

VOJENSKÉ ZDRAVOTNICKÉ LISTY

ROČNÍK LVI

BŘEZEN 1987

ČÍSLO 1

575.1:62:623.458.9/.459

EXISTUJE MOŽNOST ZNEUŽITIA GÉNOVÉHO INŽINIERSTVA PRE VÝROBU NOVÝCH BIOLOGICKÝCH A CHEMICKÝCH ZBRANÍ?

Prof. RNDr. Libor EBRINGER, DrSc., RNDr. Nora LAHITOVÁ, CSc.

Ústav molekulárnej a subcelulárnej biológie Univerzity Komenského v Bratislave

(riadiť: prof. RNDr. Libor Ebringer, DrSc.)

V triedne rozdelenom svete nemožno bagatelizovať signály, ktoré upozorňujú na možnosť zneužitia výsledkov modernej biológie na konštrukciu nových biologických a chemických zbraní. Nie je tajomstvom, že využitím doterajších poznatkov sa dajú okrem užitočných génov prenášať aj gény riadiace syntézu nežiadúcich produktov. Napr. gény z choroboplodných baktérií alebo z organizmov produkujúcich vysokotoxické látky možno implantovať do rýchlo sa množiacich baktérií. Netreba pripomínať, že takýto amorálny postup by predstavoval dramatickú možnosť vytvorenia nového typu biologických zbraní. Na základe doterajších úspechov génového inžinierstva teoreticky možno predpovedať, že pomocou nových metód by sa dali nahromadiť do jednej baktérie hoci aj tie najobávanejšie vlastnosti izolované z viacerých nebezpečných organizmov a to nielen mikrobiálneho pôvodu (choroboplodné vírusy, baktérie, huby a prvoky), ale aj rastlinného a živočíšneho. Kombináciou génov izolovaných z vírusov, baktérií, živočíchov i rastlín a ich implantáciou do genómu baktérií by bolo možné zostrojiť chiméru, ktorá by bola nosičom najobávanejších vlastností všetkých darcovských druhov. Teoreticky to znamená, že baktérie s chromozómom umele rozšíreným o nové gény vybrané z iných organizmov by mohli produkovať mikrobiálne, živočíšne alebo rastlinné toxíny ako aj iné faktory škodlivé pre človeka (rešp. živočchy a rastliny), ktoré pôvodný bakteriálny druh v prírode nikdy neobsahoval. Tak napr. symbiotické črevné baktérie *Escherichia coli* by mohli byť „obohatené“ o gény, ktoré sú príčinou ochorení vírusových (záškrt, chrípka, kiahne), bakteriálnych (cholera, mor, týfus, tetanus, botulizmus) a prvokových (malária, spavá nemoc, toxoplazmóza), ako i toxikóz rastlinného, hubového a živočíšneho pôvodu (hadie a hmyzie jedy, strychnín, aflatoxíny). Teda technikou

rekombinácie DNA v princípe je možné vytvoriť úplne nové typy organizmov, proti ktorým by neexistovala spoľahlivá ochrana. Okrem už spomenutých choroboplodných génov možno do baktérií implantovať aj rezistenciu proti všetkým doteraz známym liekom (multirezistencia), voči ultrafialovému žiareniu, vysušeniu alebo aj iné vlastnosti vrátane onkogénov. Odborníci pripúšťajú, že takéto nové biologické zbrane by mohli byť z istého aspektu nebezpečnejšími pre ľudstvo ako atómové a iné zbrane hromadného ničenia. Novo vyvinuté choroboplodné baktérie, odolné voči všetkým známym liekom a dezinfekčným prostriedkom, by sa mohli rozšíriť aj cestou nenápadnej diverzie. Napadnutá strana by nepoznala ochranu pred nimi, zatiaľ čo „konštruktér“ tejto zbrane by presne vedel, ktoré vlastnosti choroboplodných organizmov implantoval do umelej chiméry, v dôsledku čoho by mohol svoje vojenské a obyvateľov chrániť vakcináciou a novými špecifickými liečivami.

Doterajšie použitie biologických a chemických zbraní

Oprávnenosť zaraďovania biologických a chemických zbraní do jednej problémovej kategórie vychádza nielen z najnovších vedeckých poznatkov, ale aj zo samotných charakteristík týchto útočných prostriedkov. Všeobecne za biologické zbrane možno považovať akékoľvek žijúce organizmy a materiál z nich odvodený (napr. toxíny), ktoré sú schopné vyvolať ochorenie alebo spôsobiť smrť človeka a uhynutie zvierata a rastliny. Za chemické zbrane možno považovať chemické zlúčeniny alebo substancie prírodného alebo syntetického pôvodu, ktoré vo forme plynnej, tekutej alebo pevnej môžu byť použité za účelom dosiahnutia priameho, alebo nepriameho toxického účinku na človeka, živočchy alebo rastliny.

Chemické zbrane prvý raz použila v roku 1915 nemecká cisárska armáda pri plynovom útoku proti spojencom pri meste Ypres. V prvej svetovej vojne bolo otravnými látkami zasiahnutých vyše 1,3 milióna ľudí, z ktorých na akútne následky zomrelo vyše 100 000, čo z hľadiska súčasných poznatkov o pôsobení genotoxických látok je však číslo značne poddimenzované. Bojové otravné látky tohto typu zanechávajú v ľudskej populácii mnoho ďalších dôsledkov, ktoré sa manifestne objavujú až po dlhších časových obdobiach, rešp. v nasledujúcich generáciách (najmä mutácie a rakovina).

