



ОПЫТ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПРОДУКТОВ НА МИКРОФЛОРУ ТОЛСТОЙ КИШКИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

¹**Каримова Максуда Ахмеджановна**

PhD, старший преподаватель кафедры микробиологии
Ургенчского филиала Ташкентской медицинской академии, г.
Ургенч, Республика Узбекистан

²**Садуллаев Отаназар Кодирович**

к.м.н, доцент кафедры микробиологии Ургенчского филиала
Ташкентской медицинской академии,
г. Ургенч, Республика Узбекистан

³**Закиров Шакирбек Юсупович**

к.м.н, доцент кафедры Микробиологии Ургенчского филиала
Ташкентской медицинской академии, г. Ургенч, Узбекистан

⁴**Уразметова Нодира Шарофатдиновна**

ассистент кафедры микробиологии Ургенчского филиала
Ташкентской медицинской академии, г. Ургенч, Республика
Узбекистан

<https://www.doi.org/10.5281/zenodo.8005551>

ARTICLE INFO

Received: 27th May 2023

Accepted: 03rd June 2023

Online: 05th June 2023

KEY WORDS

ГМО соя, белые беспородные
крысы, микробиоценоз
толстого кишечника,
дисбиоз кишечника, индекс
дисбактериоза.

ABSTRACT

Целью было изучение и оценка влияние ГМ-сои на микрофлору толстого кишечника в эксперименте на белых беспородных крыс. Показатели нормальной микрофлоры крыс получавших сою без ГМ достоверно отличались от данных животных, не получивших данный продукт. Количество *Bifidobacterium spp* снижено в 1,28 раза, *Lactobacillus spp* снижено в 1,53 раза, *Enterobacter spp* и *Proteus spp* увеличились соответственно в 4,16 и 6,25 раз. Если у лабораторных животных получавших ГМ-сою выявлены все 5 видов элементов дисбиоза, то у крыс получавших без ГМ сою они не выражены. У интактных лабораторных животных признаков дисбиоза не выявлено.

Актуальность. Микроорганизмы расположены в разных биотопах и важны для функционирования организма. Одним из таких биотопов является толстая кишка, нормальная микрофлора которой, состоящая из местных и факультативных микроорганизмов, необходима для жизнедеятельности. Известно, что микробиоценоз толстой кишки состоит из более чем 500 микроорганизмов и участвует в метаболизме организма "хозяина" и формировании колонизационной резистентности в кишечнике.

Нарушение нормальной микрофлоры толстой кишки под воздействием различных внешних и внутренних факторов характеризуется качественным и количественным дисбалансом аборигенной и факультативной микрофлоры в ней и



называется дисбактериозом кишечника. Примерами факторов, приводящих к дисбактериозу кишечника, могут быть многие физические, химические и биологические факторы.

Сегодня проделана большая научная работа по различным воздействиям генетически модифицированных (ГМ) продуктов на организм человека, и мнения экспертов по этому вопросу разделились, наряду с мнением о том, что эти продукты не оказывают неблагоприятного воздействия на организм человека [2, 10]. Существует много проверенных работ [3, 7, 9]. Последующие научные исследования показали, что ГМО-продукты оказывают негативное влияние на иммунную систему [1], печень и поджелудочную железу [8], тимус и селезенку [11], а также на гематологические, биохимические изменения, мутагенную и репродуктивную активность [5, 6], есть исследования, показывающие, что он оказывает негативное влияние на клетки костного мозга [12].

Анализ многих научных источников показывает, что существует мало исследований по определению степени воздействия генно-модифицированного продуктов на микробиоценоз биотопов человека, включая микробиоз толстой кишки, и они разрозненны.

Учитывая вышеизложенное, целью исследования было определить степень влияния генно-модифицированную сою на микробиоценоз толстой кишки у белых крыс в эксперименте.

Материалы и методы. Для изучения воздействия ГМО-продуктов на организм, полученных с использованием новых технологий, были проведены экспериментальные исследования на лабораторных животных (белых крысах). Для этой цели мы использовали соевую муку (ГМ-продукт), выращенную за рубежом.

