

OGM: implicazioni per la salute umana

Prof. Mariano Bizzarri
Docente di Patologia Clinica
Dipartimento Medicina Sperimentale
Università La Sapienza, Roma

La salubrità degli alimenti

La difficoltà di ottenere informazioni probanti circa l'innocuità dei cibi tramite studi tossicologici classici, è ben nota da molti anni¹. Tali limitazioni si sono rese particolarmente evidenti allorché si è trattato di valutare l'impatto sulla salute degli animali alimentati con cibi irradiati².

Queste difficoltà si sono rivelate ancor più limitative nell'ambito delle problematiche poste dai cibi e dagli organismi geneticamente modificati (OGM) e ciò ha reso necessario elaborare un approccio alternativo che, in prima istanza, ha portato a sviluppare il criterio della *sostanziale equivalenza*, un parametro che, pur non essendo di per sé un criterio di asseveramento dell'innocuità degli alimenti, dovrebbe consentire di determinare se l'alimento geneticamente modificato sia paragonabile, per caratteristiche e composizione, all'analogo prodotto convenzionale. Questo presupposto ha per molto tempo legittimato il ricorso ad un parametro minimalista, in base al quale viene ritenuto salubre un nuovo alimento (geneticamente modificato) purché presentasse una composizione strutturale (i.e., percentuale di lipidi, vitamine, proteine e carboidrati) sostanzialmente equivalente a quella dell'alimento non-modificato. Tale impostazione, promanante da una visione radicalmente riduzionista della complessità biologica, è stata sottoposta a critica severa, dato che non prende in considerazione né le modificazioni metaboliche collaterali (che possono accompagnarsi alla transfezione genica), né la "imprevista" (*unintended*) comparsa di molecole (frammenti di DNA, proteine o altre sostanze) che in più di un'occasione hanno "complicato" l'operazione transgenica "apparentemente" riuscita.

A prescindere da questi limiti, sono pur tuttavia emersi con chiarezza alcuni pericoli reali il cui possibile impatto sulla salute umana, ancorché di difficile valutazione, si profila come potenzialmente elevato.

¹ OECD (1996), Food safety evaluation. Report of workshop held in Oxford UK, September 12-15, 1994. ISBN 92-64-14867-1. Aggiornamenti e revalutazioni critiche delle procedure di validazione della sostanziale equivalenza sono state pubblicate altresì nel 1996, nel 1998, e ben due distinte pubblicazioni sono state editate nel 2001 e nel 2008.

² K. T. Atherton, Safety assesment of genetically modified crops, *Toxicol*, 2002, 181: 421-426.

Resistenza agli antibiotici

Come noto, da alcuni decenni il problema della resistenza agli antibiotici è venuto imponendosi all'attenzione della comunità scientifica e degli stessi media³. Nonostante la sua drammaticità e le preoccupazioni che alimenta negli infettivologi di mezzo mondo, tale questione non sembra aver sollevato l'interesse che merita da parte delle autorità preposte alla tutela della sanità⁴. Questo scenario rischia di aggravarsi ulteriormente proprio a causa delle tecnologie impiegate nella produzione di semi OGM.

Infatti, per identificare i geni introdotti negli organismi geneticamente modificati è molto spesso necessario inserire un "gene di resistenza agli antibiotici" che funge da "marcatore". Fino a pochi anni fa si riteneva impossibile che un gene di resistenza agli antibiotici potesse essere trasferito da una pianta modificata ad un batterio⁵. La storia della biologia molecolare è fatta però di impossibilità relative: ciò che oggi appare improbabile, domani rischia di diventare realtà. Il gene che conferisce la resistenza alla kanamicina, integrato nel genoma della barbabietola da zucchero transgenica, è stato dimostrato essere in grado di trasformare l'*Acinetobacter sp.*, trasferendogli la resistenza⁶. Il fenomeno è stato successivamente documentato anche per altre sequenze geniche che conferiscono resistenza ad antibiotici come la neomicina e l'ampicillina⁷.

I produttori di semi OGM hanno addotto motivazioni diverse a giustificazione di questa pratica che, tuttavia, è stata criticata anche da scienziati non certo ostili nei riguardi della transgenesi vegetale⁸. Le argomentazioni sviluppate dai sostenitori dei cibi *biotech* insistono sulla bassa probabilità di trasmissione dei marcatori di resistenza ai batteri della flora intestinale e sulla irrilevanza statistica delle possibili conseguenze⁹, dato che l'intestino umano presenta già elevate concentrazioni di microbi resistenti. Tuttavia, per quanto infrequente un determinato evento rischia di assumere proporzioni statisticamente rilevanti se riguarda popolazioni di centinaia di milioni di individui: nell'intestino di un essere umano esistono miliardi di batteri, mentre centinaia di milioni sono le persone potenzialmente consumatrici di cibi geneticamente

³ Arias C.A., Murray BE Antibiotic-Resistant Bugs in the 21st Century — A Clinical Super-Challenge. *New England Journal of Medicine* 2009, 360 (5): 439–443.