Fašistické Taliansko použilo bojové chemické prostriedky počas agresii proti Etiópii v rokoch 1935—1936. Rozsiahly výskum bojových chemických prostriedkov sa uskutočňoval vo fašistickom Nemecku, ktoré ich testovalo a prakticky uplatňovalo v koncentračných táboroch. Hitlerovské Nemecko, najmä po napadnutí Sovietskeho zväzu, robilo intenzívny vývoj bakteriologických zbraní. Vedúcim tohto výskumu bol generál Walter Schreiber, po porážke fašistického Nemecka súdený v Norimberskom procese. Príkaz na intenzifikáciu tohto výskumu nariadil Hitler najmä po porážke fašistov pri Volge a Moskve.

V praktickom použití bakteriologických zbraní najďalej pokročili v cisárskom Japonsku, kde už v rokoch 1935—1936 boli zriadené dva tajné oddiely pre organizovanie príprav bakteriologickej vojny. Ideologom tejto myšlienky bol generál Ishii Shiro (pred nedávnym zomrel v USA), ktorý ako veliteľ tajného oddielu č. 731 lokalizovaného v obsadenom Mandžusku riadil nielen výskum a výrobu bakteriologických zbraní, ale ich účinnosť aj testoval na vojnových zajatcoch. Podľa zachovaných zvyškov záznamov na uvedené experimenty zahynulo minimálne 3000 vojnových zajatcov.

Vývoj bojových chemických a biologických prostriedkov pokračoval aj po druhej svetovej vojne. Postupne sa objavujú nové, účinnejšie typy chemických zbraní. Napr. jeden liter nervovoparalytického plynu VX by mohol teoreticky usmrtiť vyše milióna ľudí (smrtiaca dávka pre človeka je 0,4 mg) a u ďalšieho milióna by zanechal vážne následky na zdraví. Na základe správ z odbornej literatúry sa dá usudzovať, že intenzívne sa študujú viaceré toxíny živočíšneho a rastlinného typu najmä z hľadiska ich štruktúry, mechanizmov účinku, syntézy, resp. biotechnologickej prípravy. Nebezpečenstvo vyplývajúce z možnosti náhodného úniku takýchto vysokotoxických chemických bojových prostriedkov nemožno bagatelizovať. Spomeňme aspoň nedávny prípad úniku iba 700 g jedovateho dioxínu v talianskom meste Seveso, čo znamenalo zamorenie rozsiahleho územia s ďalekosiadlymi dôsledkami. Ešte tragickejšie dôsledky podobnej havárie v chemickej továrni boli zaznamenané v Bhopale (India).

Génové inžinierstvo v službách človeka

V dôsledku rozvoja molekulárnej biológie a najmä vďaka tomu, že v poslednom desaťročí dochádza k neustálemu objavovaniu dômyselnejších techník génových, rešp. genetických manipulácií, relatívne jednoducho možno meniť génové sady najmä baktérií, ale ako sa už v praxi ukazuje aj iných eukaryotických mikroorganizmov a v ostatnom období aj rastlinných a živočíšnych buniek. Objavy mnohých špecifických enzýmov, najmä restriktčných endonukleáz, ako aj schopnosti plazmidov a iných mimojadrových genetických vektorov prenášať cudzorodé gény do buniek umožnili skonštruovať mikroorganizmy, ktoré sú schopné produkovať nové typy látok. Pri vyratúvaní nových prostriedkov, ktoré pomohli rozvinúť génové manipulácie, treba ešte spomenúť objav inzerčných sekvencií a transpozónov ako aj nové techniky fúzie protoplastov, ktoré umožňujú prenášať rozsiahle úseky genómov a vnášať, rešp. vyradovať z funkcie želateľné gény. Aplikácia týchto nových techník v spojení s fermentačnou a ďalšou technológiou ponúka ľudstvu obrovské možnosti pre výrobu viacerých a z hľadiska zdravia dôležitých prírodných látok. Doteraz sa týmito postupmi už podarilo zvládnuť výrobu ľudských hormónov a iných vzácnych bielkovín v bakteriálnych kultúrach: rastové hormóny — somatostatín a somatotropín, inzulín, interferón, plazminogén a i. Touto technikou už boli pripravené viaceré monoklonálne protilátky, na trh sa už dostala prvá vakcína proti hepatitíde B pripravená metódami génového inžinierstva (vyrába firma Merck pod ochrannou značkou Rocombivax HB) atď. O neobyčajne výhodných ekonomických a sociálne-zdravotníckych aspektoch tejto novej biotechnológie najlepšie hovorí porovnanie výrobných údajov. Klasickým spôsobom 10 mg rastového hormónu somatostatínu sa dalo získať spracovaním asi milióna ovčích mozgov. To isté množstvo somatostatínu sa dá vyrobiť pomocou nových biotechnologických postupov kultiváciou zmanipulovaných baktérií iba v 20 litrovom fermentore v krátkom výrobnom cykle. Pomocou génových manipulácií sa už podarilo pripraviť exkluzívne baktérie schopné ochraňovať rajčiny a jahody pred jarnými mrazmi a pred rôznymi parazitmi.

Aj keď úspechy génového inžinierstva sa zatiaľ vzťahujú prevážne na baktérie, právom možno očakávať, že po spoznaní ďalších zákonitostí zložitejších mnohobunkových organizmov (napr. procesov diferenciácie, vývinu, rastu atď.) skúsenosti získané na baktériách budú sa môcť postupne rozšíriť i na vyššie organizmy. Prvé úspechy tzv. bunkového inžinierstva sa dosiahli v oblasti fúzie celých rastlinných buniek. Týmto postupom podarilo sa už vytvoriť životaschopný hybrid zemiaku a rajčiny, čo klasickými postupmi nebolo možné. Významný pokrok sa dosiahol pri príprave hy-

bridómov, ktoré vznikli splynutím lymfocytu s nádorovou bunkou. Takto sa do jedného nového organizmu (bunky) včlenili výhodné vlastnosti oboch pôvodných buniek: rýchle, prakticky neobmedzené množenie nádorových buniek v in vitro podmienkach (čo má osobitný význam z hľadiska fermentačnej výroby) a schopnosť lymfocytu vyrábať špecifické obranné protitlátky. Moderná biológia teda predstavuje nevídané, priam fantastické možnosti. Už pomocou prvých biotechnológií nového charakteru možno výrazne zvyšovať produktivitu práce a inovovať biologické produkty. Preto prognostici právom predpovedajú génovému inžinierstvu veľkú budúcnosť.