С этой целью в исследовании приняли участие в общей сложности 90 белых крыс-самцов, которые были разделены на 3 группы: 1-я группа - интактные белые крысы со стандартной диетой в виварии, не получавшие ГМО или без ГМО ($n = 30$). ; 2-я группа - белые крысы без ГМО, включенные в стандартная виварийная диета без ГМО ($n = 30$); 3-я группа - белые беспородные крысы, которых кормили ГМО-сою на стандартной виварийной диете ($n = 30$).

Эти группы были репрезентативными и отличались друг от друга только одним признаком. Особое внимание уделялось тому, были ли исследования рандомизированы и соблюдались ли принципы доказательной медицины. При проведении исследования строго соблюдались этические принципы и правила биологической безопасности при работе с лабораторными животными [4].

После того, как белая масса крыс была доставлена в бактериологическую лабораторию, были проведены бактериологические исследования с использованием Bergy's Manual Systematic Bacteriology (1997) с использованием соответствующих питательных сред (Блаурокка, МРС-4, Эндо, Сабуро и т.д.). Микроорганизмы были идентифицированы и дифференцированы: *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Candida spp.* Межпоколенческую и межвидовую идентификацию проводили с использованием пищевых сред фирмы HiMedia (Индия).



Статистическая обработка результатов проводилась с использованием традиционных методов вариационной статистики, а при организации и проведении исследования соблюдались принципы доказательной медицины.

Результаты и их обсуждение. Полученные результаты показали, что между сравниваемыми группами имелись убедительные различия в изучаемых количественных показателях (таблица 1).

Таблица 1

Количественный анализ количественных показателей микробиоценоза толстой кишки у лабораторных животных, не получавших ГМО на темном вскармливании, и интактных лабораторных животных, lg КОЕ / мл ($M \pm m$).

Микроорганизмы	1-группа, n = 30	2- группа, n = 30
<i>Bifidobacterium spp</i>	5.10 ± 0.2	$4.00 \pm 0.1 * \downarrow$
<i>Lactobacillus spp</i>	6.10 ± 0.2	$4.00 \pm 0.1 * \downarrow$
<i>Escherichia coli</i> (лактозапозитив)	5.15 ± 0.2	$5.00 \pm 0.2 \leftrightarrow$
<i>Escherichia coli</i> (лактозанегатив)	0	0 \leftrightarrow
<i>Enterobacter spp</i>	1.20 ± 0.1	$5.00 \pm 0.2 * \uparrow$
<i>Proteus spp</i>	0.80 ± 0.1	$5.00 \pm 0.2 * \uparrow$
<i>Staphylococcus spp</i>	4.10 ± 0.1	$5.00 \pm 0.2 * \uparrow$
<i>Streptococcus spp</i>	6.30 ± 0.3	$4.00 \pm 0.2 * \downarrow$
<i>Candida spp</i>	3.60 ± 0.1	$7.00 \pm 0.1 * \uparrow$

Примечание: * - признак достоверной разницы между группами; \uparrow , \downarrow - направления изменений; \leftrightarrow - достоверной разницы нет.

На следующем этапе исследования были сравнительно изучены количественные показатели микробиоценоза толстой кишки белых племенных крыс с добавлением ГМ-сою к стандартному рациону вивария и проведен анализ полученных данных. Для сравнения были получены интактные (не потребляющие ГМО-сою) лабораторные животные. Все результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Количественный анализ количественных показателей микробиоценоза толстой кишки у лабораторных животных, получавших ГМО-тенивое питание, и интактных лабораторных животных,

lg КОЕ / мл ($M \pm m$).

Микроорганизмы	1-группа, n = 30	2- группа, n = 30
<i>Bifidobacterium spp</i>	5.10 ± 0.2	$2.10 \pm 0.1 * \downarrow$
<i>Lactobacillus spp</i>	6.10 ± 0.2	$2.00 \pm 0.2 * \downarrow$
<i>Escherichia coli</i> (lactosapositione)	5.15 ± 0.2	0 \downarrow
<i>Escherichia coli</i> (lactose-negative)	0	$5.30 \pm 0.3 * \uparrow$
<i>Enterobacter spp</i>	1.20 ± 0.1	$5.45 \pm 0.2 * \uparrow$
<i>Proteus spp</i>	0.80 ± 0.1	$3.00 \pm 0.1 * \uparrow$
<i>Staphylococcus spp</i>	4.10 ± 0.1	$6.15 \pm 0.2 * \uparrow$
<i>Streptococcus spp</i>	6.30 ± 0.3	$4.30 \pm 0.2 * \downarrow$



<i>Candida spp</i>	3.60 ± 0.1	7.00 ± 0.4 * ↑
--------------------	------------	----------------

Примечание: * - признак достоверной разницы между группами; ↑, ↓ - направления изменений; ↔ - достоверной разницы нет.