⁴ Gorbach SL Editorial: antimicrobial use in animal feed: time to stop. *N Engl J Med.* 2001, 345(16): 1202-1203.

⁵ Schluter K, Futterer J, Potrykus I Horizontal gene transfer from a transgenic potato line to a bacterial pathogen (*Erwinia shrysanthemi*) occurs, if at all, at an extremely low frequency *Biotechnology* 1995, 13: 1094-1098.

⁶ Gebhard F, Smalla K. Transformation of *Acinetobacter sp* strain BD413 by transgenic sugar beet DNA *Appl Environ Microbiol* 1998, 64: 1550-1554.

⁷ Droge M, Puhler A, Selbitschka W Horizontal gene transfer as a biosafety issue: a natural phenomenon of public concern *J Biotechnol.* 1998, 64: 75-90.

⁸ Kupier H.A. and Kleter G.A. The scientific basis for risk assessment and regulation of genetically modified foods. *Trends Food Sci Technol* 2003, 14: 277:293.

⁹ Konov A. L. Biotechnology and the Horizontal Gene Carrying : can one eat genetically modified products and acquire the resistance to antibiotics? *Ekologiya I Zhizn'*, 2002, 2: 66-68.

modificati. Non occorre essere grandi matematici per calcolare che frequenze inverosimilmente basse possano in questo modo portare ad un numero elevatissimo e significativo di eventi di trasmissione genica.

Non serve in questi casi cercare di minimizzare la portata del problema con il sottolineare che riguardi esclusivamente antibiotici scarsamente utilizzati, come la kanamicina e la neomicina¹⁰, nei confronti dei quali numerosi ceppi microbici hanno ormai da tempo sviluppato resistenza. Innanzitutto, sia la kanamicina sia la neomicina, fanno ancora parte integrante dell'arsenale terapeutico del medico e conservano la loro specificità nella cura di alcune infezioni¹¹. In secondo luogo, perché il fenomeno della resistenza e del trasferimento orizzontale di questa interessa anche altri farmaci – come l'ampicillina – di uso corrente e a largo spettro di attività. È per questo legittima la preoccupazione in base alla quale la diffusione dei cibi transgenici potrebbe costituire una possibile causa di resistenza agli antimicrobici, soprattutto alla luce dell'ormai comprovata esistenza della trasmissione genica per la quale i segmenti di DNA presenti in un determinato microambiente, possono essere assorbiti dai batteri ed integrati nel loro patrimonio cromosomico.

Il fenomeno del trasferimento genico è infatti stato osservato in coltura¹², così come *in vivo*: nel pollo¹³, nel topo¹⁴, sia a livello del tubo digerente, sia nella bocca¹⁵. Il prerequisito perché ciò possa accadere è che i segmenti di acido nucleico possano “sopravvivere” all'ambiente acido dello stomaco e giungere nell'intestino in quantità e lunghezze significative. Fino a qualche anno fa si riteneva che il DNA contenuto negli alimenti venisse completamente degradato grazie all'azione congiunta delle nucleasi e delle secrezioni acide dello stomaco. In realtà sappiamo oggi che tale degradazione non è né completa né istantanea e può essere modulata anche in modo considerevole da numerosi fattori (lunghezza del tratto intestinale, acloridria, stipsi cronica) che “prolungano” la sopravvivenza del DNA estraneo favorendone il transito lungo l'apparato intestinale¹⁶. Intere sequenze geniche possono così sopravvivere alle

¹⁰ D'Agno G. GMO: Human Health Risk Assesment. *Vet Res Comm* 2005, 29 (Suppl. 2): 7-11.

¹¹ In Finlandia hanno cominciato ad adottare misure in questo senso : con la riduzione delle prescrizioni di Eritromicina, la frequenza di ceppi di *S. pyogenes* resistenti è passata in poco tempo dal 19,8% all'8% (cfr. Levy S.B. *Antibiotic paradox: how miracle drugs are destroying the miracle*, Plenum Pub. Corp., New York, 1992, p. 172 e ssg.).

