

ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ КУЛЬТУРЫ И ПОЛУЧЕННЫЕ ИЗ НИХ ПРОДУКТЫ: ПИЩЕВЫЕ, ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ И АГРОТЕХНИЧЕСКИЕ РИСКИ

В.В. Кузнецов*, А.М. Куликов, В.Д.Цыдендамбаев***

**Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН*

Ботаническая ул., 35, Москва, 127278, Россия; vkuzn@ippras.ru; vdt@ippras.ru

***Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН*

ул. Вавилова, 26, Москва, 119991, Россия; kulikov@genego.com

Поступила в редакцию: 29.05.10; одобрена к печати: 25.06.10

В настоящее время 134 млн га, или 9% всех посевных площадей в мире, занято трансгенными (генетически модифицированными, ГМ) сортами сельскохозяйственных культур. На пищевых рынках все активнее идет процесс замещения натуральных продуктов питания генетически модифицированными. Правительства ряда стран, лоббируя интересы крупных агробиотехнологических корпораций, заинтересованных в сверхприбылях, отодвигают социально значимые вопросы биобезопасности трансгенных продуктов на второй план. В предлагаемом обзоре представлен анализ имеющихся в научной литературе современных экспериментальных данных по пищевым, экологическим и агротехническим рискам при коммерческом выращивании трансгенных растений. Совокупность представленных данных свидетельствует о том, что длительное скормливание животным ГМ кормов сопровождается нарушением у них функционирования печени и почек, а также генеративной сферы. Обсуждаются фундаментальные основы наличия реальных и (или) потенциальных биологических рисков при использовании трансгенных растений и полученных из них продуктов питания. В основе этих рисков лежит несовершенство технологий получения генетически модифицированных организмов и слабая изученность механизмов регуляции экспрессии генома эукариот.

Общая оценка состояния геномной инженерии

Научно-технический прогресс в жизни современного общества ознаменовался появлением новых научных и информационных технологий, которым часто приписывается исключительная роль в развитии постиндустриального, или информационного, общества. Это общество рассматривается как очередная ступень мировой цивилизации. Именно здесь, в точке пересечения ожиданий общества от науки и ее реальных возможностей, кроется серьезный конфликт. Бурное развитие технологий и быстрое внедрение в практику научных достижений зачастую не подкреплено достаточно обоснованными оценками медицинских, экологических и социальных последствий их применения, а экономические интересы транснациональных компаний, корпоративных групп и отдельных физических лиц, стимулируемые практическим использованием достижений науки, доминируют над принципами безопасности новых технологий и новых видов продукции. Тем не менее, учитывая высокие темпы роста научного знания и развития технологий, глобальное воздействие технологий на природу и общество, человечество вынуждено будет исходить в своих решениях из интересов будущих поколений, а не только из финансовых интересов тех или иных групп. В данной статье дается научный анализ рисков, связанных с широким использованием генетически модифицированных (трансгенных) организмов (ГМО) и получаемых с их участием пищевых продуктов, все активнее вытесняющих традиционные продукты питания из рациона современного человека.

Развитие генно-инженерных технологий является одним из крупнейших достижений молекулярной биологии и молекулярной генетики, которое открывает перед человечеством широкие перспективы. Эти технологии нашли постоянную «прописку» в фундаментальной науке, где трансгенные организмы используются в качестве модели или инструмента при решении широчайшего спектра общебиологических проблем. Технологии с использованием рекомбинантных ДНК могут в перспективе сыграть важную роль в развитии генотерапии наследственных заболеваний, создании лекарственных препаратов нового поколения, производстве фармакологических и косметических средств и получении технического сырья. Особая роль может принадлежать генетически модифицированным микроорганизмам и изолированным клеткам или органам, например лекарственных растений, которые культивируются в замкнутых биотехнологических системах и являются суперпродуцентами метаболитов, обладающих ценными потребительскими свойствами. Как правило, в этом случае речь идет о произведенных с помощью геномной инженерии химически чистых соединениях, использование которых, по сравнению с генетически модифицированными продуктами питания, не сопряжено с биологическими рисками, а их производство является экологически чистым.

Однако в настоящее время наиболее широкое применение геномной инженерии нашла в сфере производства новых сортов сельскохозяйственных растений, обладающих признаками, отсутствующими у

родительских форм. Быстрое и массовое производство таких сортов, легкость и кажущаяся научная предсказуемость приобретения ими заданных свойств, а также желание межнациональных биотехнологических гигантов получить немедленную прибыль оттеснили на второй план вопросы безопасности ГМО и полученных из них продуктов.

По данным Международной службы по приобретению и использованию агро-биотехнологий (ISAAA), за период с 1996 по 2009 гг. площади под трансгенными культурами увеличилась с 1,7 до 134 млн. га, что составляет 9% всех пахотных земель планеты. Их общая рыночная стоимость в 2009 г. составила 10,5 млрд. долларов. Наибольшие площади заняты под трансгенными растениями сои (69,3 млн. га, 52%), кукурузы (41,1 млн. га, 31%), хлопчатника (16,2 млн. га, 12%) и рапса (6,5 млн. га, 5%). Из них растения с генами устойчивости к гербицидам выращиваются на 73% площадей, растения, продуцирующие инсектицидные белки, прежде всего Bt-токсины, и проявляющие устойчивость к листогрызущим насекомым, – на 18%. Около 95% территорий, занятых генетически модифицированными сортами сельскохозяйственных культур, приходится на шесть стран: США, Бразилию, Аргентину, Индию, Канаду и Китай [1].

