизм гербицида. Общая продолжительность исследований составляла 206 дней, в экспериментах использовано 1059 крыс.

— **ГМ кукурузы MZH0JG**, устойчивой к глифосату и глюфосинату аммония. Устойчивость к глифосату обусловлена наличием кассеты экспрессии гена *mepps-02*, на основе которого синтезируется белок 5-енолпирувиллицимат-3-фосфат-синтаза, не чувствительный к действию данного гербицида. Устойчивость к глюфосинату аммония обусловлена наличием кассеты экспрессии гена *pat-09*, на основе которого синтезируется белок фосфинотрицин ацетилтрансфераза, обеспечивающий ускоренный метаболизм гербицида. Общая продолжительность исследований составляла 188 дней, в экспериментах использовано 1190 крыс.

— **ГМ кукурузы DAS-40278-9**, устойчивой к гербициду – 2,4-дихлорфеноксисуксунной кислоте (2,4-Д) и определенным арилоксифеноксипропионатам. Устойчивость к гербицидам обусловлена наличием кассеты экспрессии гена *AAD-1*, кодирующего белок арилоксиалканоат диоксигеназу (Aryloxy Alkanoate Dioxygenase, AAD-1), который является  $\alpha$ -кетоглутарат-зависимой диоксигеназой. Наличие данного белка обеспечивает ускоренный метаболизм гербицидов в реакции с  $\alpha$ -кетоглутаратом за счет разложения гербицидов до неактивных фенолов и глиоксилата, и окисления  $\alpha$ -кетоглутарата до CO<sub>2</sub> и сукцината. Общая продолжительность исследований составляла 124 дня, в экспериментах использовано 1245 крыс.

Как было представлено в главе 5.7, общее состояние животных во всех токсикологических экспериментах было удовлетворительным. По внешнему виду, состоянию шерстного покрова, поведению и скорости роста животные, в рацион которых были включены исследуемые ГМО, не отличались от животных контрольных групп. При изучении генеративной функции гонад самцов и самок поколения F<sub>0</sub>, а также эндокринной функции яичников самок F<sub>0</sub>, не выявлено различий между животными, получавшими с рационом ГМО и их традиционные аналоги. Эффективность спаривания, физиологическое протекание беременности, содержание эстрадиола, прогестерона и тестостерона в крови беременных самок всех групп находились в пределах нормы, что свидетельствует о нормальной генеративной и эндокринной функции половых желез экспериментальных животных. Результаты исследований

пре- и постнатального развития потомства F1 свидетельствуют об отсутствии различий между животными, получавшими с рационом ГМО и их традиционные аналоги. Зоометрические показатели плодов соответствовали физиологической норме, аномалий развития плодов не выявлено. Физическое развитие потомства также находилось в пределах нормы, выживаемость потомства соответствовала оптимальному уровню для крыс данной линии. Масса тела и внутренних органов, гематологические показатели, биохимические показатели сыворотки крови и мочи у крыс контрольных и опытных групп не выходили за пределы физиологических колебаний, характерных для животных данного вида и возраста. Сравнительный анализ показателей, характеризующих состояние антиоксидантного статуса, и показателей, характеризующих функциональное состояние систем, осуществляющих защиту организма от воздействия токсичных соединений экзо- и эндогенного происхождения, не выявил значимых различий между контрольными и опытными группами животных. Значения показателей находились в пределах физиологических колебаний, характерных для крыс. Обзорные макроскопические морфологические исследования внутренних органов не выявили различий между группами [48; 59; 60; 61; 66; 73; 75].

Таким образом, токсикологические исследования ГМ сои линий FG72, MON87701, SYHT0H2, MON87708 и кукурузы линий 5307, MON89034, 1507, MZHGOJG, DAS-40278-9 не выявили какого-либо токсического действия ГМО по сравнению с их традиционными аналогами, также как и генотоксикологические и аллергологические исследования не выявили генотоксического и аллергенного действия.

Результаты проведенных исследований, наряду с данными экспертного анализа материалов, представленных заявителями, позволили признать вышеперечисленные ГМО безопасными как для нынешнего, так и для последующих поколений, и послужили основанием для государственной регистрации этих линий на территории ЕАЭС.

Особое внимание было уделено разработке порядка оценки безопасности ГМО с комбинированными признаками, относящихся к так называемым 2-3-му поколениям ГМ культур. Растения, геном которых был изменен посредством "трансформационного" метода, основанного на включении нового гена (генов) в геном уже существующего и зарегистрированного ранее ГМО с помощью генной инженерии; а также растения, геном которых был изменен посредством "молекулярного" метода, основанного на использовании в процессе трансформации генома растения-донора вектора (векторов), несущих несколько целевых генов, во всех юрисдикциях рассматриваются как новые ГМО и подлежат регистрационным испытаниям в полном объеме. Растения, полученные посредством "гибридизационного" метода, основанного на получении гибрида двух (и более) уже

существующих ГМО с помощью традиционной селекции, в разных юрисдикциях рассматриваются по-разному в диапазоне от "продукта обычной селекции", не требующего дополнительных исследований при регистрации, до "продукта генной инженерии", требующего проведения полномасштабных испытаний.

В рамках работы по данному направлению был проведен анализ мирового, отечественного и собственного опыта, и подтверждена необходимость дифференцирования набора исследований в зависимости от метода создания ГМО: показано, что в случае, если ГМО получен трансформационным или молекулярным методами, оценка его безопасности должна включать полный комплекс исследований [48]. В то же время, в случае использования гибридизационного метода и наличия свидетельств о государственной регистрации на территории ЕАЭС у исходных ГМ-линий, мы предложили сконцентрировать оценку безопасности на экспертном анализе данных, представленных заявителем, или представленных на этапе регистрации исходных ГМ-линий [48]. Такие данные должны содержать весь необходимый набор информации о сравнении химического состава исходных ГМ-линий с химическим составом их традиционных аналогов, результаты токсикологических, аллергологических и других исследований, результаты пострегистрационного мониторинга, осуществляемого в странах, где ГМО был зарегистрирован ранее, в случае, если в процессе мониторинга были получены данные о незадаанных эффектах генетической модификации; экспертная оценка методов обнаружения, идентификации и количественного определения ГМО; подтверждение соответствия показателей качества и безопасности ГМО (содержание токсичных элементов, микотоксинов, радионуклидов, пестицидов и др.) требованиям Технических регламентов Таможенного Союза (ТР ТС 021/2011 и др.) [16; 48]. В случае если одна или несколько исходных ГМ-линий не имеют свидетельства о государственной регистрации на территории ЕАЭС, разработанная нами система предусматривает проведение оценки безопасности таких ГМО в полном объеме (рисунок 61) [48].

Предложенный подход к оценке безопасности ГМО с комбинированными признаками был утвержден в установленном порядке (МУ 2.3.2.3388-16) [28] и использован при проведении исследований в рамках государственной регистрации ГМ сои линии MON87701×MON89788.

ГМ линия сои MON87701×MON89788 является гибридом двух ГМ линий MON87701 и MON89788, полученным методом традиционной селекции, и характеризуется устойчивостью к чешуекрылым насекомым-вредителям (свойство, детерминируемое родительской линией MON87701) и к глифосату (свойство, детерминируемое родительской линией MON89788). Устойчивость к вредителям обусловлена наличием кассеты экспрессии гена *cryIAc*, на основе

которого синтезируется белок Cry1Ac, обладающий инсектицидными свойствами [48]. Устойчивость к глифосату обусловлена наличием кассеты экспрессии гена *cp4 epsps*, на основе которого синтезируется белок 5-енолпирувилшикимат-3-фосфат-синтаза, не чувствительный к действию данного гербицида [48]. Родительские линии ранее прошли медико-биологическую оценку безопасности и разрешены для использования в пищевой промышленности и для реализации населению на территории ЕАЭС (свидетельство о государственной регистрации линии MON89788: RU.77.99.26.011.E.022757.06.11 от 29.06.2011 г.; свидетельство о государственной регистрации линии MON87701: RU.77.99.88.011.E.003744.05.13 от 20.05.2013 г.) [48].

В соответствии с требованиями МУ 2.3.2.3388-16 медико-биологическая оценка безопасности ГМ линии MON87701×MON89788 включала: экспертный анализ и оценку данных, представленных (полученных) на этапе регистрации родительских ГМ-линий; анализ данных о ГМ сое линии MON87701×MON89788, представленных в мировой литературе за весь период ее использования; экспертную оценку документации, содержащей сведения об объекте исследований, представленной заявителем; гигиенические исследования образцов ГМ сои линии MON87701×MON89788 и подтверждение присутствия синтетических генетических конструкций, свойственных трансформационным событиям MON87701 и MON89788 [48].

Также был проведен анализ информация о регистрации и разрешении использования ГМ сои линий MON89788, MON87701 и MON87701×MON89788 в питании населения стран мирового сообщества: за весь период использования не было выявлено неблагоприятного воздействия ГМ сои линии MON89788, линии MON87701, линии MON87701×MON89788 на здоровье человека или животных. Согласно заключению Европейского агентства по безопасности пищевых продуктов (European Food Safety Authority, EFSA), ГМ соя с комбинированными признаками MON87701×MON89788 является настолько же безопасной, как и ее традиционный аналог A5547 [48; 356].

Параллельно, для подтверждения правильности предложенного подхода, были в полном объеме проведены исследования по оценке токсического, генотоксического и аллергенного действия сои линии MON87701×MON89788 (представлены в главе 5.7.3).

Общее состояние животных было удовлетворительным. По внешнему виду, состоянию шерстного покрова, поведению и скорости роста животные, в рацион которых была включена исследуемая ГМ соя, не отличались от животных контрольной группы [48; 66; 73; 75].

При изучении генеративной функции гонад самцов и самок поколения F<sub>0</sub>, а также эндокринной функции яичников самок F<sub>0</sub>, не выявлено различий между животными, получавшими с рационом ГМ и традиционную сою. Эффективность спаривания,

физиологическое протекание беременности, содержание эстрадиола, прогестерона и тестостерона в крови беременных самок обеих групп находились в пределах нормы, что свидетельствует о нормальной генеративной и эндокринной функции половых желез экспериментальных животных [48; 66; 73; 75]. Результаты исследований пре- и постнатального развития потомства F1 свидетельствуют об отсутствии различий между животными контрольной и опытной групп. Зоометрические показатели плодов соответствовали физиологической норме, аномалий развития плодов не выявлено. Физическое развитие потомства также находилось в пределах нормы, выживаемость потомства в обеих группах соответствовала оптимальному уровню для крыс данной линии. Масса тела и внутренних органов, гематологические показатели, биохимические показатели сыворотки крови и мочи у крыс обеих групп не выходили за пределы физиологических колебаний, характерных для животных данного вида и возраста [48]. Сравнительный анализ показателей, характеризующих состояние антиоксидантного статуса, и показателей, характеризующих функциональное состояние систем, осуществляющих защиту организма от воздействия токсичных соединений экзо- и эндогенного происхождения, не выявил значимых различий между группами. Обзорные макроскопические морфологические исследования внутренних органов не выявили различий между группами [48].

Итогом токсикологических исследований ГМ сои с комбинированными признаками линии MON87701×MON89788 явилось подтверждение отсутствия какого-либо токсического действия данной линии сои по сравнению с ее традиционным аналогом, отсутствие генотоксического и аллергенного действия также было подтверждено в генотоксикологических и аллергологических исследованиях.

Результаты проведенных экспериментов подтвердили безопасность ГМ сои линии MON87701×MON89788 для нынешнего и последующих поколений, а также правильность предложенного нами подхода к исследованиям ГМО с комбинированными признаками, и послужили основанием для государственной регистрации этой ГМ линии и разрешения ее использования в пищевой промышленности и для реализации населению на территории ЕАЭС [48].

Таким образом, разработана и экспериментально обоснована новая система оценки безопасности ГМО растительного происхождения, которая в дальнейшем может быть использована для изучения ГМО, полученных с помощью новых геном-ориентированных технологий. Основу системы составляют рассмотренные выше комплексные токсиколого-гигиенические исследования, на основании результатов которых можно гарантировать безопасность изучаемых ГМО не только для настоящего, но и для последующих поколений. Новая система оценки безопасности интегрирована в практику работы Роспотребнадзора и

акцептирована для государственной регистрации ГМО в странах ЕАЭС. Также разработан порядок оценки безопасности ГМО с комбинированными признаками, устанавливающий требования, применяемые на этапе государственной регистрации. Разработанная система была использована для оценки безопасности 10 новых ГМ линий сои и кукурузы.

### **Рекомендации**

Поскольку в настоящее время рассмотренная в данной работе система оценки безопасности ГМО действует только в Российской Федерации, представляется целесообразным интегрировать эту систему на всей территории ЕАЭС, обеспечивая тем самым стандартизацию методологии токсиколого-гигиенических исследований и гарантии безопасности вне зависимости от того, в какой из стран-членов ЕАЭС проходила государственная регистрация ГМО.

### **Перспективы дальнейшей разработки темы**

Открытые сравнительно недавно технологии редактирования генома имеют все предпосылки для изменения темпов и направлений исследований в области селекции сельскохозяйственных растений. Масштабное использование этих технологий и создание новых хозяйственно-ценных и высокопродуктивных сортов растений, пород животных, штаммов микроорганизмов предопределяет необходимость дальнейшего совершенствования методологии оценки безопасности, в частности, применения геномных (геном-ориентированных) и постгеномных подходов.

Кроме того, развитие информационных технологий, по всей вероятности, приведет к появлению токсикологических методов *in silico*, которые позволят с высокой степенью достоверности прогнозировать действие изучаемых биологических объектов на организм человека.

Таким образом, дальнейшее развитие биотехнологий требует непрерывного совершенствования подходов к оценке безопасности и поиска современных и информативных показателей, оставаясь актуальной проблемой гигиены.

## ВЫВОДЫ

1. С целью развития системы оценки ГМО растительного происхождения, гарантирующей их безопасность не только для настоящего, но и последующих поколений, на основании серии поисковых разработок выбраны показатели и модели, позволившие сформировать новый расширенный комплекс токсиколого-гигиенических исследований и доказать их обязательность при регистрационных испытаниях новых видов ГМО.
2. Впервые установлены диапазоны значений для более 100 показателей, характеризующих физиологическое состояние различных органов и систем у здоровых крыс на разных стадиях онтогенеза, этапах пре- и постнатального развития потомства, что позволяет обеспечить объективный анализ и интерпретацию результатов исследований в рамках токсиколого-гигиенической оценки безопасности ГМО.
3. С целью стандартизации условий проведения исследований *in vivo* и обеспечения воспроизводимости результатов измерений, оптимизирован состав синтетического рациона для взрослых и растущих лабораторных животных, а также состав специализированного рациона для экспериментов по изучению репродуктивной функции. Установлено влияние солей лития на снижение фертильности крыс.  
Экспериментально определен оптимальный для репротоксикологических исследований перечень показателей репродуктивной функции, свидетельствующих о токсичности исследуемого алиментарного фактора, в частности, выживаемость и морфо-функциональные критерии постнатального онтогенеза потомства.
4. Разработана модель повышения чувствительности крыс к токсической нагрузке за счет снижения их адаптационного потенциала. Определены пороговые значения (19% для самцов и 18% для самок – от базового уровня в рационе) витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub>, а также минеральных веществ – Fe<sup>3+</sup> и Mg<sup>2+</sup>, приводящие к достоверному снижению адаптационного потенциала у лабораторных животных. Эффективность данной модели подтверждена в токсикологических и репротоксикологических экспериментах с кадмием и глифосатом. Сформирован перечень физиолого-биохимических параметров (биомаркеров), реагирующих на минимальное токсическое воздействие, включающий эритроцитарный и тромбоцитарный профили, показатели системы антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов крови и печени.

5. Впервые получены доказательства эффективности использования апоптоза в качестве чувствительного биомаркера при токсикологических исследованиях:
  - установлены периоды онтогенеза, характеризующиеся минимальным (110-120-й дни жизни) и максимальным (20-й день внутриутробного развития) уровнями апоптоза;
  - выявлено влияние составов рационов на интенсивность апоптоза. Показано что снижение обеспеченности животных витаминами и минеральными веществами (до 75, 30 и 19%) вызывает прямо пропорциональное снижение выраженности ответной реакции апоптоза на токсическое воздействие.
  
6. Разработана и экспериментально обоснована новая система оценки безопасности ГМО растительного происхождения 1-го и 2-го поколений, с возможностью ее дальнейшего использования для изучения ГМО, полученных с помощью новых геном-ориентированных технологий, в частности, геномного редактирования. Основу системы составляют комплексные токсиколого-гигиенические исследования на двух поколениях крыс, включая:
  - изучение репродуктивной функции крыс поколения F<sub>0</sub>, пре- и постнатального развития потомства F<sub>1</sub>;
  - расширенные токсикологические исследования на крысах поколения F<sub>0</sub>, в том числе, характеристику активности апоптоза;
  - аллергологические исследования на крысах поколения F<sub>1</sub>.
  
7. Новая система оценки безопасности интегрирована в практику работы Роспотребнадзора и акцептирована для государственной регистрации ГМО в странах ЕАЭС, с 2011 года являясь базовой при проведении многоуровневых токсиколого-гигиенических исследований. Эта система использована при оценке 9 линий ГМО (в среднем 190 дней и 940-1300 животных на каждый ГМО) в рамках процедуры их государственной регистрации в странах ЕАЭС:
  - сои линий MON87701, SYHT0H2, FG72, MON87708;
  - кукурузы линий 5307, MON89034, 1507, MZHG0JG, DAS-40278-9.
  
8. Разработан порядок оценки безопасности ГМО с комбинированными признаками, устанавливающий требования, применяемые на этапе государственной регистрации. Определены перечень и объем исследований, дифференцированные в зависимости от метода получения ГМО (трансформационного, молекулярного или гибридизационного) и наличия государственной регистрации исходных ГМ-линий на территории ЕАЭС – для ГМО, полученных гибридизационным методом. Новый порядок использован при исследованиях ГМ сои линии MON87701×MON89788 в рамках процедуры ее государственной регистрации в ЕАЭС.

