

## **ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОГО КАРТОФЕЛЯ В РАЦИОНЕ ПИТАНИЯ НА СИСТЕМУ КРОВИ У МЫШЕЙ**

**Е. В. Малышева, Н. О. Юрьева,  
А. А. Мелешин, И. В. Якунина**

*ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет  
им. Г. Р. Державина», г. Тамбов, Россия;*

*ФГБУН «Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева  
Российской академии наук», г. Москва, Россия;*

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
картофельного хозяйства им. А. Г. Лорха», п. Коренево, Россия;*

*ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный технический  
университет», г. Тамбов, Россия*

*Рецензент д-р биол. наук, профессор Г. А. Лада*

**Ключевые слова:** ген Delta-9 ацил-липидной десатуразы; ген SmAMP-2 из *Stellaria media*; генетически модифицированный картофель (*Solanum tuberosum* L.); лейкоцитарная формула; морфологические особенности; мышцы.

**Аннотация:** Рассмотрены проблемы введения трансгенных продуктов на потребительский рынок. Исследовано влияние линий генетически модифицированного картофеля с геном Delta-9 ацил-липидной десатуразы и геном SmAMP-2 из *Stellaria media* на лейкоцитарную формулу у мышей. Показано уменьшение массы селезенки и выраженный сдвиг лейкоцитарной формулы в сторону уменьшения числа лимфоцитов и увеличения нейтрофилов у мышей, употреблявших генетически модифицированный картофель (*Solanum tuberosum* L.) с геном Delta-9 ацил-липидной десатуразы и геном SmAMP-2 из *Stellaria media* в течение шести месяцев.

---

Малышева Елена Владимировна – кандидат биологических наук, доцент кафедры природопользования и землеустройства, e-mail: birucovatgu@mail.ru, ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет им. Г. Р. Державина», г. Тамбов, Россия; Юрьева Наталия Олеговна – кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник отдела биологии клетки и биотехнологии, ФГБУН «Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН», г. Москва, Россия; Мелешин Алексей Алексеевич – кандидат сельскохозяйственных наук, заведующий отделом генетики и селекции, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства им. А. Г. Лорха», п. Коренево, Россия; Якунина Ирина Владимировна – кандидат химических наук, доцент кафедры «Природопользование и защита окружающей среды», ТамбГТУ, г. Тамбов, Россия.

Картофель клубненосный является одной из наиболее широко распространенных культур. Он занимает важное место в рационе современного человека, используется в кормовых и технических целях. Классические сорта картофеля подвержены действию различных биотических и абиотических стрессоров. Поэтому одним из перспективных направлений на сегодняшний день – создание трансгенных линий картофеля, устойчивых к стрессам [1 – 4]. Не менее значимым является создание растений с улучшенной потребительской ценностью, например, обогащенных витаминами, жирными кислотами, аминокислотами и другими веществами. Для создания трансгенных растений используются гены разных организмов, чаще всего с вирусным промотором. Возникает вопрос о влиянии подобной генетически модифицированной продукции на организм потребителей. Имеющиеся данные противоречивы, но большинство исследований указывает на негативные последствия кормления млекопитающих клубнями различных трансгенных линий картофеля [5 – 7]. Показано увеличение массы тела и сердца; уменьшение массы селезенки; дистрофия яичников и изменение формы сердца; нарушение флоры тонкого кишечника, смещение ее в сторону преобладания кокковых форм у мышей, употреблявших генетически модифицированный картофель (*Solanum tuberosum* L.) с геном Delta-9 ацил-липидной десатуразы и геном SmAMP-2 в течение шести месяцев [8, 9].

Цель данной работы – исследование влияния на лейкоцитарную формулу у лабораторных беспородных мышей трансгенных растений картофеля:

- 1) экспрессирующего ген StAMP-2 из *Stellaria media*, обеспечивающий устойчивость к фитотрофу;
- 2) инсерционных мутантов, в которых область Т-ДНК, несущая ген Delta-9 ацил-липидной десатуразы из *Synechococcus vulcanus*, которая обеспечивает холодоустойчивость и интегрирована в геном картофеля.

В эксперименте исследованы 60 беспородных лабораторных мышей (по 30 самок и самцов) в возрасте одного месяца, которых поделили на три группы по 10 самцов и самок. Группа № 1 получала с кормом AMP-1 трансген, группа № 2 – картофель сорта Юбилей Жукова, группа № 3 – Delta-9 трансген. Подопытных животных содержали в условиях вивария (с естественным режимом освещения; при температуре 22...24 °С; относительной влажности воздуха 40...50 %) с использованием стандартной диеты [10]. Исследования проводили в соответствии с правилами качественной лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ, а также правилами и Международными рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1986 г.). Перед постановкой эксперимента животные проходили карантин в течение 14 дней.