Это означает, что далеко не все страны готовы отказаться от национальных сортов культурных растений в пользу генетически модифицированных. И этому есть ряд серьезных причин, одной из которых является все более громко звучащий вопрос о безопасности ГМО для человека и среды его обитания. На страницах научных журналов идет жесткая дискуссия о существовании реальных или потенциальных биологических рисков при коммерческом выращивании ГМО, в первую очередь трансгенных растений [2–4].

Прежде чем перейти к рассмотрению возможных рисков при использовании ГМО, кратко остановимся на том, что такое трансгенное растение и каковы технологии его получения.

Как получают генетически модифицированные растения

Генетически модифицированные (трансгенные) организмы можно определить как организмы, генетический материал которых (ДНК) изменен способом, недостижимым при естественных путях внутривидовых скрещиваний. Для получения ГМО используется так называемая генная технология, или технология рекомбинантных молекул, или генная инженерия. Генная инженерия позволяет переносить отдельные гены из любого живого организма в любой другой живой организм в составе кольцевых молекул ДНК, или плазмид. В природе подобный путь передачи генетической информации известен как “горизонтальный перенос генов”. Это явление широко распространено в бактериальном мире, и доля генов, приобретенных путем такой “отдаленной гибридизации”, в геномах изученных бактерий предположительно составляет около 15% у свободноживущих форм и 8–9% у паразитических [5]. На основании предварительных оценок частоту горизонтальных переносов у высших организмов или от них к бактериям интерпретировали

как чрезвычайно низкую [6, 7]. Однако работы последних лет свидетельствуют о более значительной распространенности этого механизма [8, 9]. Во всяком случае, явление горизонтального переноса – событие исключительное в жизни популяций растений и животных, сопровождающееся мощным геномным стрессом – мутагенезом и перестройками, приводящими к реорганизации всего генома [10].

В настоящее время растения трансформируют двумя основными методами: с помощью T₁-плазмиды, несущей встроенную в нее генетическую конструкцию, включающую «целевой» ген, который доставляется в клетки растения с помощью почвенной бактерии *Agrobacterium tumefaciens*, называемой иногда природным геномным инженером, и методом биологической баллистики. Для получения более современных ГМО, в которых чужеродной ДНК трансформированы хлоропласты, так называемых “транспластомных”, используется либо метод биобаллистики, либо обработка протопластов полиэтиленгликолем [11].

В природных условиях трансформация растений с помощью *A. tumefaciens* сопровождается образованием опухоли – корончатого галла вследствие встраивания небольшого фрагмента T₁-плазмиды (Т-ДНК) бактерии в генетический аппарат клеток растений. Генно-инженерные методы позволяют удалить часть Т-ДНК природной T₁-плазмиды, заменив ее “целевым” геном и технологически необходимыми элементами, что дает возможность предотвратить образование галла и одновременно придать растению желаемое свойство. Этим способом обычно трансформируют двудольные растения. В случае однодольных растений зачастую применяют второй метод. ДНК, содержащую конструкцию с “целевым” геном, наносят на мельчайшие частички металла (например, золота или вольфрама) и этими частицами, летящими с огромной скоростью, бомбардируют клетки. При этом некоторые фрагменты чужеродной ДНК интегрируются в клеточный геном. Регенерация растений из таких клеток и приводит к получению генетически модифицированного растения.

В случае ГМО, полученных путем трансформации хлоропластов, рабочий банк семян для получения линий может быть сформирован уже через 10–11 месяцев после трансформации методом биобаллистики и будет готов для размножения в полевых условиях [11]. Поскольку хлоропластный геном у высших растений наследуется по материнской линии, 100% семян и проростков будут нести трансформированный хлоропластный геном во всех последующих поколениях.

Для трансформации животных используют яйцеклетки, в которые плазмиды, созданные на основе ретровирусов и мобильных элементов, вводят методом микроинъекций. Успех трансформации определяют только по потомству животного, полученного из такой яйцеклетки.

Фундаментальные основы существования биологических рисков при выращивании и использовании ГМО

Применение генно-инженерных технологий позволяет ускорить процесс создания нового сорта

растений по сравнению с традиционной селекцией и получить прогнозируемый эффект по определенному признаку. Однако вместе с таким признаком организм приобретает целый набор новых качеств, предсказать которые заранее невозможно из-за несовершенства современных генно-инженерных технологий и слабой изученности механизмов регуляции экспрессии генома. Ниже перечислены основные причины наличия рисков при выращивании и использовании генетически модифицированных организмов.

Непредсказуемость места интеграции рекомбинантной ДНК в геном трансформируемого организма и числа встроенных ее копий. Это один из основных недостатков генно-инженерных технологий. В настоящее время исследователь не умеет “вставлять” чужеродный фрагмент ДНК в данное конкретное место генома хозяина. При этом он не может предсказать заранее, в каком месте генома произойдет вставка чужеродного фрагмента ДНК и сколько таких вставок появится. Тем более он не может предвидеть последствий подобной трансформации, ее реализации на уровне индивидуальных генов (регуляторных или структурных), метаболизма (прежде всего гормонального, или вторичного) и функций.

