

---

## **НОВЫЙ ПОДХОД В ОЦЕНКЕ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БЕЗОПАСНОСТИ СВИНИНЫ ТРАНСГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

**Н.Г. Хоменец, В.И. Родин**

Кафедра товароведения и безопасности сырья и продуктов биотехнологии  
Московский государственный университет прикладной биотехнологии  
*ул. Талалихина, 33, Москва, Россия, 109316*

Впервые предложена новая система токсикологической оценки безопасности свинины и продуктов ее переработки на новом виде тест-организмов — перепелах, инкубационных перепелиных яйцах, а также с использованием традиционных тест-организмов — крыс и инфузорий *Tetrahymena pyriformis* для оценки ГМИ с учетом отдаленных последствий.

В последние годы исследования в области геной инженерии показали, что можно многократно ускорять и улучшать продуктивные показатели животных, повышать приспособляемость их к окружающей среде, генетическую устойчивость ко многим инфекционным заболеваниям, а также изменять наследственные признаки в необходимом направлении. Учитывая достигнутые успехи, безопасность использования полученной животноводческой продукции в пищевых целях окончательно не доказана. В этой связи важнейшей задачей является проведение исследований по контролю безопасности мясного сырья трансгенного происхождения.

Уже получены растения трансгенного происхождения более чем 120 видов, среди которых рис, картофель, соя, кукуруза, томаты, рапс и др. Под трансгенные культуры ежегодно в мире выделяется более 60 млн га. В 16 странах для применения в качестве продуктов питания разрешены некоторые виды таких растений.

Производство трансгенных животных (мыши, кролики, свиньи, овцы с различными генными конструкциями) дает возможность придавать новые заданные характеристики существующему физиологическому статусу: например, изменить генную регуляцию, увеличить продуктивность и усилить сопротивляемость к различным заболеваниям.

Исследования свидетельствуют о том, что определенные генные комбинации могут приводить к увеличению темпа роста живой массы клонированных животных.

Во ВНИИ животноводства под руководством академика РАСХН Л.К. Эрнста ведутся исследования по созданию трансгенных свиней с интегрированным геном релизинг-фактора гормона роста hGRF (олигопептид, состоящий из 43 или 44 аминокислот с различной степенью гомологии между видами, который синтезируется в аркуатическом и вентромедиальном ядрах гипоталамуса). По данным исследователей, между трансгенными и нетрансгенными животными нескольких поколений не было выявлено значительных различий в темпах

роста. Сравнительное изучение роста и развития полученных поколений трансгенных и нетрансгенных поросят показало, что у трансгенных свиной наблюдалась тенденция к увеличению энергии роста животных. Экспрессия генов hGRF (генная конструкция гормона роста, соматолиберин человека, релизинг-фактор) оказывала положительное влияние на прирост живой массы в более позднем возрасте, когда экспрессия эндогенного соматотропина снижается. Изучение содержания соматотропина в крови трансгенных по hGRF животных показало отсутствие заметных различий по этому показателю у подопытных и контрольных групп.

Уже достигнуты определенные успехи, однако не представляется возможным использование полученной продукции в пищевых целях, так как не доказана, особенно с учетом отдаленных последствий, ее безопасность для человека.

Никто не исключает, что использование современных биотехнологий и генной инженерии может привести к негативным последствиям: изменению структуры и окраски мышечной ткани, рН, жесткости, влагоудерживающей способности, степени и характера жирности (мраморность), а также консистенции, вкусовых и ароматических свойств мяса после термической обработки.

Поэтому актуальной задачей является проведение широких исследований по контролю безопасности такого сырья и продуктов его переработки, хотя многие ученые считают, что введенный в объект ген — это участок ДНК, а его продукт — белок. В желудочно-кишечном тракте нуклеиновые кислоты расщепляются на нуклеотиды, а белки — на аминокислоты, которые не представляют опасности для человека.

Выполненные нами патентные исследования и анализ доступных источников литературы показали, что в публикациях в основном уделено внимание методам клонирования животных и растений. В то же время отсутствует научно обоснованные данные по их безопасности в качестве источников питания, что свидетельствуют о необходимости выполнения работ, связанных с разработкой методов контроля безопасности генетически модифицированных источников питания.