Забор крови осуществлялся на первой и последней неделе эксперимента методом купирования кончика хвоста: хвост мыши помещают в теплую воду на 2 мин (для лучшего притока крови), после обеззараживания спиртом купируется кончик хвоста (2...3 мм) и массирующими движениями растирается от основания хвоста до купированного кончика, таким

образом выдавливается капля крови на стеклышко для приготовления мазка. Окрашивание мазка производилось по методу Романовского–Гимзы, после чего подсчитывалась лейкоцитарная формула.

Статистическая обработка результатов производилась с помощью программы Statistica 6.0.

Перед началом эксперимента лейкоцитарная формула мышей всех групп соответствовала норме. Преобладали лимфоциты: от 56,73 % ± 7,98 в контрольной группе до 65,27 % ± 6,59 в группе № 3 (табл. 1). Нейтрофилы составили от 29,94 % ± 1,30 в группе мышей, получающих картофель с Delta-9, до 37,09 ± 5,81 в контрольной группе. При этом на долю палочкоядерных нейтрофилов пришлось от 1,86 ± 0,83 до 2,72 ± 1,38 в разных группах. Моноциты составили от 4,0 ± 1,07 до 7,05 ± 3,57. Гемоглобин находился в норме и составил от 103 до 110 г/л.

После эксперимента уменьшилось содержание лимфоцитов во всех группах. Наименее выраженное изменение наблюдалось в группе мышей, получающих картофель с Delta-9 трансгеном. Число сегментоядерных

Таблица 1

**Показатели лейкоцитарной формулы до и после эксперимента**

Лейкоциты	Группа		
	№ 1	№ 2	№ 3
Палочкоядерные:			
до	2,33 ± 1,03	1,86 ± 0,83**	2,72 ± 1,38
после	5,0 ± 1,26*	0,75 ± 1,61**	3,69 ± 1,18***
Δ %	11,45	-59,44	35,66
Сегментоядерные:			
до	27,61 ± 1,68*	35,23 ± 5,34**	28,04 ± 5,89
после	36,72 ± 1,27	38,73 ± 6,55	41,77 ± 2,59***
Δ %	32	9	48
Нейтрофилы:			
до	29,94 ± 1,30*	37,09 ± 5,81**	30,77 ± 7,13
после	41,72 ± 2,06*	48,60 ± 7,44	45,38 ± 2,87***
Δ %	39	31	47
Моноциты:			
до	7,05 ± 3,57*	6,18 ± 7,28**	4,0 ± 1,07***
после	6,09 ± 1,22	4,87 ± 1,26	5,38 ± 0,78
Δ %	-13	-21	34
Лимфоциты:			
до	63,0 ± 4,32*	56,73 ± 7,98**	65,27 ± 6,59
после	52,36 ± 2,01*	42,82 ± 6,69**	49,15 ± 3,10***
Δ %	-16	-24	-24

Примечание: \* – достоверность различий между группами № 1 и № 2 при  $p < 0,05$ ; \*\* – № 2 и № 3; \*\*\* – № 1 и № 3.

нейтрофилов увеличилось во всех группах. Минимальные изменения наблюдались в контрольной группе, максимальные 48 % – в группе, получающей картофель с геном SmAMP-2. Число палочкоядерных нейтрофилов в контрольной группе незначительно снизилось, в остальных группах увеличилось.

Основная функция нейтрофилов – защита от инфекций путем хемотаксиса и фагоцитоза чужеродных микроорганизмов. Увеличение числа нейтрофилов (нейтрофилез, нейтрофилия) наблюдается при различных инфекциях, воспалительных процессах, эндогенных интоксикациях.

Лимфоциты посредством выделения белковых регуляторов (цитокинов) участвуют в регуляции иммунного ответа и координации работы всей иммунной системы в целом, данные клетки связаны с обеспечением иммунологической памяти (способности организма к ускоренному и усиленному иммунному ответу при повторной встрече с чужеродным агентом). Уменьшение содержания лимфоцитов (лимфопения) может наблюдаться при острых инфекциях и заболеваниях; иммунодефицитах (с недостаточностью Т-клеток) и т.д.