Этого недостатка лишены транспластомные ГМО, полученные путём трансформации хлоропластов. Доктор Г. Даниелл (сотрудник фирмы Chlogogen) разработал универсальные трансформационные векторы, которые напрямую интегрируются в инвертируемый повторяющийся район генома хлоропластов путём гомологической рекомбинации [11].

Слабая изученность механизмов регуляции и функционирования генома высших растений. Непредсказуемость интеграции трансгена в растительный геном во многом обусловлена как слабым пониманием молекулярных механизмов этого процесса, так и недостаточной изученностью структуры и регуляции самого генома.

Плейотропный эффект встроенного гена. Неопределенность изменений клеточного метаболизма в ответ на трансформацию, обусловленная несовершенством технологии получения трансгенных растений и слабой изученностью генома, значительно усиливается плейотропным эффектом встроенного гена. Этот эффект заключается в следующем. Встроившийся в случайное место генома фрагмент ДНК из другого живого источника может непредсказуемо изменить интенсивность экспрессии соседних генов и даже вызвать эпигенетическое, то есть обусловленное конформационными или модификационными изменениями участков ДНК, молчание индивидуальных генов (сайленсинг), что делает вероятным модификацию клеточного метаболизма, направление изменений которого заранее предвидеть невозможно. Изменения активности экспрессии одного гена могут отразиться на работе многих других генов, тем более что как сами гены, так и кодируемые ими белки связаны в организме сетью регуляторных взаимодействий. Появление нового, не предусмотренного эволюцией для данного биологического вида, элемента в ансамбле белков может привести к нарушению передачи сигналов в различных регуляторных и метаболических

цепях, что вызывает непредсказуемое изменение признаков, характерных для данного вида. ГМО, полученные путём трансформации хлоропластов, хотя зачастую и содержат несколько целевых генов, не дают сайленсинга [11].

Нарушение стабильности генома и изменение его функционирования вследствие трансформации прямо связаны с описанным выше плейотропным действием гена, а также с явлением дедифференцировки клеток в условиях *in vitro* при получении трансгенного растения. Стресс-обусловленный мутагенез и геномная нестабильность хорошо известны, и в настоящий момент отрабатываются более щадящие методы трансформации растений, например трансформация незрелых зародышей, что приводит к достоверному снижению геномных модификаций у таких растений по сравнению с полученными из клеточных культур [12]. Широкомасштабные исследования стабильности экспрессии генома стали возможны благодаря разработанной методике анализа экспрессионных данных с помощью микрочипов, но эти исследования пока проводятся на модельных объектах, таких, например, как арабидопсис [13].

Нарушение стабильности встроенного в геном чужеродного фрагмента ДНК может проявляться как в транзитной, то есть временной, непостоянной, экспрессии внедренных генов, так и в изменении числа их копий и положения в геноме. Например, для двух родственных линий из одной гомозиготной популяции трансгенного ячменя установлена разная активность промоторного комплекса, связанная с разной степенью его метилирования [14]. Так как обе линии являются производными одного трансформационного события, очевидно, что эпигенетические факторы (такие, как метилирование ДНК и гистонов) могут существенно изменять первоначально оцененную активность трансгенных конструкций. Анализ генома трансгенного риса показал существенную изменчивость числа встроенных копий (от одной до четырех) фрагментов ДНК в растениях из одной линии, а также значительную нестабильность самой конструкции [15]. Нестабильность вставки была выявлена и для сортов трансгенной сои [16].

Изменение положения трансгенной вставки в геноме было показано на многих ГМО. Так, учёными Комитета по независимой информации и исследованиям в области генной инженерии Франции (CRIIGEN) было показано, что ни в одном случае из изученных ими пяти ГМ-линий (кукуруза Bt176, T25, Mon810 и GA21, а также соя 40-3-2) трансгенная конструкция не сохранилась в неизменённом виде и в заявленном производителем участке генома [17]. Причём, по крайней мере, в двух случаях из пяти имела место перестановка элементов генома. Кроме того, ГМ-вставки проявляли явную “предрасположенность” к мобильным генетическим элементам (ретротранспозонам), что увеличивает риск дальнейших перестановок элементов генома и горизонтального переноса генов [17]. Аналогичные данные по изменениям положения трансгенных вставок в геноме были получены учёными Института молекулярной биологии Барселоны, анализировавшими стандартный сертифицированный материал (CRM) кукурузы

Мон810, полученный от Института стандартных материалов и измерений Еврокомиссии (IRMM). Полученные ими, а также итальянскими и индийскими учеными на других образцах кукурузы Мон810, результаты свидетельствовали об изменении как самой трансгенной вставки, так и её локализации по сравнению с обнаруженной французскими учеными [18].

Наличие во встраиваемом фрагменте ДНК (генетической конструкции) «технологического мусора», включающего, например, неполные и дефектные копии плазмид, «незаконные» инсерции, то есть встраивания в геном конструкций или их участков, не предусмотренные применяемой методикой, вспомогательных плазмид, 35S-промотор и бактериальные терминаторы, гены устойчивости к антибиотикам.

Аллергические и токсические эффекты трансгенного белка, не выявляемые используемыми оценочными тестами. Несовершенство применяемых процедур тестирования проверяемых белков будут подробно рассмотрены в конце следующего раздела.

Все перечисленные выше, а также ряд других ограничений современных методов получения ГМО являются источниками серьезных реальных и потенциальных биологических рисков, которые нельзя не принимать во внимание.