**ВНЕДРЕНИЕ В ПРАКТИКУ**

1. Методические указания МУ 2.3.2.1917-04: Порядок и организация контроля за пищевой продукцией, полученной из/или с использованием сырья растительного происхождения, имеющего генетически модифицированные аналоги. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 47 с.
2. Методические указания МУ 2.3.2.2306-07: Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения. // Осуществление надзора за производством и оборотом пищевых продуктов, содержащих ГМО: Сборник методических указаний. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. Ч. 2. – С. 9-30.
3. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Дополнения и изменения 5 к СанПиН 2.3.2.1078-01: СанПиН 2.3.2.2227-07. – М.: Федеральный Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. – 6 с.
4. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Дополнения и изменения 6 к СанПиН 2.3.2.1078-01: СанПиН 2.3.2.2340-08. – М.: Федеральный Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. – 53 с.
5. Методические указания МУК 4.2.3105-13: Порядок и методы идентификации и количественного определения в пищевых продуктах генно-инженерно-модифицированных организмов, полученных с использованием новых биотехнологий. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителя и благополучия человека. – 2013. – 27 с.
6. Методические указания МУК 4.2.3309-15: Методы идентификации и количественного определения новых линий ГМО 2-го поколения в пищевых продуктах. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителя и благополучия человека. – 2015. – 15 с.
7. Методические указания МУ 2.3.2.3388-16: Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения с комбинированными признаками. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителя и благополучия человека. – 2016. – 27 с.
8. Методические указания МУК 4.2.3389-16: Валидация методов, предназначенных для выявления и идентификации генно-инженерно-модифицированных организмов в пищевых продуктах и продовольственном сырье. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителя и благополучия человека. – 2016. – 18 с.
9. Методические указания МУК 4.2.3390-16: Детекция и идентификация ГМО растительного происхождения методом полимеразной цепной реакции в матричном формате. – М.:

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителя и благополучия человека.  
– 2016. – 33 с.

10. Методические указания МУК 4.2. -19: Идентификация и количественное определение новых линий ГМ кукурузы (DAS-40278-9, MZIR098, MZHG0JG) и сои (MON87708) в пищевых продуктах. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителя и благополучия человека. – 2019. – 15 с.
11. Постановление Правительства Российской Федерации N 839 от 23.09.2013 г. "О государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов, предназначенных для выпуска в окружающую среду, а также продукции, полученной с применением таких организмов или содержащей такие организмы".
12. Федеральный закон N 358-ФЗ от 03.07.2016 г. "О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации в части совершенствования государственного регулирования в области генно-инженерной деятельности".
13. Свидетельства о государственной регистрации ГМО:
  - кукурузы линий 5307 (RU.77.99.88.011.E.002894.04.14 от 15.04.2014), MON89034 (RU.77.99.88.011.E.012081.12.14 от 11.12.2014), 1507 (RU.77.99.32.011.E.001395.03.17 от 23.03.2017), MZHG0JG (RU.77.99.88.011.E.001046.03.18 от 14.03.2018), DAS-40278-9 (RU.77.99.88.011.E.000933.03.19 от 13.03.2019);
  - сои линий MON87701 (RU.77.99.88.011.E.003744.05.13 от 20.05.2013), SYHT0H2 (RU.77.99.32.011.E.000032.01.16 от 12.01.2016), FG72 (RU.77.99.32.011.E.010101.11.15 от 12.11.2015), MON87708 (RU.77.99.57.011.E.002302.07.19 от 02.07.2019);
  - сои линии MON87701×MON89788 с комбинированными признаками (RU.77.99.32.011.E.004191.09.16 от 22.09.2016).
14. Результаты диссертации включены в программу дополнительного профессионального образования, проводимого Федеральным бюджетным учреждением здравоохранения "Федеральный центр гигиены и эпидемиологии" Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека" по теме "Молекулярно-генетические методы исследований продуктов питания и продовольственного сырья (ГМО)".

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

|          |   |   |
|----------|---|---|
| АЛТ      | – | аланаминотрансфераза                                  |
| АСТ      | – | аспартатаминотрансфераза                              |
| Гамма-ГТ | – | гамма-глутамилтрансфераза                             |
| ГМ       | – | генно-инженерно-модифицированный                      |
| ГМО      | – | генно-инженерно-модифицированный организм             |
| ГП       | – | глутатионпероксидаза                                  |
| ГР       | – | глутатионредуктаза                                    |
| ЕАЭС     | – | Евразийский экономический союз                        |
| КАТ      | – | каталаза  |
| МДА      | – | малоновый диальдегид                                  |
| ПКР      | – | полусинтетический казеиновый рацион                   |
| СОД      | – | супероксиддисмутаза                                   |
| AIN-93   | – | рацион, разработанный American Institute of Nutrition |

**СПИСОК ЦИТИРОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Акимова, И.М. Аномалии развития скелета эмбрионов крыс после воздействия хлорида (пириметамина) [Текст] / И.М. Акимова // Арх. анатомии, гистол. и эмбриол. – 1972. – № 8. – С. 77-86.
2. Арутюнян, Л.С. Каннибализм и генеративная активность – ключевые популяционные адаптации серой крысы (*Rattus Norvegicus* Berk) по использованию пищевого ресурса во время сезонных пессимумов [Текст] / Л.С. Арутюнян, А.И. Дулицкий // Ученые записки ТНУ. – 2004. – Т.17. – № 56. – С. 192-197.
3. Березов, Т.Т. Биологическая химия [Текст]: учебник, 3-е изд., перераб. и доп. / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – М.: Медицина, 1998. – 704 с. – ISBN 5-225-02709-1.
4. Братусь, А.С. Динамические системы и модели биологии [Текст] / А.С. Братусь, А.С. Новожилов, А.П. Платонов. – М.: Физматлит, 2010. – 400 с. – ISBN 978-5-9221-1192-8.
5. Ветчинова, А.С. Технология редактирования генома и возможности ее применения в клеточной нейробиологии [Текст] / А.С. Ветчинова, Е.В. Коновалова, Е.А. Лунев, С.Н. Иллариошкин // Анналы клин. и эксперим. неврологии. – 2015. – Т. 9. – № 4. – С. 61-66.
6. Витамины и микроэлементы в клинической фармакологии [Текст] / В.А. Тутельян [и др.] – М.: Палея-М, 2001. – 560 с. – ISBN 5-86020-224-5.
7. Власов, В.В. "Редакторы" геномов. От "цинковых пальцев" до CRISPR [Электронный ресурс] / В.В. Власов, С.П. Медведев, С.М. Закиян // НАУКА из первых рук. – 2014. – Т. 56. – № 2. – 10 с. – URL: <https://scfh.ru/files/iblock/16a/16a6567cacdb243aa78cdabb0700afba.pdf>.
8. Волкова, Н.А. Изучение мутагенной активности кадмия при пероральном поступлении [Текст] / Н.А. Волкова, И.А. Карплюк // Вопросы питания. – 1990. – №1. – С.74-76.
9. Гмошинский, И.В. Определение антител класса IgG у экспериментальных животных, сенсibilизированных перорально пищевым белком (к характеристике модели пищевой анафилаксии) [Текст] / И.В. Гмошинский, В.В. Кржечковская, Н.Н. Пятницкий // Вопросы питания. – 1994. – Т. 1-2. – С. 3-33.
10. Голиков, С.Н. Общие механизмы токсического действия [Текст] / С.Н. Голиков, И.В. Саноцкий, Л.А. Тиунов. – М.: Медицина, 1986. – 280 с.
11. Дурнев, А.Д. Мутагены (скрининг и фармакологическая профилактика воздействий) [Текст] / А.Д. Дурнев, С.Б. Середенин. – М.: Медицина, 1998. – 328 с. – ISBN 5-225-04429-8.
12. Дыбан, А.П. Основные методические подходы к тестированию тератогенной активности химических веществ [Текст] / А.П. Дыбан, В.С. Баранов, И.М. Акимова // Арх. анатомии, гистол. и эмбриол. – 1970. – № 10. – С. 89-100.

13. Жминченко, В.М. Оценка репродуктивной токсичности в медико-биологических исследованиях биотехнологической продукции: особенности постановки эксперимента [Текст] / В.М. Жминченко, В.А. Пашорина, К.Е. Селяскин, Н.В. Тышко // Здоровое питание: от фундаментальных исследований к инновационным технологиям: мат. XV всеросс. конгр. нутриц. и диетол. с междунар. участием. – Вопросы питания. – 2014. – Т. 83 (приложение). – № 3. – С. 258-259.
14. Жминченко, В.М. Питание и взаимосвязь между интенсивностями клеточного обновления и метаболизма внутренних органов крыс [Текст] / В.М. Жминченко, А.И. Соколов, И.Б. Тарасова, А.М. Сафронова // Питание и здоровье: мат. X всеросс. конгр. диетол. и нутрициол. – М., 2008. – С. 34.
15. Жминченко, В.М. Современные тенденции исследований в нутрициологии и гигиене питания [Текст] / В.М. Жминченко, М.М.Г. Гаппаров // Вопр. питания. – 2015. – Т. 84. – №1. – С. 4-15.
16. Законодательное регулирование оборота генетически модифицированных продуктов в Российской Федерации [Электронный ресурс]: Библиодосье к парламентским слушаниям, 07 июня 2012 года / Управление библиотечных фондов (Парламентская библиотека), Комитет Государственной Думы по науке и наукоемким технологиям, 2012. – 41 с. – URL: <https://docplayer.ru/32828365-Zakonodatelnoe-regulirovanie-oborota-geneticheskii-modificirovannyh-produktov-v-rossiyskoy-federacii.html>
17. Каркищенко, Н.Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях [Текст] / Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачев (Ред.). – М.: Профиль, 2010. – 358 с. – ISBN 978-5-903950-10-2.
18. Коденцова, В.М. Биохимические показатели плазмы крови и некоторые параметры антиоксидантного статуса крыс при полигиповитаминозах разной степени [Текст] / В.М. Коденцова, О.А. Вржесинская, Н.А. Бекетова, С.Х. Сото, З.В. Карагодина, Н.Э. Шаранова, В.А. Батурина // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 2012. – №10. – С.439-442.
19. Коденцова, В.М. Витамины [Текст] / В.М. Коденцова. – М.: МИА, 2015. – 408 с. – ISBN 978-5-9986-0234-4.
20. Коденцова, В.М. Витамины и окислительный стресс [Текст] / В.М. Коденцова, О.А. Вржесинская, В.К. Мазо // Вопр. питания. – 2013. – Т. 82. – № 3. – С. 11-18. (б)
21. Коденцова, В.М. Микроэлементный и антиоксидантный статус крыс при полигиповитаминозе [Текст] / В.М. Коденцова, О.А. Вржесинская, Н.А. Бекетова, С.Х. Сото, З.В. Карагодина, В.В. Бессонов // Вопр. биол., мед. и фарм. хим. – 2013. – Т. 11. – № 2. – С. 64-68. (а)

22. Костюк, В.А. Определение продуктов перекисного окисления липидов с помощью тиобарбитуровой кислоты в анаэробных условиях [Текст] / В.А. Костюк, А.И. Потапович // Вопр. мед. химии. – 1987. – № 3. – С. 115-118.
23. Кравченко, Л.В. Влияние поливитаминой недостаточности на активность ферментов метаболизма ксенобиотиков в печени крыс [Текст] / Л.В. Кравченко, И.В. Аксенов, Н.В. Трусов, Г.В. Гусева, Л.И. Авреньева, В.М. Коденцова // Вопр. питания. – 2012. – Т.81. – №2. – С. 28-33.
24. Кравченко, Л.В. Влияние степени окисленности рыбьего жира на функциональное состояние ферментов метаболизма ксенобиотиков [Текст] / Л.В. Кравченко, Е.Э. Кузьмина, Л.И. Авреньева, А.Л. Поздняков, С.Н. Кулакова, М.М. Левачев // Вопросы питания. – 1994. – № 4. – С. 13-16.
25. Мальцев, Г.Ю. Оптимизация определения активности глутатионредуктазы эритроцитов человека на полуавтоматическом анализаторе [Текст] / Г.Ю. Мальцев, Л.А. Орлова // Вопр. мед. химии. – 1994. – № 2. – С. 59-61.
26. Мальцев, Г.Ю. Способ определения активности каталазы и супероксиддисмутазы эритроцитов на анализаторе открытого типа [Текст] / Г.Ю. Мальцев, А.В. Васильев // Вопр. мед. химии. – 1994. – № 2. – С. 56-58.
27. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения [Текст]: методич. указания МУ 2.3.2.2306-07 / Осуществление надзора за производством и оборотом пищевых продуктов, содержащих ГМО: Сборник методических указаний. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. – Ч. 2. – 21 с. – ISBN 5-7508-0741-X.
28. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения с комбинированными признаками [Текст]: методич. указания МУ 2.3.2.3388-16. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – 2016. – 30 с. – ISBN 978-5-7508-1501-2.
29. Медико-биологическая оценка новых источников пищевых веществ [Текст] / Ю.Г. Новодержкина [и др.]. – Ростов-на-Дону, 1984. – 100 с.
30. Медико-биологическая оценка пищевой продукции, полученной из генетически модифицированных источников [Текст]: методич. указания МУ 2.3.2.970-00. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2000. – 95 с. – ISBN 5-7508-0224-8.
31. Меньшиков, В.В. Лабораторные методы исследования в клинике [Текст] / В.В. Меньшиков (Ред.). – М.: Медицина, 1987. – 368 с.

32. Микронутриенты в питании здорового и больного человека [Текст] / В.А. Тутельян [и др.]. – М.: Колос, 2002. – 424 с. – ISBN: 5-10-003454-8.
33. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств [Текст] / А.Н. Миронов (Ред.). – М.: Гриф и К, 2012. – Ч. 1. – 944 с. – ISBN: 978-5-8125-1466-3.
34. Мозгова, Г. Генно-инженерные организмы и здоровье [Текст] / Г. Мозгова, Е. Макеева, С. Дромашко // Наука и инновации. – 2014. – Т. 141. – № 11. – С. 58-63.
35. Мустафина, О.К. Гематологические показатели у крыс Вистар разного возраста, содержащихся на полусинтетическом полноценном виварном рационе [Текст] / О.К. Мустафина, Э.Н. Трушина, А.А. Шумакова, Е.А. Арианова, Н.В. Тышко, В.А. Пашорина // Вопр. питания. – 2013. – № 2. – С. 10-16.
36. Немудрый, А.А. Системы редактирования геномов TALEN и CRISPR/Cas – инструменты открытий [Текст] / А.А. Немудрый, К.Р. Валетдинова, С.П. Медведев, С.М. Закиян // Acta naturae. – 2014. – Т. 6. – № 3 (22). – С. 20-42.
37. Никитин, Н.С. Модификация витаминно-минерального состава рационов как модель снижения адаптационного потенциала крыс [Текст] / Н.С. Никитин, М.Д. Требух, Н.В. Тышко // Биотехнология: состояние и перспективы развития: мат. IX междунар. конгр. – М.: ООО «РЭД ГРУПП», 2017. – С. 246-247.
38. Онищенко, Г.Г. Генетически модифицированные источники пищи: медико-биологическая оценка [Текст] / Г.Г. Онищенко, В.А. Тутельян, А.И. Петухов, А.А. Королев, И.Н. Аксюк, Е.Ю. Сорокина // Врач. – 2000. – № 3. – С. 35-37.
39. Онищенко, Г.Г. О гигиенических и нормативных аспектах регистрации, маркировки и этикетирования пищевых продуктов, полученных из генетически модифицированных источников [Текст] / Г.Г. Онищенко // Вопросы питания. – 2001. – № 2. – С. 3-7.
40. Онищенко, Г.Г. Современные подходы к оценке безопасности генетически модифицированных источников пищи. Опыт изучения соевых бобов линии 40-3-2 [Текст] / Г.Г. Онищенко, В.А. Тутельян, А.И. Петухов, А.А. Королев, И.Н. Аксюк, Е.Ю. Сорокина // Вопросы питания. – 1999. – Т. 68. – № 5/6. – С. 3-7.
41. Оценка воздействия наноматериалов на функцию иммунитета [Текст]: методич. рекоменд. МР 1.2.0052-11. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012. – 46 с.
42. Погожева А.В. Сердечно-сосудистые заболевания, диета и ПНЖК  $\omega$ 3 [Текст] / А.В. Погожева. – М., 2000. – 320 с. – ISBN 5-85638-040-1.

43. Покровский, А.А. Медико-биологические исследования углеводородных дрожжей (1964-1970 гг.) [Текст] / А.А. Покровский (Отв. ред.). – М., Наука. 1972. – 468 с.
44. Покровский, А.А. Метаболические аспекты фармакологии и токсикологии пищи [Текст] / А.А. Покровский. – М.: Медицина, 1979. – 184 с.
45. Применение метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток для оценки генотоксических свойств природных и синтетических соединений [Текст]: методич. рекоменд. – М., 2006. – 27 с.
46. Принципы оценки безопасности пищевых добавок и контаминантов в продуктах питания [Текст]: Гигиенические критерии состояния окружающей среды 70. – Женева: ВОЗ, 1991. – 159 с. – ISBN 5-225-01850-5.
47. Принципы оценки риска для потомства в связи с воздействием химических веществ в период беременности [Текст]: Гигиенические критерии состояния окружающей среды 30. – Женева: МПХБ/ВОЗ, 1988. – 156 с. – ISBN 5-225-01800-9.
48. Разработка новых технологий обеспечения безопасности продукции, полученной с использованием генно-инженерно-модифицированных животных, и методов обнаружения, идентификации и количественного определения рекомбинантной ДНК животного происхождения [Текст]: заключительный отчет о результатах науч.-исслед. работы, рег. номер НИОКТР АААА-Б17-217042040015-0 / отв. исполнитель Н.В. Тышко. – Москва, ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», 2016. – 222 с.
49. Разработка системы оценки безопасности биотехнологической продукции растительного происхождения, полученной с использованием инновационной генно-инженерной технологии РНК-интерференции [Текст]: заключительный отчет о результатах науч.-исслед. работы, рег. номер НИОКТР АААА-А17-117032750173-9 / отв. исполнитель Н.В. Тышко. – Москва, ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», 2018. – 163 с.
50. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA [Текст] / Реброва О.Ю. – М.: Медиа Сфера, 2006. – 312 с. – ISBN 5-89084-013-4.
51. Саноцкий, И.В. Критерии вредности в гигиене и токсикологии, при оценке опасности химических соединений [Текст] / И.В. Саноцкий, И.П. Уланова. – М.: Медицина, 1975. – 328 с.
52. Селяскин, К.Е. Изучение активности апоптоза при воздействии некоторых алиментарных и токсических факторов [Текст]: дисс. ... канд. биол. наук: 03.01.04 / Селяскин Кирилл Евгеньевич. – Москва, ФГБУ «НИИ питания» РАМН, 2014. – 102 с.
53. Сидорова, Ю.С. Влияние витаминной обеспеченности на протекание общего адаптационного синдрома у растущих крыс [Текст] / Ю.С. Сидорова, Н.А. Бекетова, О.А.