Моноциты участвуют в формировании и регуляции иммунного ответа, выполняя функцию презентации антигена лимфоцитам и служа источником биологически активных веществ, в том числе регуляторных цитокинов. Они обладают способностью к локальной дифференцировке, то есть являются предшественниками макрофагов. Моноциты составляют 3...9 % всех лейкоцитов, способны к амёбовидному движению, проявляют выраженную фагоцитарную и бактерицидную активность. Увеличение содержания моноцитов (моноцитоз), которое наблюдается в группе, получающей картофель с геном SmAMP-2, может свидетельствовать об инфекции (вирусной, грибковой, протозойной и риккетсиозной этиологии). Возможно, подобные изменения лейкоцитарной формулы могут спровоцировать вирусные промоторы, которые используются в генной инженерии. Они могут вызвать состояния, характерные для вирусной инфекции.

Анализ массы тела и некоторых органов, участвующих в кроветворении и разрушении форменных элементов крови, показал следующее. У мышей, потребляющих картофель с геном Delta-9 ацил-липидной десадуры, была достоверная бóльшая масса тела, чем у мышей контрольной группы. Относительная масса печени одинакова в обеих группах. Масса селезенки у мышей экспериментальной группы оказалась достоверно меньше, чем у мышей контрольной группы (табл. 2).

Масса мышей, потребляющих картофель с геном SmAMP-2 не отличалась от массы мышей контрольной группы, так же как и масса печени. Масса селезенки оказалась меньше (табл. 3).

Сравнение мышей двух экспериментальных групп между собой выявило различия только по массе тела, которая оказалась достоверно выше у мышей, потребляющих картофель с геном Delta-9 ацил-липидной десадуры (табл. 4).

При анализе цитологических препаратов селезенки патологий обнаружено не было. В контрольной группе наряду с лимфоидными элементами на некоторых препаратах обнаружены нити фибрина, на препаратах экспериментальных групп нитей фибрина не зафиксировано.

Таблица 2

**Масса некоторых органов у мышей, потребляющих картофель с геном Delta-9 ацил-липидной десатуразы**

Показатель	Группа № 1	Группа № 2
	М ± σ	М ± σ
Масса тела, г	27,04±3,63*	22,59 ± 3,94
Относительная масса печени, %	4,65 ± 0,94	4,96 ± 0,73
Относительная масса селезенки, %	0,42 ± 0,17*	0,69 ± 0,22

Примечание: \* – достоверность различий между группами при  $p < 0,05$ .

Таблица 3

**Масса некоторых органов у мышей, потребляющих картофель с геном SmAMP-2**

Показатель	Группа № 3	Группа № 2
	М ± σ	М ± σ
Масса тела, г	24,12 ± 2,78	22,59 ± 3,94
Относительная масса печени, %	4,48 ± 0,63	4,96 ± 0,73
Относительная масса селезенки, %	0,44 ± 0,09*	0,69 ± 0,22*

Примечание: \* – достоверность различий между группами при  $p < 0,05$ .

Таблица 4

**Масса некоторых органов у мышей, потребляющих картофель с генами SmAMP-2 и Delta-9 ацил-липидной десатуразы**

Показатель	Группа № 1	Группа № 3
	М ± σ	М ± σ
Масса тела, г	27,04 ± 3,63*	24,12 ± 2,78
Относительная масса печени, %	4,65 ± 0,94	4,48 ± 0,63
Относительная масса селезенки, %	0,42 ± 0,17	0,44 ± 0,09

Примечание: \* – достоверность различий между группами при  $p < 0,05$ .

Абсолютная масса селезенки колебалась от 0,06 до 0,18 г у мышей, потребляющих картофель с геном Delta-9 ацил-липидной десатуразы; от 0,08 до 0,3 г у мышей контрольной группы и от 0,08 до 0,14 г у мышей, потребляющих картофель с геном SmAMP-2.

Селезенка у млекопитающих выполняет в первую очередь иммунную функцию. Она заключается в переработке вредных веществ, очищении крови от различных бактерий и вирусов. В селезенке разрушаются эндотоксины, нерастворимые компоненты клеточного детрита при ожогах, травмах и других тканевых повреждениях. Она распознает чужеродные для данного организма антигены и синтезирует специфические антитела (белая пульпа). У животных, оставшихся по какой-либо причине без селезенки, ухудшается иммунитет. В селезенке удаляются отжившие и поврежденные эритроциты. Данную функцию выполняет красная пульпа благодаря ее уникальному строению и кровоснабжению. Она принимает участие в обмене железа, накапливает форменные элементы крови – эритроциты, лейкоциты, тромбоциты. В ней содержится от 30 до 50 % и более циркулирующих тромбоцитов, которые при необходимости могут быть выброшены в периферическое русло.