Biohazardnosť techník génových manipulácií

Na možnosť zneužitia molekulárnej biológie na výrobu nových typov biologických a chemických zbraní upozorňujú aj niektorí významní americkí vedci vrátane nositeľov Nobelovej ceny: J. Lederberg, P. Berg, J. D. Watson, L. Sinsheimer, D. Baltimore, M. Meselson, F. Sanger, R. Novick, M. F. Singer a iní. Uvedení, ako aj mnohí ďalší vedci, začali už začiatkom 70. rokov rozvíjať diskusiu o potenciálnom nebezpečenstve, ktoré by mohlo byť dôsledkom nekontrovaného výskumu v oblasti génových manipulácií (2). O túto problematiku čoskoro začali mať záujem nielen vedci-specialisti, ale aj politici a laická verejnosť, na základe čoho Americká akadémia vied ustanovila komisiu na čele s P. Bergom, ktorá mala vypracovať určité zásady a odporúčenia pre prácu s patogénnymi organizmami a uskutočnenie génových manipulácií s nimi. Do histórie sa osobitne zapísala tzv. Asilomarská konferencia, konaná r. 1975 v kalifornskom meste Asilomar, z ktorej vzišli prvé odporúčenia pre prácu s rekombinantnými molekulami DNA z hľadiska bezpečnosti (3). Celkový záver tejto konferencie, vedenej P. Bergom, odznel ako návrh určitého moratória pre aplikáciu techník rekombinantných DNA izolovaných z patogénov. Na základe tejto aktivity vedcov Národný zdravotnícky ústav USA vydal r. 1976 prvé smernice pre prácu s rekombinantnými DNA (3), čo sa v zápätí uskutočnilo aj v ďalších štátoch vrátane ZSSR. Tieto prvé odporúčenia zakazovali klonovanie vysokopatogénnych kmeňov a tvorbu rekombinantných DNA izolovaných z producentov toxínov. Tieto smernice, vydávané Poradným výborom pre rekombinantné DNA zriadeným pri Národnom zdravotníckom ústave Spojených štátov, postupne prekonali určitú evolúciu, ktorá sa riadila najmä stupňom poznatkov získaných v laboratóriách zaoberajúcich sa génovým inžinierstvom. Spočiatku boli relatívne prísne (9), avšak postupne sa, v dôsledku zdokonalenia bezpečnosti vo výskumných a pracovných priestoroch, zmierňovali. V r. 1978 tieto smernice zakazovali prácu génovo-inžinierskeho charakteru súvisiacu s potenciálnymi toxínmi pre stavovcov. V roku

1980 už boli menej prísne, pretože zakazovali prácu s rekombinantnými DNA, ktorých produkty sú toxické pre stavovce v koncentráciách menších ako 100 ng/kg váhy (botulotoxín, tetanový toxín, difterický toxín, neurotoxín *Shigella dysenteriae*). Práce týkajúce sa ostatných toxínov s nižšou aktivitou už neboli zakazované. Od r. 1983 smernice Poradného výboru pre rekombinantné DNA Spojených štátov v globále však už nezakazujú prácu s rekombinantnými molekulami DNA kódujúcimi akékoľvek toxíny (10). Iba pre experimentovanie s organizmami, resp. s génmi získanými z vysokotoxických kmeňov, je potrebné špeciálne povolenie. Ide najmä o známe toxíny, ktorých LD₅₀ je menšie ako 100 ng/kg živej váhy. Do tejto kategórie okrem vyššie spomenutých toxínov, resp. ich producentov, patria ešte ďalšie vysokotoxické druhy, napr. exotoxín A z *Pseudomonas aeruginosa*, pyrogénny exotoxín A zo *Staphylococcus aureus*, virulentná subjednotka cholerového toxínu a iné. Podmienky pre prácu s rekombinantnými DNA izolovanými z producentov uvedených toxínov sú pravidelne uverejňované v periodiku Recombinant DNA Technical Bulletin, ktorý vydáva Národný zdravotnícky ústav Spojených štátov.

O nevyhnutnosti prísneho dodržiavania bezpečnostných opatrení v mikrobiologických, virologických a iných laboratóriách pracujúcich s vysoko virulentnými patogénmi nás presvedča niekoľko tragických prípadov, z ktorých si uvedme aspoň jeden: Janet Parkerová, pracovníčka mikrobiologického laboratória v Birminghame (Veľká Británia), sa nakazila vírusom čiernych kiahní r. 1978, teda rok po úplnom odstránení tohto vírusu z prírody, a krátko potom zomrela. Prof. Henry Bedson, vedúci tohto pracoviska, uvedomujúc si zodpovednosť za túto tragédiu ako aj možnosť katastrofálnych dôsledkov úniku tohto nebezpečného vírusu do populácie nechránenej imunitáciou, spáchal samovraždu. Každý odborník dobre vie, že vypuknutie epidémie kiahní v Európe by mohlo mať nepredstaviteľné následky. Spomeňme si aspoň historické údaje o epidémiách kiahní, ktoré napr. v 17. storočí zavinili smrť polovice obyvateľstva Európy. Ešte do polovice nášho storočia Svetová zdravotnícka organizácia zaznamenávala každoročne 2,5 milióna ochorení na kiahne najmä v tropických a subtropických oblastiach Ázie, Afriky a Južnej Ameriky. Cieľavedomým, vyše 10 ročným úsilím Svetovej zdravotníckej organizácie čierne kiahne boli z prírody úplne odstránené v r. 1977 (na tomto humanitnom programe sa významne podieľal aj prof. Karel Raška, stály zástupca ČSSR v epidemiologickom oddelení Svetovej zdravotníckej organizácie v Ženeve). Vírus čiernych kiahní z vedecko-výskumných dôvodov však ostal zachovaný v niekoľkých laboratóriách, v ktorých sú veľmi prísne zariadenia zabráňujúce infikovaniu pracovníkov a úniku vírusu do okolia.

