

Zamierzone i nieprzewidywalne efekty transgenezy roślin GM2



Iwona Kosieradzka, Marta Matusiewicz

Katedra Żywnienia i Biotechnologii Zwierząt SGGW w Warszawie

Techniki rekombinacji DNA umożliwiają wprowadzenie genów kodujących syntezę białek odpowiedzialnych za wytwarzanie w jadalnych częściach rośliny substancji zwiększających wartość odżywczą i dietetyczną. Takie transgeniczne rośliny, tzw. rośliny GM2 (genetycznie modyfikowane organizmy drugiej generacji), mogą być wartościowymi komponentami pasz i żywności. Biofortyfikacja diety poprzez modyfikację genetyczną surowców akumulujących wysokiej jakości składniki pokarmowe, mikroskładniki czy bioaktywne substancje o działaniu prozdrowotnym to strategia warta rozważenia zarówno w kontekście problemu niedożywienia w krajach rozwijających się, jak i zwiększenia atrakcyjności diety ludzi w krajach wysokorozwiniętych. W Unii Europejskiej jak dotąd żadna odmiana GM2 nie zyskała prawnej akceptacji jako składnik żywności i paszy. Jednak w różnych krajach świata zarejestrowano szereg produktów o zmienionych cechach jakościowych (tab. 1).

Tabela 1

Przykłady skomercjalizowanych GM2 – roślin konsumpcyjnych i paszowych o zmienionych cechach jakościowych [7]

Roślina	Liczba produktów GM	Przykładowe zmodyfikowane cechy zmieniające wartość odżywczą
Rzepak (kanola)	7	synteza fitazy, kwasu laurylowego, termostabilnej alfa-amylazy
Kukurydza	11	nadprodukcja lizyny, fitazy, termostabilnej alfa-amylazy
Ziemniaki	1	nadprodukcja amylopektyny
Soja	7	zwiększenie koncentracji jednonienasyconych kwasów tłuszczowych, kwasu oleinowego, ograniczenie koncentracji kwasów nasyconych, kwasów omega 3, kwasu stearynowego
Pomidor	1	spowolnione dojrzewanie (starzenie się) owoców, ograniczenie produkcji etylenu
Ryż	1	zwiększenie tolerancji białek alergicznych cedru
Melon	2	spowolnione dojrzewanie (starzenie się) owoców, ograniczenie produkcji etylenu

Stanowiące składnik pożywienia rośliny GM2 mogą być źródłem substancji o oddziaływaniu immunomodulacyjnym, detoksyfikacyjnym, antykancerogennym, źródłem deficytowych składników pokarmowych i białek terapeutycznych, komponentem specjalnych diet dedykowanych konsumentom z problemami zdrowotnymi (np. alergikom), mogą mieć szczególnie pożądane, atrakcyjne dla wielu grup konsumentów cechy sensoryczne. Wykorzystanie roślin GM2 jako paszy stwarza możliwość wpływu na stan zdrowia i produktywność zwierząt, zwiększania wartości i atrakcyjności produktów pochodzenia zwierzęcego, a nawet ograniczenia wydalania N i P do środowiska. W paszowych roślinach GM2 możliwe jest wykształcenie cech ułatwiających prze-

chowowanie i przetwarzanie pozyskiwanych z nich surowców, ograniczenie koncentracji substancji o działaniu antyodżywczym i zwiększenie zawartości substancji o znaczeniu prozdrowotnym. Wykorzystując techniki inżynierii genetycznej zmodyfikowano między innymi profil kwasów tłuszczowych (np. w rzepaku i soi) oraz aminokwasów (np. w kukurydzy, łubinie, soi); zmniejszono zawartość niedostępnych dla organizmu konsumenta form fosforu, fitynianów (np. w kukurydzy, ryżu, soi, pszenicy) albo zwiększono zawartość endogennej fitazy (np. w lucernie, kukurydzy); zwiększono zawartość antyoksydantów – polifenoli, witamin (lucerna, rzepak, kukurydza, pomidor, ryż i in.); zmodyfikowano frakcję węglowodanową tkanek roślinnych przez ograniczenie syntezy włókna, ligniny (np. w lucernie) i wzmocnienie syntezy skrobi, amylozy, inuliny (w ziemniakach); pozyskano rośliny ziemniaka o mniejszej zawartości solaniny i rośliny bawełny zawierające mniej (nawet o 70%) antyodżywczego gossypolu [6].