- Вржесинская, В.М. Коденцова, О.В. Кошелева, С.Н. Зорин, А.В. Селифанов, В.К. Мазо // *Вопр. питания.* – 2014. – Т. 83. – № 5. – С. 20-25.
54. Скрыбин, К.Г. Современные системы защиты и новые направления в повышении устойчивости картофеля к колорадскому жуку [Текст] / К.Г. Скрыбин, К.В. Новожилов – М.: Наука. – 2000. – Т. 1. – 224 с.
55. Требух, М.Д. Характеристика иммунного статуса крыс при витаминно-минеральной недостаточности [Текст] / М.Д. Требух, Э.О. Садыкова, А.К. Голомидова, Н.А. Ригер, А.Н. Тимонин, О.К. Мустафина, Н.В. Тышко // *Вопросы питания.* – 2017. – Т. 86. – № 6. – С. 36-41.
56. Трушина, Э.Н. Оценка активности апоптоза тимоцитов крыс линии Вистар методом проточной цитофлуориметрии на разных этапах онтогенетического развития [Текст] / Э.Н. Трушина, О.К. Мустафина, Н.В. Тышко, В.М. Жминченко, В.А. Пашорина // *Вопросы питания.* – 2018. – № 5. – С. 46.
57. Тутельян, В.А. Генетически модифицированные источники пищи: оценка безопасности и контроль [Текст]: / В.А. Тутельян. – М.: Издательство РАМН, 2007. – 444 с. – ISBN 978-5-7901-0092-5.
58. Тутельян, В.А. Медико-биологическая оценка безопасности белкового концентрата, полученного из генетически модифицированной сои. Биохимические исследования [Текст] / В.А. Тутельян, Л.В. Кравченко, Н.В. Лашнева, Л.И. Авреньева, Г.В. Гусева, Е.Ю. Сорокина, О.Н. Чернышева // *Вопросы питания.* – 1999. – №5/6. – С. 9-12.
59. Тутельян, В.А. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированной кукурузы линии MON 88017. Сообщение 1. Токсиколого-гигиенические исследования [Текст] / В.А. Тутельян, М.М. Гаппаров, Л.И. Авреньева, И.Н. Аксюк, Г.В. Гусева, Л.В. Кравченко, Л.С. Львова, В.П. Сапрыкин, Н.В. Тышко, О.Н. Чернышева // *Вопросы питания.* – 2008. – Т. 77. – № 5. – С. 4-12.
60. Тутельян, В.А. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированной кукурузы линии MIR604. Сообщение 1. Токсиколого-гигиенические исследования [Текст] / В.А. Тутельян, М.М. Гаппаров, Л.И. Авреньева, И.Н. Аксюк, Г.В. Гусева, Л.В. Кравченко, Л.С. Львова, В.П. Сапрыкин, Н.В. Тышко, О.Н. Чернышева // *Вопросы питания.* – 2009. – Т. 78. – № 2. – С. 24-32.
61. Тутельян, В.А. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированной сои линии MON 89788. Сообщение 1. Токсиколого-гигиенические исследования [Текст] / В.А. Тутельян, М.М.Г. Гаппаров, Л.И. Авреньева, Г.В. Гусева, В.М.

- Жминченко, Л.В. Кравченко, В.А. Пашорина, В.П. Сапрыкин, К.Е. Селяскин, Н.В. Тышко // Вопросы питания. – 2010. – Т. 79. – № 3. – С. 4-12.
62. Тутельян, В.А. Обеспечение безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов для производства пищевых продуктов [Текст] / В.А. Тутельян // Вестник РАН. – 2017. – Т. 87. – № 4. – С. 342-347.
63. Тутельян, В.А. Питание и процессы биотрансформации чужеродных веществ [Текст] / В.А. Тутельян, Г.И. Бондарев, А.Н. Мартинчик. – ВИНТИ. Итоги науки и техники. Сер. «Токсикология», 1987. – Т. 15. – 212 с.
64. Тышко, Н.В. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированной кукурузы линии MON 88017. Сообщение 2. Генотоксикологические, иммунологические и аллергологические исследования [Текст] / Н.В. Тышко, М.В. Брицина, И.В. Гмошинский, А.К. Жанатаев, Н.С. Захарова, С.Н. Зорин, В.К. Мазо, Б.Ф. Семенов // Вопросы питания. – 2008. – Т. 77. – № 5. – С. 13-17.
65. Тышко, Н.В. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированной кукурузы линии MIR604. Сообщение 2. Генотоксикологические, иммунологические и аллергологические исследования [Текст] / Н.В. Тышко, М.В. Брицина, И.В. Гмошинский, А.К. Жанатаев, Н.С. Захарова, С.Н. Зорин, В.К. Мазо, М.Н. Озерецковская, Б.Ф. Семенов // Вопросы питания. – 2009. – Т. 78. – № 2. – С. 33-38.
66. Тышко, Н.В. Оценка влияния ГМО растительного происхождения на развитие потомства крыс в трех поколениях [Текст] / Н.В. Тышко, В.М. Жминченко, В.А. Пашорина, В.П. Сапрыкин, К.Е. Селяскин, Н.Т. Утембаева, В.А. Тутельян // Вопросы питания. – 2011. – Т. 80. – № 1. – С. 14-28.
67. Тышко, Н.В. Изучение активности апоптоза в органах крыс на разных этапах онтогенеза [Текст] / Н.В. Тышко, Э.О. Садыкова, С.И. Шестакова, Э.Н. Трушина, О.К. Мустафина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т. 166. № 9. – С. 388-391.
68. Тышко, Н.В. Изучение влияния интоксикации кадмием на модели витаминно-минеральной недостаточности у крыс [Текст] / Н.В. Тышко, Э.О. Садыкова, А.Н. Тимонин, С.И. Шестакова, О.К. Мустафина, С.Х. Сото // Вопросы питания. – 2018. – Т. 87. – № 1. – С. 63-71.
69. Тышко, Н.В. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированной сои линии MON 89788. Сообщение 2. Генотоксикологические, иммунологические и аллергологические исследования [Текст] / Н.В. Тышко, М.В. Брицина, И.В. Гмошинский, Н.С. Захарова, С.Н. Зорин, В.К. Мазо, М.Н. Озерецковская, К.Е. Селяскин // Вопросы питания. – 2010. – Т. 79. – № 3. – С. 13-17.

70. Тышко, Н.В. Модификация витаминно-минерального состава рационов как модель снижения адаптационного потенциала крыс для токсикологических исследований [Текст] / Н.В. Тышко, Э.О. Садыкова, А.Н. Тимонин, С.И. Шестакова, М.Д. Требух, В.А. Пашорина // Вопросы питания. – 2016. – Т. 85. – № 6. – С. 64-71.
71. Тышко, Н.В. Определение активности апоптоза в органах крыс на модели токсического воздействия СС14 [Текст] / Н.В. Тышко, К.Е. Селяскин, В.А. Тутельян // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10 (часть 5). – С. 993-998.
72. Тышко, Н.В. Оценка репродуктивной функции крыс при раздельном и сочетанном воздействии алиментарного и токсического факторов [Текст] / Н.В. Тышко, К.Е. Селяскин, Е.А. Мельник, В.А. Пашорина, В.М. Жминченко // Вопросы питания. – 2012. – Т. 81. – № 1. – С. 33-43.
73. Тышко, Н.В. Оценка влияния ГМО растительного происхождения на развитие потомства крыс [Текст] / Н.В. Тышко, В.М. Жминченко, В.А. Пашорина, В.П. Сапрыкин, К.Е. Селяскин, Н.Т. Утембаева, В.А. Тутельян // Гигиена и санитария. – 2011. – №6. – С.73-77.
74. Тышко, Н.В. Сравнительная характеристика влияния экспериментальных рационов на рост и развитие крыс [Текст] / Н.В. Тышко, В.М. Жминченко, В.А. Пашорина, К.Е. Селяскин, Е.А. Мельник, О.К. Мустафина, С.Х. Сото, Э.Н. Трушина, М.М.Г. Гаппаров // Вопросы питания. – 2011. – Т. 80. – № 5. – С. 30-38.
75. Утембаева, Н.Т. Оценка влияния генно-инженерно-модифицированных источников пищи на репродуктивную систему крыс и их потомство [Текст]: дисс. ... канд. мед. наук: 14.02.01 / Утембаева Назым Талгатовна. – Москва, НИИ питания РАМН, 2010. – 98 с.
76. Утембаева, Н.Т. Разработка методических подходов к изучению влияния фактора сезонности на репродуктивную функцию крыс в экспериментальных исследованиях при алиментарных воздействиях [Текст] / Н.Т. Утембаева, В.А. Пашорина, К.Е. Селяскин, Н.В. Тышко // Вопросы питания. – 2009. – Т. 78. – №1. – С. 43-48.
77. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [Текст] / Р.У. Хабриев (Ред.). – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с. – ISBN 5-225-04219-8.
78. Хаитов, Р.М. Экспериментальное изучение иммуностропной активности фармакологических препаратов (методические рекомендации) [Текст] / Р.М. Хаитов, И.С. Гуцин, Б.В. Пинегин, А.И. Зебрев // Вестн. фармакол. комитета. – 1999. – №1. – С. 31-36.
79. Хныченко, Л.К. Стресс и его роль в развитии патологических процессов [Текст] / Л.К. Хныченко, Н.С. Сапронов // Обз. по клин. фарм. и лек. тер.– 2003. – Т. 2. – № 3. – С. 2-15.
80. Хэм, А. Гистология [Текст] / А. Хэм, Д. Кормак – М.: Мир 1983. – Т. 5. – 294 с.

81. Шарипова, М.Р. Механизмы устойчивости растений к инфекциям [Текст] / М.Р. Шарипова, Н.П. Балабан, А.М. Марданова, Ч. Нямсурэн, Л.Р. Валеева // Уч. записки казанск. универс. – 2013. – Т. 155. – кн. 4. – С. 28-58.
82. Шестакова, С.И. Изменение активности апоптоза в органах крыс линии Вистар на разных этапах онтогенетического развития [Текст] / С.И. Шестакова, В.М. Жминченко, В.А. Пашорина, Э.О. Садыкова, А.Н. Тимонин, Н.В. Тышко // Питание и здоровье: мат. всеросс. науч.-практ. конф. – Вопросы питания. – 2015. – Т. 84 (приложение). – № 3. – С. 172-174.
83. Abdelrahman, M. Genome editing using CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis: An opportunity for yield improvements of crop plants grown under environmental stresses [Text] / M. Abdelrahman, A.M. Al-Sadi, A. Pour-Aboughadareh, D.J. Burritt, L.P. Tran // Plant Physiol. Biochem. – 2018. – Vol. 131. – P. 31-36.
84. Ahmad, N. Genetic manipulations in crops: challenges and opportunities [Text] / N. Ahmad, Z. Mukhtar // Genomics. – 2017. – Vol. 109(5-6). – P. 494-505.
85. Ambavaram, M.M.R. Coordinated regulation of photosynthesis in rice increases yield and tolerance to environmental stress [Text] / M.M.R. Ambavaram, S. Basu, A. Krishnan, V. Ramegowda, U. Batlang, L. Rahman, N. Baisakh, A. Pereira // Nature communications. – 2014. – Vol. 5. – № 5302. – 14 p.
86. Anand, A. Greenhouse and field testing of transgenic wheat plants stably expressing genes for thaumatin-like protein, chitinase and glucanase against *Fusarium graminearum* [Text] / A. Anand, T. Zhou, H.N. Trick, B.S. Gill, W.W. Bockus, S. Muthukrishnan // Journ. of Experim. Botany. – 2003. – Vol. 54. – № 384. – P. 1101-1111.
87. Aoyama, H. Historical control data on reproductive abilities and incidences of spontaneous fetal malformations in Wistar Hannover GALAS rats [Text] / H. Aoyama, M. Kikuta, N. Shirasaka, H. Hojo, K.L. Takahashi, N. Shimizu, M. Harigae, F. Tagwhiz, S. Teramoto // Congenital Anomalies. – 2002. – Vol. 42. – P. 194-201.
88. Aragao, F.J. First transgenic geminivirus-resistant plant in the field [Text] / F.J. Aragao, J.C. Faria // Nat. Biotechnol. – 2009. – Vol. 27. – 1086-1088.
89. Atkinson, R.G. Down-regulation of polygalacturonase 1 alters firmness, tensile strength and water loss in apple (*Malus x domestica*) fruit [Text] / R.G. Atkinson, P.W. Sutherland, S.L. Johnston, K. Gunaseelan, I.C. Hallett, D. Mitra, D.A. Brummell, R. Schroder, J.W. Johnston, R.J. Schaffer // BMC Plant Biology. – 2012. – Vol. 12. – № 129. – 13 p.
90. Baltes, N.J. Conferring resistance to geminiviruses with the CRISPR-Cas prokaryotic immune system [Text] / N.J. Baltes, A.W. Hummel, E. Konecna, R. Cegan, A.N. Bruns, D.M. Bisaro, D.F. Voytas // Nat. Plants. – 2015. – Vol. 1. – №:15145. – 4 p.

91. Bapat, V.A. Ripening of fleshy fruit: molecular insight and the role of ethylene [Text] / V.A. Bapat, P.K. Trivedi, A. Ghosh, V.A. Sane, T.R. Ganapathi, P. Nath // *Biotechnol. Adv.* –2010. – Vol. 28. – P. 94-107.
92. Basso, M.F. MicroRNAs and new biotechnological tools for its modulation and improving stress tolerance in plants [Text] / M.F. Basso, P.C.G. Ferreira, A.K. Kobayashi, F.G. Harmon, A.L. Nepomuceno, H.B.C. Molinari, M.F. Grossi-de-Sa // *Plant Biotechnol. J.* – 2019. – Vol. 17(8). – P.1482-1500.
93. Beker, M.P. Development of a construct-based risk assessment framework for genetic engineered crops [Text] / M.P. Beker, P. Boari, M. Burachik, V. Cuadrado, M. Junco, S. Lede, M.A. Lema, D. Lewi, A. Maggi, I. Meoniz, G. Noé, C. Roca, C. Robredo, C. Rubinstein, C. Vicien, A. Whelan // *Transgenic Res.* – 2016. – Vol. 25(5). – P. 597-607.
94. Berridge, M.J. Calcium – a life and death signal [Text] / M.J. Berridge, M.D. Bootman, P. Lipp // *Nature.* – 1998. – Vol. 395. – P. 645-648.
95. Bhatnagar, M.K. An efficient method for the production of markerfree transgenic plants of peanut (*Arachis hypogaea* L.) [Text] / M.K. Bhatnagar, P. Prasad, P.B. Mathur, M.L. Narasu, F. Waliyar, K.K. Sharma // *Plant Cell Rep.* – 2010. – Vol. 29. – P. 495-502.
96. Bhatnagar-Mathur, P. Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospect and prospects [Text] / P. Bhatnagar-Mathur, V. Vadez, K.K. Sharma // *Plant Cell Rep.* – 2008. –Vol. 27. – P. 411-424.
97. Biden, S. The economic and environmental cost of delayed GM crop adoption: The case of Australia's GM canola moratorium [Text] / S. Biden, S.J. Smyth, D. Hudson // *GM Crops & Food.* – 2018. – Vol. 9. – P. 13-30.
98. Bobkowski, W. The importance of magnesium status in the pathophysiology of mitral valve prolapse [Text] / W. Bobkowski, A. Nowak, J. Durlach // *Magnes. Res.* – 2005. – Vol. 18. – № 1. – P. 35-52.
99. Boehm, O. Clinical chemistry reference database for Wistar rats and C57BL6 mice [Text] / O. Boehm, B. Zur, A. Koch, N. Tran, R. Freyenhagen, M. Hartmann, K. Zacharowski // *Biol. Chem.* – 2007. – Vol. 388. – P. 547-554.
100. Bonfim, K. RNAi-mediated resistance to bean golden mosaic virus in genetically engineered common bean (*Phaseolus vulgaris*) [Text] / K. Bonfim, J.C. Faria, E.O.P.L. Nogueira, E.A. Mendes, F.J.L. Aragao // *Mol. Plant-Microbe Interact.* – 2007. – Vol. 20. – № 6. – P. 717-726.
101. Borisjuk, N. Genetic modification for wheat improvement: from transgenesis to genome editing [Text] / N. Borisjuk, O. Kishchenko, S. Eliby, C. Schramm, P. Anderson, S. Jatayev, A. Kurishbayev, Y. Shavrukov // *Biomed. Res. Int.* – 2019. – Vol. 2019. – Art. 6216304. – 18 p.

