

ВОЗМОЖНЫЕ НЕБЛАГОПРИЯТНЫЕ ЭФФЕКТЫ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ ОРГАНИЗМОВ НА ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА

А.П.Ермишин

Первые генно-инженерные сорта сельскохозяйственных растений появились в производстве в 1992 году. За прошедший период они показали свою высокую эффективность, преимущество перед сортами, созданными с помощью традиционной селекции. Площади под ними стремительно расширяются. Большинство опасений относительно их возможной опасности для здоровья человека и окружающей среды не подтвердилось. Тем не менее, мы имеем еще очень короткую историю безопасного использования генно-инженерных организмов. В связи с этим достаточно длительное время необходимо принятие мер биобезопасности, включая государственное регулирование в области генно-инженерной деятельности. Это позволит в максимальной степени использовать преимущества современных биотехнологий, не допуская возможных негативных последствий.

К настоящему времени разработана эффективная система оценки безопасности ГИО для здоровья человека и окружающей среды. Она содержит целый ряд подходов и методов, применяемых начиная с этапа планирования предполагаемой генетической модификации и заканчивая получением сертификата соответствия при использовании ГИО в хозяйственной деятельности. В общем, методика оценки риска возможных неблагоприятных последствий использования ГИО включает следующие этапы:

1. Выявление любых новых генотипических и фенотипических характеристик, связанных с присутствием трансгенов, которые могут оказать неблагоприятное воздействие ГИО на здоровье человека и окружающую среду;
2. Оценка вероятности возникновения таких неблагоприятных последствий, исходя из интенсивности и характера воздействия ГИО на потенциальную принимающую среду;
3. Оценка последствий в том случае, если такое неблагоприятное воздействие действительно будет иметь место;
4. Оценка совокупного риска, вызываемого ГИО, на основе оценки вероятности возникновения и последствий выявленных неблагоприятных последствий;
5. Вынесение рекомендации относительно того, являются ли риски приемлемыми или регулируемые, включая, если это необходимо, определение стратегий для регулирования таких рисков.

Вероятные неблагоприятные эффекты ГИО для здоровья человека могут быть вызваны:

- изменением активности отдельных генов живых организмов под влиянием вставки чужеродной ДНК, в результате которого может произойти ухудшение потребительских свойств продуктов питания, получаемых из этих организмов. Например, в продуктах ГИО может быть повышенный, по сравнению с реципиентными организмами, уровень каких-либо токсичных, аллергенных веществ, который превышает установленные пределы безопасности;
- горизонтальной передачей трансгенов другим организмам, в частности, маркерных генов устойчивости к антибиотикам от ГИО микроорганизмам пищеварительного тракта;
- синтезом новых для реципиентного организма белков-продуктов трансгенов, которые могут быть токсичными и/или аллергенными (Рис 1.).

Для оценки безопасности ГИО для здоровья человека разработаны специальные подходы (Рис.2). Прежде всего, оцениваются *последствия вставки чужеродной ДНК на*

активность генов реципиентного организма (Рис.3) с целью изучения возможного изменения в результате трансгеноза токсичности потенциально токсиногенных организмов (концепция существенной эквивалентности (substantial equivalence) ГИО и реципиентного организма). Так, в частности, при проведении экспертизы безопасности трансгенной сои, устойчивой к гербициду глифосату, было проведено 1400 аналитических экспериментов. Их результаты показали эквивалентность ГИО и исходной линии как по «питательным», так и «антипитательным» свойствам. В качестве первых фигурировали: содержание белка, жира, волокон, зольных элементов, углеводов, калорийность, влажность зерна, «питательные» свойства переработанного зерна: сухой муки, обезжиренной муки, белкового изолята, концентрата, лецитина, очищенного масла, дезодорированного масла и т.п. Не выявлено различий по специфическим жирным кислотам, аминокислотам, в частности, ароматическим аминокислотам (гербицидоустойчивость трансгенной сои связана с ключевым ферментом метаболизма ароматических аминокислот EPSPS). Естественно, особое внимание было уделено «антипитательным» компонентам соевого зерна: ингибитору трипсина, лектинам, фитоэстрогенам (генистеину и додзеину), стахиозе и фитату. По содержанию этих веществ ГИО и исходная линия также не различались. Тщательный анализ «существенной эквивалентности» ГИО и исходной линии наиболее актуален для видов растений, которые в принципе могут быть опасными для здоровья человека: картофель, томаты (из-за токсичных гликоалкалоидов), хлопок (из-за токсичного госсипола) и др.

