

Slovenská zdravotnícka univerzita v Bratislave
FAKULTA VEREJNÉHO ZDRAVOTNÍCTVA

HODNOTENIE POTENCIONÁLNYCH RIZÍK
GENETICKY MODIFIKOVANÝCH POTRAVÍN

DIZERTAČNÁ PRÁCA

Bratislava 2017

Mgr. Júlia Babincová

Slovenská zdravotnícka univerzita v Bratislave
FAKULTA VEREJNÉHO ZDRAVOTNÍCTVA

HODNOTENIE POTENCIONÁLNYCH RIZÍK
GENETICKY MODIFIKOVANÝCH POTRAVÍN

Dizertačná práca

Študijný program: Verejné zdravotníctvo 7.4.2

Vedúci záverečnej práce/školiťel': MVDr. Dagmar Zeljenková, CSc.

Bratislava 2017

Mgr. Júlia Babincová



**SLOVENSKÁ ZDRAVOTNÍKA UNIVERZITA
V BRATISLAVE
FAKULTA VEREJNÉHO ZDRAVOTNÍCTVA**

**Katedra epidemiológie
833 03 Bratislava, Limbová 12**

tel: 02/547920550, fax: 02/54793362, e-mail: dekanat.fvz@szu.sk, URL: <http://www.szu.sk>

ZADANIE ZÁVEREČNEJ PRÁCE

Meno a priezvisko študenta:	Mgr. Júlia Babincová
Študijný program / odbor:	Verejné zdravotníctvo 7.4.2.
Typ záverečnej práce:	DIZERTAČNÁ PRÁCA
Názov práce:	HODNOTENIE POTENCIONÁLNYCH RIZÍK GENETICKY MODIFIKOVANÝCH POTRAVÍN
Meno, priezvisko a tituly vedúceho záverečnej práce:	MVDr. Dagmar Zeljenková, CSc.
Školiace pracovisko:	Ústav pracovnej zdravotnej služby Oddelenie toxikológie
Meno, priezvisko a tituly vedúceho pracoviska:	MVDr. Dagmar Zeljenková, CSc.
Anotácia záverečnej práce:	Teoretická časť dizertačnej práce je zameraná na geneticky modifikované rastliny / plodiny, ich výhody, nevýhody, bezpečnosť a platnú legislatívu. Cieľom práce je zhodnotenie vplyvu GM kukurice MON810 na zdravotný stav potkanov kmeňa Wistar Han RCC. Praktická časť a výsledky práce sú súčasťou medzinárodného projektu GRACE.
Jazyk, v ktorom sa práca vypracuje:	Slovenský jazyk
Schválené dňa	2.9.2014

podpis študenta

podpis vedúceho
záverečnej práce

podpis vedúceho
školiaceho pracoviska

Čestné prehlásenie

Dolu podpísaná Júlia Babincová týmto prehlasujem, že som dizertačnú prácu na tému „Hodnotenie potenciónálnych rizík geneticky modifikovaných potravín“ vypracovala samostatne s použitím uvedenej literatúry. Rovnako čestne prehlasujem, že som pri vypracovaní dizertačnej práce nespolupracovala s formou Monsanto, produkt tejto firmy bol použitý len na vedecké účely v rámci projektu GRACE.

V Bratislave 17.6.2017

Podpis

Pod'akovanie

Dovoľujem si touto cestou poďakovať mojej školiteľke MVDr. Dagmar Zeljenkovej, CSc. za pomoc, odborné vedenie, cenné rady a pripomienky, ktoré mi poskytovala pri vypracovávaní predloženej práce a zároveň chcem poďakovať všetkým kolegom z oddelenia toxikológie a imunotoxikológie za všestrannú pomoc. V neposlednom rade chcem poďakovať môjmu manželovi za jeho podporu a trpezlivosť.

Dizertačná práca „Hodnotenie potencionálnych rizík geneticky modifikovaných potravín“ bola vypracovaná v rámci projektov GRACE – GMO Risk Assessment and Communication of Evidence č. grantu 311957 a G-TwYST GMP Two Years Safety Testing č. grantu 632165 financovaných zo 7.rámcového programu Európskej komisie.

ABSTRAKT

BABINCOVÁ, Júlia. Hodnotenie potencionálnych rizík geneticky modifikovaných potravín [dizertačná práca]. Slovenská zdravotnícka univerzita v Bratislave. Fakulta verejného zdravotníctva; Ústav pracovnej zdravotnej služby, oddelenie toxikológie. Školiteľ: MVDr. Dagmar Zeljenková CSc., Stupeň odbornej kvalifikácie: Philosophiae Doctor. Bratislava: FVZ SZU, 2017. 123s.

ÚVOD: Rozmach biotechnológií a génového inžinierstva priniesol do povedomia verejnosti nový termín GMO – geneticky modifikované organizmy. Z dôvodu využívania nových technológií a pestovania GM rastlín a plodín, ktoré sú používané k príprave potravín, je nutné posúdiť ich vplyv na zdravie ľudskej populácie. Z pohľadu verejného zdravotníctva je dôležité posúdenie rizík, z dôvodu expozície celej populácie ľudí.

CIEĽ: Hlavným cieľom dizertačnej práce je zhodnotiť vplyv GM kukurice MON810 na zdravotný stav laboratórných potkanov kmeňa Wistar Han RCC, z pohľadu dlhodobého (chronického) pôsobenia na organizmus.

METODIKA: Použitá metodika sa opiera o klasické toxikologické metódy a o direktívy organizácie OECD s príslušnými odporúčaniami EFSA. Testovanou látkou bola geneticky modifikovaná kukurica MON810. Testovací model tvorilo 160 potkanov (80 samcov a 80 samíc). Testovaná kukurica bola zapracovaná v 11% a 33% obsahu do krmiva nutrične vyváženého pre konkrétny kmeň.