Селезенка участвует в обмене белков и синтезирует альбумин, глобин (белковый компонент гемоглобина). Важное значение имеет ее участие в образовании иммуноглобулинов, которое обеспечивается многочисленными клетками, продуцирующими иммуноглобулины, вероятно, всех классов. Она принимает активное участие в кроветворении. У взрослых особей она продуцирует лимфоциты и моноциты.

Таким образом, уменьшение селезенки может привести к недостаточности вышеперечисленных функций. В эксперименте именно с уменьшением размеров селезенки может быть связано снижение числа лимфоцитов у особей экспериментальных групп.

На основе вышесказанного сделаем следующие выводы:

1) во всех группах после эксперимента наблюдался сдвиг лейкоцитарной формулы в сторону уменьшения числа лимфоцитов и увеличения нейтрофилов. Минимальные изменения были в контрольной группе, максимальные – в группе, получающей картофель с геном SmAMP-2;

2) число палочкоядерных нейтрофилов в контрольной группе незначительно снизилось, а в обеих экспериментальных группах увеличилось. Увеличение палочкоядерных нейтрофилов характерно для вирусной инфекции. Подобное состояние может быть вызвано вирусными промоторами генных конструкций;

3) у мышей экспериментальных групп достоверно меньше размеры и масса селезенки – органа, выполняющего кроветворную и иммунную функцию.

#### *Список литературы*

1. Жирнокислотный состав липидов растений картофеля, трансформированных геном  $\Delta 12$ -десатуразы цианобактерии / Р. Маали Амири [и др.] // Физиология растений. – 2007. – Т. 54, № 5. – С. 678 – 685.

2. Improving Plant Drought, Salt, and Freezing Tolerance by Gene Transfer of a Single Stress-Inducible Transcription Factor / M. Kasuga [et al.] // Nature Biotechnology. – 1999. – Vol. 17. – P. 287 – 291.

3. Trienoic Fatty Acids and Plant Tolerance of High Temperature / Y. Murakami [et al.] // *Science*. – 2000. – Vol. 287. – P. 476 – 479.
4. Resistance Levels and Fitness of Glufosinate-Resistant Transgenic Sweet Potato in Field Experiments / J. S. Shin [et al.] // *Field Crops Research*. – 2011. – Vol. 121, Issue 3. – P. 324 – 332.
5. Pusztai, A. Can science give us the tools for recognizing possible health risks of GM food / A. Pusztai // *Nutr Health*. – 2002. – Vol. 16. – P. 73 – 84.
6. On the Fate of Orally Ingested Foreign DNA in Mice: Chromosomal Association and Placental Transmission in the Fetus / R. Schubbert [et al.] // *Molecules, Genes and Genetics*. – 1998. – Vol. 259. – P. 569 – 576.
7. Schubbert, R. Ingested Foreign (Phage M13) DNA Survives Transiently in the Gastrointestinal Tract and Enters the Blood Stream of Mice / R. Schubbert, C. Lettmann, W. Doerfler // *Molecules, Genes and Genetics*. – 1994. – Vol. 242. – P. 495 – 504.
8. Морфологические и цитологические особенности организма мышей, употреблявших генетически модифицированный картофель (*Solanum tuberosum* L.) с геном SmAMP-2 / Е. В. Малышева [и др.] // *Вестн. Тамб. университета. Сер. Естеств. и техн. науки*. – 2015. – Т. 20, № 6. – С. 1565 – 1568.
9. Морфологические и цитологические особенности организма мышей, употреблявших генетически модифицированный картофель (*Solanum tuberosum* L.) с Delta-9 ацил-липидной десатуразой / Е. В. Малышева [и др.] // *Вестн. Тамб. университета. Сер. Естеств. и техн. науки*. – 2016. – Т. 21, № 5. – С. 1884 – 1888. doi: 10.20310/1810-0198-2016-21-5-1884-1888.
10. ГОСТ Р 50258–92. Комбикорма полнорационные для лабораторных животных. Технические условия. – Введ. 1994–01–01. – М. : Изд-во стандартов, 1992. – 7 с.