Mimo bezdyskusyjnych zalet roślin GM2, jak również potencjalnie szerokiej skali ich zastosowań w żywieniu ludzi i zwierząt, nie spotykają się one z pełną akceptacją ze strony konsumentów oraz producentów żywności i pasz. Europejskie społeczeństwo z większą przychylnością niż do produktów transgenezy odnosi się do GM2 pozyskiwanych metodą cisgenezy i intragenezy [3], tj. roślin, w modyfikacji których używa się kaset ekspresyjnych skonstruowanych z genów i elementów regulatorowych tego samego lub blisko spokrewnionego gatunku. Z tą technologią tworzenia GMO związana będzie prawdopodobnie przyszłość roślin o zwiększonej wartości odżywczej.

Procedura oceny bezpieczeństwa GMO [2] pozwala na wyeliminowanie z postępowania zmierzającego do autoryzacji i wprowadzenia na rynek produktów o niekorzystnych zmianach w składzie chemicznym. Jeśli badanie historii użycia dawcy i biorcy genów, analiza przebiegu ścieżki metabolicznej, w którą ingeruje modyfikacja nasuwa podejrzenie o potencjalnej możliwości wystąpienia niekorzystnego efektu transgenezy lub badania poprzedzające komercjalizację wykażą istnienie zagrożenia dla konsumentów, zaprzestaje się dalszych działań. Wszechstronne zbadanie niezamierzonego, nieprzewidywalnego efektu dla GM2 wymaga użycia zaawansowanych technik laboratoryjnych, pozwalających na ocenę transkryptomu, proteomu i metabolomu, a też cyklu doświadczeń na zwierzętach modelowych i tzw. gatunkach zwierząt docelowych. Podobne procedury oceny proponuje się dla różnych roślin konsumpcyjnych uzyskanych poprzez zastosowanie technik regulacji ekspresji genów za pośrednictwem RNA [18].

Obawy konsumentów mogą wynikać z poczucia zagrożenia związanego z niebezpieczeństwem wykształcenia w zmodyfikowanej roślinie nie tylko zaplanowanych zmian w składzie, ale także cech niepożądanych, będących skutkiem ingerencji w genom i efektem zmiany przebiegu procesów metabolicznych (rys.).

Niezamierzone, niezaplanowane zróżnicowanie składu i wartości odżywczej może być skutkiem oddziaływania stresów związanych z wykorzystywanymi w transformacji technikami lub też wynikać z pleiotropowych efektów wprowadzenia DNA, wpływu otoczenia miejsca integracji DNA i jego struktury na ekspresję genów czy też mutacji genowych wywołanych transgenezą. Doskonalenie technik i narzędzi wykorzystywanych w procesie modyfikacji zmniejsza ryzyko wystąpienia nieoczekiwanych zmian



Rys. Przewidywalne i nieprzewidywalne efekty transgenezy GM2 (wg Cellini i wsp. [1])

Tabela 2

Przykłady zidentyfikowanych niezamierzonych efektów transgenezy roślin GM2 (wg Halsberger [4] i Lehesranta [16])

Roślina	Zmieniona cecha – efekt transgenezy	
	zamierzony	niezamierzony
Rzepak (kanola)	wzrost zawartości karotenoidów	wzrost zawartości kwasu oleinowego, linolowego i linolenowego oraz tokoferolu
Ziemniak	wzrost zawartości inuliny, ekspresja glicyniny sojowej	wzrost zawartości glikoalkaloidów
Ryż	ekspresja glicyniny sojowej, zmniejszenie gluteliny	wzrost prolaminy, białka ogólnego, witaminy B6 (nawet o 50%)
Pszennica	wzrost zawartości beta-glukanazy, chitanazy, oksydazy glukozowej	fitotoksyczność

w metabolizmie i składzie tkanek roślin. Należy jednak pamiętać, że z niezaplansowanymi i niekorzystnymi efektami mamy także do czynienia w sytuacji doskonalenia roślin tradycyjnymi metodami, a Herman i Price [5] uważają nawet, że prowadzone od 20 lat badania GMO upoważniają do stwierdzenia, że transgeneza w mniejszym stopniu wpływa na niezamierzone zmiany składu niż tradycyjna hodowla. Ekspresja genów odpowiedzialnych za syntezę niepożądanych substancji, stanowiących potencjalne zagrożenie dla konsumenta, może więc być zarówno efektem biotechnologicznej, jak i konwencjonalnej hodowli. Zmiany w składzie chemicznym i wartości roślin, niezgodne z oczekiwanym efektem, odnotowano na przykład w wyniku prac nad odmianami selera