Rozhodnutie o zachovaní vírusu čiernych kiahní nebolo motivované možnosťou prípravy vakcíny, pretože na tento účel sa už od čias Jennera aplikuje vírus kravských kiahní, ale boli to tieto dôvody: Jednou z hlavných povinností biologických vied je zachovať všetky formy živej hmoty, čo sa uskutočňuje rôznymi postupmi, najnovšie napr. formou tzv. génových baniek. Preto uvedené nebezpečné formy vírusov sú zachovávané nielen z dôvodov ochranných (ako doklad komplexného vývoja života), ale aj z potenciálne praktických dôvodov: detailné spoznanie genetického zloženia nebezpečných vírusov možno perspektívne považovať za prostriedok pre génové inžinierstvo, napr. ako zdroj špecifických génov na prípravu očkovacích látok. Z uvedených dôvodov povinnosťou vedy je udržiavať vírus čiernych kiahní do tých čias, kým sa nepodarí rozlúštiť presné poradie stavebných jednotiek jeho genetického záznamu a pokiaľ ho nebudeme vedieť synteticky vyrobiť. Vzhľadom na nebezpečnosť vírusu čiernych kiahní pre populáciu nechránenú imunitou sa dohodlo na pôde WHO, že iba štyri vedecké ústavy na svete (v Moskve, Londýne, Tokiu a Atlante) ho môžu dočasne udržiavať.

Špekulácie o možnosti prípravy nového typu biologických zbraní

V dôsledku skúseností vyplývajúcich z nariadení o sprísnení bezpečnostných predpisov sa ukazuje, že obavy z nakazenia patogénmi sú relatívne neopodstatnené. V biohazardných laboratóriách prispôbených pre prácu s vysokovirulentnými zárodkami možno pomocou metód génového inžinierstva klonovať a pomnožovať vírusové genómy v hostiteľských bakteriálnych bunkách, čím na rozdiel od klasických kultivačných metód riziko infekcie sa výrazne zníži. Takýmto spôsobom môžu byť pomnožené aj vysokopatogénne vírusy typu Lassa, Marburg, Ebola, čiernych kiahní a iné. Únik vírusu čiernych kiahní z laboratória, alebo jeho rozšírenie sabotážnym aktom predstavuje nesmierne nebezpečenstvo pre populáciu nechránenú imunitou. Tento vírus by mohol patriť medzi ideálne biologické zbrane, pretože vďaka svojej stabilite je relatívne jednoducho kultivovateľný, ľahko sa upravuje do aerosolu a spôsobuje zákernú chorobu sprevádzanú vysokou úmrtnosťou.

Za veľmi nebezpečné treba považovať pokusy o výmenu vírusových obalov. Pomocou tohto postupu by bolo možné včleniť genóm vysokopatogénneho vírusu do obalu pripraveného z úplne odlišných vírusov, v dôsledku čoho vakcinácia by bola neúčinná. Boli zverejnené výsledky pokusov, v ktorých membránové vezikuly izolované zo Sendai vírusu sa použili ako nosiče pre vnášanie vírusovej DNA (SV40) do cicavčích buniek (8). Uvažuje sa aj o možnosti prípravy syntetického génu, ktorý by bol spolu s príslušnými enzýmami zabalený do

obalu izolovaného z iných vírusov, resp. do mikrokapsúl pripravených synteticky. Podobný negatívny efekt vakcinácie môže spôsobiť zmena v štruktúre povrchových obalov vyvolaná riadenou mutagenézou. Existujú už údaje o tom, že vírusy možno považovať za vhodné vektory pre niektoré gény izolované z iných vysokopatogénnych vírusov. Napr. gén pre povrchový antigén vírusu hepatitídy B (HBsAg) bol rekombinantnou technikou vnesený do vírusu vakcínie (11).

Pri aplikácii génových manipulácií na patogénne baktérie sa spravidla vychádza zo skúseností získaných pomocou niekoľkých modelových organizmov najmä *Escherichia coli* a *Bacillus subtilis*. Naviac je preštudovaná črevná tyčinka *Escherichia coli*, ktorá našla široké uplatnenie aj vo fermentačnej výrobe ľudských hormónov a iných biologicky aktívnych látok. U každého nového druhu plánovaného pre génové manipulácie je treba preveriť podmienky stabilizácie a realizácie vnesenej cudzorodej genetickej informácie a treba si uvedomiť, že môžu existovať odlišnosti v restriktčno-modifikačných systémoch a iných bunkových mechanizmoch, ktorých prekonanie je nevyhnutnou podmienkou pre úspešnú introdukciu a realizáciu cudzorodých génov.