Следующим фактором, который рассматривается в качестве потенциального неблагоприятного эффекта ГИО на здоровье человека, является *горизонтальный перенос трансгенов (прежде всего, генов устойчивости к антибиотикам) от ГИО микрофлоре пищеварительного тракта человека и животных*. В состав любой трансгенной конструкции как правило, входит, помимо собственно трансгена и его регуляторных элементов, также и так называемый селективный ген, необходимый для отбора трансформированных клеток. В качестве селективных генов обычно используют гены устойчивости к антибиотикам (канамицину, ампицилину, стрептомицину и др.), которые уже утратили свое значение как антимикробные препараты из-за широко распространенной устойчивости микроорганизмов к этим антибиотикам. Кроме того, вероятность переноса селективных генов из ДНК продуктов питания, полученных из ГИО, к микроорганизмам пищеварительного тракта крайне низкая (она оценивается как приблизительно 10^{-17}). Для этого должно произойти несколько крайне маловероятных событий: участок ДНК, содержащий селективный ген, должен быть не поврежден в процессе пищеварения, должна иметь место гомология селективного гена или прилегающих к нему районов ДНК с ДНК хромосомы или плазмиды болезнетворной бактерии пищеварительного тракта, а для того, чтобы селективный ген экспрессировался в ней после переноса, он должен встроиться под подходящим прокариотическим промотором. Если умножить вероятность горизонтального переноса селективного гена на возможные последствия такого переноса (появление одной новой бактерии с устойчивостью к антибиотику в придачу к тысячам уже существующих с такой же устойчивостью), то серьезно обсуждать подобные риски можно, пожалуй, только перед непросвещенной публикой в пропагандистских целях. Еще более несерьезным выглядит рассмотрение последствий переноса трансгенов или селективных генов в ДНК клеток человека: продолжительность жизни клеток эпителия пищеварительного тракта около 7 дней, никакого контакта пищи с половыми клетками человека не может быть в принципе.

Намного более вероятным представляется риск того, что *белки – продукты трансгенов могут иметь токсичные и/или аллергенные свойства*. Для предотвращения этого риска разработан целый ряд подходов. Однако первостепенное значение имеет степень изученности предполагаемого трансгена, наличие длительной истории безопасного использования его продукта. Для оценки потенциальной токсичности/аллергенности продуктов трансгенов используют (Рис.5):

- изучение происхождения трансгена (что известно о безопасности организма-донора ДНК) (Рис.6);
- анализ структуры трансгенов и их продуктов, оценка гомологии с известными токсинами, аллергенами (по базам данных);
- анализ регуляторных элементов и характера экспрессии трансгенов (время и тканеспецифичность, концентрация продуктов трансгенов);
- анализ физико-химических и каталитических особенностей продуктов трансгенов (молекулярная масса, термостабильность, оптимум pH и т.п.);
- определение времени переваривания продуктов трансгенов в пищеварительном соке желудка и тонкого кишечника;
- острый (до 15 дней, ежедневная доза до 5000 мг/кг веса) и хронический (до одного года) эксперименты на лабораторных и/или сельскохозяйственных животных для оценки неблагоприятных эффектов продуктов трансгенов;
- иммунологические тесты для оценки аллергенности продуктов трансгенов.

В 2001 году утверждена процедура FAO/WHO оценки аллергенности продуктов трансгенов, в которой отражена последовательность использования перечисленных подходов (Рис. 7).

В таблице 1 (Рис.8) представлены некоторые из перечисленных выше характеристик белков-продуктов трансгенов, наиболее широко представленных в генно-инженерных растениях, допущенных для использования в хозяйственной деятельности.