102. Bravo, A. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control [Text] / A. Bravo, S.S. Gill, M. Soberón // *Toxicon*. – 2007. – Vol. 49. – P. 423-435.
103. Briehl, M.M. Downregulation of the antioxidant defence during glucocorticoid-mediated apoptosis [Text] / M.M. Briehl, I.A. Cotgreave, G. Powis // *Cell Death and Differentiation*. – 1995. – Vol. 2(1). – P. 41-46.
104. Brinch-Pedersen, H. Heat-stable phytases in transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.): deposition pattern, thermostability, and phytate hydrolysis [Text] / H. Brinch-Pedersen, F. Hatzack, E. Stoger, E. Arcalis, K. Pontopidan, P.B. Holm // *J. Agric. Food Chem.* – 2006. – Vol. 54. – P. 4624-4632.
105. Brookes, G. GM crops: global socio-economic and environmental impacts 1996-2015 [Text] / G. Brookes, P. Barfoot. – Dorchester, UK: PG Economics Ltd, 2017. – 201 p.
106. Brostoff, J. Food Allergy and Intolerance [Text] / J. Brostoff, S.J. Challacombe. – USA: W.B. Saunders, 1987. – P. 286-300. – ISBN 9780702011566.
107. Carroll, D. Genome Engineering With Zinc-Finger Nucleases [Text] / D. Carroll // *Genetics*. – 2011. – Vol. 188. – P. 773-782.
108. Cellini, F. Unintended effects and their detection in genetically modified crops [Text] / F. Cellini, A. Chesson, I. Colquhoun, A. Constable, H.V. Davies, K.H. Engel, A.M.R. Gatehouse, S. Kärenlampi, E.J. Kok, J.-J. Leguay, S. Lehesranta, H.P.J.M. Noteborn, J. Pedersen, M. Smith // *Food and Chemical Toxicol.* – 2004. – Vol. 42. – P. 1089-1125.
109. Century, K. Regulating the regulators: the future prospects for transcription-factor based agricultural biotechnology products [Text] / K. Century, T.L. Reuber, O.J. Ratcliffe // *Plant Physiol.* – 2008. – Vol. 147. – P. 20-29.
110. Chakraborty, S. Increased nutritive value of transgenic potato by expressing a non allergenic seed albumin gene from *Amaranthus hypochondriacus* [Text] / S. Chakraborty, N. Chakraborty, A. Datta // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2000. – Vol. 97. – P. 3724-3729.
111. Chakraborty, S. Next generation protein rich potato by expressing a seed protein gene Am A1 as a result of proteome rebalancing in transgenic tuber [Text] / S. Chakraborty, N. Chakraborty, L. Agrawal, S. Ghosh, K. Narula, S. Shekhar, S. Prakash Naik, P.C. Pande, S.K. Chakraborti, A. Datta // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2010. – Vol. 41. – P. 17533-17538.
112. Chandran, M. Stability of transgene expression in reduced allergen peanut (*Arachis hypogaea* L.) across multiple generations and at different soil sulfur levels [Text] / M. Chandran, Y. Chu, S.J. Maleki, P. Ozias-Akins // *J. Agric. Food Chem.* – 2015. – Vol. 63(6) – P. 1788-1797.

113. Chapple, C. Plant cell walls as targets for biotechnology [Text] / C. Chapple, N. Carpita // *Curr. Opin. Plant. Biol.* – 1998. Vol. 1. – P. 179-185.
114. Chawla, R. Transgene expression produced by biolistic-mediated, site-specific gene integration is consistently inherited by the subsequent generations [Text] / R. Chawla, M. Ariza-Nieto, A.J. Wilson, S.K. Moore, V. Srivastava // *Plant Biotechnol. J.* – 2006. – Vol. 4. – P. 209-218
115. Chen, R. Transgenic maize plants expressing a fungal phytase gene [Text] / R. Chen, G. Xue, P. Chen, B. Yao, W. Yang, Q. Ma, Y. Fan, Z. Zhao, M.C. Tarczynski, J. Shi // *Transgenic Res.* – 2008. – Vol. 17. – P. 633-643.
116. Chilton, M.D. A vector for introducing new genes into plants [Text] / M.D. Chilton // *Sci. Am.* –1983. – Vol. 248. – P. 36-45.
117. Chiurugwi, T. Speed breeding orphan crops [Text] / T. Chiurugwi, S. Kemp, W. Powell, L.T. Hickey // *Theor. Appl. Genet.* – 2019. – Vol. 132(3). – P. 607-616.
118. Christ, B. Contribution of untargeted metabolomics for future assessment of biotech crops [Text] / B. Christ, T. Pluskal, S. Aubry, J.K. Weng // *Trends Plant Sci.* – 2018. – Vol. 23(12). – P.1047-1056.
119. Christou, P. Recent developments and future prospects in insect pest control in transgenic crops [Text] / P. Christou, T. Capell, A. Kohli, J.A. Gatehouse, A.M.R. Gatehouse // *Trends Plant Sci.* – 2006. – Vol. 11. – P. 302-308.
120. Chukwudebe, A. Health and nutritional status of Wistar rats following subchronic exposure to CV127 soybeans [Text] / A. Chukwudebe, L. Privalle, A. Reed, C. Wandelt, D. Contri, M. Dammann, S. Groeters, U. Kaspers, V. Strauss, B. van Ravenzwaay // *Food Chem. Toxicol.* – 2012. – Vol. 50. – P. 956-971.
121. Collinge, D.B. What are the prospects for genetically engineered, disease resistant plants? [Text] / D.B. Collinge, O.S. Lund, H. Thordal-Christensen // *Eur. J. Plant Pathol.* – 2008. – Vol. 121. – P. 217-231.
122. Collins, A.R. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations [Text] / A.R. Collins // *Mol. Biotechnol.* – 2004. – Vol. 26(3). – P. 249-261.
123. Cong, L. Multiplex Genome Engineering Using CRISPR/Cas Systems [Text] / L. Cong, F.A. Ran, D. Cox, S. Lin, R. Barretto, N. Habib, P.D. Hsu, X. Wu, W. Jiang, L.A. Marraffini, F. Zhang // *Science.* – 2013. – Vol. 339. – № 6121. – P. 819-823.
124. Cunningham, F.J. Nanoparticle-mediated delivery towards advancing plant genetic engineering [Text] / F.J. Cunningham, N.S. Goh, G.S. Demirer, J.L. Matos, M.P. Landry // *Trends Biotechnol.* – 2018. – Vol. 36(9). – P. 882-897.

125. Curtin, S.J. Targeted mutagenesis for functional analysis of gene duplication in legumes [Text] / S.J. Curtin, J.E. Anderson, C.G. Starker, N.J. Baltes, D. Mani, D.F. Voytas, R.M. Stupar // *Methods Mol. Biol.* – 2013. – Vol. 1069. – P. 25-42.
126. Czaja, M.J. Induction and regulation of hepatocyte apoptosis by oxidative stress [Text] / M.J. Czaja // *Antioxidants and Redox Signaling.* – 2002. – Vol. 4(5). – P. 759-767.
127. Dale, E.C. Gene transfer with subsequent removal of the selection gene from the host genome [Text] / E.C. Dale, D.W. Ow // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 1991. – Vol. 88. – P. 10558-10562.
128. Datta, K. Overexpression of *Arabidopsis* and rice stress genes inducible transcription factor confers drought and salinity tolerance to rice [Text] / K. Datta, N. Baisakh, M. Ganguly, S. Krishnan, K.Y. Shinozaki, S.K. Datta // *Plant Biotechnol. J.* – 2012. – Vol. 10. – P. 579-586.
129. Dawson, I.K. The role of genetics in mainstreaming the production of new and orphan crops to diversify food systems and support human nutrition [Text] / I.K. Dawson, W. Powell, P. Hendre, J. Bančič, J.M. Hickey, R. Kindt, S. Hoad, I. Hale, R. Jamnadass // *New Phytol.* – 2019. – Tansley review. – P. 1-18.
130. Dawson, A.B. A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S [Text] / A.B. Dawson // *Stain Technol.* – 1926. – Vol. 1. – P. 123-124.
131. de la Guardia, M. Handbook of mineral elements in food [Text] / M. de la Guardia, S. Garrigues. – Valencia: John Wiley & Sons, Ltd, 2015. – 792 p. – ISBN 9781118654316.
132. De Steur, H. GM biofortified crops: potential effects on targeting the micronutrient intake gap in human populations [Text] / H. De Steur, S. Mehta, X. Gellynck, J.L. Finkelstein // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2017. – Vol. 44. – P. 181-188.
133. Delaney, B. Food and Feed Safety of Genetically Engineered Food Crops [Text] / B. Delaney, R.E. Goodman, G.S. Ladics // *Toxicol. Sci.* – 2018. – Vol. 162(2). – P. 361-371.
134. Delaney, B. Thirteen week rodent feeding study with grain from molecular stacked trait lepidopteran and coleopteran protected (DP-ØØ4114-3) maize [Text] / B. Delaney, S. Karaman, J. Roper, D. Hoban, G. Sykes, P. Mukerji, S.R. Frame // *Food Chem. Toxicol.* – 2013. – Vol. 53. – P. 417-427.
135. Derelanko, M.J. Handbook of Toxicology, 2nd edition [Text] / M.J. Derelanko, M.A. Hollinger. – USA: CRC Press, 2001. – 1414 p. – ISBN 0-8493-0370-2.
136. Devos, Y. EFSA's scientific activities and achievements on the risk assessment of genetically modified organisms (GMOs) during its first decade of existence: looking back and ahead [Text] / Y. Devos, J. Aguilera, Z. Diveki, A. Gomes, Y. Liu, C. Paoletti, P. du Jardin, L. Herman, J.N. Perry, E. Waigmann // *Transgenic Res.* – 2014. – Vol. 23(1). – P. 1-25.

137. Dhekney S.A. Grapevines engineered to express cisgenic *Vitis vinifera* thaumatin-like protein exhibit fungal disease resistance [Text] / S.A. Dhekney, Z.T. Li, D.J. Gray // In Vitro Cell Dev. Biol. Plant. – 2011. – Vol. 47. – P. 458-466.
138. DiGirolamo, M. Qualitative regional differences in adipose tissue growth and cellularity in male Wistar rats fed ad libitum [Text] / M. DiGirolamo, J.B. Fine, K. Tagra, R. Rossmanith // Am. J. Physiol. – 1998. – Vol. 274. – P. 1460-1467.
139. Directive 2001/18 EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC [Электронный ресурс]. URL: [https://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar%3A303dd4fa-07a8-4d20-86a8-0baaf0518d22.0004.02/DOC\\_1&format=PDF](https://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar%3A303dd4fa-07a8-4d20-86a8-0baaf0518d22.0004.02/DOC_1&format=PDF)
140. Dodo, H.W. Alleviating peanut allergy using genetic engineering: the silencing of the immunodominant allergen Ara h 2 leads to its significant reduction and a decrease in peanut allergenicity [Text] / H.W. Dodo, K.N. Konan, F.C. Chen, M. Egnin, O.M. Viquez // Plant Biotechnol. J. – 2008. – Vol. 6. – P. 135-145.
141. Domingo, J.L. A literature review on the safety assessment of genetically modified plants [Text] / J.L. Domingo, J. Giné Bordonaba // Environ. Int. – 2011. – Vol. 37. – P. 734-742.
142. Domingo, J.L. Safety assessment of GM plants: An updated review of the scientific literature [Text] / J.L. Domingo // Food and Chem. Toxicol. – 2016. – Vol. 95. – P. 12-18.
143. Drakakaki, G. Endosperm-specific co-expression of recombinant soybean ferritin and *Aspergillus* phytase in maize results in significant increases in the levels of bioavailable iron [Text] / G. Drakakaki, S. Marcel, R.P. Glahn, E.K. Lund, S. Pariagh, R. Fischer, P. Christou, E. Stoger // Plant Mol. Biol. – 2005. – Vol. 59. – P. 869-880.
144. Durai, S. Zinc finger nucleases: custom-designed molecular scissors for genome engineering of plant and mammalian cells [Text] / S. Durai, M. Mani, K. Kandavelou, J. Wu, M.H. Porteus, S. Chandrasegaran // Nucl. Acids Res. – 2005. – Vol. 33. – № 18. – P. 5978-5990.
145. Ebinuma, H. Systems for the removal of a selection marker and their combination with a positive marker [Text] / H. Ebinuma, K. Sugita, E. Matsunaga, S. Endo, K. Yamada, A. Komamine // Plant Cell Rep. – 2001. – Vol. 20. – P. 383-392.
146. Eckerstorfer, M.F. Plants developed by new genetic modification techniques-comparison of existing regulatory frameworks in the EU and non-EU countries [Text] / M.F. Eckerstorfer, M. Engelhard, A. Heissenberger, S. Simon, H. Teichmann // Front. Bioeng. Biotechnol. – 2019. – Vol. 7. – Art. 26. – 16 p.

147. Eggeling, L. Improved l-lysine yield with *Corynebacterium glutamicum*: use of dapA resulting in increased flux combined with growth limitation [Text] / L. Eggeling, S. Oberle, H. Sahl // Appl. Microbiol. Biotechnol. –1998. – Vol. 49. – P. 24-30.
148. Eghbali, M. Heart Hypertrophy During Pregnancy: A Better Functioning Heart? [Text] / M. Eghbali, Y. Wang, L. Toro, E. Stefani // Trends in Cardiovasc. Med. – 2006. – Vol. 16(8). – P. 285-291.
149. Ellens, K.W. Canadian regulatory aspects of gene editing technologies [Text] / K.W. Ellens, D. Levac, C. Pearson, A. Savoie, N. Strand, J. Louter, C. Tibelius // Transgenic Res. – 2019. – Vol. 28 (Suppl. 2). – P. 165-168.
150. El-Mansy, A.A. Histological and immunohistochemical effects of Curcuma longa on activation of rat hepatic stellate cells after cadmium induced hepatotoxicity [Text] / A.A. El-Mansy, S.A. Mazroa, W.S. Hamed, A.H. Yaseen, E.A. El-Mohandes // Biotech. Histochem. – 2016. – Vol. 91. – № 3. – P. 170-181.
151. Ema, M. Embryo lethality and teratogenicity of butyl benzyl phthalate in rats [Text] / M. Ema, T. Itami, H. Kawasaki // J. of applied toxicol. – 1992. – Vol. 12(3). – P. 179-183.
152. Endo, S. Single-step transformation for generating marker-free transgenic rice using the ipt-type MAT vector system [Text] / S. Endo, K. Sugita, M. Sakai, H. Tanaka, H. Ebinuma // Plant J. – 2002. Vol. 30. – P. 115-122.
153. Enserink, M. Preliminary Data Touch Off Genetic Food Fight [Text] / M. Enserink // Science. – 1999. – Vol. 283. – P. 1094-1095.
154. Enserink, M. The Lancet Scolded Over Pusztai Paper [Text] / M. Enserink // Science, New Series. – 1999. – Vol. 286. – № 5440. – P. 656.
155. Eriksson, D. Scandinavian perspectives on plant gene technology: applications, policies and progress [Text] / D. Eriksson, H. Brinch-Pedersen, A. Chawade, I.B. Holme, T.A.K. Hvoslef-Eide, A. Ritala, T.H. Teeri, T. Thorstensen //Physiol. Plant. – 2018. – Vol. 162(2). – P. 219-238.
156. Ermakova, I.V. Influence of genetically modified soya on the birth-weight and survival of rat pups [Text] / I.V. Ermakova // Epigenetics, Transgenic Plants and Risk Assessment: Proceedings of the Conference Frankfurt am Main. – Freiburg, 2006. – P. 41-48. – ISBN 3-934490-24-7.
157. Ernster L., Nordenbrandt K. Microsomal lipid peroxidation [Text]: Methods in Enzymology. Oxidation and phosphorylation / Eds.: R.W. Estabrook, Pullman M.E. – N.Y.: Ac. Press, 1967. – Vol. 10. – P. 574-580. – ISBN 9780121818500.
158. Espinoza, C. Cisgenesis and intragenesis: new tools for improving crops [Text] / C. Espinoza, R. Schlechter, D. Herrera, E. Torres, A. Serrano, C. Medina, P. Arce-Johnson // Biol. Res. – 2013. – Vol. 46(4). – P. 323-331.