VÝSLEDKY: Výsledky dizertačnej práce sú súčasťou medzinárodného projektu GRACE, ktorý spolu s projektom G-TwYST prispieva k hodnoteniu rizík používania GM potravín a krmovín. Neboli zaznamenané štatisticky významné zmeny v hmotnostiach zvierat, ani v spotrebe experimentálneho krmiva, medzi testovanými skupinami. Štatisticky významné zmeny v jednotlivých hematologických, biochemických parametroch, patologických nálezoch sa vyskytovali vo všetkých testovaných skupinách. Všetky hodnoty však boli v rozmedzí normálnych (referenčných) hodnôt. Počas trvania experimentu sa neprejavila dávková ani časová závislosť.

ZÁVER: Zo získaných výsledkov experimentu možno konštatovať, že testovaná GM kukurica MON810 nepreukázala negatívny vplyv na zdravotný stav pokusných zvierat, v podmienkach daného experimentu.

Kľúčové slová: geneticky modifikované organizmy, chronická toxicita, hodnotenie rizika

ABSTRACT

BABINCOVÁ, Júlia. Risks assessment of genetically modified food [PhD. thesis]. Slovak Medical University in Bratislava. Faculty of Public Health; Department of toxicology. Supervisor: MVDr. Dagmar Zeljenková CSc., The degree of qualification: Philosophiae Doctor. Bratislava: FPH SMU, 2017. 123p.

INTRODUCTION: Expansion of biotechnology and genetic engineering brought a new term GMO - genetically modified organisms to the awareness of scientific community and general public. Due to using the new technologies and the cultivation of GM plants and crops that are used for food preparation, it is necessary to properly assess their impact on the health of the human population. From the perspective of public health, it is important to assess the risks due to exposure of the entire human population.

OBJECTIVE: The main aim of this thesis is to assess the possible harmful effect of GM maize MON810 on health of laboratory rats strain Wistar Han RCC in long term toxicity study.

METHODS: The rat feeding study on MON810 was performed by taking into account the EFSA Guidance on conducting chronic toxicity study in rodents on whole food/feed and the OECD TG 452. The total number of animals was 160 (80 male and 80 female). The test substance was added to nutritional balanced feed in the amount of 11% and 33% of the content.

RESULTS: Results of this thesis are part of international project GRACE. Together with project G-TwYST, both projects are important for risk assessment of GM food. No statistically significant differences in body weights and in feed consumption were observed in all experimental groups. Statistically significant differences were observed in haematological, biochemical parameters as well as pathological lesions in all experimental groups. These differences were still in reference values. Dose and time dependence was not observed during the experiment.

CONCLUSION: The obtained results show that the MON810 maize at a level of up to 33% in the diet did not induce adverse effects in male and female Wistar Han RCC rats after a chronic exposure in this experiment.

Key words: genetically modified organisms, chronic toxicity, risk assessment

OBSAH

ÚVOD	10
1 TERMINOLÓGIA	12
2 HISTÓRIA	14
3 GENETICKY MODIFIKOVANÉ ORGANIZMY Z POHLADU VEREJNÉHO ZDRAVOTNÍCTVA	16
4 GENETICKY MODIFIKOVANÉ RASTLINY	19
4.1 METÓDY GENETICKEJ MODIFIKÁCIE RASTLÍN	20
4.1.1 Transformácia protoplastov	20
4.1.2 Biolistická transformácia	21
4.1.3 Transformácia pomocou karbidu kremíka (SiC)	21
4.1.4 Transformácia pomocou <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	21
4.1.5 Expresia transgénov v rastlinách	21
4.2 PREHĽAD TRANSGÉNOV PRE MODIFIKÁCIU RASTLÍN	22
4.2.1 Transgény upravujúce agronomické vlastnosti rastlín.....	22
4.2.2 Transgény upravujúce výživové a iné parametre plodín používaných v poľnohospodárstve.....	24
4.2.3 Transgény pre produkciu biologík a liečiv	26
4.2.4 Transgény pre produkciu priemyselných chemikálií.....	27
4.2.5 Transgény pre odolnosť voči abiotickému stresu	27
5 SPÔSOBY A PODMIENKY POUŽITIA GMO	28
5.1 PODMIENKY POUŽÍVANIA GENETICKÝCH TECHNOLOGIÍ A GMO	28
5.2 ORGÁNY PRÍSLUŠNÉ NA VÝKON ŠTÁTNEJ SPRÁVY KU GENETICKY MODIFIKOVANÝM ORGANIZMOM	29
5.3 OZNAČOVANIE GENETICKY MODIFIKOVANÝCH VÝROBKOV	30
5.4 BEZPEČNOSŤ POUŽÍVANIA GM POTRAVÍN	32
5.4.1 Toxicita a bezpečnosť	33
5.4.2 Alergénnosť GM potravín.....	34
5.4.3 Biologická bezpečnosť	35
5.4.4 Posudzovanie biologického rizika používania GM mikroorganizmov.....	36
5.5 VÝHODY A NEVÝHODY GENETICKY UPRAVENÝCH PLODÍN	36

