Slobodyan A.N., Antonyuk O.P., Ryaboi C.I.
FETAL TOPOHRAFIYA PANCREATODUODENAL ORGANOCOMPLEXES
Summary. *The article discusses the formation of a sphincter muscle of a common bile duct and a sphincter muscle of major duodenal papilla in the fetal period ontogenesis of human.*
Key words: *pancreatoduodenal organocomplexes, fetuses, human.*

Стаття надійшла до редакції 28.11.2013 р.

Слободян Олександр Миколайович - д.мед.н., професор кафедри анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії Буковинського державного медичного університету; +38 0372 55-55-61
Антонюк Ольга Петрівна - к.мед.н., доцент кафедри анатомії людини імені М.Г.Туркевича Буковинського державного медичного університету; olha_antonyuk@yahoo.com
Рябий Сергій Ілліч - к.мед.н., лікар-хірург, викладач кафедри догляду за хворими та вищої медсестринської освіти Буковинського державного медичного університету; serhioyyy@mail.ru

© Кулик Я.М., Гаврилюк А.О., Рауцкієне В.Т., Хіміч О.В.
УДК: 572.7:611.36:611.61:611.45:633.34
Кулик Я.М., Гаврилюк А.О., Рауцкієне В.Т., Хіміч О.В.
Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова (вул. Пирогова, 56, м.Вінниця, 21018, Україна), Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН (просп. Юності, 16, м.Вінниця, 21021, Україна)

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ, НИРОК ТА НАДНИРНИКІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ПРИ ДОВГОТРИВАЛОМУ ЗГОДОВУВАННІ РАУНДАПОСТІЙКОЇ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОЇ СОЇ

Резюме. *Довготривале, на протязі 485 днів, згодовування свиням термічно обробленої раундапостійкої ГМ сої в кількості 15-20% за сирим протеїном від всього раціону спричиняє розвиток білкової дистрофії нирок та печінки, які свідчать про зменшення адаптаційних можливостей органів. Найбільш значущі відхилення від норми виникають в наднирниках, які полягають в наявності значного набряку з дискомплексацією клітин, дистрофії та атрофії ендокриноцитів всіх зон кіркового шару, що може служити причиною розвитку функціонального виснаження.*
Ключові слова: *раундапостійка ГМ соя, свині, структура, нирки, печінка, наднирники.*

Вступ

Перші трансгенні організми отримані в 1986 році, коли проведені успішні польові випробування трансгенних рослин, а вже через 10 років в США з'явились перші генетично модифіковані (ГМ) продукти харчування. Це були томати з уповільненим дозріванням та стійка до гербіцидів соя [Коритнюк, Борисенко, 2008а,б], а ще через два роки на ринок поступили ГМ кукурудза, картопля, кабачки, редька, рапс, тютюн, бавовник та інші. На сьогодення для багатьох країн світу проблемним питанням є заготівля кормів для тварин та продуктів харчування для людей із різних ГМ сільськогосподарських культур в якості сировини. Одночасно застосування біотехнологій без глибокого розуміння результатів їх впливу може призвести до самих трагічних наслідків. Використання ГМО найменш вивчено, його неможливо зупинити і при необхідності ліквідувати [Ермакова, 2011]. Масштабне розповсюдження ГМО і потенційне впровадження чужорідного генетичного матеріалу в клітини рослин, тварин, людини можуть стати причиною виникнення незворотних патологічних змін в організмі живих істот і привести до їх вимирання. Виключення ризиків передбачає всебічне вивчення біології ГМ рослин і фундаментальних основ регуляції експресії генома. В наш час відбувається дискусія щодо виробництва та використання ГМО, яка включає майже протилежні думки. Так, виробники та економісти, базуючись на необхідності збільшення кількості продуктів харчування, стверджують, що ГМО в певних дозах безпечні для вживання. Науковці, особливо екологи, доказують шкідливість ГМО і вимагають обов'язкового маркування їх наявності в продуктах, допущених до продажу [Тутельян и др., 2010; Тышко и др., 2010]. Необхідний постійний моніторинг кожного допущеного у виробництво ГМ продукту, а також всебічне і глибоке вивчення потенційних негативних впливів не тільки самих ГМО, а і їх метаболітів, якість і кількість яких важко передбачити [Закревський, 2006; Кузнецова, 2010; Seralini et al., 2012]. На думку авторів використання біотехнологій це скрита зовсім не вивчена глобальних масштабів загроза навколишньому середовищу і природі загалом. Нажаль є приклади, коли науковці, що доказують шкідливість ГМО переслідуються монополістами-виробниками, що створило умови для розповсюдження біотехнологій із США на весь світ і призупинити цей процес стало неможливим [Ермакова, 2011; Долайчук, 2012]. Це стосується і виробництва та застосування раундапостійкої сої. Зацікавлені в економічній вигоді на сьогодення виробники та фермери настільки "захопились" використанням гербіциду раундапу, що при вільному доступі (в тому числі й на Україні) важко виключити порушення технології його використання,