¹² Saunders J.R. et al., Genotypic and phenotypic methods for the detection of specific released microorganisms, in: C. Edwards Eds., *Monitoring Genetically Modified Organisms in the Environment*, New York, J. Wiley & Sons Ltd, 1993, pp. 27

¹³ Guillot J.F. In vivo transfer of a conjugative plasmid between isogenic *Escherichia coli*, strains in the gut of chickens, in the presence of absence of selective pressure, in: M.J. Gauthier Eds., *Microbial Releases*, Berlin, Springer Verlag, 1992, pp. 123-130.

¹⁴ Wilcks A, van Hoek AHAM, Joosten RG, Jacobsen BBL, Aarts HJM Persistence of DNA studied in different ex vivo and in vivo rat models simulating the human gut situation *Food Chem Toxicol* 2004, 42: 493-502.

¹⁵ Doucet F. Conjugal transfer of genetic information in genotobiotic mice, in: M.J. Gauthier Eds., *Microbial Releases*, Berlin, Springer Verlag, 1992, pp. 58.

¹⁶ Palka-Santini M., Schwarz-Herzke B., Hosel M., Renz M., Auerochs S., Brondke H., Doerfler W. The gastrointestinal tract as the portal of entry for foreign macromolecules: fate of DNA and proteins. *Mol Gen Genomics* 2003, 270: 201-215.

procedure di cottura e di confezionamento degli alimenti; il procedimento usuale per il trattamento delle farine animali o di altri cibi - riscaldamento a secco a 90 °C per trenta minuti - lascia il DNA praticamente intatto e in concentrazioni superiori alle 100 parti per bilione (bp), ben al di sopra della soglia delle 25 bp ritenuta necessaria per evitare l'insorgere di reazioni autoimmuni e i fenomeni di trasfezione orizzontale¹⁷. E' da tempo stato dimostrato come sequenze estranee di DNA addizionate alla dieta dei topi, possano, in percentuale significativa (5%), superare la barriera gastrica per essere assorbite dal sistema circolatorio e, attraverso questo, raggiungere organi e cellule distanti, dove si integrano nel genoma della cellula-ospite¹⁸. Sequenze di DNA estraneo, somministrate con gli alimenti a topine gravide, passano attraverso la placenta e raggiungono il feto, finendo con l'essere captate all'interno di organi e cellule, dove può venire integrato nel genoma dell'ospite¹⁹. L'inserzione del DNA estraneo nel genoma delle cellule eucariotiche di mammifero innesca una serie di eventi complessi che tendono a "silenziare" l'attività del segmento genico trasfettante con l'intento di preservare in ogni modo l'integrità e le caratteristiche identitarie del genoma ospite²⁰. Tuttavia, se tale processo è inefficiente, l'inserzione del DNA estraneo potrebbe svolgere un ruolo tutt'altro che indifferente nella genesi di fenomeni evolutivi o patogenetici, tra cui l'insorgenza di tumori o l'accentuazione di processi mutagenici²¹.

La sopravvivenza nel tratto gastrointestinale è stata accertata anche per segmenti di DNA transgenico, in animali alimentati con cibi geneticamente modificati. La probabilità che ciò accada dipende anche qui da numerosi fattori che coinvolgono la stabilizzazione del DNA e il numero delle copie del transgene inserite nell'alimento modificato^{22,23}. Il fenomeno descritto non è limitato agli animali alimentati con OGM, ma riguarda anche l'uomo. Dal 6 al 25% dei plasmidi geneticamente modificati sopravvivono alla degradazione operata dagli enzimi salivari e riescono ad integrarsi nel DNA dello *Streptococcus gordonii*, un normale saprofito delle mucose umane²⁴. Il transgene *bla* del mais modificato, codificante per la β-lattamasi – l'enzima che conferisce la resistenza all'ampicillina – resiste alla degradazione enzimatica per circa

¹⁷ Forbes J.M. Effect of feed processing conditions on DNA fragmentation, *UK Ministry of Agriculture Fisheries and Food, section 5 scientific report*, London, 1998.

¹⁸ Schubbert R., Lettmann C., Doerfler W. Ingested foreign (phage M13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the blood-streams of mice, *Mol. Gen. Genet.*, 1994, 242: 495.

¹⁹ Schubbert R., Hohlweg U., Renz D., Doerfler W. On the fate of food ingested foreign DNA in mice chromosomal association and placental transmission to the foetus, *Mol. Gen. Genet.*, 1998

²⁰ Heller H., Kammer C., Wilgenbus P., Doerfler W. Chromosomal insertion of foreign (adenovirus type 12, plasmid or bacteriophage) DNA is associated with enhanced methylation of cellular segments. *PNAS*. 1995, 92: 5515-5519.