Рассмотрим научные аргументы, позволяющие считать ГМО и полученные из них продукты опасными или потенциально опасными для человека и среды его обитания до тех пор, пока не будет доказано обратное. Все нежелательные риски, ожидаемые при возделывании и потреблении генетически модифицированных культур, можно условно разбить на пищевые, экологические и агротехнические. Обсуждение данного вопроса значительно облегчается недавним выходом ряда обзорных работ на данную тему [19–25].

Пищевые риски от употребления ГМО и полученных из них продуктов

Возможные виды негативного влияния на организм человека и животных, связанные с употреблением ГМО, можно разбить на пять основных групп: (1) непосредственное действие токсичных и аллергенных трансгенных белков ГМО на человека и других теплокровных; (2) риски, опосредованные плейотропным действием трансгенов и кодируемых ими белков на «работу» генома и метаболизм растений; (3) риски, опосредованные накоплением гербицидов и их метаболитов в устойчивых к гербицидам сортах и видах сельскохозяйственных растений; (4) риски горизонтального переноса трансгенных конструкций, в том числе генов устойчивости к антибиотикам, в геном симбионтов для человека и животных бактерий; (5) риски производства биологически активных веществ с помощью ГМО.

Действие токсичных и аллергенных трансгенных белков ГМО на человека и других теплокровных

Как правило, токсичным или аллергенным действием обладают трансгенные белки, обеспечивающие устойчивость растений-реципиентов к поражению различными видами насекомых, грибковыми и бактериальными заболеваниями. К этой группе

относятся белки, поражающими факторами которых являются: ферментативная активность к компонентам клеточной стенки целевых организмов (например, хитиназы для насекомых и грибов), вызывающая разрушение клеток и гибель целевых организмов; лектиновая активность (лектины и арселины), приводящая к связыванию белка с определенными рецепторами и мембранными гликопротеинами, а также к слипанию клеток желудочно-кишечного тракта и нарушению работы пищеварительных ферментов насекомых-вредителей; ингибирование функционирования рибосомальных белков (RIPs-белки), что ведет к нарушению синтеза новых клеточных полипептидов; ингибирование функций пищеварительных ферментов протеаз и амилаз целевых организмов; формирование сквозных каналов в клеточной мембране (Сту-протоксины *Bacillus thuringiensis*) и лизис атакованных данными полипептидами клеток; проникновение фрагментов исходного белка через стенки кишечника и связывание с ганглиозидами клеточных мембран (растительные протоксины: уреазы и канатоксины), что приводит к экзозитозу клеток различных типов, разрушению кровяных пластинок и в конечном итоге к гибели целевого организма.

К настоящему времени накоплено достаточно много данных о значительной токсичности или аллергенности представителей большинства указанных классов белков, проявляемой при их введении перорально. Пищеварительные ферменты, мембранные белки и белки, определяющие межклеточные взаимодействия у эукариот, имеют значительное количество сходных доменов и могут обладать общими свойствами, в том числе и способностью к связыванию вышеупомянутыми белками. Так, при повышении активности соевых уреаз наблюдается снижение индекса перевариваемости корма бройлерными цыплятами, даже несмотря на снижение активности трипсिनного ингибитора [26]. Сходным действием на пищеварительные ферменты насекомых, животных и человека обладают растительные ингибиторы протеаз [27–30]. Ряд растительных ингибиторов альфа-амилазы образует комплексы с ферментами слюнных и поджелудочной желез и достигает максимальной активности при температуре от 35 до 50°C [31, 32]. Некоторые ингибиторы альфа-амилаз хорошо известны как сильные аллергены, например, тетрамерный ингибитор амилазы пшеницы [33].

RIPs-белки, или ингибиторы рибосомальных белков, имеют узкую видовую специфичность к различным рибосомальным белкам. Они удаляют консервативный аденин из 28S-rРНК, что препятствует сборке рибосом и приводит к гибели клеток. К этой группе белков относится ризин, один из сильнейших ядов, и циннамомин (сinnamomin), формирующий устойчивость трансгенных растений к насекомым [34]. Поскольку инактивация рибосом происходит в данном случае необратимо, то даже слабая аффинность RIPs к рибосомальным белкам млекопитающих будет приводить к кумулятивному эффекту.

О формировании иммунного ответа на некоторые трансгенные лектины (природные белки, специфично связывающие углеводы) широко известно в связи с сенсационными результатами опытов доктора

А. Пуштаи (Исследовательский институт Рауэрт, Великобритания) [35–37]. Высокие пищевые риски при использовании лектинов были подтверждены и в других исследованиях. Так, лектин нарцисса, обладающий ярко выраженными свойствами инсектицида, является мутагеном, причем наиболее сильное мутагенное действие установлено на культурах лимфоцитов человеческого эмбриона [38]. Проводимые работы с трансгенными инсектицидными лектинами бразильского ореха *Bertholletia excelsa* были прекращены в связи с их высокой аллергенностью [39, 40].

Показано также, что, например, трансгенная соя, устойчивая к гербициду раундапу (*Roundup*[®], N-фосфоно-метил-глицин, глифосат), может вызывать аллергию у людей. Сильными аллергенами оказались плоды трансгенного растения папайи, устойчивого к одному из вирусных заболеваний. Трансгенная кукуруза сорта *StarLink*, синтезирующая Bt-токсин (Cry9C), была разрешена к использованию лишь в качестве кормовой культуры [41] по причине ее высокой аллергенности. В результате неконтролируемого переопыления данный признак был передан растениям пищевых сортов. Известен случай, когда урожай гибридных растений был использован для получения пищевых продуктов, что вызвало громкий скандал, который разгорелся в 2000–2001 гг. на мировом рынке кукурузы и принёс фермерам США убытки в сотни миллионов долларов [42]. Есть многочисленные данные, что аллергенами являются Cry-белки, гены которых переносят в растения для защиты от листогрызущих насекомых, например от колорадского жука [43, 44].