Na základe doterajších úspechov pri génových manipuláciách s baktériami možno predpokladať, že týmito technikami by sa dala výrazne zvýšiť najmä virulencia baktérií, ktorá je riadená skupinami génov kódujúcich syntézu povrchových antigénov, endo a exotoxínov i génov zodpovedných za hemolýzu, adhérenciu, rezistenciu na chemoterapeutiká, ultrafialové žiarenie, vysušenie atď. Technikami génových manipulácií je možné preniesť vlastnosti virulencie do nového hostiteľa, napr. do črevnej tyčinky. Poznáme už niekoľko príkladov nielen prenesenia, ale aj exprese génov z jedného bakteriálneho druhu do iného. Napr. gény pre syntézu cholerového toxínu boli úspešne prenesené do *Escherichia coli* (7). Takéto novo vytvorené organizmy môžu predstavovať zvlášť veľké nebezpečenstvo z hľadiska ochrany: diagnostika pôvodcu choroby bude nespoľahlivá a konfúzna v dôsledku zmeny markerov, ktoré sa rutinne využívajú pri klasifikačných postupoch, a vakcinácia proti pôvodnému patogénovi produkujúcemu toxín bude absolútne neúčinná. Neúčinnosť vakcinácie možno dosiahnuť aj zmenami povrchových antigénov, ktoré sa dajú indukovať buď technikami génových manipulácií, alebo klasickými genetickými postupmi, najmä aplikáciou mutagénov. Z uvedeného vyplýva, že patogénne mikroorganizmy môžu byť menené najrôznejšími spôsobmi a to prakticky neobmedzene, v dôsledku čoho je nepredstaviteľne zložitá vyvinúť voči nim ochranné prostriedky. Ak by sa mala vyvinúť účinná ochrana proti takýmto komplikovaným chimérmym organizmom, muselo by sa presne vedieť, k akým zmenám

v nich došlo. V tejto súvislosti treba opäť zdôrazniť, že existuje takmer nevyčísliteľné množstvo možností vytvorenia nových vlastností chimérneho mikróba.

Podobná situácia nastala aj v oblasti prípravy toxínov pomocou manipulovaných baktérií. V súčasnosti je možné viacerými spôsobmi (včlenením regulačnej oblasti — promotora, amplifikáciou, resp. zmnožením príslušného génu, vnesením cudzorodého génu kódujúceho toxín do nového nosiča atď.) uskutočniť takú modifikáciu baktérií, pri ktorej sa dostaví zvýšená syntéza toxínov. Na základe doterajších poznatkov možno predpokladať, že v dôsledku spoznania vzťahov medzi štruktúrou a funkciou toxínov bude možné modifikovať ich štruktúru v smere zvýšenia toxicity. V súvislosti s týmto sa počíta aj s umelou prípravou toxínov prírodného pôvodu a ich modifikáciou. Synteticky boli už pripravené viaceré toxíny: convalexin, tetroxin, brachtoxin, saxitoxin, kobratoxin a iné. Na základe spoznania štruktúry a mechanizmu účinku prírodných toxínov bude možné pripraviť látku syntetickým spôsobom so zvýrazneným toxickým účinkom. Okrem toho syntetická príprava toxínov umožňuje vyrobiť toxické deriváty s viacerými výhodnými vlastnosťami z hľadiska ich plánovaného účelového uplatnenia, ako je stabilita a možnosť dlhšieho skladovania.

Po dokonalom spoznaní genetických, biochemických a fyziologických vlastností patogénov nebude ťažké uskutočňovať génové manipulácie v smere prípravy zvláštnych typu chimér s novými komplexnými vlastnosťami, ako je patogenita, virulencia, toxicita atď. Spoznanie charakteru cieľových orgánov z hľadiska citlivosti, resp. mechanizmu účinku biologických a chemických zbraní, umožní vývoj nových chimérnych patogénov so špecifickejšími a účinnejšími vlastnosťami.

Pomocou techník rekombinantných DNA možno výrazne zefektívniť výrobu a vývoj nových typov chemických a biologických zbraní. Tieto biotechnologické postupy sa dajú uskutočňovať *in vitro*, čiže bezpečne, s relatívne malým rizikom infikovania pracovníkov a to aj pri veľkoprodukcii chimérneho patogéna. Technika rekombinácie DNA zabezpečuje vznik organizmov so želanými vlastnosťami, ktoré sú relatívne stabilné i pri dlhodobom skladovaní. Týmto technikami sa dajú pripraviť organizmy s takými vlastnosťami, ktoré z hľadiska vojnových, resp. záškodníckych akcií by boli zvlášť efektívne (možnosť výhodnej distribúcie rôznymi spôsobmi, presné stanovenie inkubačnej doby a perzistencia patogéna na napadnutom území, spoľahlivé vyvolanie želaného efektu, ako je obmedzenie bojových schopností, choroba až smrť, možnosť spoľahlivej ochrany samotného útočníka atď.). Pomocou metód založených na rekombinácii DNA by bolo možné vyrobiť také nové formy mikroorganizmov, ktoré by sa vlastnosťami tak výrazne

líšili od svojich rodičov, že by boli klasifikované ako úplne nové formy patogénov spôsobujúcich neznáme choroby, v dôsledku čoho účinná ochrana voči nim by prakticky neexistovala.

Konvencia o zákaze vývoja, výroby a použitia biologických a chemických zbraní

Valné zhromaždenie OSN dňa 16.12.1971 prejednávalo návrh „Konvencie o zákaze vývoja, výroby a skladovania bakteriologických (biologických) a toxických zbraní a o ich zničení“ [6], ktorá bola podpísaná 10.4.1972 troma veľmocami (ZSSR, USA, Veľká Británia) a neskôr ďalšími štátmi (do septembra 1986 Konvenciu podpísalo 102 členských štátov OSN), avšak v skutočnosti nadobudla platnosť až po ratifikovaní príslušnými parlamentami uvedených troch mocností (26.3.1975). V preambule tejto Konvencie sa signatári zaväzujú kompletne vylúčiť možnosť použitia bakteriologických (biologických) druhov a toxínov ako zbraní. V článku I. tejto Konvencie sa signatári zaväzujú, že nikdy nebudú vyvíjať, produkovať ani skladovať mikrobiálne alebo iné biologické druhy a toxíny pre iné ako profylaktické, ochranné alebo ďalšie mierové účely. Táto Konvencia mala byť základom aj pre renesanciu zákazu použitia chemických zbraní, ako to jednoznačne dokumentuje článok IX. tejto Konvencie. Zaradenie oboch typov zbraní pod jedného menovateľa v úsilí o všeobecné odzbrojenie je logické, čo vyplýva aj z charakteristiky týchto typov zbraní. Úsilie o súčasný zákaz oboch typov zbraní je plne opodstatnené nielen na základe ich charakteru a mechanizmov pôsobenia na živú hmotu, ale aj preto, že preventívne zabraňuje možnosti obídovania výkladu Konvencie. Ako je však známe, západné mocnosti pod rôznymi zámienkami problematiku chemických zbraní odčlenili od Konvencie a napokon r. 1980 tento dialóg jednostranne prerušili; začalo sa v ňom pokračovať až v r. 1986.