Следующим этапом исследования было сравнительное изучение количественных показателей индигенной и факультативной микрофлоры лабораторных животных при добавлении к стандартному рациону вивариев сои, не содержащей ГМО (группа 2) и ГМО-сое (группа 3). Полученные результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3

Сравнительный анализ количественных показателей микробиоценоза толстой кишки у лабораторных животных, которых кормили без ГМО и с ГМО-добавками,

lg КОЕ / мл (M ± m).

Микроорганизмы	2-группа, n = 30	3- группа, n = 30
<i>Bifidobacterium spp</i>	4.00 ± 0.1	2.10 ± 0.1 * ↓
<i>Lactobacillus spp</i>	4.00 ± 0.1	2.00 ± 0.2 * ↓
<i>Escherichia coli</i> (lactosapostive)	5.00 ± 0.2	0 ↓
<i>Escherichia coli</i> (lactose-negative)	0	5.30 ± 0.3 * ↑
<i>Enterobacter spp</i>	5.00 ± 0.2	5.45 ± 0.2 * ↑
<i>Proteus spp</i>	5.00 ± 0.2	3.00 ± 0.1 * ↑
<i>Staphylococcus spp</i>	5.00 ± 0.2	6.15 ± 0.2 * ↑
<i>Streptococcus spp</i>	4.00 ± 0.2	4.30 ± 0.2 * ↓
<i>Candida spp</i>	7.00 ± 0.1	7.00 ± 0.4 * ↑

Примечание: * - признак достоверной разницы между группами; ↑, ↓ - направления изменений; ↔ - достоверной разницы нет.

Для того чтобы обобщить все полученные результаты, мы сочли необходимым сравнить показатели всех трех групп (таблица 4).

Table 4

Количественный статус микрофлоры толстой кишки у крыс, получавших

ГМО и не получавших его,

lg КОЕ / мл (M ± m).

Microorganisms	Group 1, n = 30	Group 2, n = 30	Group 3, n = 30
<i>Bifidobacterium spp</i>	5.10 ± 0.2	4.00 ± 0.1	2.10 ± 0.1 * ^ ↓
<i>Lactobacillus spp</i>	6.10 ± 0.2	4.00 ± 0.1	2.00 ± 0.2 * ^ ↓
<i>Escherichia coli</i> (lactosapostive)	5.15 ± 0.2	5.00 ± 0.2	0 ↓
<i>Escherichia coli</i> (lactose-negative)	0	0	5.30 ± 0.3 * ↑
<i>Enterobacter spp</i>	1.20 ± 0.1	5.00 ± 0.2	5.45 ± 0.2 * ^ ↑
<i>Proteus spp</i>	0.80 ± 0.1	5.00 ± 0.2	3.00 ± 0.1 * ^ ↑



<i>Staphylococcus spp</i>	4.10 ± 0.1	5.00 ± 0.2	6.15 ± 0.2 * ^ ↑
<i>Streptococcus spp</i>	6.30 ± 0.3	4.00 ± 0.2	4.30 ± 0.2 * ↓
<i>Candida spp</i>	3.60 ± 0.1	7.00 ± 0.1	7.00 ± 0.4 * ↑

Примечание: * - признак достоверной разницы между группами; ↑, ↓ - направления изменений; ↔ - достоверной разницы нет.

В этой таблице 4 отчетливо видна убедительная разница между группами, проанализированные цифры показывают, что практически нет изменений в нормальной микрофлоре толстой кишки лабораторных животных, которых кормили соей без ГМО (интактных, контрольных), признаков дисбактериоза обнаружено не было; у лабораторных животных, потреблявших сою без ГМО, ГМ (группа 2), баланс между индигенными и факультативными микроорганизмами частично нарушен, имеются признаки дисбактериоза, но он не формируется и не развивается; У животных, которых кормили ГМ-соей (3-я группа), был нарушен баланс индигенных и факультативных микроорганизмов, четко наблюдались признаки дисбактериоза, были выявлены все 5 элементов, развился тотальный дисбактериоз толстой кишки. Это состояние было интерпретировано как результат воздействия ГМО-сои на белых крыс.