5.5.1	Výhody.....	37
5.5.2	Nevýhody.....	38
6	PESTOVANIE A VYUŽÍVANIE TRANSGÉNNYCH RASTLÍN V SÚČASNOSTI.....	40
6.1	TRANSGÉNNÉ RASTLINY VO SVETE	40
6.2	TRANSGÉNNÉ RASTLINY V EÚ	41
6.3	TRANSGÉNNÉ RASTLINY NA SLOVENSKU.....	44
7	PROJEKTY GRACE A G –TWYST	49
7.1	PROJEKT GRACE.....	50
7.1.1	GM kukurica línia MON810.....	51
7.2	PROJEKT G-TWYST	53
7.2.1	GM kukurica línia NK603	53
8	EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	56
8.1	CIELE DIZERTAČNEJ PRÁCE.....	56
8.2	HYPOTÉZY	56
8.3	DEFINÍCIE POUŽÍVANÉ V EXPERIMENTÁLNEJ ČASTI DIZERTAČNEJ PRÁCE	57
9	MATERIÁL A METÓDY	58
9.1	MATERIÁL	58
9.1.1	Testovaná látka	58
9.1.2	Príprava krmiva.....	59
9.2	DIZAJN ŠTÚDIE.....	60
9.2.1	Zvierací model	60
9.3	SPOTREBA KRMIVA, HMOTNOSŤ ZVIERAT A KLINICKÉ VYŠETRENIA	62
9.3.1	Spotreba krmiva.....	62
9.3.2	Telesná hmotnosť zvierat.....	62
9.3.3	Klinické vyšetrenia	62
9.4	ODBER A ANALÝZA BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU.....	63
9.4.1	Hematologické vyšetrenia.....	63
9.4.2	Biochemické vyšetrenia	64
9.4.3	Biochemická analýza moču	64

9.4.4 Patologicko-anatomická pitva a histopatologické vyšetrenia	65
9.5 ŠTATISTICKÉ HODNOTENIE	66
10 VÝSLEDKY	69
11 DISKUSIA	85
ZÁVER.....	97
11.1 ODPORÚČANIA PRE PRAX	99
LITERATÚRA	100
PRÍLOHY	117

ZOZNAM OBRÁZKOV A TABULIEK

Obrázok 1: Zlatá ryža.....	25
Obrázok 2: Pestovanie GM plodín vo svete.....	41
Obrázok 3: Schéma projektu GRACE	51
Obrázok 4: Všeobecná schéma výroby GM plodín	52
Obrázok 5: GM kukurica odolná voči hmyzu.....	52
Obrázok 6: Rozmiestnenie zvierat v pokusných klietkach	61
Obrázok 7: Znázornenie štatistickej významnosti, biologického a možného toxického vplyvu.....	68
Obrázok 8: Telesné hmotnosti samcov počas 53 týždňov štúdie.....	70
Obrázok 9: Telesné hmotnosti samíc počas 53 týždňov štúdie	70
Obrázok 10: Priemerná spotreba krmiva (na klietku) u samcov počas 53 týždňov pokusu	71
Obrázok 11: Priemerná spotreba krmiva (na klietku) u samíc počas 53 týždňov pokusu ..	72
Tabuľka 1: Povolené GM plodiny na trhu EÚ.....	43
Tabuľka 2: Pestovanie GM kukurice na Slovensku v hektároch.....	44
Tabuľka 3: Prehľad poľných pokusov v rokoch 2007-2015.....	45
Tabuľka 4: Zoznam GMO, ktorých používanie bolo v SR povolené.....	46
Tabuľka 5: Zoznam používateľov GMO a genetických technológií v uzavretých priestoroch.....	47
Tabuľka 6: Zoznam používateľov genetických technológií a geneticky modifikovaných organizmov zavedených do životného prostredia bez použitia ochranných opatrení	48
Tabuľka 7: Obsah rôznych odrôd kukurice v jednotlivých testovacích skupinách	59
Tabuľka 8: Skupina a k nej prislúchajúce krmivo	61
Tabuľka 9: Klinické nálezy počas 53 týždňov u samcov a samíc kmeňa Wistar Han RCC.....	73
Tabuľka 10: Priemerné hodnoty (so smerodajnou odchýlkou \pm SD) hematologických parametrov samcov a samíc z 3., 6. a 12.mesiaca pokusu	75
Tabuľka 11: Priemerné hodnoty (so smerodajnou odchýlkou \pm SD) biochemických parametrov samcov a samíc z 3., 6. a 12.mesiaca pokusu	78
Tabuľka 12: Relatívna hmotnosť orgánov (na klietku) samce	80

Tabuľka 13: Relatívna hmotnosť orgánov (na klietku) samice	80
Tabuľka 14: Makroskopické a histopatologické nálezy u samcov	82
Tabuľka 15: Makroskopické a histopatologické nálezy u samíc	83
Tabuľka 16: Sumár histopatologických nálezov samcov z kontrolnej a 33% GM skupiny	84
Tabuľka 17: Sumár histopatologických nálezov samíc z kontrolnej a 33% GM skupiny.	84
Tabuľka 18: Benígne a malígne tumory pozorované u zvierat v kontrolnej a 33% GM skupine	84