²¹ Doerfler W., Schubbert R., Heller H., Kammer C., Hilgher-Eversheim K., Knoblauch M., Remus R. Integration of foreign DNA and its consequences in mammalian systems. *Tibtech* 1997, 1997, 15: 297-301.

²² Klotz A., Mayer J., Eispazier R. Degradation and possible carry over effects of feed DNA monitored in pigs and poultry. *Eur. Food Res Technol* 2002, 214:271-275.

²³ Reuter T., Aulrich K. Investigation on genetically modified maize (Bt maize) in pig nutrition: fate of feed-ingested foreign DNA in pig bodies. *Eur. Food Res Technol* 2003, 216:185-192

²⁴ Mercer D.K. et al., Fate of free DNA and transformation of the oral *Streptococcus gordonii* DL1 by plasmid DNA in human saliva *Applied and Environ. Microbiol.* 1999, 65:66.

un'ora quando viene incubato con la saliva²⁵. Il DNA transgenico è stato ritrovato nell'intestino tenue dei volontari umani alimentati con soia geneticamente modificata. In 3 su sette casi si poteva riscontrare “un trasferimento genico di bassa frequenza dalla soia GM alla microflora intestinale”²⁶. Gli autori dello studio, pur sottolineando l'importanza della scoperta che per la prima volta documentava la sopravvivenza del costrutto transgenico assunto dall'uomo, concludevano che tale fenomeno difficilmente avrebbe potuto costituire un pericolo per la salute. Di diverso avviso il parere di altri commentatori²⁷ che hanno ritenuto come tale affermazione poteva essere vera nel caso dello specifico costrutto genico preso in considerazione (il transgene *epsps*), ma potrebbe non esserlo nel caso di geni che codificano per la resistenza agli antibiotici. Colpisce l'elevata frequenza del trasferimento che ha riguardato 3 individui su sette: questo semplice dato lascia pensare che il fenomeno non è poi così raro come qualcuno vorrebbe far credere.

Allergie

Una delle principali preoccupazioni sollevate dall'introduzione sul mercato alimentare di cibi e/o microrganismi geneticamente modificati riguarda il pericolo di indurre reazioni allergiche, intolleranze o altre forme di alterata reattività immunologica.

Circa dieci anni fa la società di sementi Pioneer Hi-Breed, nell'intento di “arricchire” il valore nutrizionale della soia, aveva pensato bene di “migliorarne” il corredo genomico inserendo un gene derivato dalla noce di cocco brasiliana che, almeno in teoria, avrebbe dovuto consentire una più elevata sintesi della albumina-2s, una proteina particolarmente ricca in metionina e in cistina. I test di routine non avevano rilevato alcuna potenziale allergenicità, nonostante che la noce di cocco fosse nota per produrre un'ampio ventaglio di reazioni allergiche, dal prurito alla morte improvvisa²⁸. Un successivo controllo – condotto in modo indipendente da un ente universitario - ha invece documentato come il potere allergenico del nuovo prodotto fosse addirittura maggiore di quello della noce di cocco e questo nonostante fosse stato “trapiantato” nella soia un singolo gene. La Pioneer è stata costretta a ritirare le nuove sementi dopo la pubblicazione dei dati da parte del *New England Journal of Medicine*. La Pioneer ha provato a giustificarsi ricordando che la soia così prodotta avrebbe dovuto essenzialmente essere destinata agli allevamenti zootecnici; il fatto è che non solo non c'è modo di separare la soia destinata al consumo umano da quella prodotta

²⁵ Duggan P.S., Chambers P.A., Heritage J., Forbes J.M. Survival of free DNA encoding antibiotic resistance in from transgenic maize and the transformation activity of DNA in ovine saliva, ovine rumen fluid and silage effluent *FEMS Microbiol Letts* 2000, 191: 71-77.

²⁶ Netherwood T., Martin-Orue S.M., O'Donnell A.G., Gokling S., Graham J., Mathers J.C., Gilbert H.J. Assessing the survival of transgenic plant DNA in the human gastrointestinal tract. *Nat. Biotechnol.* 2004, 22: 204-209.

²⁷ Heritage J The fate of transgenes in the human gut. *Nature Biotechnol* 2004, 22: 170-172.

²⁸ Gillespie DN, Nakajima MDS, Gleich MD Detection of allergy to nuts by the radiallergo-sorbent tests *J Allergy Clin Immunol* 1976, 57: 302-309.

per gli animali, ma è probabile che la proteina in questione possa essere assimilata dagli animali tal quale e ripresentarsi in questo modo sul tavolo dei consumatori.