Tabela 3

Przykłady zidentyfikowanych w analizie porównawczej składu chemicznego tkanek jadalnych części roślin GM2 i ich izogenicznych odpowiedników badanych w KŻiBZ [9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20] i nieopublikowane badania własne]

Roślina	Cel transgenezy	Efekt przewidywany i nieprzewidywany	
		wzrost zawartości	zmniejszenie zawartości
Pomidory (owoce)	ekspresja taumatyny	włókno surowe, lignina, beta-karoten	likopen
Ogórki (owoce)	ekspresja taumatyny	włókno surowe, lignina, olejki eteryczne, lepszy zapach i smak	kukurbitacyna w skórce
Ziemniaki (bulwy)	ekspresja CHI, CHS, DFR, GT	flawonoidy (antocyjany, pelargonidyna, petunidyna i inne), skrobia	witamina C
	represja/nad-ekspresja 14-3-3	polifenole, egzogenne aminokwasy, glikoalkaloidy, białko ogólne, Fe	witamina C
Len (nasiona i olej)	ekspresja CHI, CHS, DFR	polifenole, kempferol, kwercetyny, flawanony, kwas kawowy, frulowy, kumarowy, plasochromanol-8, beta-karoten, SDG, MUFA, Pb, Cd, Cr, Fe	glikozydy cyjanogenne, PUFA

CHI – izomeraza chalkonu, CHS – syntaza chalkonu, DFR – reduktaza dihydroflawonolu, GT – transferaza glukozowa, SDG – diglukozyd sekoizolarycirezynolu, MUFA – jednonienasycone kwasy tłuszczowe, PUFA – wielonienasycone kwasy tłuszczowe

Tabela 4

Wpływ pobrania roślin GM2 (10-30% diety) na wartość wybranych parametrów stanu zdrowia modelowych gryzoni w porównaniu z wartością analogicznych wskaźników określonych u zwierząt żywności roślinami izogenicznymi [9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20] i nieopublikowane badania własne]

Gatunek	Zmodyfikowana cecha	Wpływ pobrania GMO w diecie		
		nieistotny	korzystny	negatywny
Pomidory	ekspresja taumatyny	wskaźniki biochemiczne i hematologiczne, koncentracja immunoglobulin i hormonów, wskaźniki red-ox, skład mikroflory jelit,	wzrost pobrania paszy, większe przyrosty masy ciała, nie wykryto transgenicznego DNA w tkankach narządów, transgenicznego białka w kale	wzrost koncentracji 8-oxo-2'dG w wątrobie
Ogórki	ekspresja taumatyny	wskaźniki oceny makro- i mikroskopowej wątroby i jelita cienkiego		mniejsza strawność białka ogólnego, wzrost koncentracji 8-oxo-2'dG w wątrobie
Ziemniaki	nadekspresja CHI	wzrost i rozwój, wskaźniki reprodukcji, większość parametrów hematologicznych i biochemicznych krwi	niższy poziom CHOL, wyższy HDL	wzrost ALT i koncentracji 8-oxo-2'deoksyguanozyny
	nadekspresja CHS	większość wskaźników oceny makro- i mikroskopowej wybranych narządów	niższy poziom CHOL	mniejsza strawność białka i wzrost koncentracji 8-oxo-2'dG
	nadekspresja DFR	koncentracja immunoglobulin i hormonów	niższy poziom CHOL i TRIG	wzrost AST, ALT
	nadekspresja GT	większość parametrów red-ox	niższy poziom CHOL i TRIG	mniejsza strawność skrobi i białka; wzrost koncentracji 8-oxo-2'dG w wątrobie
	represja P-14-3-3		niższy poziom CHOL	wzrost koncentracji TBARS i 8-oxo-2'dG w wątrobie
	nadekspresja P-14-3-3		większa strawność węglowodanów	mniejsza strawność masy organicznej, wzrost TBARS
Len	nadekspresja CHI, CHS, DFR	wzrost i rozwój, większość parametrów biochemicznych i hematologicznych, aktywność hormonalna	wyższy TAS surowicy, niższy poziom CHOL, większa wytrzymałość kości	mniejsza strawność masy organicznej
	nadekspresja GT			