В этой связи перед нами была поставлена цель: провести комплексные исследования безопасности свинины трансгенного происхождения и продуктов ее переработки. При этом исследовали качество и безопасность свинины трансгенного происхождения и продуктов ее переработки.

Для выполнения намеченной цели на разрешение были поставлены следующие задачи:

- провести ветеринарно-санитарную экспертизу туш и внутренних органов, полученных от трансгенных свиной;
- провести исследование по микробиологической оценке свинины трансгенного происхождения, а также изготовленных из нее вареных колбас и консервов;
- провести гистологическую оценку трансгенной свинины и внутренних органов;

— дать физико-химическую оценку трансгенной свинине, вареным колбасам и консервам, изготовленным из этой свинины;

— провести токсикологическую оценку свинины трансгенного происхождения и изготовленных из нее вареных колбас и консервов на лабораторных животных (мышьях и крысах), инфузориях (*Tetrahymena pyriformis*), птице (перепелах и инкубационных перепелиных яйцах);

— выполнить исследования с помощью ПЦР по выявлению чужеродной ДНК (в свинине, вареных колбасах и консервах, содержащих свинину трансгенного происхождения; в мышечной ткани перепелов, получавших мясокостную муку, изготовленную из трансгенной свинины);

— разработать методические рекомендации по оценке безопасности мясного сырья трансгенного происхождения.

Работа выполнялась на кафедре товароведения и безопасности сырья и продуктов биотехнологии МГУПБ и в лаборатории ГНУ ВНИИВСГЭ Россельхозакадемии.

При выполнении исследований материалами являлись: туши, мышечная ткань и внутренние органы от трансгенных и нетрансгенных (контроль) свиней и выработанные из свинины вареные колбасы и консервы.

Образцы свинины отбирали в экспериментальном хозяйстве ВНИИ животноводства. Свиньи, трансгенные по рекомбинантным генным конструкциям — рилизинг-фактору соматотропина (mMT1/hGRF), и их аналоги — нетрансгенные помеси ландраса с крупной белой породой четвертого поколения являлись контролем.

В процессе работы использовали общепринятые методы ветеринарно-санитарного, микробиологического, биологического и токсикологического контроля качества пищевых продуктов животного происхождения.

Исследовали трансгенную свинину, вареную колбасу и консервы, изготовленные из трансгенной свинины. Контролем служили аналогичные образцы нетрансгенной свинины, а также вареные колбасы и консервы, изготовленные из нее.

Определение токсичных элементов, антибиотиков, нитрозаминов, пестицидов и радионуклидов в образцах свинины опытного хозяйства ВНИИ животноводства периодически проводится в испытательном центре ВИЖа. Упомянутые показатели находились в пределах, регламентируемых действующим СанПиН.

Убой свиней проводился в соответствии с правилами ветеринарно-санитарной экспертизы под контролем государственного ветеринарного врача. Все свиньи, предназначенные для убоя, были клинически здоровы, что подтверждалось результатами предварительного ветеринарного осмотра.

В соответствии с требованиями товароведной оценки туши свиней были отнесены ко второй (мясной) категории.

Подсвинки (свинки и боровки) имели живую массу 45—55 кг. Хрячки были кастрированы в 2-недельном возрасте.

Образцы свинины были отобраны в экспериментальном хозяйстве ВНИИ животноводства. При этом убою в 2003, 2004 и 2005 гг. были подвергнуты 51 голова трансгенных и 51 голова нетрансгенных свиней.

Образцы для исследования отбирались после регистрации в лабораториях ВИЖ наличия в них генной конструкции релизинг-фактора соматотропина mMT1/hGRF для подопытной группы и отсутствия для контрольной.