L'episodio si presta a molte riflessioni. La prima riguarda la presunta necessità di dover modificare la soia per incrementarne il contenuto in metionina e cisterna: non si capisce infatti per quale motivo un alimento già in se completo dovrebbe essere "modificato". In secondo luogo, va rilevato che l'accertamento dell'allergenicità del prodotto sarebbe dovuta spettare alla ditta produttrice, stando alle regole sancite dalla FDA che prevedono, per l'appunto, l'esecuzione di test obbligatori volti ad accertare la salubrità ed innocuità dell'alimento *prima che questo venga ad essere immesso sul mercato*. Orbene i test realizzati dall'azienda sono stati inadeguati ed insufficienti, il prodotto è stato immesso sul mercato e, anche dopo che la denuncia è stata divulgata, nulla è stato fatto per evidenziare sull'etichetta le possibili "controindicazioni".

Lungi dal trarre ammaestramento da questo "sfortunato" episodio, altre aziende hanno ritenuto di dover modificare la soia introducendo nelle sementi il gene che codifica per la β -caseina del latte bovino²⁹ e di trasformare il riso transfettandolo con una sequenza proveniente dalla soia che sintetizza la glicinina³⁰. Nei due casi si tratta di proteine *già note per essere allergiche* : non si riesce pertanto a capire i motivi di modificazioni di tal fatta che, già in partenza, minacciano di rivelarsi un rischio per la salute.

I casi sopra ricordati riguardano rischi "prevedibili", dato che il gene transfettato codifica per proteine già note per la loro allergenicità. Ma il potenziale allergenico dei cibi OGM è più ampio di quanto possa essere previsto³¹. Le nuove proteine, di origine batterica, virale, animale e vegetale, vengono infatti ad affacciarsi *per la prima volta* nella dieta dell'uomo e poco sappiamo di come possano influenzare la nostra reattività immunologica. In secondo luogo, le modificazioni genetiche possono alterare la struttura primaria, secondaria o terziaria delle proteine, sì da conferire a queste ultime proprietà nuove ed imprevedute. Una proteina, infatti, anche se non allergenica quando prodotta nel contesto biologico da cui proviene originariamente, *può comunque diventarla* se il gene che la codifica viene trasposto artificialmente in un nuovo ambiente cellulare. L'allergenicità di questi polipeptidi non può essere dedotta dalle caratteristiche strutturali e biochimiche delle proteine parentali da cui provengono, dato che il protide chimerico può assumere conformazioni del tutto imprevedibili. Può accadere inoltre che la proteina prodotta in un contesto diverso da quello originario venga degradata o processata in modo incompleto, a maggior ragione se essa presenta configurazioni anomale.

Inoltre, individuare il potenziale allergenico non è banale: il parametro più affidabile resta, ancora oggi, l'anamnesi accurata, capace di svelare specifiche reazioni

²⁹ Maughan PJ, Philip R, Cho MJ, Widholm JM, Vodkin LO Biolistic transformation, expression, and inheritance of bovine beta-casein in soy bean (glycine max) *In vitro Cell Develop Biology Plant* 1999, 35: 344-349

³⁰ Katsube T, Kurisaka N, Ogawa M, Maryama N, Ohtsuka R, Utsumi S, Takaiwa F: Accumulation of soy bean glycinin and its assembly with the glutenins in rice. *Plant Physiology* 1999, 120: 1063-1073.

³¹ Bindslev Jensen C Allergy risks of genetically engineered foods. *Allergy* 1998;53:58-61

negative ai cibi intercorse nel corso della vita della persona³². Le reazioni avverse ai cibi possono essere di natura non-immunologica (intolleranze) o mediate dalla reazione del sistema immunitario. Queste ultime, nella maggior parte dei casi, dipendono dalla secrezione di immunoglobuline specifiche (IgE) ad opera di cellule linfoidi di tipo B. Non tutte le allergie sono tuttavia mediate dalla IgE: alcune sono “ritardate” – soprattutto quelle rivolte contro latte e derivati nei bambini – e possono indurre una sindrome enterocolitica caratterizzata da vomito, diarrea e, negli adolescenti, ritardo nella crescita³³. Le ricerche finora condotte per mettere in evidenza l’allergenicità dei cibi ingegnerizzati si sono finora concentrate *esclusivamente* sulle reazioni precoci mediate da IgE³⁴: ben poco si sa di altre possibili reazioni allergiche.