ZOZNAM SKRATIEK A ZNAČIEK

- ATB – antibiotiká
- CaMV 35S – Cauliflower Mosaic Virus promoter 35S (promótor 35S - vírusu karfiolovej mozaiky)
- CPMV – cowpea mosaic virus (vírus mozaiky Virgy)
- Cry – crystal proteins (kryštalické proteíny)
- DNA – deoxyribonukleová kyselina
- EPA – Environmental Protection Agency (Americká agentúra pre ochranu životného prostredia)
- EPSPS – 5-enol-pyruvyl-šikimát-syntetáza
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organizácia pre výživu a poľnohospodárstvo)
- FDA – US Food and Drug Administration (Americký úrad pre kontrolu potravín a liečiv)
- GM – geneticky modifikovaný
- GMM – geneticky modifikovaný mikroorganizmus
- GMO – geneticky modifikovaný organizmus
- GMR – geneticky modifikovaná rastlina
- GRACE – GMO Risk Assessment and Communication of Evidence (hodnotenie rizika geneticky modifikovaných organizmov, zdieľanie a diskutovanie o zistených dôkazoch)
- G-TwYST – GMR Two Years Safety Testing (geneticky modifikované rastliny – dvojročné testovanie bezpečnosti)
- IARC – International Agency for Research on Cancer (Medzinárodná agentúra pre výskum rakoviny)
- OECD – Organisation for Economic Co-operation and Development (Organizácia pre ekonomickú spoluprácu a rozvoj)
- RHO – relatívna hmotnosť orgánov
- Sma – proteín baktérie *Streptococcus mutans*
- TMV – tobacco mosaic virus (mozaikový vírus tabaku)
- VHB – vírusová hepatitída typu B
- WHO – World Health Organization (Svetová zdravotnícka organizácia)

ÚVOD

V súčasnej dobe sa na verejnosti čoraz viac objavuje termín GMO predovšetkým v súvislosti s geneticky modifikovanými potravinami. V tomto prípade máme na mysli najmä GM rastliny a produkciu potravín z takýchto plodín. Takéto potraviny sa v priebehu niekoľkých rokov dostali na pulty predajní, kde sú k dispozícii širokému spektru spotrebiteľov. V posledných desaťročiach nastal veľký rozmach technológie prípravy geneticky modifikovaných rastlín, inak nazývaných transgénne rastliny, a to pomocou techník rekombinantnej DNA. Do takýchto rastlín je možné preniesť funkčný gén z ľubovoľného organizmu jednou z transformačných metód. GM rastliny sa vyznačujú upravenými špecifickými vlastnosťami ako napríklad odolnosť voči škodlivému hmyzu, rezistencia na určité herbicídy, odolnosť k environmentálnemu stresu alebo zlepšené kvalitatívne ukazovatele. Práve z dôvodu rozvíjajúcej sa technológie prípravy potravín, ktoré sú prístupné celej ľudskej populácii, bolo nutné prispôbiť aj legislatívu. Daná legislatíva sa týka výskumu, výroby a rozširovania GMO, je založená na prísnom sledovaní, kontrole ale i uvoľňovaní GMO pre vedecké a komerčné účely.

S rozmachom biotechnológií a predovšetkým technológií rekombinantnej DNA do oblasti výživy a zdravia ľudí sa rovnako dostávajú do popredia aj etické otázky. Tak ako pri vzniku všetkého nového, či už ide o novú medicínsku metódu alebo technológiu v ktorejkoľvek oblasti aj pri vzniku a používaní geneticky modifikovaných organizmov vznikli dve skupiny s protichodnými názormi. Kladný názor na používanie GMO majú zväčša zástupcovia organizácií, ktoré sú ekonomicky závislé od ich produkcie. Prezentujú názor, že používanie takýchto organizmov predstavuje len zanedbateľné riziko v porovnaní s ich nespočetnými benefitmi. Opačný názor prezentujú zástupcovia ekologických zoskupení, ktorí upozorňujú na nedostatok vedomostí pri posudzovaní rizík, týkajúcich sa zdravia ľudskej populácie i ekologických dôsledkov pestovania GM rastlín. Navyše, prvé obavy spojené s uplatňovaním biotechnológií vyslovili práve vedeckí pracovníci, a nie politici, právnici, ochranári či laická verejnosť.

Jednou z ciest pre objektívne posúdenie rizík a prínosov vytvárania a používania geneticky modifikovaných organizmov je tvorba výsledkov vo vedeckých experimentoch a priebežné vyhodnocovanie údajov z doterajších skúseností používania GMO. Práve z dôvodu dôkladného preskúmania rizík a prínosov, je nutné zjednotiť metodiku testovania týchto organizmov, o čo sa snažia projekty financované Európskou komisiou GRACE a G-TwYST, ktoré sú uskutočňované aj na pôde Slovenskej zdravotníckej univerzity. Aj takto sa dá prispieť k utváraniu nových vedeckých poznatkov, ktoré budú mať dopad na ochranu zdravia ľudskej populácie. A v neposlednom rade k utváraniu prínosov do diskusie k veľmi aktuálnej téme geneticky modifikovaných organizmov.

V nasledovných kapitolách budú opísané základné termíny v oblasti GMO, historický vývoj, pohľad verejného zdravotníctva na GMO, metodiky prípravy GM rastlín, bezpečnosť používania takýchto rastlín a plodín pre zdravie ľudskej populácie, ich výhody a nevýhody, ako aj predstavenie projektov GRACE a G-TwYST. V experimentálnej časti práce budú opísané výsledky zo štúdie ročnej chronickej toxicity, ktorá bola uskutočnená v rámci projektu GRACE.

1

TERMINOLÓGIA

Biotechnológia – pre široký informačný rozsah tohto termínu existuje veľa odlišných definícií, ako prvý v roku 1917 použil tento termín maďarský inžinier Karol Ereky.

Biotechnológia v širšom chápaní je každá technológia, ktorá používa živé mikro- alebo makroorganizmy, poprípade iba ich súčasti pri šľachtení rastlín, živočíchov a mikroorganizmov. Respektíve ide o technológie používané na špecifické využitie pre výrobu a modifikáciu produktov (Tóth, 2007).

Gén je základná jednotka dedičnosti, je to časť chromozómu v ktorom je uložená vlastnosť organizmu (Lodish a kol., 1995).