У подопытных групп свиней после уоя выход мышечной и костной тканей, шкурки, технических зачинок после уоя (в %) составили  $55,20 \pm 2,50$ ;  $11,30 \pm 0,90$ ;  $5,30 \pm 0,60$  и  $1,60 \pm 1,20$  соответственно. У контрольных животных эти показатели составили соответственно  $53,22 \pm 2,80$ ;  $11,25 \pm 0,70$ ;  $4,80 \pm 0,80$  и  $1,80 \pm 0,80$ . Различия во всех случаях недостоверны. Отобранная свинина до проведения исследований хранилась в холодильнике при  $4^{\circ}\text{C}$ . Всего было подвергнуто микробиологическому контролю 54 пробы свинины трансгенного происхождения и 54 пробы нетрансгенной свинины. При этом определяли: КМАФАнМ, бактерии группы кишечных палочек, сальмонеллы, токсигенные анаэробы. Из исследованных образцов свинины (подопытной и контрольной), вареных колбас и консервов выделены мезофильные аэробные и факультативно анаэробные микроорганизмы в количестве  $0,71 \times 10^3$  —  $0,92 \times 10^3$  КОЕ/г. По культурально-морфологическим, биохимическим и серологическим показателям не выявлены бактерии группы кишечных палочек, сальмонеллы, токсигенные анаэробы, листерии и плесени. То есть микробная обсемененность исходных компонентов для изготовления колбас и консервов не превышала показатели, регламентируемые СанПиН 2.3.2.1078-01.

В образцах вареных колбас, изготовленных с добавлением трансгенной свинины, КМАФАнМ составляло  $0,82 \times 10^3 \pm 0,52 \times 10^2$  КОЕ/г и не отличалось от аналогичного показателя ( $0,91 \times 10^3 \pm 0,61 \times 10^2$ ) контрольных образцов.

Консервы, изготовленные из трансгенной свинины, по микробиологическим показателям не отличались от контрольных (из нетрансгенной свинины) и соответствовали промышленно стерильным категории А.

Влагодерживающая способность (ВУС) в % к общей влаге в парной трансгенной свинине составила  $59,40 \pm 0,11$ ; в охлажденной —  $54,2 \pm 0,14$ . Соответствующие показатели для нетрансгенной свинины составили  $60,14 \pm 0,06$  и  $55,2 \pm 0,10$ . Как свидетельствуют полученные данные, различие в показателях ВУС во всех случаях недостоверны.

При гистологических исследованиях внутренние органы подопытных крыс, которым в корм добавляли трансгенную свинину, не отличались от внутренних органов контрольной группы крыс, получавших в составе корма обычную свинину.

Для выполнения токсикологической оценки были поставлены эксперименты на лабораторных крысах, простейших (*Tetrahymena pyriformis*), перепелах и перепелиных инкубационных яйцах.

Исследования по определению хронической токсичности трансгенной свинины по показателям прироста массы на белых крысах при добавлении в рацион трансгенной свинины в течение 45 суток представлены в табл. 1.

Таблица 1

**Показатели прироста массы белых крыс  
при включении в рацион трансгенной свинины, вареной колбасы  
и консервов, изготовленных из этой свинины**

Группа животных	Начальная живая масса, г/гол	Конечная живая масса, г/гол	Валовой прирост массы, г/гол	Среднесут. прирост. массы, г/гол
Трансгенная свинина				
Подопытная	115,00 ± 2,80	238,00 ± 7,60	123,00 ± 3,70	2,73 ± 0,14
Контрольная	112,00 ± 3,10	227,00 ± 5,20	115,00 ± 4,50	2,56 ± 0,12
Вареная колбаса				
Подопытная	117,00 ± 3,00	241,00 ± 8,10	124,00 ± 4,90	2,76 ± 0,17
Контрольная	14,00 ± 3,30	230,00 ± 5,40	116,00 ± 4,70	2,58 ± 0,13
Консервы				
Подопытная	112,0 ± 4,20	217,0 ± 6,60	105,0 ± 5,40	2,33 ± 0,15
Контрольная	113,0 ± 4,70	219,0 ± 5,80	106,0 ± 5,10	2,36 ± 0,10

Прирост живой массы у крыс подопытной группы составил  $123,00 \pm 3,70$  г/гол. при среднесуточном приросте  $2,73 \pm 0,14$  г/гол. Соответствующие показатели у крыс контрольной группы, получавших нетрансгенную свинину, составили  $115,00 \pm 4,50$  г/гол. и  $2,56 \pm 0,12$  г/гол. соответственно. Результаты в показателях недостоверны.