159. EU Register of authorised GMOs [Электронный ресурс]. URL: [http://ec.europa.eu/food/dyna/gm\\_register/index\\_en.cfm](http://ec.europa.eu/food/dyna/gm_register/index_en.cfm)
160. European Food Safety Authority (EFSA). Final review of the Séralini et al. (2012a) publication on a 2-year rodent feeding study with glyphosate formulations and GM maize NK603 as published online on 19 September 2012 in Food and Chemical Toxicology [Text] / European Food Safety Authority (EFSA) // EFSA Journal. – 2012. – Vol. 10(11). – Art. 2986. – 10 p.
161. Evaluation of Allergenicity of genetically modified foods: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of foods derived from biotechnology 22-25 January 2001 [Электронный ресурс]: WHO/FAO. – 2001. – 27 p. URL: [https://www.who.int/foodsafety/publications/ec\\_2001.pdf](https://www.who.int/foodsafety/publications/ec_2001.pdf)
162. Ewen, S.W. Effect of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine [Text] / S.W. Ewen, A. Pusztai // Lancet. – 1999. – Vol. 354. – P. 1353-1354.
163. Falco, S.C. Transgenic canola and soybean seeds with increased lysine [Text] / S.C. Falco, T. Guida, M. Locke, J. Mauvais, C. Sanders, R.T. Ward, P. Webber // Bio/Technology. – 1995. – Vol. 13. – P. 577-582.
164. FAO. How to Feed the World in 2050. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.fao.org/>
165. Fast, B.J. Insect-protected event DAS-81419-2 soybean (*Glycine max* L.) grown in the United States and Brazil is compositionally equivalent to nontransgenic soybean [Text] / B.J. Fast, A.C. Schafer, T.Y. Johnson, B.L. Potts, R.A. Herman // J. Agric. Food Chem. – 2015. – Vol. 63. – P. 2063-2073.
166. Feng, Z. Efficient genome editing in plants using a CRISPR/Cas system [Text] / Z. Feng, B. Zhang, W. Ding, X. Liu, D.-L. Yang, P. Wei, F. Cao, S. Zhu, F. Zhang, Y. Mao, J.-K. Zhu // Cell Res. – 2013. – Vol. 23. – P. 1229-1232.  
fileadmin/templates/wsfs/docs/expert\_paper/How\_to\_Feed\_the\_World\_in\_2050.pdf
167. Flachowsky, G. Studies on feeds from genetically modified plants (GMP) – Contributions to nutritional and safety assessment [Text] / G. Flachowsky, K. Aulrich, H. Böhme, I. Halle // Animal Feed Science and Technology. – 2007. – Vol. 133. – P. 2-30.
168. Food and Drug Administration. Consultations on Food from New Plant Varieties [Электронный ресурс]. URL: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=>
169. Food for human consumption and animal drugs, feeds, and related products: Foods derived from new plant varieties. Policy statement, 22984 [Электронный ресурс] // FDA, Department of health and human services. – 1992. – Vol. 57. – №. 104. – FR 22984. URL:

- <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/statement-policy-foods-derived-new-plant-varieties>.
170. Food hygiene basic texts [Text] / Codex Alimentarius: third edition. – Rome: FAO/WHO, 2003. – 68 p. – ISBN 92-5-105106-2.
  171. Foods derived from modern biotechnology [Text] / Codex Alimentarius: second edition. – Rome: Commission Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Food and Agriculture Organization, 2004. – 51 p. – ISBN 978-92-5-105914-2.
  172. Fraley, R.T. Expression of bacterial genes in plant cells [Text] / R.T. Fraley, S.G. Rogers, R.B. Horsch, P.R. Sanders, J.S. Flick, S.P. Adams, M.L. Bittner, L.A. Brand, C.L. Fink // Proc. Natl Acad. Sci. USA. – 1983. – Vol. 80. – P. 4803-4807.
  173. Franck-Oberaapach, S.L. Consequences of classical and biotechnological resistance breeding for food toxicology and allergenicity [Text] / S.L. Franck-Oberaapach, B. Keller // Plant Breed. – 1997. – Vol. 116. – P. 1-17.
  174. Frisancho, R.A. Human adaptation and accommodation [Text] / R.A. Frisancho. – Michigan: University of Michigan Press, 1993. – 532 p. – ISBN 0-472-09511-0.
  175. Fu, T.-J. Digestibility of food allergens and non-allergenic proteins in simulated gastric fluid and simulated intestinal fluid – a comparative study [Text] / T.-J. Fu, U.R. Abbott, C. Hatzos // J. Agric. Food Chem. – 2002. – Vol. 50(24). – P. 7154-7160.
  176. Ganesan, M. Development of transgenic crops based on photo-biotechnology [Text] / M. Ganesan, H.Y. Lee, J.I. Kim, P.S. Song // Plant Cell Environ. – 2017. – Vol. 40(11). – P. 2469-2486.
  177. Ganiger, S. A two generation reproductive toxicity study with curcumin, turmeric yellow, in Wistar rats [Text] / S. Ganiger, H.N. Malleshappa, H. Krishnappa, G. Rajashekhar, V. Ramakrishna Rao, F. Sullivan // Food and Chem. Toxicol. – 2007. – Vol. 45. – P. 64-69.
  178. Gantait, S. Transgenic approaches for genetic improvement in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) against major biotic and abiotic stress factors [Text] / S. Gantait, S. Mondal // J. Genet. Eng. Biotechnol. – 2018. – Vol. 16(2). – 537-544.
  179. Gaskell, G. Biotechnology 1996-1999: The years of controversy [Text] / G. Gaskell, M. Bauer (Eds). – London: Science Museum Press, 2001. – 339 p. – ISBN 190074743X.
  180. Gatehouse, J.A. Biotechnological Prospects for Engineering Insect-Resistant Plants [Text] / J.A. Gatehouse // Plant Physiology. – 2008. – Vol. 146. – P. 881-887.
  181. Gendel, S.M. Assessing the potential allergenicity of new food proteins [Text] / S.M. Gendel // Food Biotechnol. – 1998. – Vol. 12. – P. 175-185.
  182. General Court of the European Union. Press Release No 160/13. Luxembourg, 13 December

- 2013 [Электронный ресурс] URL: [http://europa.eu/rapid/press-release\\_CJE-13-160\\_en.htm](http://europa.eu/rapid/press-release_CJE-13-160_en.htm)
183. Ghosh, S. The N-glycan processing enzymes  $\alpha$ -mannosidase and  $\beta$ -D-1 N acetylhexosaminidase are involved in ripening-associated softening in the non climacteric fruits of capsicum [Text] / S. Ghosh, V.K. Meli, A. Kumar, A. Thakur, N. Chakraborty, S. Chakraborty, A. Datta // J. Exp. Bot. – 2011. – Vol. 62. – P. 571-582.
184. Gill, J.P.K. Glyphosate toxicity for animals [Text] / J.P.K. Gill, N. Sethi, A. Mohan, S. Datta, M. Girdhar // Environ. Chem. Letters. – 2018. – Vol. 16. – Issue 2. – P. 401-426.
185. Glyphosate [Text]: Environmental health criteria 159 / International Programme on Chemical Safety. – Geneva: World Health Organization, 1994. – 178 p. – ISBN 92 4 157159 4.
186. Goodnight, S.H. The effects of dietary omega-3 fatty acids on platelet composition and function in man: a prospective, controlled study [Text] / S.H. Goodnight, W.S. Harris, W.E. Connor // Blood. – 1981. – Vol. 58 (5). – P. 880-855.
187. Goto, F. Iron accumulation and enhanced growth in transgenic lettuce plants expressing the iron-binding protein ferritin [Text] / F. Goto, T. Yoshihara, H. Saiki // Theor. Appl. Genet. – 2000. – Vol. 100. – P. 658-664.
188. Goyer, R. Metal toxicology [Text] / R. Goyer, C. Klaassen, M. Waalkes. – Michigan: Academic Press, 1995. – 525 p. – ISBN 0-12-294375-9.
189. Griffiths, J.C. Lack of oral embryotoxicity/teratogenicity with D-ribose in Wistar rats [Text] / J.C. Griffiths, J.F. Borzelleca, J.S. Cyr // Food and Chem. Toxicol. – 2007. – Vol. 45. – P. 388-395.
190. Guidance Document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed [Text] / EFSA // The EFSA Journal. – 2006. – Vol. 99. – P. 1-100.
191. Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants [Text] / EFSA // EFSA Journal. – 2011. – Vol. 9(5): 2150. – 37 p.
192. Guidelines for the Safety Assessment of Novel Foods [Электронный ресурс] // Food directorate health products and food branch health Canada. – 2006. URL: [https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/fn-an/alt\\_formats/hpfb-dgpsa/pdf/gmf-agm/guidelines-lignesdirectrices-eng.pdf](https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/fn-an/alt_formats/hpfb-dgpsa/pdf/gmf-agm/guidelines-lignesdirectrices-eng.pdf)
193. Guleria, P. Genetic engineering: a possible strategy for protein-energy malnutrition regulation [Text] / P. Guleria, V. Kumar, S. Guleria // Mol Biotechnol. – 2017. – Vol. 59(11-12). – P. 499-517.

194. Guo, Q.Y. Effects of 90-day feeding of transgenic maize BT799 on the reproductive system in male Wistar rats [Text] / Q.Y. Guo, L.X. He, H. Zhu, J.L. Shang, L.Y. Zhu, J.B. Wang, Y. Li // Int. J. Environ. Res. and Public Health. – 2015. – Vol. 12. – P. 15309-15320.
195. Halford, N.G. Legislation governing genetically modified and genome-edited crops in Europe: the need for change [Text] / N.G. Halford // J. Sci. Food Agric. – 2019. – Vol. 99(1). – P. 8-12.
196. Hallwass, M. The Tomato spotted wilt virus cell to cell movement protein (NSM) triggers a hypersensitive response in *Sw5* containing resistant tomato lines and in *Nicotiana benthamiana* transformed with the functional *Sw5b* resistance gene copy [Text] / M. Hallwass; A.S. de Oliveira; E. de Campos Dianese; D. Lohuis; L.S. Boiteux; A.K. Inoue-Nagata; R.O. Resende; R. Kormelink // Mol. Plant Pathol. – 2014. – Vol. 15. – P. 871-880.
197. Halpin, C. Gene stacking in transgenic plants – the challenge for 21st century plant biotechnology [Text] / C. Halpin // Plant Biotechnol. J. – 2005. – Vol. 3. – P. 141-155.
198. Hameed, A. Applications of new breeding technologies for potato improvement [Text] / A. Hameed, S.S. Zaidi, S. Shakir, S. Mansoor // Front. Plant Sci. – 2018. – Vol. 9. – Art. 925. – 15 p.
199. Han, S. Potential subchronic food safety of the stacked trait transgenic maize GH5112E-117C in Sprague-Dawley rats [Text] / S. Han, S. Zou, X. He, K. Huang, X. Mei // Transgenic Research. – 2016. – Vol. 25(4). – P. 453-463.
200. Haryu, Y. Longterm biosafety assessment of a genetically modified (GM) plant: the genetically modified (GM) insect-resistant Bt11 corn does not affect the performance of multi-generations or life span of mice [Text] / Y. Haryu, Y. Taguchi, E. Itakura, O. Mikami, K. Miura, T. Saeki, Y. Nakajima // The Open Plant Sci. J. – 2009. – Vol. 3. – P. 49-53.
201. Haverkort, A.J. Applied biotechnology to combat late blight in potato caused by *Phytophthora infestans* [Text] / A.J. Haverkort, P.C. Struik, R.G.F. Visser, E. Jacobsen // Potato Res. – 2009. – Vol. 52. – P. 249-264.
202. He, X. Rat and poultry feeding studies with soybean meal produced from imidazolinonetolerant (CV127) soybeans [Text] / X. He, P.A. de Brum, A. Chukwudebe, L. Privalle, A. Reed, Y. Wang, C. Zhou, C. Wang, J. Lu, K. Huang, D. Contri, A. Nakatani, V.S. de Avila, C.H. Klein, G.J. de Lima, E.A. Lipscomb // Food Chem. Toxicol. – 2016. Vol. 88. – P. 48-56.
203. Herman, E.M. Genetic modification removes an immunodominant allergen from soybean [Text] / E.M. Herman, R.M. Helm, R. Jung, A.J. Kinney // Plant Physiol. – 2003. Vol. 132. – P. 36-43.

204. Herman, R.A. Performance of broiler chickens fed diets containing DAS-68416-4 soybean meal [Text] / R.A. Herman, C.M. Dunville, D.R. Juberg, D.W. Fletcher, G.L.Cromwell // GM Crops. – 2011. – Vol. 2. – P. 169-175.
205. Herrera-Estrella, L. Expression of chimaeric genes transferred into plant cells using a Ti-plasmid-derived vector [Text] / L. Herrera-Estrella, A. Depicker, M. van Montagu, J. Schell // Nature. – 1983. – Vol. 303. – P. 209-213.
206. Hibberd, J.M. Using C4 photosynthesis to increase the yield of rice-rationale and feasibility [Text] / J.M. Hibberd, J.E. Sheehy, J.A. Langdale // Curr. Opin. Plant Biol. – 2008. – Vol. 11. – P. 228-231.
207. Hill, R.A. Conceptualizing risk assessment methodology for genetically modified organisms. [Text] / R.A. Hill // Environm. Biosafety Research. – 2005. – Vol. 4. – P. 67-70.
208. Hilscher, J. Targeted modification of plant genomes for precision crop breeding [Text] / J. Hilscher, H. Bürstmayr, E. Stoger // Biotechnol J. – 2016. – Vol. 11. – Art. 1600173. – 14 p.
209. Hood R.D. Developmental and reproductive toxicology: a practical approach, 3rd edition [Text] – UK: Informa Healthcare. – 2012. – 872 p. – ISBN 9781841847771.
210. Hood, R.D. Developmental and Reproductive Toxicology: A Practical Approach, 2nd edition. [Text] / R.D. Hood. – USA: CRC Press, 2006. – 1168 p. – ISBN 978-0-8493-1254-0.
211. Hua, K. Perspectives on the application of genome-editing technologies in crop breeding [Text] / K. Hua, J. Zhang, J.R. Botella, C. Ma, F. Kong, B. Liu, J.-K. Zhu // Mol. Plant. – 2019. – Vol. 12(8). – P. 1047-1059.
212. Huang, K. Safety Assessment of Genetically Modified Foods [Text] / K. Huang. –Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2017. – 258 p. – ISBN 978-981-10-3488-6.
213. Human vitamin and mineral requirements [Text] / Report of a joint FAO/WHO expert consultation. – Bangkok: World Health Organization, 2001. – 286 p.
214. Human vitamin and mineral requirements [Text]: 2nd edition / Report of a joint FAO/WHO expert consultation. – Geneva: World Health Organization, 2004. – 341 p. – ISBN 92 4 154612 3.
215. Irfan, M. Fruit ripening regulation of  $\alpha$ -mannosidase expression by the MADS box transcription factor RIPENING INHIBITOR and ethylene [Text] / M. Irfan, S. Ghosh, V.S. Meli, A. Kumar, V. Kumar, N. Chakraborty, S. Chakraborty, A. Datta // Front. Plant Sci. – 2016. – Vol. 7. – Art. 10. – 12 p.
216. Irfan, M. Insights into transcriptional regulation of  $\beta$ -DN- acetylhexosaminidase, an N-glycan-processing enzyme involved in ripening-associated fruit softening [Text] / M. Irfan, S. Ghosh, V. Kumar, N. Chakraborty, S. Chakraborty, A. Datta // J. of Experim. Bot. – 2014. – Vol. 65. – №20. – P. 5835-5848.

217. ISAAA Database, 2019 [URL: <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase>].
218. ISAAA. 2016. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2016 [Text] / ISAAA Brief No. 52. – Ithaka, N.Y.: ISAAA, 2016. – 125 p. – ISBN 978-1-892456-66-4.
219. ISAAA. 2017. Global status of commercialized biotech/GM crops in 2017: Biotech Crop Adoption Surges as Economic Benefits Accumulate in 22 Years [Text] / ISAAA Brief No. 53. – Ithaka, N.Y.: ISAAA, 2017. – 143 p. – ISBN 978-1-892456-67-2.
220. ISAAA. 2018. Global status of commercialized biotech/GM crops in 2018: biotech crop continue to help meet the challenges of increased population and climate change [Text] / ISAAA Brief No. 54. – Ithaka, N.Y.: ISAAA, 2018. – 13 p. – ISBN 978-1-892456-68-0.
221. Ishaque, A. Role of vitamins in determining apoptosis and extent of suppression by bcl-2 during hybridoma cell culture [Text] / Ishaque A., Al-Rubeai M. // Apoptosis. – 2002. – Vol. 7(3). – P. 231-239.
222. Jacobsen, E. Cisgenesis: an important subinvention for traditional plant breeding companies [Text] / E. Jacobsen, H.J. Schouten // Euphytica. – 2009. – Vol. 170. – P. 235-247.
223. Jaffe, G. Regulating transgenic crops: a comparative analysis of different regulatory processes [Text] / G. Jaffe // Transgenic research. – 2004. – Vol. 13. – P. 5-19.
224. Jagadeesh, B.H. Activities of  $\beta$ -hexosaminidase and  $\alpha$ -mannosidase during development and ripening of bell capsicum (*Capsicum annuum* var. *variata*) [Text] / B.H. Jagadeesh, T.N. Prabha, K. Srinivasan // Plant Sci. – 2004. – Vol. 167. – P. 1263-1271.
225. Jagadeesh, B.H.  $\beta$ -Hexosaminidase, an enzyme from ripening bell capsicum (*Capsicum annuum* var. *variata*) [Text] / B.H. Jagadeesh, T.N. Prabha // Phytochemistry. – 2002. – Vol. 61. – P. 295-300.
226. James C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2005 [Text]: ISAAA Briefs No. 34 / C. James. – Ithaka, N.Y.: ISAAA, 2005. – 46 p. – ISBN 1-892456-38-9.
227. James, C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2010 [Text]: ISAAA Brief No. 42 / C. James. – Ithaka, N.Y.: ISAAA, 2010. – 23 p. – ISBN 978-1-892456-49-4.
228. James, C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2013 [Text]: ISAAA Brief No. 46 / C. James. – Ithaka, N.Y.: ISAAA, 2013. – 317 p. – ISBN 978-1-892456-55-9
229. James, C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2015 [Text]: ISAAA Brief No. 51 / C. James. – Ithaka, N.Y.: ISAAA, 2015. – 17 p. – ISBN 978-1-892456-65-6.
230. James, C. Global Status of Commercialized Transgenic Crops: 2000 [Text]: ISAAA Briefs No 21: Preview / C. James. – Ithaka, N.Y.: ISAAA, 2000. – 64 p. – ISBN 1-892456-27-3.
231. James, C., Krattiger A.F. Global Review of the Field Testing and Commercialization of Transgenic Plants, 1986 to 1995: The First Decade of Crop Biotechnology [Text]: ISAAA Briefs

- No. 1 / C. James, A.F. Krattiger. – Ithaka, N.Y.: ISAAA, 1996. – 31 p.
232. Ji, X. Establishing a CRISPR–Cas-like immune system conferring DNA virus resistance in plants [Text] / X. Ji, H. Zhang, Y. Zhang, Y. Wang, C. Gao // *Nat. Plants*. – 2015. – Vol. 1(10). Art. 15144. – 4 p.
233. Jiang, W. Demonstration of CRISPR/Cas9/sgRNA-mediated targeted gene modification in *Arabidopsis*, tobacco, sorghum and rice [Text] / W. Jiang, H. Zhou, H. Bi, M. Fromm, B. Yang, D.P. Weeks // *Nucleic. Acids Res.* – 2013. – Vol. 41 – № 20. – Art. e188. – 12 p.
234. Johnson, A.A.T. Constitutive overexpression of the OsNAS gene family reveals single-gene strategies for effective iron- and zinc-biofortification of rice endosperm [Text] / A.A.T. Johnson, B. Kyriacou, D.L. Callahan, L. Carruthers, J. Stangoulis, E. Lombi, M. Tester // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6. – Issue 9. – Art. e24476. – 11 p.
235. Joshi, S.G. Functional analysis and expression profiling of HcrVf1 and HcrVf2 for development of scab resistant cisgenic and intragenic apples [Text] / S.G. Joshi, J.G. Schaart, R. Groenwold, E. Jacobsen, H.J. Schouten, F.A. Krens // *Plant Mol. Biol.* – 2011. – Vol. 75. – P. 579-591.
236. Jurevics, H.A. Sources of cholesterol during development of the rat fetus and fetal organs. [Text] / H.A. Jurevics, F.Z. Kidwai, P. Morell // *J. Lipid Res.* – 1997. – Vol. 38. – P. 723-733.
237. Kadiiska, M.B. Biomarkers of oxidative stress study II: are oxidation products of lipids, proteins, and DNA markers of CCl<sub>4</sub> poisoning? [Text] / M.B. Kadiiska, B.C. Gladen, D.D. Baird, D. Germolec, L.B. Graham, C.E. Parker, N. Brot // *Free Radical Biol. and Med.* – 2005. Vol. 38(6). – P. 698-710.
238. Kamthan, A. Expression of a fungal sterol desaturase improves tomato drought tolerance, pathogen resistance and nutritional quality [Text] / A. Kamthan, M. Kamthan, M. Azam, N. Chakraborty, S. Chakraborty, A. Datta // *Sci. Rep.* – 2012. – Vol. 2. – Art. 951. – 10 p.
239. Kamthan, A. Genetically modified (GM) crops: milestones and new advances in crop improvement [Text] / A. Kamthan, A. Chaudhuri, M. Kamthan, A. Datta // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2016. – Vol. 129(9). – P. 1639-1655.
240. Kamthan, A. Small RNAs in plants: recent development and application for crop improvement [Text] / A. Kamthan, A. Chaudhuri, M. Kamthan, A. Datta // *Front. Plant Sci.* – 2015. – Vol. 6. – Art. 208. – 17 p.
241. Karaba, A. Improvement of water use efficiency in rice by expression of HARDY, an *Arabidopsis* drought and salt tolerance gene [Text] / A. Karaba, S. Dixit, R. Greco, A. Aharoni, K.R. Trijatmiko, N. Marsch-Martinez, A. Krishnan, K.N. Nataraja, M. Udayakumar, A. Pereira // *Proc. Natl Acad. Sci. USA* – 2007. – Vol. 104. – №39. – P. 15270-15275.