Таблица 1

Характеристики белков-продуктов некоторых трансгенов

Белок ¹	pH денатурации	Температура денатурации	Концентрация в тканях	Время переваривания	
				в желудочном соке	в дуоденальном соке
NPT II			Картофель(клубни) -2.7 мкг/г Хлопок (семена)-7 мкг/г	½ -≤ 10 сек; полностью- 20 мин	½ -2-5 мин
EPSPS	5	65°C в теч. 15 мин.	Хлопок (семена)- 60-70 мкг/г	½ -≤ 15 сек	½ -≤10 мин
PAT	4	75°C		1 мин; при pH 4 – 10 мин	
CP PVY			≤2 мкг/г (в 12-244 раз ниже естественного уровня)		
CRY I A(b)			Кукуруза во время цветения 8-16 г/га ; в конце вегетации ≤0.8 г/га; в зерне и силосе не обнаружен	Разведение: 1:1000 – 10мин; 1:100 – 5 мин. 90% в теч. 2 мин.	Не переваривает ся
CRY IIIA			Картофель Листья -20-63мкг/г;	Аналогично CRY	Аналогично CRY

			Клубни – 0.1-0.6 μг/г	I A(b)	I A(b)
--	--	--	--------------------------	--------	--------

¹ В таблице представлены характеристики следующих белков: NPT II (неомицинфосфотранс-фераза II) – продукт селективного гена устойчивости к антибиотикам канамицину, неомицину, дженетицину, выделенного из транспозона Tn 5 *E.coli*; EPSPS (5 энолпирувилшикимат 3 фосфатсинтаза) – продукт мутантного гена *cp4* от *Agrobacterium sp.* (или *aro A* от *Aerobacter*; *sm I* от *Salmonella*), который обеспечивает устойчивость к гербициду глифосату (фирменные названия Roundup, Ураган); PAT (фосфинотрицинацетилтрансфераза) – продукт гена *pat* от *Streptomyces viridichromogenus* (или *bar* от *S.hygroscopicus*), который обеспечивает устойчивость к гербициду глюфосинату аммония (фирменные названия Basta, Liberty, Finale); CP PVY (белок капсиды вируса Y картофеля) – обеспечивает устойчивость картофеля к вирусу Y; CRY I A(b) (кристаллический протеин, δ-эндотоксин, Bt токсин, Bt протеин) – продукт укороченного гена почвенной бактерии *Agrobacterium tumefaciens v. kurstaki*, который обеспечивает устойчивость растений к насекомым из *Lepidoptera*, например, к личинкам точильщика кукурузы *Ostrinia nubilalis*; CRY IIIA (кристаллический протеин, δ-эндотоксин, Bt токсин, Bt протеин) - продукт укороченного гена почвенной бактерии *Agrobacterium tumefaciens v.Tenebrionis*, который обеспечивает устойчивость растений к насекомым из *Coleoptera*, например, к колорадскому жуку *Leptinotarsa decemlineata*.

Как видим, большинство белков-продуктов трансгенов относятся к нестойким соединениям: они легко денатурируют даже при относительно невысоких температурах (а следовательно, разрушаются при переработке растительного сырья) и кислотности среды. Все они быстро перевариваются в желудочном соке. Содержание их в растительных тканях очень низкое. Это означает малую вероятность того, что перечисленные протеины могут вызывать аллергические реакции. Для аллергенов характерны следующие признаки: устойчивость к перевариванию, к переработке, молекулярная масса 10-70 кдальтон, содержание в пище более чем 1%. Для того, чтобы развилась аллергическая реакция, белок должен поступать в тонкий кишечник в практически неизменном состоянии (там происходит его всасывание в кровь с последующим образованием антител). Важно, что многие из них имеют длительную историю безопасного использования. Так, инсектициды на основе Bt токсинов почвенных агробактерий более сорока лет широко используются для контроля насекомых-вредителей сельскохозяйственных культур. Доказана их высокая эффективность, избирательность, экологичность (не накапливаются в растительных тканях и почве) и безопасность для здоровья человека и животных. Белки вирусов растений, в том числе белки капсид вирусов, постоянно присутствуют в продуктах питания растительного происхождения во много раз в более высоких концентрациях, чем у вирусоустойчивых трансгенных сортов. Однако при этом никаких неблагоприятных последствий для здоровья человека за всю длительную историю потребления, например, картофеля отмечено не было.