Популярны трансгенные конструкции на основе ферментов группы хитиназ, которыми трансформированы различные сорта риса [45–47], картофеля [48, 49], пшеницы [50] и других культур. В то же время хорошо известны так называемые латексные или банановые аллергии, главным аллергеном в которых выступают хитиназы авокадо, бананов и каштана [51, 52]. Показана высокая аллергенность хитиназ классов 1 и 5 [53].

Таким образом, характеристикам трансгенных белков, обладающих инсектицидной активностью, необходимо уделять особо пристальное внимание, поскольку примерно половина патогенез-зависимых белков растений (*PR-proteins*) являются аллергенами [54]. Увеличение их содержания в устойчивых к заболеваниям трансгенных сортах растений сопряжено с прямым риском повышения аллергенности продуктов питания, изготовленных на основе этих сортов растений.

Интересные данные были получены при проведении сравнительного анализа частоты заболеваний, связанных с качеством продуктов питания в США и Скандинавских странах. Население этих стран имеет высокий уровень жизни, качественно близкую продуктовую корзину, сопоставимый уровень медицинских услуг. Оказалось, что за несколько последних лет в США частота пищевых заболеваний была в 3–5 раз выше, чем в странах Скандинавии. Единственное существенное отличие в качестве питания – активное употребление в пищу населением США продуктов, полученных из ГМО, и их практическое отсутствие в

рационе народов Скандинавии. В России, по данным отечественных аллергологов, до появления импортных продуктов, изготовленных с участием ГМО, уровень аллергических заболеваний был в 5–7 раз ниже, чем в США. За последние годы эта разница практически нивелировалась. Представленные косвенные данные позволяют предполагать, что повышение уровня аллергических заболеваний, связанных с пищей, обусловлено увеличением в пищевом рационе доли произведённых из ГМО продуктов.

Серьезную опасность представляют детские аллергические заболевания – экссудативный диатез и нейродермит, имеющие особый статус в аллергологии. Имунная система человека окончательно формируется только к 12–14 годам, а кишечная флора, адаптированная к “взрослой” пище – уже к трём годам. Слизистая оболочка пищеварительного тракта ребенка обладает повышенной проницаемостью как для питательных веществ, так и для патогенов. Детский организм остро реагирует на «чужие» белки, к которым он не адаптирован, отсюда – особенно высокая чувствительность к аллергенам. Основываясь на многочисленных наблюдениях, фармакологи рекомендовали полностью исключить ГМО из состава детского питания [55]. С 2004 года практически во всех странах Евросоюза использование ГМО в продуктах детского питания, предназначенного для детей до 4-х лет, запрещено.

Особую угрозу для здоровья человека представляют потенциальные негативные эффекты произведённых из ГМО продуктов при их длительном и неконтролируемом употреблении. В настоящее время известны лишь некоторые данные по влиянию длительного употребления таких продуктов питания, например трансгенного картофеля, на организм животных. Так, доктором А. Пуштаи было экспериментально продемонстрировано, что длительное скормливание животным трансгенного картофеля вызывает у них серьезные изменения внутренних органов, в частности слизистой оболочки кишечника, частичную атрофию печени и изменение тимуса. Эти данные были опубликованы после проведения экспериментов и подтверждения заявленных результатов старшим патологом университета Абердина (*University of Aberdeen*) С.В. Ивеном [35]. Результаты, полученные Ивеном, вызвали бурную дискуссию и сомнения, однако позднее они были подтверждены на культурах клеток крови человека и колоректальной карциномы [56, 57].

Подобные же данные по влиянию трансгенного картофеля на организм животных получил академик В.А. Тутельян, директор Института питания РАМН, по мнению которого “существует определенный риск для здоровья человека при употреблении в пищу продуктов, полученных путем генной инженерии. В каждом конкретном случае однозначно предсказать конечный результат не представляется возможным” [58]. В.А. Тутельян экспериментально продемонстрировал негативное влияние на крыс трансгенного картофеля, устойчивого к колорадскому жуку. Животным скормливали вареный картофель, нормальный или генетически модифицированный (сорт Рассет Бербанк Ньюлиф, компании Монсанто), в течение 1 и

6 месяцев. Включение в рацион крыс трансгенного картофеля на протяжении 6 месяцев “приводило к статистически достоверному снижению концентрации гемоглобина и среднего содержания гемоглобина в одном эритроците” [58]. Изменения печени у крыс наблюдались в три раза чаще, чем у животных, которым скармливали контрольный картофель, измененные гепатоциты обнаруживались во всех долях печени. Одновременно отмечались признаки жировой дистрофии, статистически достоверное увеличение абсолютной массы почек, чаще встречались макроскопические изменения органов, которые авторы исследования отнесли к разряду интеркутентных заболеваний [58].