Génové inžinierstvo je súhrnné pomenovanie pre postupy z oblasti genetiky a molekulovej biológie, ktoré umožňujú manipuláciu s génmi (Dúha, 2001).

Genetická informácia je obsiahnutá v poradí nukleotidov v nukleových kyselinách DNA, RNA, odovzdáva sa z generácie na generáciu (Bežo a kol., 2007).

Genetické technológie sú to činnosti modernej biológie a genetického inžinierstva, ktorými sa vytvárajú živé geneticky modifikované mikroorganizmy a makroorganizmy (Bežo a kol., 2007).

Génové techniky a génové metódy sú to konkrétne cielene techniky a metódy, pri ktorých sa pomocou použitia nosiča implementuje genetický materiál jedného organizmu do genetického materiálu druhého organizmu. Rovnako sa môže genetický materiál vyňať, prípadne pozmeniť časť prirodzeného genetického materiálu daného organizmu, čím vzniká nový geneticky modifikovaný organizmus (Bežo a kol., 2007).

Genetická modifikácia je technológia, ktorá sa používa na začlenenie genetického materiálu do živej bunky s cieľom uskutočňovať v nej nové funkcie alebo navodiť tvorbu nových produktov (Dúha, 2001).

Geneticky modifikovaný organizmus (GMO) je organizmus, mikro- alebo makroorganizmus, ktorého genetický materiál je pozmenený takým spôsobom, ktorý sa prirodzene pri pohlavnom rozmnožovaní ani v prirodzenej rekombinácii nevyskytuje (Ferenčík, Hutta, 2006).

Geneticky modifikovaná rastlina genetický materiál takejto rastliny bol na účely poľnohospodárskej výroby zmenený takým spôsobom, ktorý sa bežne v prirodzenej rekombinácii ani pri pohlavnom rozmnožovaní nevyskytuje (Zákon 184/2006 Z.z.). Iný používaný termín je transgénna rastlina.

Šľachtenie je cieľená činnosť zameraná na tvorbu nových odrôd rastlín. Je založená na využívaní metód vedúcich k rozširovaniu genetickej variability rastlín (napríklad selekcia, hybridizácia, mutačné a polyploidné šľachtenie, aplikácia biotechnologických metód resp. ich kombinácie) s cieľom vzniku nových odrôd so zlepšenými kvalitatívnymi a kvantitatívnymi vlastnosťami, s odolnosťou voči nepriaznivým abiotickým i biotickým faktorom, s veľkou mierou adaptability k meniacim sa podmienkam prostredia (VUOOD, 2016).

Transgenóza ide o novú techniku, ktorá umožňuje vytvárať nové odrody kultúrnych rastlín. Podstatou je obohacovanie genómu rastlín o umelo syntetizovaný alebo vyseparovaný gén z príbuzných druhov (Hraška, Kuna, 2000).

2

HISTÓRIA

Vývoju prvých geneticky modifikovaných organizmov predchádzal celý rad objavov a vynálezov, predovšetkým z oblasti genetiky a biotechnológií. Za zakladateľa genetiky sa považuje Gregor Johann Mendel, ktorý v roku 1865 predstavil verejnosti svoje poznatky o zákonoch dedičnosti. Jeho poznatky však na dlho zostali zabudnuté. Z toho dôvodu rozvoj genetiky nastal až v 20. storočí (Chrást, 2015).

V roku 1869 bola v bunkách zistená chemická látka deoxyribonukleová kyselina DNA. Pojem gén sa vo vedeckom svete prvý krát objavil v roku 1909 a rovnako bolo zistené chemické zloženie DNA (Penzešová, 2011).

Thomas Morgan v roku 1910 zistil, že gény sú uložené na chromozómoch, týmto objavom položil základ pre modernú genetiku. Neskôr v roku 1917 Karol Ereky, maďarský inžinier ako prvý použil termín biotechnológie a uviedol tak definíciu, ktorá je platná do dnes. V roku 1928 Frederick Griffith zistil, že niektoré baktérie sú schopné prijímať DNA zo svojho okolia. Tento poznatok sa dnes využíva pri príprave geneticky modifikovaných baktérií (Chrást, 2015). Ďalším významným objavom bol objav dvojzávitnicovej štruktúry DNA, jej štruktúru popísali James Watson a Francis Crick v roku 1953. V nasledujúcich rokoch sa rozvíjali techniky fermentačných procesov a bunkových kultúr, ktoré sú dodnes veľkou súčasťou biotechnológií (Chrást, 2015).

V roku 1966 sa prišlo na to, že DNA sa nachádza aj mimo chromozómov, teda mimo bunkového jadra a to v mitochondriách. Prvý gén bol izolovaný v roku 1969 a v nasledujúcom roku bol vyrobený prvý umelý gén. Od roku 1973 je možné experimentovanie s génmi, čím začína doba genetického inžinierstva (Penzešová, 2011). V tom istom roku Herbert Boyer a Stanley N. Cohen položili základy technológie rekombinantnej DNA. Zistili, že je možné zobrať kúsok DNA, ktorý nesie určitý gén a vložiť ho do plazmidu (špeciálna kruhová DNA baktérií) a tento plazmid následne vložiť do baktérie. Týmto objavom nastal rýchly rozvoj geneticky modifikovaných organizmov. O tri roky neskôr boli vypracované pravidlá pre prácu s geneticky modifikovanými organizmami (Chrást, 2015). V roku 1978 bol vyprodukovaný prvý produkt geneticky

modifikovaných baktérií (*E. coli*) a to ľudský inzulín. Pre používanie bol schválený v roku 1982. Bol to veľký úspech, pretože do tej doby používaný spôsob na izoláciu inzulínu z hovädzích či prasacích slizníc, nebol príliš efektívny (Zovčínová, 2011). V roku 1980 v USA najvyšší súd povolil patentovanie geneticky modifikovaných mikroorganizmov (produkcia Humulínu) (Penzešová, 2011).