Для определения состояния нормальной микрофлоры толстой кишки, степени развития дисбактериоза, появления его глубины критерии оценки дисбактериоза были разработаны многими исследованиями и представлены в практическом здравоохранении. Среди этих методов мы выбрали тот, который сочли наиболее подходящим, и использовали его для оценки дисбактериоза.

Этот метод был разработан узбекскими исследователями Гарибом Ф.Ю., Адиловым Ш.К. и Нарбаевой И.Е. Рекомендован исследователями в 1995 году, изменения микрофлоры толстой кишки оцениваются на 2 уровнях:

При дисбактериозе I степени - изменения наблюдаются только у представителей коренной группы, количество *Bifidobacterium spp* и *Lactobacillus spp* снижено по сравнению с лактозоположительной кишечной палочкой, дисфункция кишечника не проявляется.

При дисбактериозе II степени - при снижении количества аборигенных микроорганизмов увеличивается количество факультативных условно-патогенных микроорганизмов, нарушается баланс между ними, отчетливо видны симптомы дисфункции кишечника. Эти уровни определяются с использованием индекса дисбактериоза (ИД):

ИД I = *E.coli*, КОЕ / г / Индигенные микроорганизмы, КОЕ / г < 0,1;

ИД II = Факультативные микроорганизмы, КОЕ/г / Индигенные микроорганизмы, КОЕ/г ≤ 0,5.

Агар ИД I > 0,1; если ИД II ≤ 0,5, то это дисбактериоз I степени, если ИД II > 0,5, то это дисбактериоз II степени, независимо от того, насколько велик ИД I.

Результаты нашего исследования были следующими:

В группе 1 - 0,31 < 0,1 (ИД I); 0,37 < 0,5 (ИД II);

Во 2-й группе - 0,38 < 0,1 (ИД I); 0,77 < 0,5 (ИД II);

В 3-й группе - 1,29 < 0,1 (ИД I); 3,56 < 0,5 (ИД II).



Результаты полностью подтвердили вышеизложенное, то есть у интактных лабораторных животных (1-я группа) отсутствуют признаки дисбактериоза, у не получавших ГМО-сои (2-я группа) симптомы дисбактериоза развиты слабо (I степень), у белых крыс, получавших ГМО-сою, симптомы дисбактериоза очевидны (класс II).

Выводы.

1. У белых крыс, которых кормили соей без ГМО, нормальная микрофлора толстой кишки по сравнению с достоверно интактными лабораторными животными *Bifidobacterium spp* (снижение в 1,28 раза), *Lactobacillus spp* (снижение в 1,53 раза), *Enterobacter spp* и *Proteus spp* (увеличение в 4 раза в 16 и 6,25 раза соответственно). Это начальные признаки дисбактериоза и не указывают на развитие полного дисбактериоза, поскольку групповых различий между лактозанегативными и лактозапозитивными штаммами *Escherichia coli* выявлено не было.

2. Количественные показатели *Bifidobacterium spp* и *Lactobacillus spp* у лабораторных животных, которых кормили ГМ-соей, были достоверно снижены в 2,43 и 3,05 раза по сравнению с интактными крысами. Это снижение было внешним фактором, негативно повлиявшим на них, и в данном эксперименте оно было интерпретировано как ГМО-соя. Это состояние было интерпретировано как первый элемент дисбактериоза, сформировавшийся в биотопе толстой кишки.

3. В отличие от интактных, у белых лактирующих крыс, которых кормили ГМ-соей, не вырабатывалась лактозонегативная кишечная палочка, в то время как лактозонегативная кишечная палочка не вырабатывала муку, и наоборот. Было показано, что лактация лактозонегативных штаммов, отсутствие лактозоположительных штаммов, является вторым элементом дисбактериоза толстой кишки.

4. У лабораторных животных, которых кормили ГМ-соей, было обнаружено, что количество *Enterobacter spp* и *Proteus spp* в 4,54 и 3,75 раза выше, соответственно, чем в контрольной группе, что является третьим признаком дисбактериоза толстой кишки.

5. При 1-3 элементах дисбактериоза толстой кишки с явными проявлениями этого состояния существенных изменений в грамотрицательных кокках не наблюдалось - *Streptococcus spp* в основной группе снизился в 1,47 раза по сравнению с интактными лабораторными животными, коагулазапозитивный *Staphylococcus spp* достовернее в 1,50 раза. значительно возрос. Эта межгрупповая несовместимость была интерпретирована как четвертый элемент дисбактериоза толстой кишки.