#### References

1. Maali Amiri R., Goldenkova-Pavlova I.V., Yur'eva N.O., Pchelkin V.P., Tsydendambaev V.D., Vereshchagin A.G., Deryabin A.N., Trunova T.I., Los' D.A., Nosov A.M. [Lipid fatty acid composition of potato plants transformed with the  $\Delta 12$ -desaturase gene from cyanobacterium], *Russian Journal of Plant Physiology*, 2007, vol. 54, no. 5, pp. 600-606. (In Russ., abstract in Eng.)
2. Kasuga M, Liu Q, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Improving plant drought, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a sin-gle stress-inducible transcription factor, *Nature Biotechnology*, 1999, vol. 17, pp. 287-291.
3. Murakami Y., Tsuyuma M., Kobayashi Y., Kodama H., Iba K., Trienoic fatty acids and plant tolerance of high temperature, *Science*, 2000, vol. 287, pp. 476-479.
4. Shin J.S., Kim K.-M., Lee D.J., Lee S.B., Burgos N.R., Kuk Y.I. Resistance levels and fitness of glufosinate-resistant transgenic sweet potato in field experiments, *Field Crops Research*, 2011, vol. 121, issue 3, pp. 324-332.
5. Pusztai A. Can science give us the tools for recognizing possible health risks of GM food, *Nutr Health*, 2002, vol. 16, pp. 73-84.
6. Schubbert R., Hohlweg U., Renz D., Doerfler W. On the fate of orally ingested foreign DNA in mice: chromosomal association and placental transmission in the fetus, *Molecules, Genes and Genetics*, 1998, vol. 259, pp. 569-576.
7. Schubbert R., Lettmann C., Doerfler W. Ingested foreign (phage M13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the blood stream of mice, *Molecules, Genes and Genetics*, 1994, vol. 242, pp. 495-504.
8. Malysheva E.V., Mazaeva Yu.V., Yur'eva N.O., Belyaev D.V., Meleshin A.A. [Morphologic and Cytological Features of Organism of Mice, who Consumed



Genetically Modified Potato ( *Solanum Tubero- Sum L.*) with Gene SmAMP-2], *Vestnik Tambovskogo universiteta. Seriya : est. i tekhn. nauki* [Tambov University Reports. Series Natural and Technical Sciences], 2015, vol. 20, no. 6, pp. 1565-1568. (In Russ., abstract in Eng.)

9. Malysheva E.V., Yakunina I.V., Yur'eva N.O., Meleshin A.A. [Morphological and Cytological Features of Organism of Mice, who Consumed Genetically Modified Potato (*Solanum Tuberosum L.*) with Gene for Acyl-Lipid  $\Delta$ 9-Desaturase], *Vestnik Tambovskogo universiteta. Seriya: est. i tekhn. nauki* [Tambov University Reports. Series Natural and Technical Sciences], 2016, vol. 21, no. 5, pp. 1884-1888, doi: 10.20310/1810-0198-2016-21-5-1884-1888. (In Russ., abstract in Eng.)

10. GOST R 50258–92. *Kombikorma polnoratsionnye dlya laboratornykh zhivotnykh. Tekhnicheskie usloviya* [Complete compaund feeds for laboratory animals. Specifications], Moscow: Izdatel'stvo standartov, 1992, 7 p. (In Russ., abstract in Eng.)

---

### **The Impact of Genetically Modified Potatoes in the Diet on the Blood System in Mice**

**E. V. Malysheva, N. O. Yurieva, A. A. Meleshin, I. V. Yakunina**

*G. R. Derzhavin Tambov State University, Tambov, Russia;  
Institute of Plant Physiology of K. A. Timiryazev Russian Academy  
of Sciences, Moscow, Russia;*

*A. G. Lorkh All-Russian Scientific Research Institute of Potato Farming,  
Korenevo, Russia;  
Tambov State Technical University, Tambov, Russia*

**Keywords:** Delta-9 acyl-lipid desaturase gene; genetically modified potatoes (*Solanum tuberosum L.*); mice; morphological features; SmAMP-2 gene of *Stellaria media*.

**Abstract:** The article deals with the problem of introducing transgenic products to the consumer market. We studied the influence of lines of genetically modified potatoes with the Delta-9 acyl-lipid desaturase gene and SmAMP-2 gene of *Stellaria media* on leukocyte formula in mice. The data showed the decrease in weight of spleen and pronounced shift in leukocyte formula to decrease in the number of lymphocytes and increase of neutrophils in mice that consumed genetically modified potatoes (*Solanum tuberosum L.*) with the Delta-9 acyl-lipid desaturase gene and SmAMP-2 gene of *Stellaria media* for six months.

---

© Е. В. Малышева, Н. О. Юрьева,  
А. А. Мелешин, И. В. Якунина, 2017