V roku 1994 bola schválená prvá geneticky modifikovaná plodina – rajčiak FlavrSavr. Od roku 1996 začalo fungovať komerčné pestovanie geneticky modifikovaných obilnín, taktiež sa začali pestovať rastliny odolné voči herbicídum, známe tiež ako Round up Ready rastliny. Neskôr v roku 1997 sa narodil prvý klonovaný cicavec – ovca Dolly. Zlatá ryža ako transgénna rastlina, ktorá obsahovala zvýšený obsah betakaroténu, sa objavila v roku 2000. Európa, čo sa týka pestovania geneticky modifikovaných rastlín zostávala pozadu oproti USA. Prvé rastliny sa začali v Európe pestovať až po roku 1998 a do roku 2010 bola jedinou rastlinou schválenou na pestovanie len kukurica. U iných plodín bol síce schválený dovoz, no nie ich pestovanie (Chrást, 2015).

Generácie transgénnych rastlín

Prvé genetické modifikácie rastlín sa zameriavali na zlepšenie agronomických vlastností rastlín, predovšetkým na odolnosť voči herbicídum a insekticídum, odolnosť voči vírusom či dokonca na potlačanie dozrievania plodov. Takéto modifikácie mali priniesť prospech pestovateľom a predovšetkým spoločnostiam zaoberajúcim sa predajom semien. Nazývajú sa geneticky modifikované rastliny **prvej generácie**. Najznámejším je rajčiak FlavrSavr.

Neskôr sa genetické modifikácie sústredili na prípravu rastlín s vylepšenými kvalitatívnymi vlastnosťami, ktoré by tak priniesli prospech konzumentom napr. nižšia alergicitu, vyššia nutričná hodnota. Ide o geneticky modifikované rastliny **druhej generácie**. Najznámejšími sú ryža s obsahom vitamínu A, sója s vyšším obsahom kyseliny laurovej, alebo s obsahom mastných kyselín.

V súčasnosti i keď sú GM rastliny prijímané spoločnosťou stále rozporupne vývoj geneticky modifikovaných rastlín stále pokračuje. Modifikácia **tretej generácie** rastlín sa zameriava na rastliny ako továrne na produkciu proteínov (farmaceutické proteíny, vakcíny, protilátky) (Dubnický, 2010).

3

GENETICKY MODIFIKOVANÉ ORGANIZMY Z POHLĀDU VEREJNÉHO ZDRAVOTNÍCTVA

Americký bakteriológ a expert na verejné zdravotníctvo Charles-Edward Amory Winslow v roku 1920 sformuloval jednu z prvých definícií verejného zdravotníctva. Tvrdil, že verejné zdravotníctvo je:

„Veda a umenie o prevencii chorôb, podpore zdravia, predlžovaní života a podpore zdatnosti organizovaným úsilím komunity. Takéto úsilie je zamerané na udržiavanie čistého prostredia – najmä na zabezpečenie prístupu k zdraviu neškodnej vode, na správne odstraňovanie odpadov, prevenciu infekčných chorôb a výchovu jednotlivcov k osobnej hygiene. Súčasťou je aj organizovanie ošetrovateľských a lekárskeho služieb, ktoré sú zamerané na včasnú diagnostiku, preventívnu liečbu chorôb a na rozvoj sociálneho systému zabezpečujúceho pre každého životnú úroveň potrebnú na udržiavanie zdravia organizovaných tak, aby umožňoval každému občanovi realizovať jeho nároky na zdravie a dlhovekosť“ (Kemper, 2015).

Postupom času ako sa rozvíjalo verejné zdravotníctvo, sa upravovali aj jeho definície, do ktorých sa pridávali aj ďalšie oblasti zahrňujúce zdravie ľudskej populácie, ako napríklad sa začalo zohľadňovať aj mentálne zdravie.

Hlavné ciele dnešného verejného zdravotníctva sú zamerané predovšetkým na:

- zlepšenie zdravotného stavu populácie;
- predlžovanie produktívneho kvalitného života, nezaťaženého chorobami a inými zdravotnými obmedzeniami;
- podporu a udržiavanie telesného i mentálneho zdravia;
- predchádzanie chorobám, úrazom a invalidite.

Stanovené ciele je možné dosiahnuť ovplyvňovaním determinantov zdravia a znížením výskytu rizikových faktorov v živote, pracovnom, sociálno-ekonomickom prostredí, pozitívnym ovplyvňovaním životného štýlu a správania sa verejnosti. I napriek dosiahnutým úspechom stoja pred verejným zdravotníctvom problémy z oblasti infekčných ochorení, ktoré sa za éry antibiotík zdali byť porazené. Novodobým problémom sa však

stávajú chronické ochorenia, predovšetkým kardiovaskulárne a nádorové ochorenia. Etiológia týchto ochorení nie je vždy známa a vychádza z genetickej predispozície a vplyvov prostredia i spôsobu života. Vedné odbory ako genetika a genomika dávajú verejnému zdravotníctvu nový priestor pre rozsiahle populačné štúdie, ktoré pomôžu odlíšiť jednotlivé vplyvy na vznik ochorenia. Veda i výskum patria ku kľúčovým aktivitám, ktoré budú formovať verejné zdravotníctvo tak, aby sa stalo vedným odborom, ktorý je založený na dôkazoch. Základy verejného zdravotníctva stoja na pilieroch biomedicínskych a prírodných vied, ako sú biológia, epidemiológia, hygiena, mikrobiológia, toxikológia a mnohé ďalšie a rovnako i na pilieroch sociálnych a behaviorálnych vied ako antropológia, sociológia, psychológia, manažment a ekonomika (Šulcová, Čižnár a kol, 2012).