У крыс подопытной и контрольной групп после декапитации были извлечены внутренние органы и на основании результатов взвешивания определен интегральный показатель хронической интоксикации (ИПХИ).

Не выявлено также достоверных различий у контрольных и подопытных групп крыс при введении в их рацион вареных колбас и консервов с использованием трансгенной свинины по сравнению с соответствующими показателями при введении в рацион обычной свинины, колбас и консервов, изготовленных из обычной свинины. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии достоверных различий по показателям ИПХИ у подопытных и контрольных групп животных.

С использованием тест-организма *Tetrahymena pyriformis* определяли хемотаксическую реакцию после контакта простейших с вытяжками из исследуемых образцов на приборе «Биотестер-2».

Таблица 2

**Величина хемотаксической реакции инфузорий на приборе «Биотестер-2»  
в условных единицах при исследовании трансгенной свинины, вареных колбас  
и консервов, изготовленных из трансгенной свинины**

Образец	Показания прибора (условн. ед.)	Степень токсичности
Свинина		
Свинина трансгенная	168 ± 12	нетоксично
Свинина нетрансген. (контроль)	175 ± 10	заведомо нетоксично
Колбаса вареная		
Из трансгенной свинины	160 ± 10	нетоксично
Из нетрансген. свинины (контр.)	164 ± 11	заведомо нетоксично
Консервы		
Из трансгенной свинины	171 ± 12	нетоксично
Из нетрансгенной свинины (контроль)	174 ± 11	заведомо нетоксично

Как видно из представленных данных, подопытные образцы трансгенной свинины и продуктов ее переработки (вареные колбасы и консервы) нетоксичны и показатели близки к значениям, полученным для контрольных образцов, что подтверждает статистическая обработка результатов.

При изучении выживаемости инфузорий в 0,1% вытяжках исследуемых образцов было обнаружено, что через 3, 6 и 24 часа все клетки тетрахимен сохраняли подвижность, оставались живы и не были подвержены видоизменениям (при просмотре капли под микроскопом). Это свидетельствовало о безвредности водных вытяжек исследованных образцов.

Результаты исследований по влиянию вытяжек изучаемых образцов на ростовую реакцию инфузорий представлены в табл. 3.

Таблица 3

**Влияние вытяжек исследованных образцов на ростовую реакцию инфузорий *Tetrahymena pyriformis***

Образец	Средний результат
Свинина	
Свинина трансгенная	16,4 ± 2,0
Свинина нетрансгенная (контроль)	17,2 ± 1,7
Колбаса вареная	
Из трансгенной свинины	15,8 ± 1,2
Из нетрансгенной свинины (контроль)	16,2 ± 1,4
Консервы	
Из трансгенной свинины	16,0 ± 1,1
Из нетрансгенной свинины (контроль)	16,8 ± 1,2

Из результатов, представленных в табл. 3, видно, что рост клеток инфузорий на подопытных образцах не отличается от контроля. Это свидетельствует о том, что исследуемые образцы не оказывают отрицательного влияния на ростовую реакцию тест-организма.

Относительную биологическую ценность (ОБЦ) трансгенной свинины исследовали на шести образцах, куда входили образцы трансгенной и нетрансгенной свинины, а также вареные колбасы и консервы, изготовленные из трансгенной свинины, и их контрольные нетрансгенные аналоги.

Как показали результаты исследований, количество клеток инфузорий в 1 мл среды, включающей трансгенные и нетрансгенные образцы (контроль), близки по значениям (различия недостоверны), а ОБЦ в % составляет 97,7 ± 0,8 — 98,2 ± ± 1,2 для подопытных и 100% для контрольных образцов, т.е. различия также недостоверны.

Одной из задач нашей работы явилось токсикологическая оценка трансгенной свинины и продуктов ее переработки на перепелах, а также возможность их использования в качестве тест-объектов.

Подопытной группе птиц (20 голов) в рацион взамен мясокостной муки вводили мясную муку из трансгенной свинины в течение 2-х месяцев. Контрольная группа получала обычный комбикорм для бройлеров. Учитывали прирост живой массы, яйценоскость и выводимость перепелят после инкубации полученных яиц (табл. 4). Определяли также ИПХИ и наличие чужеродного гена в мышечной ткани перепелов.