особливо дозування. Постулат, висунутий Є.І.Маковською ще в 1968 році: "чим ефективніший пестицид, тим він пагубніший для людини" - не втратив своєї актуальності на сьогодення.

Останніми роками на Україні, в тому числі і на Поділлі, значно зросло виробництво раундапостійкої ГМ сої [Бабич, 2013]. Відомо [Ермакова, 2006, 2008, 2009; Малыгин, 2008; Тышко и др., 2010; Тутельян, 2010; Матюха, 2012; Malatesta et al., 2002, 2003; Veccio et al., 2003], що вона у лабораторних тварин (щурів, мишей) впливає на потомство, на структурно-функціональний стан підшлункової залози, статевих залоз, печінки, нирок. Констатована зміна гормонального стану організму, розвиток неплідності та пухлин.

Враховуючи відмічене, *метою* даного дослідження стало вивчення морфофункціонального стану печінки, нирок та наднирників свиней при довготривалому згодовуванні раундапостійкої ГМ сої.

Матеріали та методи

Із даних літератури [Западнюк та ін., 1983] відомо, що домашні свині вважаються одним із найбільш результативних об'єктів для пізнання механізмів фізіологічних та патологічних процесів у людини. Враховуючи відмічене для виконання експериментального дослідження впливу раундапостійкої ГМ сої на організм нами використані поросята 2-місячного віку. Піддослідну групу складали 4 свинки і 2 кнурці, котрим окрім злакових культур до раціону включали 15-20% за сирим протеїном термічно обробленої раундапостійкої ГМ сої. Контрольну групу з аналогічною кількістю тварин окрім злакових культур за сирим протеїном (15-20%) згодовували соняшниковий шрот і молотий горох. Дослідження проведені протягом 2011-2013 р.р. і тривали 485 днів.

Раціони тварин обох груп та умови утримання відповідали вимогам норм і прийнятих стандартів середньодобових приростів. При проведенні забою тварин визначали абсолютну та відносну масу внутрішніх органів. Для гістологічних досліджень забирали шматочки печінки, нирок та наднирників, які фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, проводили через батарею спиртів та заключали в парафін за загальновизнаною методикою. Зрізи тканин фарбували гематоксилін-еозином та вибірково за ван-Гізон.

Результати. Обговорення

При зовнішньому огляді внутрішніх органів експериментальних тварин звертає увагу деяке збільшення їх абсолютної та відносної маси (табл. 1).

Тканина нирок з поверхні та на розрізі більш повнокровна і темніша, ніж у контролі. Консистенція їх, як і печінки, дещо м'якша. Інші органи були без помітних макроскопічних відхилень від норми.

Мікроскопічно в нирках виявлено нерівномірне повнокрів'я клубочків та строми органу. Трапляються поодинокі геморагічні екстравазати. Звертає увагу нерівномірний набряк строми та поширена, майже дифузного характеру, білкова зерниста дистрофія епітелію звивистих канальців з наявністю зернистих мас в просвіті (рис. 1). На цьому тлі виявляються також окремі осередки важкої гідропічної дистрофії епітеліоцитів з наслідком розвитку колікваційного некрозу. Клітини епітелію звивистих канальців значно збільшені в об'ємі, набряклі, вміщують ядра з різною кількістю хроматину або взагалі без ядра (рис. 2). Рідко трапляється тубулорексіс, тобто розрив стінки подібно зміненого канальця і його колапс через значний набряк і крововилив в навколишній стромі. Паралельно визначаються невеликих розмірів канальці без просвіту, які вистелені інтенсивно еозинофільними епітеліоцитами, серед яких часто трапляються двохядерні і які обмежені грубою сполучною тканиною, що є ознакою їх регенерації й атрофії.