K rozvoju verejného zdravotníctva významne prispievajú aj nové vedné disciplíny ako spomínaná genomika, molekulová biológia, genetika, genetické inžinierstvo a mnohé ďalšie (Šulcová, Čižnár a kol, 2012).

S nástupom genetického inžinierstva a biotechnológií sa postupne začali rozvíjať i geneticky modifikované organizmy. Od geneticky modifikovaných mikroorganizmov, ktoré sú používané predovšetkým v biologickom a medicínskom výskume, pri produkcii farmaceutických látok i v experimentálnej medicíne (génová terapia), cez geneticky modifikované živočíchy, ktoré sú využívané ako laboratórne zvieratá u ktorých je možné navodiť určitú potrebnú vlastnosť vložení správneho génu (čím je možné vytvoriť potrebnú líniu zvierat), až po geneticky modifikované rastliny a plodiny, ktoré sú využívané ako kultúrne plodiny v poľnohospodárstve.

Nárast počtu ľudí na planéte, klimatické zmeny ale i zmeny v stravovacích návykoch vytvárajú nové výzvy pre zvyšovanie produkcie z rovnakého množstva vstupov, ale pri súčasnom znižovaní používania rôznych pesticídov a iného znehodnocovania prostredia. Spomínané moderné biotechnológie môžu prispieť k hľadaniu riešení na dané výzvy. A to vďaka objavom z konca 70-rovok, ktoré umožnili vedcom vložiť do organizmov nové vlastnosti s väčšou rýchlosťou a presnosťou ako to umožňovali tradičné šľachtiteľské postupy (Ferenčík a kol., 2009).

So šľachtením, čiže vzájomným krížením vybraných jedincov s cieľom získať produktívnejšie potomstvo ľudia začali pred 10 tisíc rokmi. Tento tradičný proces bol veľmi zdĺhavý. V súčasnosti však genetické mapovanie umožňuje, presnú lokalizáciu produkčne záujmových génov a ich cielené úpravy. Dnes je asi 80% výskumu v oblasti rastlinných biotechnológií zameraných na potravinársky významné plodiny, zvyšok sa

zameriava na technické plodiny ako ľan, tabak, bavlník a na okrasné rastliny napr. klinček *dianthus*. Spočiatku výskumu sa kládol dôraz na zlepšenie agronomických vlastností rastlín, ako odolnosť voči škodlivému hmyzu, rezistencia voči herbicídom, či predlžovanie trvanlivosti plodov. Neskôr bola snaha priniesť priamy účinok spotrebiteľom zlepšením výživových vlastností. Príkladom je zemiak so zvýšeným obsahom bielkovín, ryža obsahujúca provitamín A, zmena zloženia oleja v olejnatých rastlinách ako repka olejná, sója, ktoré pozitívne vplývajú na ich nutričné parametre (Ferenčík, Siekel, Dugovič, 2007).

Napriek deklarovaným pozitívnym vlastnostiam prináša genetická modifikácia rastlín aj množstvo otázok, keďže práve týmto GM rastlinám je ľudská populácia vystavená najviac z dôvodu ich celosvetového používania a rozšírenia. GM plodiny sa spracúvajú a pridávajú do potravín, čím sa dostávajú do výživy populácie, ktorá môže mať následný negatívny dopad na zdravie, rovnako môžu mať dopad na životné prostredie a vplývať tak na ekosystém i environmentálne zdravie. Z dôvodu **expozičie** takmer celej populácie ľudí sa geneticky modifikované rastliny dotýkajú aj **verejného zdravotníctva**. Z tohto pohľadu je dôležité posúdiť ich **bezpečnosť** pre zdravie ľudskej populácie, **zhodnotiť potencionálne riziká** ich používania a rovnako i zjednotiť a **štandardizovať metodiky** ich testovania.

4

GENETICKY MODIFIKOVANÉ RASTLINY

Geneticky modifikované rastliny sa stali súčasťou rastlinnej výroby, šľachtenia ale i viacerých priemyselných oblastí ako napr. krmovinnárstvo, potravinárstvo, farmaceutický a chemický priemysel. Od roku 1983 bolo pre výskumné ale i pre komerčné účely vytvorených množstvo rastlinných línií rôznych rodov i druhov. Modifikované boli génmi a špecifickými sekvenciami mikrobiálneho, rastlinného, živočíšneho i ľudského pôvodu.

Čo sa týka technológie prípravy GM rastlín tak termín „**genetická modifikácia**“ dostatočne nevystihuje podstatu úpravy a zásahu do genómu cieľovej rastliny. Výstižnejším termínom je „**transgénná**“ či „**transformovaná**“ rastlina, rovnako technológia, ktorou sa dosahuje špecifická zmena genotypu sa nazýva „transgenóza“ alebo „transformácia“. Cudzie gény, ktoré sú takto vnesené do rastliny sa nazývajú „transgény“ (Timko, Siekel, Turňa, 2004).

Transgénné rastliny sa pripravujú technikou rekombinantnej DNA (potlačenie génovej expresie, inzercia/delécia génu). Cieľom prípravy takýchto rastlín je prenos znakov, ktoré nie sú dosiahnuteľné klasickým šľachtiteľským postupom (Libantová, Moravčíková, 2010).