6. Количественный показатель *Candida spp* у белых крыс, которых кормили ГМ-соей, был значительно увеличен в 1,94 раза по сравнению с теми, кого не кормили этим продуктом, что является пятым элементом дисбактериоза толстой кишки.

7. У лабораторных животных, которых кормили ГМО-соей, присутствовали все 5 из перечисленных элементов дисбактериоза, тогда как у крыс, потреблявших сою без ГМО, они не были очевидны.

8. Определение индекса дисбактериоза, указывающего на I и II степени дисбактериоза, дало следующие результаты: в 1-й группе - 0,31 < 0,1 (ИД I); 0,37 < 0,5 (ИД II); во 2-й группе - 0,38 < 0,1 (ИД I); 0,77 < 0,5 (ИД II); В 3-й группе - 1,29 < 0,1 (ИД I); 3,56 < 0,5 (ИД II). У интактных лабораторных животных не было признаков



дисбактериоза, симптомы дисбактериоза были слабо развиты при кормлении без ГМО-сои (I степень), а симптомы дисбактериоза были выражены у животных, получавших ГМО-сою (II степень).

References:

1. Алексеева А.Н., Элоксин А.П. Влияние генетически модифицированных продуктов на здоровье человека // Евразийский союз ученых. - Москва, 2016. - №5. - С.133-137.
2. Лукашенко Т.М. Изменение веса тела крыс при потреблении сои // Материалы международной конференции «Сигнальные механизмы регулирования системных функций». - Минск, 2007. - С.152.
3. Нуралиев Н.А., Бектимиров А.М.-Т., Алимова М.Т., Сувонов К.Ж. Правила и методы работы с лабораторными животными при экспериментальных микробиологических и иммунологических исследованиях // Методическое пособие. - Ташкент, 2016. - 33 с.
4. Собирова Д.Р., Нуралиев Н.А., Гинатуллина Е.Н. Результаты изучения мутагенной активности генетически модифицированных продуктов в экспериментах на лабораторных животных // Безопасность здоровья человека. - Ярославль, 2017. - №1. - С.27-31.
5. Собирова Д.Р., Нуралиев Н.А., Носирова А.Р., Гинатуллина Е.Н. Изучение влияния генно-модифицированного продукта на воспроизводство млекопитающих в экспериментах на лабораторных животных // Инфекция, иммунитет и фармакология. - Ташкент, 2017. - №2. - С.195-200.
6. Авозметов Ю.Е. Влияние генетически модифицированного организма на гепатобилиарную систему крысы // Европейский журнал молекулярной и клинической медицины. - 2020. - Том 7, выпуск 8. - С.1235-1237.
7. Angers-Loustau A., Petrillo M., Bonfini L., Gatto F., Sabrina R., Patak A., Kreysa J. JRC GMO-Matrix: a web application to support Genetically Modified Organisms detection strategies // BMC Bioinformatics. - 2014. -Vol. 15, N 1. - P.417.
8. Kosir AB, Demsar T., Stebih D., Zel J., Milavec M. Digital PCR as an effective tool for GMO quantification in complex matrices // Food Chemistry. - 2019. - Vol. 294. - P.73-78.
9. Khasanova DA Effect of a genetically modified product on the morphological parameters of the rat's spleen and thymus // European Journal of Molecular & Clinical Medicine. - England, 2020. - Vol. 7. - Issue 1.-R. 3364-3370.
10. Каримова М. А., Курбанова Н. Н. Нарушение нормальной микрофлоры толстой кишки влияния генно-модифицированной сои в эксперименте //Журнал" Медицина и инновации". – 2022. – №. 3. – С. 162-166.
11. Karimova M. A., Nuralieva X. O. Description of the level of the effect of gene-modified soy on normal microflora in the experience. - International Journal of Health Sciences - 2022. 6(S1), 13679²13688. <https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS1.8581>.
12. Kurbanova N.N. and ot. The effect of new plant hepatoprotectors on the level of proinflammatory cytokines in acute toxic liver damage. //International Journal of Psychosocial Rehabilitation. – Vol. 24, Issue 08, 2020. – Page. 8910-8920.