CHI – izomeraza chalkonu, CHS – syntaza chalkonu, DFR – reduktaza dihydroflawonolu, GT – transferaza glukozowa, CHOL – cholesterol całkowity, TRG – triacyloglicerole, TAS – status antyoksydacyjny, AST – transferaza asparaginowa, ALT – transferaza alaninowa, TBARS – suma substancji reagujących z kwasem barbiturowym – wskaźnik oksydatywnej degradacji lipidów, 8-oxo-2'dG – 8-oxo-2'deoksyguanozyna – wskaźnik degradacji DNA

(wysoki poziom psoralenu powodującego wysypkę u pracowników rolnych), kabaczka (wysoki poziom toksycznej kukurbitacyny) [19] czy roślin ziemniaka, w których próbowano wykształcić cechę odporności na stonkę (wysoki poziom glikoalkaloidów, solaniny) [17, 19].

Niezamierzony efekt transgenezy może być przewidywalny, szczególnie jeśli modyfikacja dotyczy genu (genów) odpowiedzialnych za syntezę białek uczestniczących w regulacji przebiegu znanej ścieżki metabolicznej. Trudno jest natomiast przewidzieć efekt modyfikacji genów odpowiedzialnych za przebieg wielu szlaków metabolicznych, białek włączających się w syntezę różnych, często kluczowych dla metabolizmu substancji. Wystąpienie niezamierzonego efektu jest bardziej prawdopodobne, gdy cecha rośliny będąca celem modyfikacji jest determinowana przez kilka genów. Niezamierzone, uboczne efekty modyfikacji nie zawsze wpływają negatywnie na wartość odżywczą rośliny, czasem precyzyjne badania wskazują na nieplanowaną korzystną zmianę cech rośliny GM (tab. 2).

Ocena zamierzonych i nieoczekiwanych efektów transgenezy roślin GM2, w kontekście ich bezpieczeństwa żywieniowego i wpływu na organizm konsumenta, jest ogólnym celem badań prowadzonych przez zespół Katedry Żywności i Biotechnologii Zwierząt (KŻiBZ) Wydziału Nauk o Zwierzętach SGGW. Badane rośliny GM2 wyhodowano w laboratoriach Wydziału Ogrodnictwa, Biotechnologii i Architektury Krajobrazu SGGW oraz Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego.

Doświadczenia żywieniowe obejmują etap analizy porównawczej składu chemicznego (tab. 3) roślin transgenicznych i ich izogenicznych odpowiedników oraz etap oceny wpływu na organizm zwierząt modelowych – myszy i szczurów (tab. 4). Zgodnie z zaleceniami EFSA i propozycjami wielu badaczy zaangażowanych w szacowanie potencjalnego ryzyka związanego z uwolnieniem GMO do środowiska, krótko i długoterminowe badania bezpieczeństwa mają na celu ocenę, czy roślina GM jest tak samo bezpieczna lub stanowi podobne zagrożenie dla zdrowia jak jej nietransgeniczny odpowiednik, mający historię użycia w diecie [2, 8]. Badania GMO prowadzone w KŻiBZ mają charakter modelowy, m.in. służyły wypracowaniu właściwych metod i procedur kompleksowej oceny żywieniowej, a ich wyniki są źródłem informacji wykorzystywanych w dalszych pracach nad doskonaleniem roślin. Stanowiące materiał doświadczalny GM2 nie były nigdy dostępne na rynku. Mimo zastosowania w doświadczeniach na myszach i szczurach dawek GMO wielokrotnie przekraczających prawdopodobne pobranie roślin w diecie człowieka, w żadnym z doświadczeń, bez względu na wartość ocenianych parametrów, nie przekraczała wartości charaktery-

stycznych dla zdrowych osobników danego gatunku (podawanych w dostępnej literaturze naukowej). Odnotowano zarówno korzystne, jak i niepożądane efekty skarmiania GMO, choć zdaniem autorów badań nie stanowią one istotnego zagrożenia dla zdrowia (tab. 4). Badanie bezpieczeństwa GMO i ocena możliwości wykorzystania roślin GM2 jako prozdrowotnych składników diety ludzi i zwierząt są kontynuowane.