242. Kausch, A.P. Edit at will: Genotype independent plant transformation in the era of advanced genomics and genome editing [Text] / A.P. Kausch, K. Nelson-Vasilchik, J. Hague, M. Mookkan, H. Quemada, S. Dellaporta, C. Fragoso, Z.J. Zhang // *Plant Sci.* – 2019. – Vol. 281. – P. 186-205.
243. Kersten S. Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis [Text] / S. Kersten // *EMBO Reports.* – 2001. – Vol. 2. – P. 282-286.
244. Kesarwani, M. Oxalate decarboxylase from *Collybia velutipes*: molecular cloning and its over expression to confer resistance to fungal infection in transgenic tobacco and tomato [Text] / M. Kesarwani, M. Azam, K. Natarajan, A. Mehta, A. Datta // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275. – P. 7230-7238.
245. Kim, Y.-H. Overexpression of sweet potato swpa4 peroxidase results in increased hydrogen peroxide production and enhances stress tolerance in tobacco [Text] / Y.-H Kim, C.Y. Kim, W.K. Song, D.-S. Park, S.-Y. Kwon, H.-S. Lee, J.-W. Bang, S.-S. Kwak // *Planta.* – 2008. – Vol. 227. – P. 867-881.
246. Knoll, J.E. TILLING for allergen reduction and improvement of quality traits in peanut (*Arachis hypogaea* L.) [Text] / J.E. Knoll, M.L. Ramos, Y. Zeng, C.C. Holbrook, M. Chow, S. Chen, S. Maleki, A. Bhattacharya, P. Ozias-Akins // *BMC Plant Biol.* – 2011. – Vol. 11. – Art. 81. – 13 p.
247. Kohn, R.A. Using blood urea nitrogen to predict nitrogen excretion and efficiency of nitrogen utilization in cattle, sheep, goats, horses, pigs, and rats [Text] / R.A. Kohn, M.M. Dinneen, E. Russek-Cohen // *J. Anim. Sci.* – 2005. – Vol. 83(4). – P. 879-889.
248. Kole, C. Transgenic crop plants [Text]: Volume 2 / C. Kole, C.H. Michler, A.G. Abbott, T.C. Hall (Eds). – Berlin: Springer, 2010. – 487 p. – ISBN 978-3-642-04812-8.
249. Komari, T. Vectors carrying two separate T-DNAs for co-transformation of higher plants mediated by *Agrobacterium tumefaciens* and segregation of transformants free from selection markers [Text] / T. Komari, Y. Hiei, Y. Saito, N. Murai, T. Kumashihiro // *Plant J.* – 1996. – Vol. 10. – P. 165-174.
250. Komor, A.C. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage [Text] / A.C. Komor, Y.B. Kim, M.S. Packer, J.A. Juris, D.R. Liu // *Nature.* – 2016. – Vol. 533. – P. 421-424.
251. Kovacic, P. Mechanisms of carcinogenesis focus on oxidative stress and electron transfer [Text] / P. Kovacic, J.D. Jacintho // *Curr. med. chem.* – 2001. – Vol. 8(7). – P. 773-796.
252. Krinke, G.J. The Laboratory Rat [Text]: Handbook of Experimental Animals / G.J. Krinke, G.R. Bullock, T. Bunton. – San Diego: Academic Press, 2000. – 756 p. – ISBN 012426400X.
253. Kuiper, H.A. Exploitation of molecular profiling techniques for GM food safety assessment

- [Text] / H.A. Kuiper, E.J. Kok, K.N. Engel // *Current opinion in Biotechnology*. – 2003. – Vol. 14. – P. 238-243.
254. Kumar, M. An update on genetic modification of chickpea for increased yield and stress tolerance [Text] / M. Kumar, M.A. Yusuf, M. Nigam, M. Kumar // *Mol. Biotechnol.* – 2018. – Vol. 60(8). – P. 651-663.
255. Kumar, V. Improving nutritional quality and fungal tolerance in soya bean and grass pea by expressing an oxalate decarboxylase [Text] / V. Kumar, A. Chattopadhyay, S. Ghosh, M. Irfan, N. Chakraborty, S. Chakraborty, A. Datta // *Plant Biotechnol. J.* – 2016. – Vol. 14. – P. 1394-1405.
256. Langdale, J.A. C4 cycles: past, present, and future research on C4 photosynthesis [Text] / J.A. Langdale // *Plant Cell*. – 2011. – Vol. 23. – P. 3879-3892.
257. Lassen, J. Ethics and genetic engineering – lessons to be learned from GM foods [Text] / J. Lassen, K.H. Madsen, P. Sandøe // *Bioprocess Biosyst. Engineering*. – 2002. – Vol. 24. – P. 263-271.
258. Lassoued, R. Estimating the cost of regulating genome edited crops: expert judgment and overconfidence [Text] / R. Lassoued, P.W.B. Phillips, S.J. Smyth, H. Hesseln // *GM Crops Food*. – 2019. – Vol. 10(1). – P. 44-62.
259. Lassoued, R. Regulatory uncertainty around new breeding techniques [Text] / R. Lassoued, S.J. Smyth, P.W.B. Phillips, H. Hesseln // *Front. Plant Sci.* – 2018. – Vol. 9. – Art.1291. –10 p.
260. Lata, C. Role of DREBs in regulation of abiotic stress responses in plants [Text] / C. Lata, M. Prasad // *J. Exp. Bot.* – 2011. – Vol. 62. – P. 4731-4748.
261. Lewi, P.J. Toxicology reference data – Wistar rat [Text] / P.J. Lewi, R.P. Marsboom. – Amsterdam, New York and Holland: Elsevier /North-Holland biochemical Press, 1981. – 358 p. – ISBN 0444803424.
262. Lewi, P.J. Toxicology reference data for the Wistar rat [Text] / P.J. Lewi, R.P. Marsboom // *Arch. Toxicol.* – 1982. – Suppl. 5. – P. 271-276.
263. Li, J. New frontiers in heart hypertrophy during pregnancy [Text] / J. Li, S. Umar1, M. Amjedi, A. Iorga, S. Sharma, R.D. Nadadur, V. Regitz-Zagrosek, M. Eghbali // *Am. J. Cardiovasc. Dis.* – 2012. – Vol. 2(3). – P. 192-207.
264. Li, J.-F. Multiplex and homologous recombination-mediated genome editing in *Arabidopsis* and *Nicotiana benthamiana* using guide RNA and Cas9 [Text] / J.-F. Li, J.E. Norville, J. Aach, M. McCormack, D. Zhang, J. Bush, G.M. Church, J. Sheen // *Nat. Biotechnol.* – 2013. – Vol. 31. – P. 688–691

265. Li, Y. LeERF1 positively modulated ethylene triple response on etiolated seedling, plant development and fruit ripening and softening in tomato [Text] / Y. Li, B. Zhu, W. Xu, H. Zhu, A. Chen, Y. Xie, Y. Shao, Y. Luo // *Plant Cell Rep.* – 2007. – Vol. 26. – Issue 11. – P. 1999-2008.
266. Liang, Z. Targeted mutagenesis in *Zea mays* using TALENs and the CRISPR/Cas system [Text] / Z. Liang, K. Zhang, K. Chen, C. Gao // *J. Genet. Genom.* – 2014. – Vol. 41. – P. 63-68.
267. Liberati, T.A. An oral (gavage) control embryo-fetal development study in the Wistar Hannover rat [Text] / T.A. Liberati, B.J. Roe, M.H. Feuston // *Drug and chem. toxicol.* – 2002. – Vol. 25(1). – P. 109-130.
268. Liu, M. Ethylene control of fruit ripening revisiting the complex network of transcriptional regulation [Text] / M. Liu, J. Pirrello, C. Chervin, J.-P. Roustan, M. Bouzayen // *Plant Physiol.* – 2015. – Vol. 169. – P. 2380-2390.
269. Liu, P. A 90-day subchronic feeding study of genetically modified maize expressing Cry1Ac-M protein in Sprague-Dawley rats [Text] / P. Liu, X. He, D. Chen, Y. Luo, S. Cao, H. Song, T. Liu, K. Huang, W. Xu // *Food Chem. Toxicol.* – 2012. – Vol. 50. – P. 3215-3221.
270. Liu, Q. Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought-and lowtemperature-responsive gene expression, respectively, in *Arabidopsis* [Text] / Q. Liu, M. Kasuga, Y. Sakuma, H. Abe, S. Miura, K. Yamaguchi-Shinozaki, K. Shinozaki // *Plant Cell.* – 1998. – Vol. 10. – P. 1391-1406.
271. Lorenzo, Y. The comet assay, DNA damage, DNA repair and cytotoxicity: hedgehogs are not always dead [Text] / Y. Lorenzo, S. Costa, A.R. Collins, A. Azqueta // *Mutagenesis.* – 2013. – Vol. 28(4). – P. 427-432.
272. Lucca, P. Fighting iron deficiency anemia with iron-rich rice [Text] / P. Lucca, R. Hurrell, I. Potrykus // *J. Am. Coll. Nutr.* – 2002. – Vol. 21(3). – P. 184S-190S.
273. Maeda, M. Structural features of free N-glycans occurring in plants and functional features of de-N-glycosylation enzymes, ENGase, and PNGase: the presence of unusual plant complex type N-glycans [Text] / M. Maeda, Y. Kimura // *Front. Plant Sci.* – 2014. – Vol. 5. – Art. 429. – 9 p.
274. Mammadov, J. Wild relatives of maize, rice, cotton, and soybean: treasure troves for tolerance to biotic and abiotic stresses [Text] / J. Mammadov, R. Buyyarapu, S.K. Guttikonda, K. Parliament, I.Y. Abdurakhmonov, S.P. Kumpatla // *Front Plant Sci.* – 2018. – Vol. 9. – Art. 886. – 21 p.
275. Mandl A.M. The Phases of the oestrous cycle in the adult white rat [Text] // *J. of Experimental Biology.* – 1951. – Vol. 28. – P. 576-584.

276. Maresca, M. Obligate ligation-gated recombination (ObLiGaRe): custom-designed nuclease-mediated targeted integration through non homologous end joining [Text] / M. Maresca, V.G. Lin, N. Guo, Y. Yang // *Genome Res.* – 2013. – Vol. 23. – P. 539-546.
277. Marra, M.C. The anticipated value of SmartStax™ for US corn growers [Text] / M.C. Marra, N.E. Piggott, B.K. Goodwin // *Ag. BioForum.* – 2010. – Vol. 13. – P. 1-12.
278. Marshall, A. GM soybeans and health safety – a controversy reexamined [Text] / A. Marshall // *Nature biotechnology.* – 2007. – Vol. 25. – № 9. – P. 981-987.
279. Marty, M.S. Inter-laboratory control data for reproductive endpoints required in the OPPTS 870.3800/OECD 416 reproduction and fertility test [Text] / M.S. Marty; B. Allen; R.E. Chapin; R. Cooper; G.P. Daston; J.A. Flaws; P.M.D. Foster; S.L. Makris; E. Mylchreest; D. Sandler; R.W. Tyl // *Brit. Defects Res. (Part B).* – 2009. – Vol. 86. – P. 470-489.
280. Mat Jalaluddin, N.S. Global trends in research and commercialization of exogenous and endogenous RNAi technologies for crops [Text] / N.S. Mat Jalaluddin, R.Y. Othman, J.A. Harikrishna // *Crit. Rev. Biotechnol.* – 2019. – Vol. 39(1). – P. 67-78.
281. Matas, A.J. Biology and genetic engineering of fruit maturation for enhanced quality and shelf-life [Text] / A.J. Matas, N.E. Gapper, M.Y. Chung, J.J. Giovannoni, J.K.C. Rose // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2009. – Vol. 20. – P. 197-203.
282. Matsuzava, T. Biological reference data on CD(SD) IGS rats – 1998 / Matsuzava T., Inoue H. (Eds). – Yokohama: Best printing Co, Ltd., 1998. – 269 p. – ISBN 4-9980718-8-2.
283. Mehta, A. Oxalate decarboxylase from *Collybia velutipes*: purification, characterization and cDNA cloning [Text] / A. Mehta, A. Datta // *J. Biol. Chem.* – 1991.– Vol. 266. – P. 23548-23553.
284. Meli, V.S. Enhancement of fruit shelf life by suppressing *N*-glycan processing enzymes [Text] / V.S. Meli, S. Ghosh, T.N. Prabha, N. Chakraborty, S. Chakraborty, A. Datta // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 2010. – Vol. 107. – P. 2413-2418.
285. Michara, M. Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl<sub>4</sub> intoxication, and vitamin E deficiency [Text] / M. Michara, M. Uchiyama, K. Fukuzawa // *Biochem. Med.* – 1980. – Vol. 23. – P. 302-311.
286. Miki, B. Selectable marker genes in transgenic plants: applications, alternatives and biosafety [Text] / B. Miki, S. McHugh // *Journal of Biotechnology.* – 2004. – Vol. 107(3). – P. 193-232.
287. Mills, G.C. The Purification and Properties of Glutathione Peroxidase of Erythrocytes [Text] / G.C. Mills // *J. Biol. Chem.* – 1959. – Vol. 234. – № 3. – P. 502-506.

288. Mlalazi, B. Isolation and functional characterization of banana phytoene synthase genes as potential cisgenes [Text] / B. Mlalazi, R. Welsch, P. Namanya, H. Khanna, R.J. Geijskes, M.D. Harrison, R. Harding, J.L. Dale, M. Bateson // *Planta*. – 2012. – Vol. 236. – P. 1585-1598.
289. Moeller, L. Engineering with precision: tools for the new generation of transgenic crops [Text] / L. Moeller, K. Wang // *Bioscience*. – 2008. – Vol. 58. – P. 391-401.
290. Mohanta, T.K. Systems biology approach in plant abiotic stresses [Text] / T.K. Mohanta, T. Bashir, A. Hashem, E.F. Abd Allah // *Plant Physiol. Biochem.* – 2017. – Vol. 121. – P. 58-73.
291. Molesini, B. Fruit improvement using intragenesis and artificial microRNA [Text] / B. Molesini, Y. Pii, T. Pandolfini // *Trends Biotechnol.* – 2012. – Vol. 30. – P. 80-88.
292. Møller, P. The alkaline comet assay: towards validation in biomonitoring of DNA damaging exposures [Text] / P. Møller // *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. – 2006. – Vol. 98(4). – P. 336-345.
293. Mukaddam-Daher, S. Regulation of cardiac oxytocin system and natriuretic peptide during rat gestation and postpartum [Text] / S. Mukaddam-Daher, M. Jankowski, D. Wang, A. Menaouar, J. Gutkowska // *Journal of Endocrinology*. – 2002. – Vol. 175. – P. 211-216.
294. Napier, J.A. The challenges of delivering genetically modified crops with nutritional enhancement traits [Text] / J.A. Napier, R.P. Haslam, M. Tsalavouta, O. Sayanova // *Nat. Plants* – 2019. – Vol. 5(6). – P. 563-567.
295. Nekrasov, V. Targeted mutagenesis in the model plant *Nicotiana benthamiana* using Cas9 RNA-guided endonuclease [Text] / V. Nekrasov, B. Staskawicz, D. Weigel, J.D. Jones, S. Kamoun // *Nat. Biotechnol.* – 2013. – Vol. 31. P. 691-693.
296. Nicolia, A. An overview of the last 10 years of genetically engineered crop safety research [Text] / A. Nicolia, A. Manzo, F. Veronesi, D. Rosellini // *Crit. Rev. Biotechnol.* – 2014. – Vol. 34(1). – P. 77-88.
297. Nishikimi, M. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen [Text] / M. Nishikimi, N. Appaji, K. Yagi // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1972. – Vol. 46. – P. 849-854.
298. Niu, Q.W. Expression of artificial microRNAs in transgenic *Arabidopsis thaliana* confers virus resistance [Text] / Q.-W. Niu, S.-S. Lin, J.L. Reyes, K.-C. Chen, H.-W. Wu, S.-D. Yeh, N.-H. Chua // *Nat Biotechnol.* – 2006. – Vol. 24. – P. 1420-1428.
299. Noda, T. Maternal and fetal toxicity of dimethyltin in rats [Text] / T. Noda // *Journal of Health Science*. – 2001. – Vol. 47(6). – P. 544-551.