Na základe tejto Konvencie by mali byť vylúčené z výskumu a výroby také biotechnológie, produktom ktorých by boli mikróby, resp. toxíny pre vojenské ciele. Je tu však niekoľko momentov, ktoré možno využiť na obídovanie, resp. zoslabenie účinnosti uvedenej Konvencie. Predovšetkým treba povedať, že nie všetky štáty Konvenciu podpísali. Tiež prístupy k výkladu Konvencie môžu byť nesúrodé: napr. našli sa aj takí „odborníci“, ktorí osobitným výkladom Konvencie pripúšťali možnosť uplatnenia génového inžinierstva pri vývoji nových biologických zbraní. Zdôvodňovali to tým, že v období podpisania Konvencie génové inžinierstvo ešte prakticky neexistovalo, a preto predpisy, ktoré Konvencia určuje, sa naň nevzťahujú. A napokon za najzávažnejšiu slabinu možno považovať skutočnosť, že skúsenosti z tejto vednej disciplíny možno okamžite uplatniť aj pre nehumánne ciele. V článku I. tejto Konvencie sa signatári zaväzujú, že nikdy nebudú

produkovať mikrobiálne alebo iné biologické druhy a ich toxíny pre iné ako profylaktické, ochranné alebo ďalšie mierové účely. Avšak ako možno predísť tomu, aby kmene baktérií, do ktorých boli vnesené gény zodpovedné za produkciu určitého vysokotoxického jedu, pôvodne pripravené za účelom prípravy ochranných vakcín, neboli za určitých okolností zneužitú na diverzné a útočné ciele?

Na prvej konferencii signatárskych štátov tejto Konvencie, konanej v Ženeve r. 1980, v spoločnom dokumente, ktorý pripravil Sovietsky zväz, USA a Veľká Británia, sa konštatuje, že za súčasných možností aplikácie moderných molekulárne biologických metód pri manipulovaní s genetickým materiálom, prípadný vývoj úplne nových nebezpečných mikróbov a ich toxínov, je potrebné považovať za „nekontrolovateľný komplex“. Avšak aby sa už urobil koniec svojvoľným výkladom Konvencie, signatári v závere tohto dokumentu jednoznačne zdôrazňujú, že Konvencia z r. 1972 plne pokrýva zákaz vojenskej aplikácie všetkých organizmov a toxínov vrátane tých, ktoré by mohli byť výsledkom aj génových manipulácií.

Viacerí vedci považujú medzinárodnú registráciu všetkých laboratórií uskutočňujúcich projekty na báze génových manipulácií, výmenu vedeckých pracovníkov a rôznych informácií za účinný prostriedok na prevenciu možnosti zneužitia výsledkov molekulárnej biológie pre prípravu nového typu biologických zbraní. Treba zdôrazniť, že Konvencia z r. 1972 podobné postupy aj predpokladá, pretože článok X. uvádza, že „signatárske štáty si budú vymieňať prístroje, materiály, vedecké a technologické informácie o možnostiach využitia biologických druhov a toxínov pre zdravotnícke alebo iné mierové účely“.

Využívanie génového inžinierstva v armáde USA

V poslednom období sa v USA oficiálne uskutočňujú rôzne experimenty s rekombinantnými molekulami DNA, ktoré oprávnené vzbudzujú obavy z možného zneužitia výsledkov pre vojenské účely [4, 5, 12, 13]. Ministerstvo obrany USA opakovane oznamovalo, že výskum, ktorý uskutočňujú, je orientovaný iba na ochranu pred zvlášť nebezpečnými patogénmi. V tomto zmysle vyvíjajú rôzne ochranné prostriedky proti niektorým choroboplodným mikróbom, ktoré by mohli byť zvlášť nebezpečné, napr. vakcíny proti sneti slezinnej, niektorým ťažko liečiteľným rickettsiovým a vírusovým chorobám, proti malárii, trypanozomiazam atď. O tom, že tieto nové metódy, využívajúce poznatky z oblasti génových manipulácií, sú zatiaľ ekonomicky náročné svedčí skutočnosť, že Ministerstvo obrany USA v 80. rokoch podstatne zvýšilo výdaje na biologický výskum [11]. Napr. výdaje na tzv. defenzívne biologické prostriedky sa zvýšili z 31 miliónov US dolárov

v r. 1984 na 63 miliónov US dolárov v roku 1987 [1].

Od r. 1980 v zariadeniach Ministerstva obrany, resp. v univerzitných a súkromných laboratóriách, na základe objednávky Ministerstva obrany Spojených štátov sa začalo realizovať 15 projektov, ktoré využívajú metódy rekombinácie DNA [12]. V septembri 1980 americká armáda začala práce na realizácii implantácie ľudského génu riadiaceho syntézu acetylcholinesterázy do baktérií *Escherichia coli* s cieľom fermentačnej výroby tohto enzýmu. Nervové plyny zamedzujú funkciu acetylcholinesterázy, preto mierové využitie tohto projektu zdôvodňujú potrebou presného spoznania funkcie tohto enzýmu, t.j. mechanizmu prenosu nervových vzruchov a vývoja príslušných liečiv. Tento projekt zadali šiestim nezávislým skupinám. S touto problematikou súvisí aj ďalší projekt, ktorý sa zaoberá klonovaním génu izolovaného zo sépie, kódujúci enzým diizopropylfosorofluoridhydrolázu. Je to špecifický enzým, ktorý detoxifikuje orgánofosforové nervové jedy.