В марте 2007 года Комитет по независимой информации и исследованиям в области генной инженерии Франции (CRIIGEN) выпустил пресерелиз по результатам исследования учёных Института биологии Университета Кайсна (Кайен) и Университета Руана (Мон-Сент-Энъян), проводивших независимую проверку данных фирмы Monsanto по реализуемой ею трансгенной кукурузе. Полученные данные были опубликованы в журнале *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* [59]. В ходе проверки изучалось влияние ГМ-кукурузы MON863 на подопытных животных после 90-дневного кормления. Эта ГМ-культура содержит модифицированный ген *Cry3Bb1*, кодирующий выработку токсина, убивающего насекомого-вредителя диабротик (*Diabrotica virgifera*, *Chrysomelidae*) – опасного вредителя кукурузы. Оказалось, что Monsanto при подаче заявки на регистрацию этого сорта в ЕС использовала такие методы статистического анализа, которые позволили ей скрыть серьезные нарушения, обнаруженные в организмах крыс, употреблявших трансгенную кукурузу. Кроме того, фирма среди 1130 страниц таблиц и расчётов не представила результаты биохимических и физиологических исследований крови и мочи животных. В ходе независимой проверки выяснилось, что уровень углеводов и триглицеридов (жиров) в крови женских особей увеличился на 40%, вес печени возрастал относительно веса тела и нарушались функции почек. У мужских особей, напротив, имела место потеря веса тела, и уменьшение веса почек относительно последнего; уровень фосфора и натрия в моче снижались на 30%, что никак нельзя назвать отклонением в пределах нормы. Напротив, все показатели свидетельствовали о нефропатии, развившейся у подопытных крыс, получавших в пищу кукурузу MON863. По итогам этого исследования кукуруза MON863 была признана вредной и запрещена для использования в пищу и для выращивания в странах ЕС [60].

В 2008 году австрийские учёные из Исследовательского института биологического сельского хозяйства и Института питания опубликовали результаты своего исследования по кормлению мышей ГМ-кукурузой NK603×MON810, несущей три генетических конструкции – две, обеспечивающие устойчивость к глифосату, и ген, кодирующий эндотоксин *Cry1Ab*. У подопытных мышей, питавшихся ГМ-кукурузой, было обнаружено снижение репродуктивной функции, а также значительные отличия в

экспрессии 2374 генов (у 421 из которых в 2 и более раз) от контрольной группы. Кроме того, у самок в F2, F3 и F4 поколениях и у самцов в F2 поколении имела место пониженная масса почек [61]. Аналогичные данные были получены другой группой исследователей, установивших, что крысы, получающие в пищу *Vt*-кукурузу MON810, приобретали значительные гистопатологические изменения печени и почек, причём вес печени был почти вчетверо ниже нормального [62].

Интересные данные получены группой итальянских исследователей, изучавших влияние кормления мышей кукурузой MON810. У этих мышей наблюдали отклонения от нормы в доле T и B клеток, а также CD4+, CD8+, gdT+ и mbT+ субпопуляций в кишечнике, селезёнке и крови, сопровождавшиеся повышением уровня цитокинов и компонентов крови, участвующих в аллергических и воспалительных реакциях организма – IL-6, IL-13, IL-12p70, и MIP-1b; наиболее чувствительными к поражению иммунной системы оказались очень молодые и старые особи [63]. Вообще-то способность токсин-лектинов A-B, в том числе протоксина *Cry1Ac Bacillus thuringiensis*, стимулировать и модулировать как системный иммунный ответ, так и иммунную реакцию слизистых оболочек, к настоящему времени изучена достаточно подробно (см., например, [64]), но лишь сравнительно недавно было доказано, что *Vt*-токсин специфически связывается с мембранными гликолипидами, и это углевод-зависимое связывание играет важную роль для его токсического действия *in vivo* [65].

В 2005-2006 гг. ведущий научный сотрудник Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН И.В. Ермакова исследовала влияние ГМ-сои 40-3-2 на лабораторных животных. Согласно её данным, у всех самок “ГМ-соевой группы”, в общевиварный корм которых добавляли ГМ-сою, наблюдалась ненормально высокая смертность новорожденных крысят (около 51,6%). Среди выживших 36% крысят из “ГМ-группы” через две недели после рождения имели вес менее 20 г по сравнению с 6% в остальных группах. Крысята из «ГМ-соевой группы» рождались с пониженным весом, недоразвитые, без шерсти. Посмертное исследование показало, что их внутренние органы весили значительно меньше нормы. У потомства животных, получавших корм с трансгенной соей, были нарушены репродуктивные и поведенческие функции [66, 67].

Данные, полученные И.В. Ермаковой, были представлены исполнительным директором Института Ответственных Технологий (Айова) Джефффри Смитом (Jeffrey M. Smith) на годичной конференции Американской медицинской Академии окружающей среды (American Academy of Environmental Medicine, AAEM) в октябре 2005 года. После всестороннего обсуждения было принято обращение к Национальному Институту Здоровья США (НИН) о немедленном проведении аналогичных исследований, тем более что на этой конференции были приведены сведения из 25 фермерских хозяйств США и Канады о том, что некоторые ГМ-сорта кукурузы, использовавшиеся в качестве корма для свиней, вызывали у них возникновение ложной беременности и стерильность [68].