Таблиця 1. Абсолютна та відносна маса внутрішніх органів свиней при довготривалому згодовуванні раундапостійкої ГМ сої.

Показник, кг	Контрольна група		Дослідна група		± до контролю, %
Жива маса	203,3	% до живої маси	221,7	% до живої маси	
Печінка	2,400	1,18	2,790	1,26	+ 0,08
Нирки	0,407	0,20	0,630	0,28	+ 0,08
Серце і легені	1,91	0,94	2,15	0,97	+ 0,03
Селезінка	0,283	0,14	0,397	0,18	+ 0,04

Не встановлено порушення архітектоніки будови печінки при мікроскопічному її дослідженні. Балкова орієнтація гепатоцитів у часточках збережена. Але звертає увагу значний набряк портальних шляхів, де відмічається збільшення кількості та нерівномірне розширення просвіту лімфатичних щілин та судин (рис. 3). Всередині часточок трапляється розширення просторів Дісе. Кровонаповнення синусоїдів та центральних вен не відрізняється від контрольних тварин. Рідко виявляється помірна проліферація і набухання клітин Купфера та ендотеліоцитів. Паренхіматозні клітини, характеризуються зернистістю цитоплазми, яка виявляється у більшості гепатоцитів. Ядра їх поліморфні з різним вмістом хроматину. Серед подібно змінених клітин виявляються дрібні скупчення безядерних некротизованих гепатоцитів, які охоплюють 1-4 клітини. Контури таких клітин не чіткі, іноді відсутні. Окремі гепатоцити зменшені в об'ємі, мають гомогенну гіпереозинофільну цитоплазму та гіперхромне деформоване або фрагментоване ядро, що характерно для апоптозу. Навколо фокусів некрозу і апоптозу виявлялись дрібні інфільтрати із мононуклеарів (рис. 4). Гепатоцити, які локалізовані поблизу фокусів некрозу та апоптозу часто проявляли ознаки внутрішньоклітинної регенерації та адаптації, що проявляється гіпертрофією та поліплоїдією. Ядра їх гіперхромні з наявністю двох і більше ядерець. Поряд визначаються осередки мономорфних за струк-

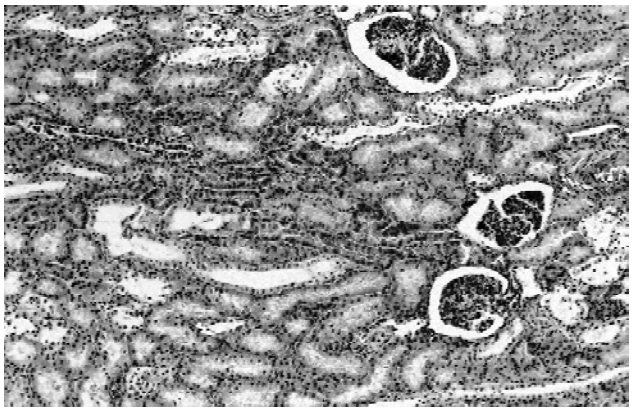

Рис. 1. Нирка. Зерниста дистрофія епітелію звивистих канальців з наявністю еозинофільних мас в просвіті. Гематоксилін-еозин. х100.

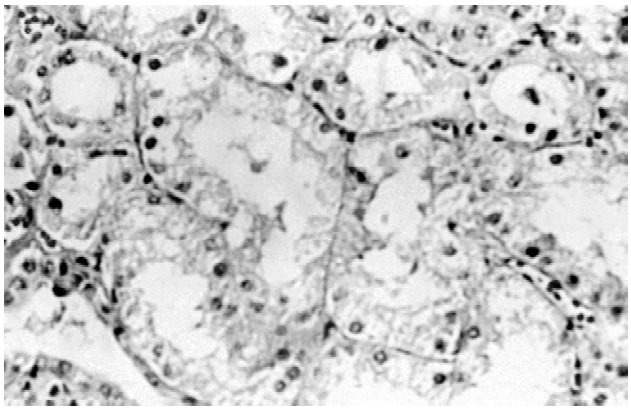

Рис. 2. Нирка. Гідропічна дистрофія та некроз епітеліоцитів звивистих канальців. Гематоксилін-еозин. х400.