Sarebbe per questo auspicabile condurre rigorosi studi clinici rivolti a individuare se il nuovo prodotto possa o meno indurre reazioni allergiche a distanza di tempo (*postmarket surveillance*)³⁵. Malauguratamente tali indagini restano al momento solo sulla carta, nonostante tutti le auspichino³⁶. Le difficoltà organizzative e metodologiche sono considerevoli, ma soprattutto, non essendo prevista alcuna etichettatura proprio nei paesi dove è maggiore il consumo di OGM, risulta pressoché impossibile mettere in relazione un dato prodotto con l’evento analizzato. L’adozione di tale normativa non solo è apertamente osteggiata dalle aziende produttrici, ma non è neanche presa in seria considerazione dagli Enti istituzionalmente preposti alla salvaguardia della salute umana. Le regole approvate dalla FDA³⁷, infatti, prendono esclusivamente in considerazione i dieci più noti allergeni di origine alimentare e trascurano di considerarne altri, il cui consumo è attualmente meno diffuso, ma le cui implicazioni per la salute non sono per questo meno gravi e rispetto ai quali i consumatori sono tutelati in modo del tutto inadeguato³⁸.

Sostanze tossiche

Un articolo pubblicato sul *Lancet* dell’ottobre 1999 da parte del gruppo di lavoro del Dott. Pusztai del *Rowett Institute*, ha evidenziato come le diete contenenti patate geneticamente modificate per esprimere livelli elevati della lectina agglutinina (“gene bucaneve”) inducevano danni rilevabili sui diversi tratti del piccolo intestino del

³² Jansen JJ, Kardinaal AF, Huijberg G, Vlieg-Boerstra BJ, Martens BP, Ockhuizen T. Prevalence of food allergy and intolerance in the adult Dutch population *J Allergy Clin Immunol* 1994, 93: 446-456.

³³ Lake AM Food protein-induced colitis and gastroenteropathy in infants and children. In: *Food Allergy: Adverse Reactions to Foods and Food Allergies*. Metcalfe DD, Sampson HA, Simon RA, Eds. Oxford, UK, Blackwell Scientific Publications, 1997, pp. 277-286.

³⁴ Metcalfe DD Introduction: what are the issues in addressing the allergenic potential of genetically modified foods? *Environ Health Persp* 2003, 111(8): 1110-1113.

³⁵ Kuiper HA, Kleter GA, Noteborn HPJM, Kok EJ Assessment of food safety issues related to genetically modified foods *Plant J* 2001, 27(6): 503-528.

³⁶ Hlywka JJ, Reid JE, Munro JC The use of consumption data to assess exposure to biotechnology-derived foods and the feasibility of identifying effects on human health through post-market monitoring. *Food Chem Toxicol* 2003, 41: 1273-1282.

³⁷ Maryanski discusses next wave in biotech, premarket issues. *Food Chemical News*. January 23, 1995:34-35.

³⁸ General Accounting Office. Food quality and safety: innovative strategies may be needed to regulate new food technologies. Washington, D.C.: General Accounting Office, July 1993.

ratto³⁹. Lo studio ha fornito per la prima volta la prova sperimentale di un danno biologico correlato all'assunzione di OGM. I risultati ottenuti da Pusztai sono stati indirettamente confermati da studi originariamente rivolti a valutare eventuali effetti indesiderati prodotti dalle patate OGM sugli insetti. In una ricerca condotta dallo *Scottish Crop Research Institute*⁴⁰, alcune coccinelle sono state alimentate per dodici giorni con afidi nutriti con foglie di patate geneticamente modificate in cui, come nell'esperimento di Pusztai, era stato inserito il "gene di bucanave". Le coccinelle hanno mostrato una ridotta fertilità – con un tasso di uova fecondate che è passato dal 95 al 78% - ed un crollo della vita media, superiore del 50%. Risultati per certi versi analoghi erano stati in precedenza pubblicati da Fares un anno prima: animali alimentati con patate OGM – transfettate con il gene *Bt* per produrre la specifica δ -endotossina – hanno presentato una serie di anomalie a carico degli enterociti dell'ileo: iperplasia del citoplasma, ipertrofia del nucleo, degenerazione dei mitocondri e del reticolo endoplasmatico, microvilli più corti⁴¹.