300. Nogué, F. Genome engineering and plant breeding: impact on trait discovery and development [Text] / F. Nogué, K. Mara, C. Collonnier, J.M. Casacuberta // *Plant Cell Rep.* – 2016. – Vol. 35(7). – P. 1475-1486.
301. Norusis, M.J. SPSS statistics 17.0 guide to data analysis [Text] / M.J. Norusis. – Upper Saddle River: Prentice Hall, 2009. – 672 p. – ISBN 9780321621436.
302. Nowicka, B. Improving photosynthesis, plant productivity and abiotic stress tolerance – current trends and future perspectives [Text] / B. Nowicka, J. Ciura, R. Szymańska, J. Kruk // *J. Plant Physiol.* – 2018. – Vol. 231. – P. 415-433.
303. Ntui, V.O. Transgenic tobacco lines expressing defective CMV replicase derived dsRNA are resistant to CMV-O and CMV-Y [Text] / V.O. Ntui, K. Kynet, R.S. Khan, M. Ohara, Y. Goto, M. Watanabe, M. Fukami, I. Nakamura, M. Mii // *Mol. Biotechnol.* – 2013. – Vol. 56(1). – P. 50-63.
304. O'Quinn, P.R. Nutritional value of a genetically improved high-lysine, high-oil corn for young pigs [Text] / P.R. O'Quinn, J.L. Nelssen, R.D. Goodband, D.A. Knabe, J.C. Woodworth, M.D. Tokach, T.T. Lohrmann // *J. Anim. Sci.* – 2000. – Vol. 78. – P. 2144-2149.
305. OECD Guideline for the Testing of Chemicals: In Vivo Mammalian Comet Assay [Электронный ресурс] / TG 489, 2014. URL: [https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-489-in-vivo-mammalian-alkaline-comet-assay\\_9789264264885-en#page1](https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-489-in-vivo-mammalian-alkaline-comet-assay_9789264264885-en#page1)
306. Ohi, M. Reproductive adverse effects of fipronil in Wistar rats [Text] / M. Ohi, P.R. Dalsenter, A.J.M. Andrade, A.J. Nascimento // *Toxicol. Letters.* – 2004. – Vol. 146. – P. 121-127.
307. Okamura, T. Background data for general toxicology parameters in RccHan<sup>TM</sup>:WIST rats at 8, 10, 19 and 32 weeks of age [Text] / T. Okamura, S. Suzuki, T. Ogawa, J. Kobayashi, O. Kusuoka, K. Hatayama, M. Mochizuki, T. Hoshiya, S. Okazaki, K. Tamura // *J. Toxicol. Pathol.* – 2011. – Vol. 24. – P. 195-205.
308. Oshino, N. The role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation in perfused rat liver and the reaction of catalase compound I and hydrogen donors [Text] / N. Oshino, B. Chance // *Arch. of Biochem. and Biophys.* – 1973. – Vol. 154. – № 1. – P. 117-131.
309. Otiman, I.P. Roundup ready soybean, a Romanian story [Text] / I.P. Otiman, E.M. Badea, L. Buzdugan // *Bull. UASVM Animal sci. and biotechnol.* – 2008. – Vol. 65 (1-2). – P. 352-357.
310. Ow, D.W. GM maize from site-specific recombination technology, what next? [Text] / D.W. Ow // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2007. – Vol. 18. – P. 115-120.
311. Paoletti, C. GMO risk assessment around the world: some examples [Text] / C. Paoletti, E. Flammb, W. Yanc, S. Meekd, S. Renckensa, M. Fellouse, and H. Kuiper // *Trends Food Sci. Technol.* – 2008. – Vol. 19. – P. S70-S78.

312. Park, J.R. The role of transgenic crops in sustainable development [Text] / J.R. Park, I. McFarlane, R.H. Phipps, G. Ceddia // *Plant Biotechnol. J.* – 2011. – Vol. 9. – P. 2-21.
313. Parrott, W. Application of food and feed safety assessment principles to evaluate transgenic approaches to gene modulation in crops [Text] / W. Parrott, B. Chassy, J. Ligon, L. Meyer, J. Petrick, J. Zhou, R. Herman, B. Delaney, Marci Levine // *Food and Chem. Toxicol.* – 2010. – Vol. 48. – P. 1773-1790.
314. Peiró, A. The movement protein (NSm) of Tomato spotted wilt virus is the a virulence determinant in the tomato Sw5 gene based resistance [Text] / A. Peiró, M. C. Cañizares , L. Rubio , C. López, E. Moriones, J. Aramburu, J. Sánchez-Navarro // *Mol. Plant Pathol.* – 2014. – Vol. 15 (8). – P. 802-813.
315. Pérez-Llorca, M. Biosynthesis, metabolism and function of auxin, salicylic acid and melatonin in climacteric and non-climacteric fruits [Text] / M. Pérez-Llorca, P. Muñoz, M. Müller, S. Munné-Bosch // *Front Plant Sci.* – 2019. – Vol. 10. – Art. 136. – 10 p.
316. Petri, C. Current achievements and future directions in genetic engineering of European plum (*Prunus domestica* L.) [Text] / C. Petri, N. Albuquerque, M. Faize, R. Scorza, C. Dardick // *Transgenic Res.* – 2018. – Vol. 27(3). – P. 225-240.
317. Piatek, A. RNA-guided transcriptional regulation in planta via synthetic dCas9-based transcription factors [Text] / A. Piatek, Z. Ali, H. Baazim, L. Li, A. Abulfaraj, S. Al-Shareef, M. Aouida, M.M. Mahfouz // *Plant Biotechnol. J.* – 2015. – Vol. 13. – P. 578-589.
318. Piche, L.A. Modification of rat platelet fatty acid composition by dietary lipids of animal and vegetable origin [Text] / L.A. Piche, V.G. Mahadevappa // *J. Nutr.* – 1990. – Vol. 120 (5). – P. 444-449.
319. Priem, B. Structure of ten free *N*-glycans in ripening tomato fruit (arabinose is a constituent of a plant *N*-glycan) [Text] / B. Priem, R. Gitti, C.A. Bush, K.C. Gross // *Plant Physiol.* – 1993. – Vol. 102. – P. 445-458.
320. Protein quality evaluation [Text]: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation Held in Bethesda, Md, USA, 4-8 December, 1989. – Rome: FAO, 1991. – 72 p. – ISBN 92-5-103097-9.
321. Pullen, A.H. A parametric analysis of the growing CFHB (Wistar) rat [Text] / A.H. Pullen // *J. Anat.* – 1976. – Vol. 121 – P. 371-383.
322. Qi, X. Subchronic feeding study of stacked trait genetically-modified soybean (305423 × 40-3-2) in Sprague-Dawley rats [Text] / X. Qi, X. He, Y. Luo, S. Li, S. Zou, S. Cao, M. Tang, B. Delaney, W. Xu, K. Huang // *Food Chem. Toxicol.* – 2012. – Vol. 50. – P. 3256-3263.
323. Qi, Y. Targeted deletion and inversion of tandemly arrayed genes in *Arabidopsis thaliana* using zinc finger nucleases [Text] / Y. Qi, X. Li, Y. Zhang, C.G. Starker, N.J. Baltes, F. Zhang, J.D.

- Sander, D. Reyon, J.K. Joung, D.F. Voytas // *G3 Genes|Genomes|Genetics*. – 2013. – Vol. 3(10). – P. 1707-1715.
324. Qu, J. Artificial micro RNA mediated virus resistance in plants [Text] / J. Qu, J. Ye, R. Fang // *J. Virol.* – 2007. – Vol. 81. – P. 6690-6699.
325. Que, Q. Trait stacking in transgenic crops: challenges and opportunities [Text] / Q. Que, M.-D.M. Chilton, C.M. de Fontes, C. He, M. Nuccio, T. Zhu, Y. Wu, J.S. Chen, L. Shi // *GM Crops*. – 2010. – Vol. 1(4). – P. 220-229.
326. Quesada, M.A. Antisense down-regulation of the FaPG1 gene reveals an unexpected central role for polygalacturonase in strawberry fruit softening [Text] / M.A. Quesada, R. Blanco-Portales, S. Pose, J.A. Garcia-Gago, S. Jimenez-Bermudez, A. Munoz-Serrano, J.L. Caballero, F. Pliego-Alfaro, J.A. Mercado, J. Munoz-Blanco // *Plant Physiol.* – 2009. – Vol. 150. – P. 1022-1032.
327. Rai, M.K. Developing stress tolerant plants through in vitro selection – an overview of the recent progress [Text] / M.K. Rai, R.K. Kalia, R. Singh, M.P. Gangola, A.K. Dhawan // *Environ. Exp. Bot.* – 2011. – Vol. 71. – P. 89-98.
328. Raina, A. Molecular cloning of a gene encoding a seed-specific protein with nutritionally balanced amino acid composition from *Amaranthus* [Text] / A. Raina, A. Datta // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1992. – Vol. 89. – P. 11774-11778.
329. Raman, R. The impact of genetically modified (GM) crops in modern agriculture: A review [Text] / R. Raman // *GM Crops Food*. – 2017. – Vol. 8(4). – P. 195-208.
330. Raouf, A.R. Effects of Melatonin on the Teratogenicity of Alcohol in Albino Rat [Text] / A.R. Raouf, M.M. Omar // *Suez Canal Univ. Med. J.* – 1999. – Vol. 2 (2). – P. 173-186.
331. Reed, J.C. Apoptosis: Physiology and Pathology [Text] / J.C. Reed, R.G. Douglas. – NY: Cambridge University Press, 2011. – 421 p. – ISBN 978-0-521-88656-7.
332. Reeves, P.G. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet [Text] / P.G. Reeves, F.H. Nielsen, G.C. Fahey // *The Journal of Nutrition*. – 1993. – Vol. 123(11). – P. 1939-1951.
333. Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed [Text] // *Official Journal of the European Union*. – 18.10.2003. – L 268/1. – 23 p.
334. Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents [Электронный ресурс]: OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Test No. 407. URL: <https://www.oecd.org/env/ehs/testing/37477972.pdf>

335. Report of the Task Force for the Safety of Novel Foods and Feeds for the G8 Summit (Okinawa) [Электронный ресурс]: OECD, C(2000)86/ADD1. – Paris: Organization for Economic Co-operation and Development, 2000: – 72 p. URL: <https://www.oecd.org/chemicalsafety/biotrack/REPORT-OF-THE-TASK-FORCE-FOR-THE-SAFETY-OF-NOVEL.pdf>
336. Rhee, G.S. Multigeneration reproductive and developmental toxicity study of bar gene inserted into genetically modified potato on rats [Text] / G.S. Rhee, D.H. Cho, Y.H. Won, J.H. Seok, S.S. Kim, S.J. Kwack, R.D. Lee, S.Y. Chae, J.W. Kim, B.M. Lee, K.L. Park, K.S. Choi // *J. Toxicol. Environ. Health. Part A.* – 2005. – Vol. 68. – P. 2263–2276.
337. Risk Analysis Framework 2013, Version 4 [Электронный ресурс]: Australian Government. Department of health and ageing. Office of the Gene Technology Regulator. – 120 p. – ISBN: 978-1-74241-943-5 URL: [http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/raffinal5-toc/\\$FILE/raffinal5\\_2.pdf](http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/raffinal5-toc/$FILE/raffinal5_2.pdf)
338. Rocchetti, M. Predicting the active doses in humans from animal studies: a novel approach in oncology [Text] / M. Rocchetti, M. Simeoni, E. Pesenti, G. De Nicolao, I. Poggesi // *European J. of Cancer.* – 2007. – Vol. 43(12). – P. 1862-1868.
339. Rommens, C.M. Low acrylamide French fries and potato chips [Text] / C.M. Rommens, H. Yan, K. Swords, C. Richael, J. Ye // *Plant Biotechnol. J.* – 2008. – Vol. 6. – P. 843-853.
340. Røste, L.S. Gonadal morphology and sex hormones in male and female Wistar rats after long-term lamotrigine treatment [Text] / L.S. Røste, E. Taubøll, J.I.T. Isojarvi, A. Berner, K.A. Berg, A.J. Pakarinen, I.T. Huhtaniemi, M. Knip, L. Gjerstad // *Seizure.* – 2003. – Vol. 12. – P. 621–627.
341. Russell, S. Directed excision of a transgene from the plant genome [Text] / S. Russell, J. Hoopes, J. Odell // *Mol. Genetics and Genomics.* – 1992. – Vol. 234(1) – P. 49-59.
342. Ryter, S.W. Mechanisms of cell death in oxidative stress [Text] / S.W. Ryter, H.P. Kim, A. Hoetzel, J.W. Park, K. Nakahira, X. Wang, A.M. Choi // *Antioxidants & redox signaling.* – 2007. – Vol. 9(1). – P. 49-89.
343. Safety and nutritional assessment of GM plants and derived food and feed: the role of animal feeding trials [Text] / Report of the EFSA GMO Panel Working Group on Animal Feeding Trials // *Food and Chem. Toxicol.* – 2008. – Vol. 46. – P. S2-S70.
344. Safety aspects of genetically modified foods of plant origin: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on foods derived from biotechnology 29 May-2 June 2000 [Электронный ресурс]: WHO/FAO. – 2000. – 35 p. URL: <https://www.who.int/foodsafety/publications/gmf-plant-origin/en/>

345. Safety evaluation of foods derived by modern biotechnology, concepts and principles [Text] / Organization for Economic Co-operation and Development. – Paris: OECD, 1993 – 74 p.
346. Saito, F.H. Repercussions of mild diabetes on pregnancy in Wistar rats and on the fetal development [Text] / F.H. Saito, D.C. Damasceno, W.G. Kempinas, G. Morceli, Y.K. Sinzato, K.N. Taylor, M.V.C. Rudge // *Diabetology & Metabolic Syndrome*. – 2010. – Vol. 2(26). – 8 p.
347. Sanahuja, G. *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications [Text] / G. Sanahuja, R. Banakar, R. Twyman, T. Capell, P. Christou // *Plant Biotechnol. J.* – 2011. – Vol. 9. – P. 283-300.
348. Sánchez, M.A. Characterization of scientific studies usually cited as evidence of adverse effects of GM food/feed [Text] / M.A. Sánchez, W.A. Parrott // *Plant Biotechnol. J.* – 2017. – Vol. 15(10). – P.1227-1234.
349. Sasaki, K. Ten rice peroxidases redundantly respond to multiple stresses including infection with rice blast fungus [Text] / K. Sasaki, T. Iwai, S. Hiraga, K. Kuroda, S. Seo, I. Mitsuhara, A. Miyasaka, M. Iwano, H. Ito, H. Matsui, Y. Ohashi // *Plant Cell Physiol.* – 2004. – Vol. 45(10). – P. 1442-1452.
350. Schaart, J.G. Opportunities for products of new plant breeding techniques [Text] / J.G. Schaart, C.C.M. van de Wiel, L.A.P. Lotz, M.J.M. Smulders // *Trends Plant Sci.* – 2016. – Vol. 21(5). – P. 438-449.
351. Schaffer, R.J. SEPALLATA1/2-suppressed mature apples have low ethylene, high auxin and reduced transcription of ripening-related genes [Text] / R.J. Schaffer, H.S. Ireland, J.J. Ross, T.J. Ling, K.M. David // *AoB Plants*. – 2013. – Vol. 5. – pls047. – 10 p.
352. Schiemann, J. Risk assessment and regulation of plants modified by modern biotechniques: current status and future challenges [Text] / J. Schiemann, A. Dietz-Pfeilstetter, F. Hartung, C. Kohl, J. Romeis, T. Sprink // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2019. – Vol. 70. – P. 699-726.
353. Schneider, S. Octyl methoxycinnamate: Two generation reproduction toxicity in Wistar rats by dietary administration [Text] / S. Schneider, K. Deckardt, J. Hellwig, K. Küttler, W. Mellert, S. Schulte, B. van Ravenzwaay // *Food and Chem. Toxicol.* – 2005. – Vol. 43. – P. 1083-1092.
354. Schneidereit, M. Study of fetal organ growth in Wistar rats from day 17 to 21 [Text] / M. Schneidereit // *Lab. Anim.* – 1985. – Vol. 19. – P. 240-244.
355. Schouten, H.J. Cisgenesis and intragenesis, sisters in innovative plant breeding [Text] / H.J. Schouten, E. Jacobsen // *Trends Plant Sci.* – 2008. – Vol. 13. – P. 260-261.
356. Scientific Opinion on application (EFSA-GMO-NL-2009-73) for the placing on the market of insect resistant and herbicide tolerant genetically modified soybean MON 87701 × MON 89788 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from