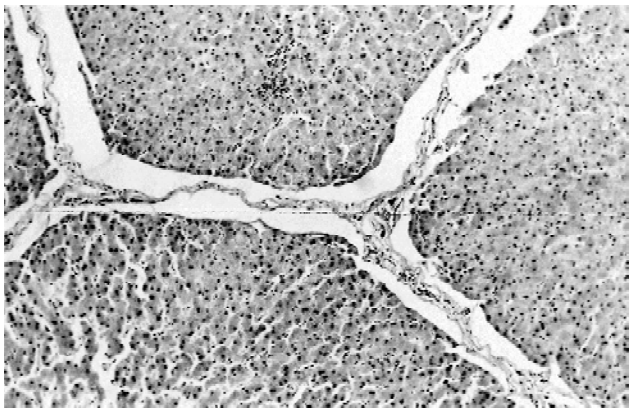

Рис. 3. Печінка. Розширення портального шляху за рахунок значного набряку. Анізоцитоз і анізонуклеоз гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. х100.

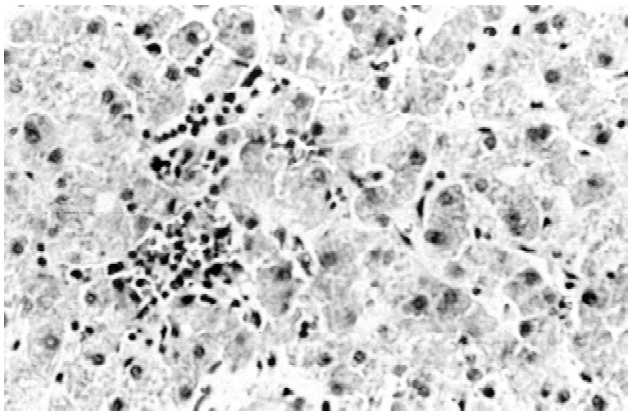

Рис. 4. Печінка. Вогнищевий інфільтрат з мононуклеарів на тлі зернистої дистрофії гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. х400.

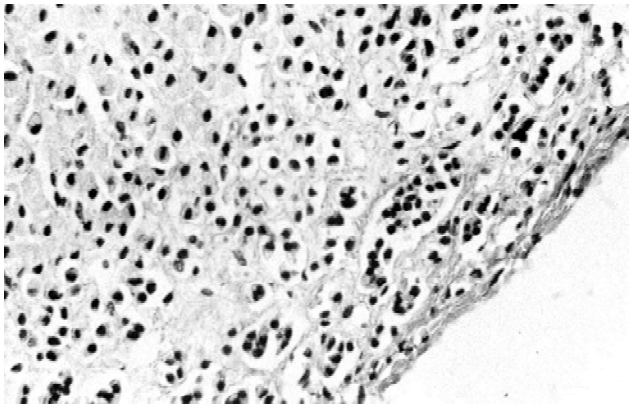

Рис. 5. Наднирник. Витончення і помірний склероз клубочкової зони кіркового шару. Гематоксилін-еозин. х100.

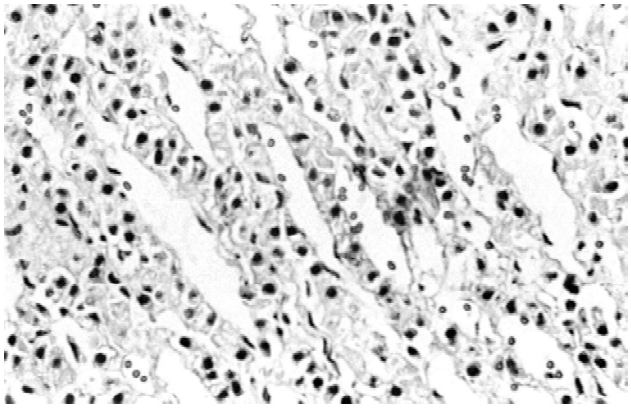

Рис. 6. Наднирник. Ендокриноцити тяжів пучкової зони щільно контактують між собою, мають зернисту помірно вакуолізовану цитоплазму. Гематоксилін-еозин. х400.