Возможные неблагоприятные эффекты генно-инженерных организмов на здоровье человека

А.П. Ермишин

ВЕРОЯТНЫЕ НЕБЛАГОПРИЯТНЫЕ ЭФФЕКТЫ ГИО ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА МОГУТ БЫТЬ ВЫЗВАНЫ:

1. самим фактом вставки чужеродной ДНК, что может быть чревато:
 - изменением активности отдельных генов реципиентного организма;
 - горизонтальной передачей трансгенов другим организмам;
2. синтезом новых для реципиентного организма белков- продуктов трансгенов, которые могут быть токсичными и/или аллергенными.

ПОДХОДЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ ОЦЕНКЕ БЕЗОПАСНОСТИ ГИО ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

Вставка чужеродной ДНК

- концепция существенной эквивалентности (substantial equivalence) ГИО и реципиентного организма;
- изучение изменения токсичности потенциально токсигенных организмов в результате трансгенеза;
- оценка риска и последствий горизонтального переноса трансгенов (прежде всего, генов устойчивости к антибиотикам) микрофлоре пищеварительного тракта человека и животных

СТРУКТУРА ГЕНА ВЫСШИХ ОРГАНИЗМОВ



ПОДХОДЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ ОЦЕНКЕ БЕЗОПАСНОСТИ ГИО ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

Токсичность и аллергенность белков – продуктов трансгенов

- изучение происхождения трансгена (что известно о безопасности организма-донора ДНК);
- анализ структуры трансгенов и их продуктов, оценка гомологии с известными токсинами, аллергенами (по базам данных);
- анализ регуляторных элементов и характера экспрессии трансгенов (время и тканеспецифичность, концентрация продуктов трансгенов);
- анализ физико-химических и каталитических особенностей продуктов трансгенов (молекулярная масса, термостабильность, оптимум pH и т.п.);
- определение времени переваривания продуктов трансгенов в пищеварительном соке желудка и тонкого кишечника;
- острый (до 15 дней, ежедневная доза до 5000 мг/кг веса) и хронический (до одного года) эксперименты на лабораторных и/или сельскохозяйственных животных для оценки неблагоприятных эффектов продуктов трансгенов;

Продукты питания, которые чаще других (более 90% случаев) вызывают пищевые аллергии:

- арахис;
- соя;
- молоко;
- яйца;
- рыба;
- ракообразные (креветки и т.п.);
- пшеница;
- древесные орехи

Последовательность оценки аллергенности продуктов трансгенов (процедура FAO/WHO 2001)



ХАРАКТЕРИСТИКИ БЕЛКОВ-ПРОДУКТОВ НЕКОТОРЫХ ТРАНСГЕНОВ

Белок	рН денатурации	Температура денатурации	Концентрация в тканях	Время переваривания в	
				желудочном соке	двенадцательном соке
NPT II			Картофель(клубни)- 2.7 $\mu\text{g/g}$ Хлопок (семена)-7 $\mu\text{g/g}$	$\frac{1}{2}$ \leq 10 сек полностью- 20 мин	$\frac{1}{2}$ -2-5 мин
EPSPS	5	65°C в теч. 15 мин.	Хлопок (семена)- 60-70 $\mu\text{g/g}$	$\frac{1}{2}$ \leq 15 сек	$\frac{1}{2}$ \leq 10 мин
PAT	4	75°C		1 мин при рН 4 – 10 мин	
CP PVY			\leq 2 $\mu\text{g/g}$ (в 12-244 раз ниже естественного уровня)		
CRY I A(b)			Кукуруза во время цветения 8-16 g/g в конце вегетации \leq 0.8 g/g	Разведение: 1:1000 – 10мин; 1:100 – 5 мин. 90% в теч. 2 мин.	Не переваривается
CRY IIIA			Картофель Листья – 20-63 $\mu\text{g/g}$; Клубни – 0.2-0.6 $\mu\text{g/g}$		

Благодарю за внимание