Дальше – больше. Учёные Рочестерского университета обнаружили интересную закономерность. Оказывается, современные женщины, потребляющие в период беременности много говядины, рожают сыновей, которые, вырастая, имеют пониженное содержание активных сперматозоидов, что в свою очередь приводит к снижению рождаемости в последующих поколениях. Дело, как оказалось, не в мясе как таковом, но во все возрастающем уровне современных технологий, внедряемых в сельском хозяйстве. Предполагается, что всему виной являются разные биодобавки, используемые для быстрой прибавки веса животных. Кроме того, коров часто кормят генетически модифицированными кормами, гормонами роста, стероидами, которые также отнюдь не способствуют повышению качества производимого на крупных высокотехнологичных фермах мяса. Было установлено, что сыновья женщин, ежедневно потреблявших говядину в больших количествах (более семи мясных блюд в неделю), имеют в продуктивном возрасте концентрацию спермы на 20-25% ниже нормы, а их сперматозоиды менее способны к оплодотворению нормальной яйцеклетки. Об этом говорится в докладе по изучению изменений в репродуктивной способности человека, сделанным на основании обширной выборки для ряда крупных городов США, в больших количествах потребляющих, как правило, «искусственно» выращенное мясо [69].

Суммируя эти и многие другие данные по влиянию кормления животных разными ГМО на их здоровье, канадский исследователь Стефани Орфорд (Stephanie Orford) делает вывод о том, что Вt-продукты не только не уменьшают влияния пестицидов на здоровье потребителя, а, напротив, вызывают или могут вызывать серьёзные проблемы со здоровьем – от воспалений и токсического поражения органов до раковых заболеваний, а Roundup Ready соя приводит к бесплодию [70]. Более того, Малатеста с соавт., изучая влияние ГМ-сои на здоровье мышей, установили, что добавление её в рацион питания даёт синергический эффект с ксенобиотиками, старением и/или стрессом [71].

Риски, опосредованные плейотропным действием трансгенов и кодируемых ими белков на “работу” генома и метаболизм растений

Пищевые риски могут быть связаны с последствиями плейотропных эффектов, вызываемых как самими трансгенными белками, так и встроенными конструкциями. Именно плейотропным эффектом можно объяснить усиление активности уреаз в трансгенном сорте сои, устойчивой к гербициду раундапу [72].

При проведении работ по созданию стрессоустойчивых трансгенных растений зачастую используют ген ключевого фермента синтеза полиаминов – аргининдекарбоксилазы [73]. Результатом суперэкспрессии этого фермента у трансгенных растений табака и риса является повышенное содержание токсичного амина агматина, а также полиаминов путресцина, спермидина и спермина [74, 75]. Агматин и его производные являются биологически активными веществами, способными взаимодействовать с адре-

нэргическими, имидазолиновыми и глутаматными рецепторами, выступая для организма человека в роли как нейромедиаторов, так и активаторов митозов (размножение клеток) и стимуляторов опухолеобразования [76, 77]. Эти низкомолекулярные вещества небелковой природы легко усваиваются организмом теплокровных. Надо сказать, что адекватность используемых в настоящее время тестов для проверки подобных рисков крайне сомнительна.

Сорта томатов, модифицированные генами изопентенилтрансферазы, имеют повышенное содержание растительных гормонов – цитокининов (группы гормонов растений пуриновой природы, регулирующих деление и дифференцировку клеток; органогенез, онтогенез, прорастание семян, старение и другие физиологические процессы) и обладают большей продуктивностью [78, 79]. Сложнейшая сигнальная сеть, регулируемая цитокининами в организме растения и затрагивающая как метаболизм, так и разнообразные тканевые и ростовые процессы, изучена далеко не достаточно [80], так что предсказать эффекты от такого рода изменений гормонального статуса пока не представляется возможным [81]. В то же время известно сильнейшее влияние этих гормонов на клетки человека и других млекопитающих [82, 83] за счет модуляции Ras-опосредованных точных сигнальных каскадов [84], ацетилхолинэстеразной активности [85], активности пуринорецепторов [86]. И пока допустимые, безопасные концентрации фитогормонов в растительных продуктах не будут установлены, вероятность существования пищевых рисков от употребления трансгенных продуктов остается весьма высокой.

Близкими к описываемым негативным пищевым эффектам являются риски, обусловленные самим процессом трансформации, которые проявляются в способности генетически модифицированного организма активно синтезировать токсичные для человека метаболиты или, напротив, утрачивать способность организма синтезировать важные для человека биологически активные соединения. Классическим примером подобного типа негативных эффектов (хотя, надо сказать, имеется и иная трактовка рассматриваемого случая) служит приобретение генетически модифицированной бактерией – суперпродуцентом триптофана, используемого в качестве пищевой добавки, – способности синтезировать в следовых количествах близкое по структуре триптофану (но уже крайне токсичное!) соединение 1,1'-этиленбис(триптофан). Первыми жертвами этого генетически модифицированного организма и заложниками американской системы оценки биобезопасности стали граждане США. Регулярное употребление ими пищевой добавки, содержавшей данное токсичное соединение, приводило к очень тяжелому заболеванию, называемому синдромом эозинофилии-миалгии, которое характеризуется изнурительными мышечными болями, спазмами дыхательных путей и может даже привести к смерти [87].