турою гепатоцитів, які однакові за розміром, мають звичайну цитоплазму та невеликі нормохромні ядра з одним ядерцем, що свідчить про втрату структурної гетерогенності, що на наш погляд, є ознакою функціональної напруги та зменшення адаптаційних резервів печінки.

Особливої уваги заслуговують мікроскопічні зміни наднирників, регуляторні впливи яких можуть віддзеркалюватись в інших органах. Так, капсула органу нерівномірно потовщена за рахунок набряку та збільшення кількості колагенових волокон. Вздовж спостерігаються тонкі відгалуження колагенових волокон в клубочкову зону кори наднирників. Що стосується безпосередньо самої клубочкової зони та звертає увагу не-

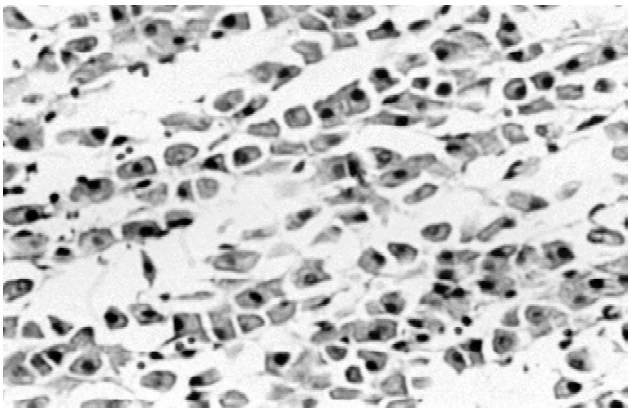

Рис. 7. Наднирник. Набряк та дискомплексація ендокриноцитів з гомогенною цитоплазмою. Гематоксилін-еозин. х400.

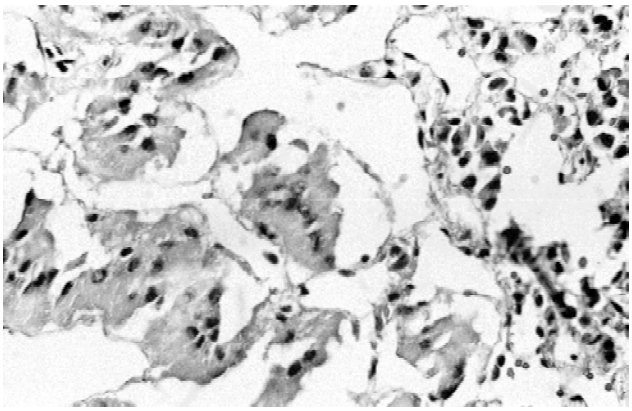

Рис. 8. Наднирник. Значне розширення прозорою рідиною просвіту судин мікроциркуляторного русла мозкового шару. Гематоксилін-еозин. х400.

рівномірність її товщини. Місцями вона представлена невеликими малочисельними гніздами ендокриноцитів з гіперхромним ядром та цитоплазмою різної еозинофільності. Серед них багато двохядерних клітин. Гнізда обмежені широкими прошарками сполучної тканини (рис. 5). Подібні зміни характерні для атрофії продукуючої мінералокортикоїди клубочкової зони, яка компенсується підвищеною проліферацією окремих ендокриноцитів.

У пучковій зоні звертає увагу особливе розширення прозорою рідиною просвіту вистелених фенестрованим ендотелієм прямих капілярів синусоїдного типу. Це спричиняє послаблення міжклітинних контактів та дискомплексацію клітин в тяжах, через накопичення набрякової рідини. В просвіті синусоїдів місцями визначаються скупчення еритроцитів характерні для повнокрів'я органу. Стосовно тяжів ендокриноцитів пучкової зони, то їх структура різна. Поряд з полями зору, де вони представлені ендокриноцитами з помірно просвітленою або зернистою цитоплазмою, які щільно контактують між собою (рис. 6), трапляються поля зору, де ендокриноцити різних розмірів, мають гомогенну, підвищено еозинофільну цитоплазму та гіперхромне ядро і контакти між якими відсутні (рис. 7). У ділянках особливого набряку трапляються скупчення безядерних некротизованих клітин. Вказані зміни оцінені нами як ознаки глибокої дистрофії, патогенно ідукованого некрозу, апоптозу, та ознаки функціонального виснаження. Поряд з вказаними змінами в пучковій зоні визначаються осередки помірного склерозу та наявністю непоширених мононуклеарних інфільтратів.