- Monsanto [Text] / EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO), European Food Safety Authority (EFSA) // The EFSA Journal. – 2012. – Vol. 10(2), 2560. – 34 p.
357. Scott, A.F. The molecular basis of hemoglobin Grady [Text] / A.F. Scott, J.A. Phillips, K.E. Young, H. Kazazian, K.D. Smith, S. Charache, J.B. Clegg // Amer. J. of Human Genet. – 1981. – Vol. 33 (1). – P. 129-133.
358. Sedeek, K.E.M. Plant genome engineering for targeted improvement of crop traits [Text] / K.E.M. Sedeek, A. Mahas, M. Mahfouz // Front. Plant Sci. – 2019. – Vol. 10. – Art. 114. – 16 p.
359. Seo, J.S. Expression of the *Arabidopsis* AtMYB44 gene confers drought/salt-stress tolerance in transgenic soybean [Text] / J.S. Seo, H.B. Sohn, K. Noh, C. Jung, J.H. An, C.M. Donovan, D. A. Somers, D.I. Kim, S.-C. Jeong, C.-G. Kim, H.M. Kim, S.-H. Lee, Y.D. Choi, T.W. Moon, C.H. Kim, J.-J. Cheong // Mol. Breed. – 2012. – Vol. 29. – P. 601-608.
360. Séralini, G.E. Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Rounduptolerant genetically modified maize [Text] / G.E. Séralini, E. Clair, R. Mesnage, S. Gress, N. Defarge, M. Malatesta, D. Hennequin, J.S. de Vendômois // Food Chem. Toxicol. – 2012.– Vol. 50. – P. 4221-4231.
361. Shadle, G.L. Phenylpropanoid compounds and disease resistance in transgenic tobacco with altered expression of l-phenylalanine ammonia-lyase [Text] / G.L. Shadle, S.V. Wesley, K.L. Korth, F. Chen, C. Lamb, R.A. Dixon // Phytochemistry. – 2003. – Vol. 64. – P.153-161.
362. Shan, Q. Targeted genome modification of crop plants using a CRISPR-Cas system [Text] / Q. Shan, Y. Wang, J. Li, Y. Zhang, K. Chen, Z. Liang, K. Zhang, J. Liu, J.J. Xi, J.-L. Qiu, C. Gao // Nat. Biotechnol. – 2013. – Vol. 31. – № 8.– P. 686-688.
363. Sharif, R. The multifunctional role of chitosan in horticultural crops; A review [Text] / R. Sharif, M. Mujtaba, M. Ur Rahman, A. Shalmani, H. Ahmad, T. Anwar, D. Tianchan, X. Wang // Molecules. – 2018. – Vol. 23(4). – Art. 872. – 20 p.
364. Sharma, H. The characteristics, toxicity and effects of cadmium [Text] / H. Sharma, N. Rawal, B.B. Mathew // Intern. J. of Nanotech. and Nanosci. – 2015. – Vol. 3. – P. 1-9.
365. Shinozaki, K. (2007) Gene networks involved in drought stress response and tolerance [Text] / K. Shinozaki, K. Yamaguchi-Shinozaki // J. Exp. Bot. – Vol. 58. – P. 221-227.
366. Smith, C.C. Recommendations for design of the rat comet assay [Text] / C.C. Smith, D.J. Adkins, E.A. Martin, M.R. O'Donovan // Mutagenesis. – 2009. – Vol. 24(1). – P. 95-95.
367. Smith, N.A. Total silencing by intron-spliced hairpin RNAs [Text] / N.A. Smith, S.P. Singh, M.B. Wang, P.A. Stoutjesdijk, A.G. Green, P.M. Waterhouse // Nature. – 2000. – Vol. 407. – P. 319-320.
368. Soberon, M. Engineering modified Bt toxins to counter insect resistance [Text] / M. Soberon, L. Pardo-Lopez, I. Lopez, I. Gomez, B.E. Tabashnik, A. Bravo // Science. – 2007. – Vol. 318. –

- P. 1640-1642.
369. Song, D. A novel rice MAPK gene, OsBIMK2, is involved in disease-resistance responses [Text] / D. Song, J. Chen, F. Song, Z. Zheng // *Plant Biol.* – 2006. – Vol. 8. – P. 587-596.
370. Srivastava, V. Single-copy transgenic wheat generated through the resolution of complex integration patterns [Text] / V. Srivastava, O.D. Anderson, D.W. Ow // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 1999. – Vol. 96. – P. 11117-11121.
371. Stoian, I. Apoptosis and free radicals [Text] / I. Stoian, A. Oros, E. Moldoveanu // *Biochem. and Mol. Med.* – 1996. – Vol. 59. – № 2. – P. 93-97.
372. Strobbe, S. From in planta function to vitamin-rich food crops: The ACE of biofortification [Text] / S. Strobbe, J. De Lepeleire, D. Van Der Straeten // *Front Plant Sci.* – 2018. – Vol. 9. – Art. 1862. – 27 p.
373. Suckow, M.A. *The Laboratory Rat* [Text]: 2nd edition / M.A. Suckow, S.H. Weisbroth, C.L. Franklin. – Burlington: Elsevier Academic Press, 2006. – 912 p. – ISBN 978-0-12-074903-3.
374. Sunilkumar, G. Engineering cottonseed for use in human nutrition by tissue-specific reduction of toxic gossypol [Text] / G. Sunilkumar, L.A.M. Campbell, L. Puckhaber, R.D. Stipanovic, K.S. Rathore // *PNAS USA.* – 2006. – Vol. 103. – №48. – P. 18054-18059.
375. Tabashnik, B.E. Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres [Text] / B.E. Tabashnik, T. Brévault, Y. Carrière // *Nature Biotechnol.* – 2013. – Vol. 31. – №6. – P. 510-521.
376. Tada, Y. Reduction of 14-16 kDa allergenic proteins in transgenic rice plants by antisense gene [Text] / Y. Tada, M. Nakase, T. Adachi, R. Nakamura, H. Shimada, M. Takahashi, T. Fujimura, T. Matsuda // *FEBS Lett.* – 1996. – Vol. 391. – P. 341-345.
377. Tagliabue, G. Scientific mistakes from the agri-food biotech critics [Text] / G. Tagliabue // *Life Sci. Soc. Policy.* – 2018. – Vol. 14(1). – Art. 25. – 23 p.
378. Takahashi, Y. A high-throughput screen of cell-death-inducing factors in *Nicotiana benthamiana* identifies a novel MAPKK that mediates INF1- induced cell death signaling and non-host resistance to *Pseudomonas cichorii* [Text] / Y. Takahashi, K.H. Bin Nasir, A. Ito, H. Kanzaki, H. Matsumura, H. Saitoh // *Plant J.* – 2007. – Vol. 49. – P. 1030-1040.
379. *The AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals* [Электронный ресурс]: 2013 Edition. URL: <https://www.avma.org/KB/Policies/Pages/Euthanasia-Guidelines.aspx>
380. *The Biosafety Clearing-House (BCH)* [Электронный ресурс]: The Cartagena Protocol on Biosafety. URL: <https://bch.cbd.int/database/lmo-registry/>
381. *The future of food and agriculture – Trends and challenges* [Text] / FAO. – Rome, 2017. – 163 p. – ISBN 978-92-5-109551-5.

382. Tillotson, J.A. Effect of riboflavin depletion and repletion on the erythrocyte glutathione reductase in the rat [Text] / J.A. Tillotson, H.E. Sauberlich // *J. Nutrition*. – 1971. – Vol. 101. – P. 1459-1466.
383. Tran, L.S. Potential utilization of NAC transcription factors to enhance abiotic stress tolerance in plants by biotechnological approach [Text] / L.S. Tran, R. Nishiyama, K. Yamaguchi-Shinozaki, K. Shinozaki // *GM Crops*. – 2010. – Vol. 1. – P. 32-39.
384. Tucker, M.J. *Diseases of the Wistar Rat* [Text] / M.J. Tucker. – London: Taylor & Francis Ltd, 1997. – 272 p. – ISBN 9780748405213.
385. Tutelyan, V.A. *Genetically Modified Food Sources. Safety Assessment and Control* [Text] / V.A. Tutelyan (Ed.). – USA: Elsevier Inc. Academic Press, 2013. – 338 p. – ISBN 978-0-12-405878-1.
386. Tyshko, N.V. Model of vitamin and mineral deficiency for toxicological research: Apoptosis activity under conditions of CCL4 intoxication [Текст] / N.V. Tyshko, S.I. Shestakova // *Toxicology Reports*. – 2019. – Vol. 6. – P. 151-154.
387. Tyshko, N.V. Analysis of the intensity of apoptosis in rat organs at various stages of ontogeny [Text] / N.V. Tyshko, E.O. Sadykova, S.I. Shestakova, E.N. Trushina, O.K. Mustafina // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2018. – Vol. 166. – Issue 9. – P. 409-412.
388. Tyshko, N.V. Mineral mix diet composition for reprotoxicological experiments in vivo: Lithium salt [Text] / N.V. Tyshko // *Toxicology Letters*. – 2018. – Vol. 295, Suppl. 1. – P. 164.
389. Tzotzos, G.T. *Genetically Modified Plants. Assessing Safety and Managing Risk* [Text] / G.T. Tzotzos, G.P. Head, R. Hull // USA: Elsevier Inc. Academic Press, 2009. – 244 p. – ISBN 9780123741066.
390. Umezawa, T. Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future [Text] / T. Umezawa, M. Fujita, Y. Fujita, K. Yamaguchi-Shinozaki, K. Shinozaki // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2006. – Vol. 17. – P. 113-122.
391. United Nations, 2017 [Электронный ресурс]: World population projected to reach 9.8 billion in 2050, and 11.2 billion in 2100. URL: <https://population.un.org/wpp/>
392. Upadhyay, S.K. RNA-guided genome editing for target gene mutations in wheat [Text] / S.K. Upadhyay, J. Kumar, A. Alok, R. Tuli // *G3 Genes|Genomes|Genetics*. – 2013. – Vol. 3(8). – P. 2233-2238.
393. Ursin, V.M. Modification of plant lipids for human health: development of functional land-based omega-3 fatty acids [Text] / V.M. Ursin // *The Journal of Nutrition*. – 2003. – Vol. 133(12). – P. 4271-4274.

394. Val Giddings L. Suppressing Growth: How GMO Opposition Hurts Developing Nations. [Электронный ресурс]: Information Technology & Innovation Foundation Report / L. Val Giddings, R.D. Atkinson, J.J. Wu. – February 2016. – 25 p. URL: <https://itif.org/publications/2016/02/08/suppressing-growth-how-gmo-opposition-hurts-developing-nations>
395. van Esse, H.P. Genetic modification to improve disease resistance in crops [Text] / H.P. van Esse, T.L. Reuber, D. van der Does // *New Phytol.* – 2019. – Tansley review. – P. 1-17.
396. van Hove, L. Is it only the regulatory status? Broadening the debate on cisgenic plants [Text] / L. van Hove, F. Gillund // *Environ. Sci. Eur.* – 2017. – Vol. 29(1). – Art. 22. – 11 p.
397. Vanblaere, T. The development of a cisgenic apple plant [Text] / T. Vanblaere, I. Szankowski, J. Schaart, H. Schouten, H. Flachowsky, G.A.L. Brogгинi, C. Gessler // *J. Biotechnol.* – 2011. – Vol. 154. – P. 304-311.
398. Varshney, R.K. Agricultural biotechnology for crop improvement in a variable climate: hope or hype? [Text] / R.K. Varshney, K.C. Bansal, P.K. Aggarwal, S.K. Datta, P.Q. Craufurd // *Trends Plant Sci.* – 2011. – Vol. 16. – P. 363-371.
399. Venâncio, V.P. Conventional (MG-BR46 Conquista) and transgenic (BRS Valiosa RR) soybeans have no mutagenic effects and may protect against induced-DNA damage in vivo [Text] / V.P. Venâncio, J.P. Silva, A.A. Almeida, M.R. Brigagão, L. Azevedo // *Nutr. Cancer.* – 2012. – Vol. 64. – P. 725-731.
400. Wally, O. Genetic engineering for increasing fungal and bacterial disease resistance in crop plants [Text] / O. Wally, Z.K. Punja // *GM Crops.* – 2010 – Vol. 1. – P. 199-206.
401. Wang, T. CRISPR technology is revolutionizing the improvement of tomato and other fruit crops [Text] / T. Wang, H. Zhang, H. Zhu // *Hortic. Res.* – 2019. – Vol. 6. – Art. 77. – 13 p.
402. Wang, X. A subchronic feeding study of dicamba-tolerant soybean with the dmo gene in Sprague-Dawley rats [Text] / X. Wang, X. He, S. Zou, W. Xu, X. Jia, B. Zhao, C. Zhao, K. Huang, Z. Liang // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* – 2016.– Vol. 77. – P. 134-142.
403. Wang, Y. Recombinase technology: applications and possibilities [Text] / Y. Wang, Y.-Y. Yau, D. Perkins-Balding, J.G. Thomson // *Plant Cell Rep.* – 2011. – Vol. 30. – P. 267-285.
404. Wang, Y. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew [Text] / Y. Wang, X. Cheng, Q. Shan, Y. Zhang, J. Liu, C. Gao, J.-L. Qiu // *Nat. Biotechnol.* – 2014. – Vol. 32(9). – P. 947-951.
405. Way, H.M. Constitutive expression of a phenylalanine ammonialyase gene from *Stylosanthes humilis* in transgenic tobacco leads to enhanced disease resistance but impaired plant growth

- [Text] / H.M. Way, K. Kazan, N. Mitter, K.C. Goulter, R.G. Birch, J.M. Manners // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* – 2002. – Vol. 60. – P. 275-282.
406. Wilson, J.G. Embryological Considerations In Teratology [Text] / J.G. Wilson // *Annals of the New York Academy of Sciences.* – 1965. – Vol. 123. – P. 219-227.
407. Wolt, J.D. Current risk assessment approaches for environmental and food and feed safety assessment [Text] / J.D. Wolt // *Transgenic Res.* – 2019. – Vol. 28 (Suppl. 2). – P. 111-117.
408. Woo, H.J. Auto-excision of selectable marker genes from transgenic tobacco via a stress inducible FLP/FRT site-specific recombination system [Text] / H.J. Woo, H.S. Cho, S.H. Lim, K.S. Shin, S.M. Lee, K.J. Lee, D.H. Kim, Y.G. Cho // *Transgenic Res.* – 2009. – Vol. 18. – P. 455-465.
409. Xie, K. RNA-guided genome editing in plants using a CRISPR-Cas system [Text] / K. Xie, Y. Yang // *Mol. Plant.* – 2013. – Vol. 6. – P. 1975-1983.
410. Yang, S. Alfalfa benefits from *Medicago truncatula*: the RCT1 gene from *M. truncatula* confers broad spectrum resistance to anthracnose in alfalfa [Text] // S. Yang, M. Gao, C. Xu, J. Gao, S. Deshpande, S. Lin, B.A. Roe, H. Zhu // *PNAS USA.* – 2008. – Vol. 105. – №34. – P. 12164-12169.
411. Yang, W. Making and breaking nucleic acids: two-Mg<sup>2+</sup> ion catalysis and substrate specificity [Text] / W. Yang, J.Y. Lee, M. Nowotny // *Mol. Cell.* – 2006. – Vol. 22. – P. 5-13.
412. Ye, X. Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm [Text] / X. Ye, S. Al-Babili, A. Klotti, J. Zhang, P. Lucca, P. Beyer, I. Potrykus // *Science.* – 2000. – Vol. 287. – P. 303-305.
413. Zaidi, S.S.-A. CRISPR-Cpf1: A New Tool for Plant Genome Editing [Text] / S.S.-A. Zaidi, M.M. Mahfouz, S. Mansoor // *Trends in Plant Sci.* – 2017. – Vol. 22. – №7. – P. 550-553.
414. Zetsche, B. Cpf1 is a single RNA-guided endonuclease of a class 2 CRISPR-Cas system [Text] / B. Zetsche, , J.S. Gootenberg, O.O. Abudayyeh, I.M. Slaymaker, K.S. Makarova, P. Essletzbichler, S.E. Volz, J. Joung, J. van der Oost, A. Regev, E.V. Koonin, F. Zhang // *Cell.* – 2015. – Vol. 163(3). – P. 759-771.
415. Zhang, B. A critical and speculative review on microRNA technology in crop improvement: Current challenges and future directions [Text] / B. Zhang, T. Unver. // *Plant Sci.* – 2018. – Vol. 274. – P.193-200.
416. Zhang, J.Z. From laboratory to field. Using information from *Arabidopsis* to engineer salt, cold, and drought tolerance in crops [Text] / J.Z. Zhang, R.A. Creelman, J.K. Zhu // *Plant Physiol.* – 2004. – Vol. 135. – P. 615-621.

417. Zhang, P. Resistance to cassava mosaic disease in transgenic cassava expressing antisense RNAs targeting virus replication genes [Text] / P. Zhang, H. Vanderschuren, J. Futterer, W. Gruissem // Plant Biotechnol J. – 2005. – Vol. 3 – P. 385-397.
418. Zhang, W. Cre/lox-mediated marker gene excision in transgenic maize (*Zea mays* L.) plants [Text] / W. Zhang, S. Subbarao, P. Addae, A. Shen, C. Armstrong, V. Peschke, L. Gilbertson // Theor. Appl. Genet. – 2003. – Vol. 107. – P. 1157-1168.
419. Zhang, Y. Chemical-induced autoexcision of selectable markers in elite tomato plants transformed with a gene conferring resistance to lepidopteran insects [Text] / Y. Zhang, H. Li, B. Ouyang, Y. Lu, Z. Ye // Biotechnol. Lett. – 2006. – Vol. 28. – P. 1247-1253.
420. Zhao, B.Y. A maize resistance gene functions against bacterial streak disease in rice [Text] / B.Y. Zhao, X.H. Lin, Poland J, H. Trick, J. Leach, S. Hulbert // PNAS USA. – 2005. – Vol. 102. – P. 15383-15388.
421. Zrachya, A. Production of siRNA targeted against TYLCV coat protein transcripts leads to silencing of its expression and resistance to the virus [Text] / A. Zrachya, P.P. Kumar, U. Ramakrishnan, Y. Levy, A. Loyter, T. Arazi, M. Lapidot, Y. Gafni // Transgenic Res. – 2006. – Vol. 16. – P. 385-398.
422. Zuo, J. Chemical-regulated, site-specific DNA excision in transgenic plants [Text] / J. Zuo, Q.-W. Niu, S.G. Møller, N.-H. Chua // Nat. Biotechnol. – 2001. – Vol. 19. – P. 157-161.

### **БЛАГОДАРНОСТИ**

*Автор признателен сотрудникам Лаборатории оценки безопасности биотехнологий и новых источников пищи, на базе которой была выполнена эта работа*