Пример другого типа касается гибели в ноябре 2003 г. в Израиле трех грудных детей, находившихся на искусственном вскармливании препаратами детского питания Humana Milchunion Remedia, и се-

резного повреждения головного мозга еще у 17 детей. Проведенные тесты показали, что производимый немецкой компанией на основе генетически модифицированной сои заменитель молока содержит по крайней мере в 10 раз меньше, чем было заявлено в рекламе, витамина В₁, жизненно необходимого для нормального развития центральной нервной системы в раннем детском возрасте. Можно полагать, что используемая для получения соевого молока трансгенная соя Remedía Super Soya 1 утратила способность синтезировать витамин В₁ уже в процессе трансформации из-за нарушения экспрессии генов, контролирующих синтез данного витамина в результате мутации или их сайленсинга. Контролировать появление такого рода сбоев метаболизма практически невозможно как из-за несовершенства генно-инженерных технологий и недостаточного понимания механизмов функционирования генома, так и огромного количества веществ в норме синтезирующихся растительной клеткой.

Риски, опосредованные накоплением гербицидов и их метаболитов в устойчивых к гербицидам сортах и видах сельскохозяйственных растений

Возделывание сортов сельскохозяйственных растений, устойчивых к действию пестицидов, дает заметный экономический эффект – ручная или машинная прополка заменяется быстрой обработкой полей пестицидами, приводящей к гибели сорняков, но не выращиваемых трансгенных сортов. Для придания растению устойчивости к такому распространенному гербициду как глифосат, используют конструкции на основе одного из двух генов, кодирующих: EPSPS (5-енолпирувилшикамат-3-фосфат синтазу), или GOX (глифосат оксидоредуктазу). Сами по себе эти белки не являются ни аллергенами, ни токсинами.

Для оценки безопасности пищевого применения таких сортов необходимо знать, какова способность этих растений к накоплению ядовитых для человека и животных химикатов, а также предстоит выяснить, не происходит ли аккумуляция других ядовитых метаболитов или аллергенов в результате плейотропных эффектов трансгенных конструкций. Следует иметь в виду, что практически все пестициды токсичны для человека. Глифосат, например, кроме того является канцерогеном, вызывая лимфому [88, 89]. Имеются данные, что при обработке глифосатом устойчивых к нему сортов сахарной свеклы растения накапливают токсичные метаболиты глифосата [90]. Более того, показана способность репродуктивных органов (!) хлопчатника, устойчивого к глифосату, накапливать чрезвычайно высокие (смертельные) концентрации этого гербицида – от 0,14 до 0,48 мг/кг сухого вещества [91]. А именно из семян и получают хлопковое масло – традиционный продукт питания населения, например, Средней Азии, Индии и Пакистана. Для сравнения отметим, что допустимые дозы остаточного глифосата и его токсичных метаболитов в пищевых продуктах в США составляют 0,02 мг/кг сухого вещества, т.е. в 7–24 раз ниже.

Другим широко распространенным гербицидом является атразин. Устойчивость культурных растений к его действию обеспечивается встраиванием в геном

гена цитохрома CYP1A1, представителя класса цитохромов P-450 [92, 93]. Вместе с тем известно множество работ, посвященных канцерогенным, иммунотоксичным и эмбриотоксичным свойствам цитохрома P-450 [94, 95].

К вышесказанному о потенциальной опасности трансгенных сортов культур, устойчивых к гербицидам, следует добавить, что, как правило, информация о наличии остаточных количеств гербицидов в этих растениях производителями не предоставляется, хотя пищевой риск от аккумуляции этих токсичных химикатов в подобном сырье огромен.

Риски горизонтального переноса трансгенных конструкций, в том числе генов устойчивости к антибиотикам, в геном симбионтных для человека и животных бактерий

Вероятность встраивания трансгенной конструкции из растения в геном млекопитающих и человека ничтожно мала. Клетки высших эукариот имеют несколько изолирующих барьеров, эффективно препятствующих горизонтальному переносу генов. Даже в случае такого переноса клетка, как правило, не размножается, находясь в терминальной стадии дифференцировки. Перенос конструкции в половые клетки вообще невероятен, и это очевидно, если учесть, что гемато-тестикулярный барьер непроницаем для крупных молекул. Но не следует забывать, что все теплокровные, в том числе и человек, имеют эндосимбионтов, в частности, кишечную бактериальную флору (*Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. bifidus*, *L. bulgaricus* и *L. caucasicus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium* и др.). Известно, что бактерии способны к трансформации, причем трансформации подвержены как кольцевые, так и линейные формы ДНК с инвертированными повторами [96]. Фрагменты трансгенной ДНК идентифицированы в содержимом кишечника, крови и молоке коров и свиней, питающихся ГМО [97, 98].

В настоящее время в трансгенных конструкциях, как правило, в качестве маркерных последовательностей используются гены устойчивости к антибиотикам, которые позволяют генному инженеру производить отбор генетически модифицированных клеток и растений [99, 100]. При трансформации ими симбионтных или патогенных для человека и животных бактерий трансгенные конструкции могут «включиться» в состав бактериального генома, что приведет к формированию устойчивости к антибиотикам или самих симбионтных бактерий, или патогенной микрофлоры. Результатом использования такого антибиотика при заболевании будет быстрый отбор устойчивых к нему бактерий, вследствие чего антибиотик либо начнет перерабатываться непосредственно в кишечнике, не достигая целевых патогенных бактерий, либо не будет оказывать влияния на резистентные к нему патогены. Основные бактерии-симбионты живут в толстой кишке, и риск метаболизма антибиотиков бактериями кишечной флоры касается, в основном, плохо всасывающихся антибиотиков, например неомицина и канамицина.

Трансгенные конструкции, несущие в качестве маркерного признака устойчивость к таким препара-