У сітчастій зоні та в мозковому шарі наднирників виявлені дистрофічні зміни ендокриноцитів та значне нерівномірне розширення просвіту судин мікроциркуляторного русла прозорою рідиною, що характерно для набряку (рис. 8).

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Довготривале згодовування свиням раундапостійкої ГМ сої спричиняє розвиток набряку, дистрофічних змін нирок та печінки, які свідчать про зменшення резервів адаптаційних можливостей органів.

2. Значні відхилення від норми в структурі наднирників: дистрофія і атрофія в усіх зонах кіркового шару, набряк з дискомплексацією ендокриноцитів - можуть зумовлювати функціональне виснаження органу.

3. Результати дослідження необхідно враховувати при регламентації споживання раундапостійкої ГМ сої.

Вперше виявлені морфологічні зміни наднирників у подальшому можуть послужити основною для визначення нових напрямків досліджень, пов'язаних з регуляторними механізмами даної ендокринної залози в умовах споживання раундапостійкої ГМ сої.

Список літератури

Долайчук О.П. Показники репродуктивної здатності та коефіцієнти маси внутрішніх органів самок щурів у процесі дії компонентів натуральної та трансгенної сої /О.П.Долайчук, І.О.Матюха, Р.С.Федорук //Науковий вісник Волинського нац. ун-ту імені Лесі Українки. Розділ III. Фізіологія людини і тварини.- 2012.- С.55-60.

Ермакова И.В. Влияние сои с геном EPSPS CP 4 на физиологическое состояние и репродуктивные функции крыс в первых двух поколениях /И.В.Ермакова //Совр. пробл. науки и образования. Биол. науки.- 2009.- №5.- С.15-21.

Ермакова И.В. Генетически модифицированная соя приводит к снижению веса и увеличению смертности крысят первого поколения. Предварительные исследования /И.В.Ермакова //Экоинформ.- 2006.- №1.- 20с.

Ермакова И.В. Изучение физиологических и морфологических параметров у крыс и их потомства при использовании диеты содержащей сою с трансгеном EPSPS CP 4 /И.В.Ермакова, И.В.Барсков //Совр. пробл. науки и образования. Биол. науки.- 2008.- №6.- С.19-20.

Ермакова И.В. Что мы едим? Воздействие на человека ГМО и способы защиты /Ермакова И.В.- Москва: Амрита-Русь, 2011.- 60с.

Закревский В.В. Генетически модифицированные источники пищи растительного происхождения: практическое руководство по санитарно-эпидемиологическому надзору / Закревский В.В.- Санкт-Петербург:

Диалект, 2006.- 152с.
Коритнюк Р. Генна інженерія - минуле, сучасне і майбутнє /Р.Коритнюк, Т.Борисенко //Фармацевтична практика.- 2008а.- №7-8.- С.18-20.
Коритнюк Р. Генна інженерія - минуле, сучасне і майбутнє /Р.Коритнюк, Т.Борисенко //Фармацевтична практика.- 2008б.- №6.- С.14-15.
Кузнецова Е.М. Глифосат: поведение в окружающей среде и уровни остатков / Е.М.Кузнецова, В.Д.Чмиль //Совр. пробл. токсикологии.- 2010.- №1.- С.87-95.
Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте /И.П.Западнюк, В.И.Западнюк, Е.А.Захария [и др.].- Киев: "Вища школа".- 1983.- 382с.
Малыгин А.Г. Влияние соевой диеты на репродуктивные функции мышей / А.Г.Малыгин //Совр. пробл. науки и образования. Биол. науки.- 2008.- №6.- С.23.
Малыгин А.Г. Соевая диета подавляет репродуктивные функции грызунов /А.Г.Малыгин, И.В.Ермакова // Совр. пробл. науки и образования. Биол. науки.- 2008.- №6.- С.26.
Матюха І.О. Фізіологічний стан і репродуктивний стан самок тварин при згодовуванні кормів із сої: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с-г наук: спец. 03.00.13 /І.О.Матюха.- Львівський нац. ун-т ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького.- Львів, 2012.- 20с.
Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированной сои линии MON 89788. Токсиколого-гигиенические исследования /В.А.Тутельян, М.Г.Гаппаров, Л.И.Авденьева [и др.] //Вопр. питания.- 2010.- Т.79, №3.- С.4-12.
Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модицированной сои линии MON 89788 / Н.В.Тышко, М.В.Брицина, И.В.Гмошинский [и др.] //Вопр. питания.- 2010.- Т.79, №3.- С.13-17.
Селекція сої на Поділлі /А.О.Бабич, В.Ф.Петриченко, С.В.Іванюк [та ін.] //Вісник аграрної науки інституту кормів та сільського господарства Поділля. Спец. випуск. - Київ: Аграрна наука.- 2013.- №40.- С.21-24.
Fine structure analysis of pancreatic acinar cell nuclei from nice fed on GM soybean /M.Malatesta, M.Biggiodera, E.Manuali [et al.] //Eur. J. Histochem.- 2003.- Vol.47.- P.385-388.
Long term toxicity of a Roundup herbicide and Roundup-tolerant genetically modified maize /J.E.Seralini, E.Clair, R.Mesnage [et al.] //Food Chem. Toxicol.- 2012.- Vol.50, Tissue 11.- P.4221-4231.
Ultrastructural analysis of testes from mice fed on genetically modified soybean / L.Veccio, B.Cisterna, M.Malatesta [et al.] //Eur. J. Histochem.- 2003.- Vol.48.- P.449-453.
Ultrastructural, morfometrical and immunocytochemical analysis of hepatocyte nuclei from mice fed or genetically soybean /M.Malatesta, C.Caporalony, S.Yavandon [et al.] //Cell. struct.- 2002.- Vol.27.- P.173-180.

Кулик Я.М., Гаврилюк А.А., Рауцкиене В.Т., Химич В.В.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ, ПОЧЕК И НАДПОЧЕЧНИКОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ СКАРМЛИВАНИИ РАУНДАПОСТОЙКОЙ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ СОИ

Резюме. *Длительное, на протяжении 485 дней, скармливание свиньям термически обработанной раундапостойкой ГМ сои в количестве 15-20% за сырым протеином от всего рациона обуславливает развитие белковой дистрофии почек и печени, которая свидетельствует об уменьшении адаптационных возможностей органов. Наиболее выраженные отклонения от нормы возникают в надпочечниках, которые заключаются в наличии значительного отека с дискомплексацией клеток, дистрофии и атрофии эндокриноцитов всех зон коры, что может служить критерием функционального истощения.*

Ключевые слова: *раундапостойкая ГМ соя, свиньи, структура, печень, почки, надпочечники.*

Kulik Y.M., , Hawryluk A.T., Rautskyiene V.T., Khymych V.A.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF LIVER, KIDNEYS, AND ADRENAL GLANDS OF EXPERIMENTAL ANIMALS IN THE CASE OF LONG FEEDING WITH ROUNDUP GENETICALY MODIFIED SOYA

Summary. *Long period of time, for 485 days, feeding the pigs with thermally treated roundup GM soya in number of 15-20% raw protein from the whole ration cause the development of the protein dystrophy of the kidneys and liver which testifies to the reduction of the adaptive opportunities of the organs. The most expressed declines from the norm are in the adrenal glands, which consist in considerable edema with discomplexation of the cells, dystrophy and atrophy of endocrine cells of all areas of the cortex, that can serve as a criteria of functional exhaustion.*

Key words: *roundup GM soya, pigs, structure, liver, kidneys, adrenal glands.*

Стаття надійшла до редакції 11.12.2013 р.

Кулик Ярослава Михайлівна - к. мед. н., доцент кафедри педіатрії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 0432 43-77-85
Гаврилюк Алла Олександрівна - к. мед. н., доцент кафедри патологічної анатомії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 0432 35-14-01
Рауцкієне Варвара Тихонівна - к. мед. н., доцент кафедри патологічної анатомії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 0432 35-14-01
Хіміч Олександр Володимирович - к. сільгосп. н., науковий співробітник Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН; +38 0432 43-77-85