Ostatné projekty sa zaoberajú prípravou vakcín pomocou génových manipulácií. Konkrétne ide o klonovanie ochranných antigénových génov z *Bacillus anthracis*, špecifických glykoproteínových génov afrických trypanozóm, génov zodpovedných za syntézu bunkových stien u *Rickettsia conorii* a rickettsiových antigénových génov. Na základe objednávky vojnového námorníctva USA na Kalifornskej univerzite v San Diegu riešia zvláštny projekt zaoberajúci sa molekulárnymi základmi biodeteriorácie ponorených častí lodí a kovových konštrukcií v prístavoch a iných zariadeniach. Ďalšie projekty americkej armády sa zaoberajú štúdiom mykotoxínov, mechanizmami ich účinku, biosyntézy atď.

Všetky doterajšie prehlásenia vlády USA ubezpečujú, že uvedené výskumy uplatňujúce metódy génového inžinierstva nesmerujú k výrobe biologických zbraní, ale že ide iba o vývoj ochranných prostriedkov proti takým organizmom a jedom, ktoré by mohli za určitých situácií predstavovať nebezpečné riziká. A toto pripúšťa aj Konvencia o zákaze vývoja a výroby biologických zbraní z r. 1972. Treba však povedať, že v praxi ťažko určiť hranicu, kedy vývoj takýchto prostriedkov má obranný a kedy útočný charakter. V mnohých prípadoch to môže byť iba otázka kvantity, resp. konečnej aplikácie. Napr. príprava monoklonálnych protilátok má význam nielen z hľadiska diagnostiky, purifikácie proteínov, kvantitatívneho stanovovania produktov, ale tiež z hľadiska možnosti výroby efektívnych biologických zbraní a pasívnej imunizácie proti biologickým a chemickým zbraňam. Uvedme si ďalší príklad: exaktné objasnenie funkcie acetylcholinesterázy pomôže spoznať detaily prenosu nervových vzruchov, čo však súčasne otvára možnosť prípravy účinnejších a špecifickejších

nervových jedov. Preto už púhe teoretické špekulácie o využití najnovších poznatkov modernej biológie pre konštrukciu nového typu smrtonosných biologických zbraní sú amorálnosťou, ktorú možno považovať za historickú paralelu konštrukcie atómových a iných podobných zbraní masového ničenia. Preto povinnosťou vedcov je dôrazne upozorňovať, že terajšie obdobie rozkvetu molekulárnej biológie v určitých rysoch pripomína obdobie príprav na výrobu jadrových zbraní v štyridsiatych rokoch.

Analógia s počiatkami atómovej fyziky

Anglickí vedci R. Peierls a O. Frisch na základe dovtedajších teoretických poznatkov už r. 1940 predpovedali možnosť konštrukcie atómovej bomby. Pri vyslovovaní obáv z možnosti zneužitia získaných poznatkov na konštrukciu takejto zbrane hromadného ničenia viacnásobne varovali, že by to bol čin proti ľudskosti. Ako je známe, neskôr sa výskum tohto druhu koncentroval v USA a dostal kódové označenie Manhatanský projekt. Slúži ku cti, že prakticky všetci vedci, ktorých výsledky výskumu nejakým spôsobom prispeli k vytvoreniu atómovej zbrane, varovali pred jej použitím. Neskôr sa mnohí z nich dostali do čela hnutia proti použitiu atómových zbraní a na ich účinnú medzinárodnú kontrolu. V tomto smere vystupoval Niels Bohr počas vyžiadaných prijatí u Churchilla v lete 1944, podobne aj L. Szilard, ďalší z iniciátorov prác na atómovom projekte v Los Alamos. Dva mesiace pred vojenským použitím atómovej zbrane v Japonsku vedci združení v Chicagskom laboratóriu intenzívne upozorňovali na negatívne dôsledky použitia atómovej bomby a v osobitnom memorande navrhovali uzatvoriť účinnú medzinárodnú dohodu o kontrole nad jadrovými zbraňami. Prezieravo upozorňovali, že tajomstvo atómovej zbrane v dôsledku publikovaných teoretických prác nemôže byť dlho udržané a že vojenské použitie tohto nového ničivého prostriedku bude znamenať eskaláciu pretekov v zbrojení. Preto je prirodzené, že viacerí atómoví vedci sa neskôr zapojili do Pugwashského mierového hnutia vedcov. Mnohí poprední atómoví fyzici, vrátane otca atómovej bomby R. Oppenheimera, v otázkach vojenskej aplikácie vedeckých poznatkov jednoznačne vyjadrovali svoje humanitné stanoviská a neskôr ostro protestovali proti prípravám na konštrukciu vodíkovej bomby a ďalších prostriedkov masového ničenia.

Preteky smrti

Na súčasné „preteky smrti“ na našej Zemi ľudstvo vynakladá ročne asi 800 miliárd dolárov. Každú hodinu sa vyplytvá najmenej 90 miliónov dolárov na zbrojné účely. Pritom odborníci v OSN vypočítali, že na odstránenie chronického hladu a podvýživy, najrozšírenejších chorôb a negramotnosti by stačilo použiť iba 5 % ročných výdavkov na zbrojenie. Je neuvěřiteľné, že za takéhoto vysokého stupňa ci-

vilizácie musí ročne zomierať na podvýživu a hlad 40 miliónov ľudí — z toho polovica detí.