**Развитие перепелов, яйценоскость и выводимость перепелят**

Группы	Кол-во гол.	Живая масса, г		Яйценоскость		Выводимость	
		начальная	конечная (через 30 дн.)	за 30 дн.	масса яйца, г.	гол.	%
Подопытная несушки петушки	16	155,0 ± 7,0	160,0 ± 8,0	336	11,0 ± 0,5	121,0	93,8
	4	140,0 ± 6,0	147,0 ± 7,0	—	—	—	—
Контрольная несушки петушки	16	158,0 ± 6,0	164,0 ± 8,0	342	10,5 ± 0,4	122	93,1
	4	137,0 ± 5,0	140,0 ± 6,0	—	—	—	—

В результате проведенных экспериментов показатели начальной и конечной живой массы курочек-несушек и петушков существенно не отличались друг от друга. Яйценоскость курочек-несушек в подопытной и контрольных группах составила 336 шт/мес. и 342 шт/мес. соответственно.

Масса каждого яйца в подопытной и контрольной группах была равна  $11,0 \pm 0,5$  г и  $10,5 \pm 0,4$  г соответственно. Отмечена высокая выводимость перепелят в подопытной и контрольной группах, соответственно 93,8 и 93,1%.

Интегральный показатель хронической интоксикации (в %) при включении в рацион трансгенной свинины составил по печени  $3,18 \pm 0,14$ ; по сердцу —  $1,68 \pm 0,05$ . В контрольной группе эти показатели составили соответственно  $3,29 \pm 0,15$  и  $1,66 \pm 0,05$ .

Прижизненный контроль эмбрионов показал их нормальное развитие в период инкубации и отсутствие случаев летальной мутации. Выведенные перепелята в подопытной и контрольной группах были здоровыми и не отличались друг от друга. Не отмечено случаев аномального тератогенного и мутагенного влияния трансгенной свинины на рост и развитие перепелиных эмбрионов.

Полученные результаты исследований позволили разработать методические рекомендации, утвержденные отделением ветеринарной медицины РАСХН (28.12.2005).

Как показали гистологические исследования, внутренние органы трансгенных свиней, а также подопытных крыс, которым в корм добавляли трансгенную свинину, не отличались от внутренних органов нетрансгенных свиней и контрольной группы крыс, получавших в составе корма обычную свинину.

Важной задачей нашей работы явилось выделение чужеродной ДНК из трансгенной свинины, вареных колбас и консервов, содержащих трансгенную свинину.

Аmplификации гена mMT1/hGRF не наблюдается в ДНК перепелов, получавших и не получавших трансгенную свинину.

Данные свидетельствуют о том, что при постановке ПЦР с праймерами амплификонов на mMT1/hGRF сайт-полосы, соответствующие контрольным амплификонам, выявляются только с ДНК трансгенной свинины, вареной колбасы и консервов, изготовленных с добавлением трансгенной свинины. Отсутствие амплификации с ДНК, выделенной из перепелов, потреблявших и не потреб-

лявших трансгенную свинину, свидетельствует о том, что фрагмент ДНК mMT1/hGRF не интегрирует в геном перепелов.

Таким образом, введение в состав корма для перепелов свинины (в виде мясокостной муки), содержащей ген mMT1/hGRF гормона роста человека, в течение 2 месяцев не приводит к его накоплению в составе мышечной ткани перепелов.

## **THE NEW APPROACH IN AN ESTIMATION OF SOME PARAMETERS OF SAFETY OF PORK TRANSGENIC ORIGINS**

**N.G. Khomenets, V.I. Rodin**

Department of commodity research and safety  
of raw material and products of biotechnology  
Moscow state university of applied biotechnology  
*33, Talalikhina str., Moscow, Russia, 109316*

For the first time the new system of a toxicological estimation of safety of pork and products of its processing on a new kind the test-organisms — quail, incubatory quail eggs, and also with use traditional the test-organisms — rats and infusorians *Tetrahymena pyriformis* for estimation GMI in view of the remote consequences is offered.