Ulteriori conferme sono venute da studi italiani. Ratti alimentati con soia geneticamente modificata per sviluppare la resistenza al glifosato (Soya RondupTM), hanno presentato alterazioni a carico del pancreas⁴² (con riduzione della sua efficienza enzimatica⁴³ ed attenuazione dell'attività e del processamento post-trascrizionale dell'RNA) e significative modifiche nella ultrastruttura dei nuclei delle cellule epatiche (modificazioni morfologiche dei pori nucleari, dei nucleoli, della membrana nucleare), indicative di un incrementato metabolismo e della capacità della dieta a base di OGM di interferire specificamente con le attività nucleari dell'epatocita⁴⁴. Reperti analoghi sono stati rilevati anche nei testicoli degli animali⁴⁵. Un precedente lavoro – realizzato dalla Monsanto⁴⁶ – non era stato in grado di rilevare nessuna alterazione a carico dei ratti alimentati con grano geneticamente modificato con lo stesso transgene della soia Rondup: va rilevato che in quel caso gli animali erano stati sottoposti ad un troppo

³⁹ Ewen S.W. and Pusztai A., Effect of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine, *The Lancet*, 1999, 354: 1353-1354.

⁴⁰ Birch NAE, Geoghegan IE, Majerus MEN, McNicol JW, Hackett CA, Gatehouse AMR, Gatehouse JA Tri-trophic interactions involving pest aphids, predatory 2-spot ladybirds and transgenic potatoes expressing snowdrop lectin for aphid resistance, *Molec. Breeding*, 1999, 1: 75-83.

⁴¹ N.H. Fares, A. K. El-Sayed, Fine structural changes in the ileum of mice fed on delta-endotoxin-treated potatoes and transgenic potatoes, *Nat Toxins*, 1998, 6: 219-233.

⁴² Malatesta M, Biggiogera M, Manuali E, Rocchi MBL, Baldelli B, Gazzanelli G Fine structural analyses of pancreatic acinar cell nuclei from mice fed on genetically modified soybean soybean *Eur J Histochem* 2003, 47(4): 385-388.

⁴³ Malatesta M, Caporaloni C, Rossi L, Battistelli S, Rocchi MBL, Tonucci F, Gazzanelli G Ultrastructural analysis of pancreatic acinar cells from mice fed on genetically modified soybean *J Anat* 2002, 201: 409-415.

⁴⁴ Malatesta M, Caporaloni C, Gavaudan S, Rocchi MBL, Serafini S, Tiberi C, Gazzanelli G. Ultrastructural Morphometric and Immunocytochemical Analyses of Hepatocyte Nuclei from Mice Fed on Genetically Modified Soybean *Cell Struct Function* 2002, 27: 173-180.

⁴⁵ Vecchio L, Cisterna B, Malatesta M, Martin TE, Biggiogera M Ultrastructural analysis of testes from mice fed on genetically modified soybean soybean *Eur J Histochem* 2004, 48 (4): 449-454.

⁴⁶ Hammond B, Dudek R, Lemen J, Nemeth M Results of a 13 week safety assurance study with rats fed grain from glyphosate tolerant corn. *Food Chem Toxicol* 2004, 42: 1003-1014.

breve periodo (13 settimane) di alimentazione sperimentale, un limite cui sembrano incorrere anche altri studi condotti sugli animali e che, forse proprio per questo, non riescono ad evidenziare alcun effetto negativo⁴⁷.

Ancor più rilevanti sono i dati rilevati su ratti alimentati con il mais modificato MON863 (Monsanto). Questo varietà di mais è stata al centro di veementi polemiche e controversie, culminate nella decisione della Corte di Appello di Münster, in Germania, di consentire l'accesso ai dati inerenti i risultati della sperimentazione condotta dalla Monsanto sull'animale da esperimento e che aveva costituito il presupposto per l'autorizzazione concessa nel 2005. Quei dati sono stati poi pubblicati dal gruppo di Hammond⁴⁸ – sotto supervisione della stessa Monsanto – e quindi, rianalizzati dal gruppo di Séralini dopo aver intentato e vinto un ulteriore ricorso legale cui l'azienda produttrice, fino all'ultimo, si era strenuamente opposta. Mentre la metodologia statistica utilizzata da Hammond e collaboratori non aveva permesso di evidenziare differenze significative, l'approccio analitico di Séralini ha consentito di portare alla luce ben altre evidenze. I ratti alimentati con MON863 hanno presentato chiari segni di tossicità epatorenale (in 18 casi su 20, non considerati “rilevanti” dagli esperti della Monsanto!), aumento dei lipidi (trigliceridi +24-40%), riduzione nell'escrezione di sodio e di fosforo, ritardi nella crescita ponderale⁴⁹.