Podľa prameňov Štockholmského medzinárodného ústavu pre štúdium svetových problémov a konfliktov (SIPRI) je do vojnových príprav zapojených či už priamo, ale nepriamo asi 70 miliónov ľudí. Na vojenské ciele sa používa 5—10 % základných surovín, z ktorých mnohé sú veľmi vzácne. Odhaduje sa, že až 40 % nákladov na vedecké výskumy sa vzťahuje na vojenskú oblasť. To znamená, že vojenský výskum odčerpáva obrovskú časť vedeckých síl, ktoré by mohli byť využité na urýchlenie užitočného rozvoja ľudského poznania. Zastavením nezmyselného zbrojenia by sa uvoľnilo z vojenského výskumu minimálne dva milióny vedcov, ktorí by sa mohli zapojiť do riešenia významných globálnych problémov, ako je odstránenie hladu, chorôb a negramotnosti, ochrana prírody pred ekologickými a prírodnými katastrofami a pod. Keby imperializmus nenútil ľudstvo do vysilujúcich pretekov v zbrojení, dosiahnutý stupeň poznania sveta by už bol značne väčší. Výsledky vojenskej vedy prinášajú v skutočnosti pramálo úžitku pre ľudstvo, ale naopak, znamenajú preň veľké riziko. Už z tejto jednoduchkej kalkulácie vyplýva, že militarizácia vedy je jednou z hlavných súčastí hrozieb svetovej katastrofy, ktorú vyprodukoval imperializmus.

Súhrn

Na základe doterajších úspechov na poli molekulárnej biológie možno konštatovať, že pomocou techník génových manipulácií sa dajú pripraviť nové typy biologických zbraní mimoriadnej účinnosti a to najmä v dôsledku týchto možností: Do jedného organizmu sa dajú zoskupiť najrôznejšie vlastnosti (virulencia, toxicita, zmena antigénnej štruktúry, multirezistencia atď.) pochádzajúce z taxonomicky vzdialených organizmov, v dôsledku čoho bude pochopiteľne sťažená identifikácia použitého agens a tým nedostatočne účinná ochrana proti nemu. Pri tomto zvlášť nebezpečným momentom môže byť skutočnosť, že technikami génových manipulácií sa dajú odstrániť druhové bariéry (napr. živočíšne i rastlinné toxíny môžu byť produkované baktériami), čo klasickými genetickými postupmi nebolo možné. Pomocou génových manipulácií sa dajú vyrobiť nielen účinnejšie toxíny, ale dá sa zabezpečiť aj ich superprodukcia (napr. amplifikáciou príslušného génu). Stratégia takéhoto nového typu chimérnych bojových biologických prostriedkov predpokladá využitie najmä momentu prekvapenia, resp. záškodnícku činnosť. Výhody pre útočiacu stranu by boli mimoriadne priaznivé, pretože by poznala účinné prostriedky ochrany proti nemu (imunizácia, špecifická chemoterapia). Situáciu napriek Konvencii o zákaze vývoja biologických zbraní z roka 1972 komplikuje skutočnosť, že veľmi ťažko

sa kladie hranica určujúca, do akej miery základný výskum aplikujúci techniku rekombinantných DNA bude slúžiť k mierovým účelom a kedy k zneužitiu výsledkov vedy pre vojenské, resp. záškodnícke ciele. Konverzia získaných poznatkov v oblasti génových manipulácií na účelové prostriedky je totiž veľmi jednoduchá.

Literatúra

1. BEARDSLEY, T.: New view from the Pentagon. *Nature*, 323, 1986, s. 5.
2. BERG, P. - BALTIMORE, D. - BOYER, H. W. - COHEN, S. N. - DAVIS, R. W. - HOGNESS, D. S. - NATHANS, D. - ROBLIN, R. - WATSON, J. D. - WEISSMAN, S. - ZINDER, N. D.: Potential biohazards of recombinant DNA molecules. *Science*, 185, 1974, s. 303.
3. BERG, P. - BALTIMORE, D. - BRENNER, S. - ROBLIN, R. O. - SINGER, M. F.: Summary statement of the report submitted to the Assembly of Life Sciences of National Academy of Sciences and approved by its Executive Committee on 20 May 1975. *Science*, 188, 1975, s. 991—994.
4. BUDIANSKY, S.: US looks to biological weapons. *Nature*, 297, 1982, s. 615—616.
5. BUDIANSKY, S.: No NIH ban. *Nature*, 298, 1982, s. 111.
6. Convention on the prohibition of the development, production and stockpiling of bacteriological (biological) and toxin weapons and on their destruction. United Nations Resolution, 26, 1972, č. 2826, s. 1—14.
7. GENNARO, M. L. - GREENAWAY, P. J. - BROADBENT, D. A.: The expression of biologically active cholera toxin in *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Research*, 10, 1982, s. 4883—4890.
8. LOYTER, A. - VAINSTEIN, A. - GRAESSMANN, M. - GRAESSMANN, A.: Fusion-mediated injection of SV40-DNA. *Experimental Cell Research*, 143, 1983, s. 415—425.
9. Recombinant DNA Research Guidelines. U.S. Federal Register, 41, 1976, s. 27902—27913.
10. Recombinant DNA Research Guidelines. U.S. Federal Register, 48, 1983, s. 24556—24581.
11. SMITH, G. L. - MACKETT, M. - MOSS, B.: Infectious vaccinia virus recombinants that express hepatitis B virus surface antigen. *Nature*, 302, 1983, s. 490 až 495.
12. WRIGHT, S. - SINSHEIMER, R. L.: Recombinant DNA and biological warfare. *Bulletin of the Atomic Scientists*, 39, 1983, s. 20—26.
13. YANCHINSKI, S.: Genetic engineers campaign againsts gene warfare. *New Scientist*, 94, 1982, s. 827.

Kľúčové slová: Biologické zbrane; Chemické zbrane; Génové inžinierstvo; Rekombinantné DNA; Konvenčia o zákaze vývoja, výroby a použitia biologických a chemických zbraní.