Badania własne finansowano ze środków MNiSW grant 3P06Z00925, NCN grant 501-30-070400-A00512-99 oraz dotacji statutowej SGGW. Eksperymenty na zwierzętach prowadzono za akceptacją lokalnej Komisji Etycznej. Ministerstwo Środowiska wyraziło zgodę na zamknięte uwolnienie badanych GMO do środowiska.

Literatura: 1. Cellini F., Chesson A., Colquhoun I., Constable A., Davies H.V., Engel K.H., Gatehouse A.M.R., Karenlampi S., Kok E.J., Leguay J. J., Lehesranta S., Noteborn H.P.J.M., Pedersen J., Smith M., 2004 – Food Chem. Toxicol. 42, 1089-1125. 2. EFSA, 2011 – EFSA Journal 9 (5), 1-37 <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2150.pdf> 3. Eurobarometr, 2010 – European Commission, Directorate General for Research, pp. 48-49. 4. Halsberger A., 2003 – Nature Biotechnology 21, 739-741. 5. Herman R.A., Price W.D., 2013 – J. Agric. Food Chem. 61, 11695-11701. 6. Huot M.F., 2002 – Office of Consumer Affairs, Canada. 7. ISAAA, <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase> 8. König A., Cockburn A., Crevel R.W., Debruynne E., Grafstroem R., Hammerling U., Kimber I., Knudsen I., Kuiper H.A., Peijnenburg A.A., Penninks A.H., Poulsen M., Schauzu M., Wal J.M., 2004 – Food Chem. Toxicol. 42 (7), 1047-1088. 9. Kosieradzka I., 2008 – Transgeniczne ziemniaki z nadekspresją enzymów szlaku syntezy flawonoidów jako żywieniowe źródło substancji bioaktywnych. Rozprawy naukowe i monografie. Wyd. SGGW. 10. Kosieradzka I., Sawosz E., Pastuszewska B., Szwacka S., Malepszy S., Bielecki W., Czumińska K., 2001 – J. Anim. Feed Sci. 10, Suppl. 2, 7-13. 11. Kosieradzka I., Sawosz E., Szopa J., Bielecki W., 2008 – J. Food Nutr. Sci. 58(3), 377-382. 12. Kosieradzka I., Sawosz E., Malepszy S., Pastuszewska B., Kluciński W., 2003 – Ann. Anim. Sci., Suppl. 2, 277-281. 13. Kosieradzka I., Sawosz E., Pastuszewska B., Żuk M., Szopa J., Bielecki W., 2004 – J. Anim. Feed Sci. 13, 329-339. 14. Kosieradzka I., Sawosz E., Skomial J., Szopa J., 2005 – J. Anim. Feed Sci. 14, Suppl. 1, 545-548. 15. Kosieradzka I., Sawosz E., Skomial J., Szopa J., Dudkowska I., Pastuszewska B., 2005 – J. Anim. Feed Sci. 14, Suppl. 1, 549-552. 16. Lehesranta S., 2006 – Proteomics in the detection of unintended effects in genetically modified crop plants. Doctoral dissertation, Kuopio Univ. Publ. C. Natural and Environ. Sci. 203. 17. Osman S.F., 1983 – Food Chemistry 11, 235-247. 18. Petrick J.S., Brower-Toland B., Jackson A.L., Kier L.D., 2013 – Regulatory Toxicology and Pharmacology 66, 167-176. 19. Prakash C.S., 2001 – Plant Physiology 126, 8-15. 20. Vasko V., 2010 – Wpływ stosowania w diecie owoców transgenicznych roślin z ekspresją taumatyny na wzrost, rozwój i stan zdrowia szczurów laboratoryjnych. Praca doktorska, SGGW.

Intended and unpredictable effects of transgenesis of second-generation genetically modified plants

Summary

DNA recombination techniques enable the introduction of genes encoding proteins responsible for the production of substances which increase the nutritional and dietary value of edible plant parts, and make it possible to obtain second-generation genetically modified plants (GM2). However, plant transformation carries a potential risk of unintended and unexpected effects, the identification of which requires numerous nutritional experiments. In safety tests on a few GM plants used for animal feed and human consumption, conducted at the Department of Animal Nutrition and Biotechnology of the Faculty of Animal Science, both desirable and unfavourable effects of the experimental diets were noted. No real threat to consumer health was found and the plants were determined to be safe. Nutritional research continues on GM2 containing potentially health-promoting substances.

KEY WORDS: GMO, transgenic plant, nutrition, food and fodder