Instabilità genomica ed effetti pleiotropici

Le attuali tecniche di trasferimento dei geni non permettono di “guidare” l'inserimento del segmento estraneo di DNA in una posizione precisa del genoma. Il gene può ritrovarsi collocato in una zona “cieca”, che gli può impedire di esprimere qualunque funzione, così come in settori dove la sua attività viene ad essere più o meno influenzata dai geni vicini. Il contesto spaziale in cui si integra il frammento genico ne condiziona quindi la stessa espressione (*effetto di posizione*). Il DNA non è insomma una semplice successione di segmenti di acidi nucleici specializzati associati a casaccio, così come una città non è una successione di case, negozi e monumenti: ciascun elemento vi occupa un posto definito, unico ed essenziale. Il posto che un determinato segmento genico occupa non è indifferente rispetto alla funzione espressa. Questo non vuol dire che sia “obbligato”, ma solo che esistono probabilmente posizioni incompatibili con l'espressione del gene stesso o altre che lo privano delle necessarie connessioni con geni regolatori ed operatori. Indubbiamente una qualunque cellula vivente in cui sia stato artificialmente inserito un nuovo segmento genetico presenta una

⁴⁷ Hashimoto W, Momma K, Yoon H-J, Ozawa S, Ohkawa Y, Ishige T, Kito M, Utsumi S, Murata K. Safety assessment of transgenic potatoes with soybean glycinin by feeding studies in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 1999, 63: 1942-1946.

⁴⁸ Hammond B, Lemen J, Dudek R, Ward D, Jiang C, Nemeth M, Burns J. Results of a 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn rootworm-protected corn. *Food Chem Toxicol* 2006, 44:147-160.

⁴⁹ Séralini G-E, Collier D, Spiroux de Vendomois J. New Analysis of a Rat Feeding Study with genetically Modified Maize Reveals Signs of Hepatorenal Toxicity. *Arch Environ Contam Toxicol* 2007, 52(4):596-602.

maggiore instabilità del genoma ed una netta propensione ad andare incontro a mutazioni spontanee. I geni esogeni inseriti in modo casuale determinano condizioni di riarrangiamento del DNA, con possibili alterazioni nella espressione di geni differenti da quello trapiantato ed espressione di proteine leggermente modificate e proprio per questo, potenzialmente dannose. Modificazioni questo tipo sono verosimilmente all'origine dei fenomeni di tossicità inaspettate presentate da cibi modificati come la colza e la barbabietola da zucchero⁵⁰ : una modificazione anche minima può avere gravi conseguenze, soprattutto se riattiva tossine normalmente bloccate, come i glucosinolati e l'acido erucico della colza.

Conclusioni

Modificare il genoma di una semente può determinare effetti metabolici inattesi e potenzialmente dannosi. Un esempio paradigmatico è quello offerto dalla modifica indotta su alcuni enzimi del lievito, volta ad accelerare alcune tappe nella degradazione del glucosio. Come atteso, l'aumentata concentrazione dell'enzima del lievito aveva generato un accumulo del prodotto della reazione catalizzata dall'enzima stesso. Il composto in questione è un intermedio nel processo di degradazione degli zuccheri, che, in condizioni fisiologiche, non si accumula solo perché viene prodotto ad una velocità di gran lunga inferiore a quella con cui viene ulteriormente metabolizzato lungo la cascata enzimatica. Disgraziatamente il prodotto in questione è il metil-gliossale (Mg), un cancerogeno conosciuto, le cui concentrazioni risultavano essere trenta volte superiori a quelle rilevate nei ceppi di lievito non modificate. L'esperimento è stato bloccato, dato che risultava evidente come "Nelle cellule di lievito geneticamente modificato il metabolismo è sensibilmente perturbato dai geni introdotti o dai loro prodotti genetici, e la perturbazione provoca l'accumulo del composto tossico e indesiderato (il metil-gliossale) nelle cellule. Tale accumulo può comportare delle degradazioni del DNA, il che suggerisce che il concetto scientifico di equivalenza sostanziale utilizzato per gli studi sulla sicurezza degli alimenti geneticamente modificati non sempre si applica ai microbi geneticamente modificati [...] I risultati presentati possono sollevare alcuni *problemi relativi alla sicurezza e all'accettabilità degli alimenti geneticamente modificati* e dare ragione ai molti consumatori che non sono ancora pronti ad accettare alimenti prodotti mediante tecniche di manipolazione genetica"⁵¹

⁵⁰ Tardieu V. La génétique menace-t-elle l'alimentation? *Dossier Science et Vie*, 1996, 950 : 33-35.

⁵¹ Inose T, Murata K. Enhanced accumulation of toxic compound in yeast having glycolytic activity; a case-study on the safety of genetically engineered yeast *Int. J. Food Sci and Technol.* 1995, 30: 141-145.