Transgenóza alebo teda transformácia umožňuje vytvárať nové odrody kultúrnych rastlín. Podstata je v obohacovaní rastlinného genómu o umelo syntetizovaný či separovaný gén z príbuzných druhov jeho transgenózou alebo vyradením genómu génovým knockout-om (Hraška, Kuna, 2000). Ide teda o tvorbu bielkovín a z nich zložených aminokyselín, ktoré produkuje príslušný organizmus na základe genetickej informácie, ktorá sa nachádza v DNA. Zásahmi do genetického materiálu je dosiahnutá zmena v sekvencii básových párov (guanín-cytozín, adenín-tymín), ktoré kódujú aminokyseliny. Takto produkované geneticky modifikované bielkoviny následne konzumuje spotrebiteľ. Každá takto geneticky modifikovaná rastlina predstavuje novú potravinu. Ide o jej nový druh, z dôvodu nového zloženia aminokyselín a bielkovín (Kaláč, Kajaba, 2003).

Na rozdiel od klasického šľachtenia poľnohospodárskych plodín, v ktorom ide o kríženie (hybridizáciu) dvoch alebo viacerých rodičovských foriem a následnom výbere rastlín z potomstva, ktoré majú požadované morfológické, úrodové i hospodársko-kvalitatívne vlastnosti. Rodičovské rastliny sa vyberajú podľa požadovaných vlastností a kritérií pričom dedičné znaky sa krížením kombinujú ako celok náhodným spôsobom (Faragó, 1999).

Pri pestovaní GM rastlín je nutné postupovať tak ako to určujú podmienky ich pestovania. Musí byť zabezpečený a dodržiavaný plán pestovania modifikovaných rastlín, ktorý je vždy špecifikovaný pre konkrétne podmienky v pestovateľskom systéme. Ide o údaje o odrode, botanickom druhu, type genetickej modifikácie pestovanej plodiny, údaje o plánoch a orientácii pozemkov, mechanizácie, spôsobe dopravy a podrobné popisy zberu, následného čistenia, skladovania a manipulácie s produkciou (Vitáriusová, 2007).

4.1 METÓDY GENETICKEJ MODIFIKÁCIE RASTLÍN

Metódy prenosu génov do rastlinných buniek sú rôzne a vo všeobecnosti sa rozdeľujú na priame a nepriame metódy (Galová, Blážová, 2008). Metódy priame sú založené na fyzikálnych alebo chemických princípoch prenosu cudzorodej DNA do rastlinnej bunky. Patrí sem napr. transformácia protoplastov či biolistická transformácia. Metódy nepriame sú založené na prirodzenej schopnosti niektorých bakteriálnych druhov rodu *Agrobacterium* prenášať špecifické vlastné gény do rastlinných buniek (Dubnický, 2010).

4.1.1 Transformácia protoplastov

Pri prenášaní cudzích génov do bunky je nutné prekonať bunkovú stenu, ktorá predstavuje prirodzenú bariéru bunky. Tento problém možno prekonať použitím takých buniek, ktoré majú úplne alebo len čiastočne odstránenú bunkovú stenu (protoplasty). Podstatou tejto metódy je teda inkubácia protoplastov v tlmivom roztoku s pridanou exogénnou DNA. Prijatie takejto DNA sa môže uskutočňovať len endocytózou. Endocytózu možno dosiahnuť:

- a) chemicky – pomocou polyetylénglykolu alebo vápnikových iónov;
- b) elektroporáciou – pomocou pulzov elektrického náboja (Ondřej, Drobník, 2002).

Ďalšou z možností je použitie mikroinjekčnej metódy. Pri tejto metóde sa DNA zavedie do jadra alebo cytoplazmy pomocou mikro-injekcie (sklenej kapiláry). Táto metóda sa však častejšie používa na transformáciu živočíšnych buniek. Používanie mikroinjekčnej metódy je vzhľadom na vlastnosti stien rastlinných buniek obmedzený (Rao a kol., 2009).

4.1.2 Biolistická transformácia

Názov tejto metódy je odvodený od slovného spojenia „biological ballistic“. Ide o univerzálnu metódu, ktorá sa používa na transformáciu živočíšnych organizmov ale i húb a rastlín. Biolistická transformácia využíva vysokú frekvenciu bombardovania mikroprojektilmi, ktoré sú potiahnuté povlakom DNA, pletiva alebo intaktných buniek (Dubnický, 2010). Patrí medzi najčastejšie využívané fyzikálne metódy (Khan, Liu, 2009).

4.1.3 Transformácia pomocou karbidu kremíka (SiC)

Je jednou z najmenej komplikovaných metód, ktoré sa používajú pri transformácii rastlín. Vlákna karbidu kremíka sa pridajú do suspenzie, ktorá obsahuje rastlinné tkanivá a plazmid. Táto suspenzia sa následne dôkladne pretrepe vo vortexe alebo v inej laboratórnej miešačke. Za pomoci malých otvorov v bunkovej stene, ktoré vznikli po zrážkach medzi vláknami karbidu a rastlinnými bunkami preniknú do bunky vlákna potiahnuté DNA (Wang, 1995).

4.1.4 Transformácia pomocou *Agrobacterium tumefaciens*

Transformácia pomocou *Agrobacterium tumefaciens* využíva prirodzenú vlastnosť tejto baktérie prenášať genetickú informáciu do rastlinnej bunky (Karami a kol., 2009). *Agrobacterium tumefaciens* patrí do rodu *Agrobacterium*. Do spomínaného rodu patria i nasledovné druhy *rubi*, *larrymoorei*, *vitis*, a ďalšie. K transformácii rastlín sa používa i *Agrobacterium rhizogenes* (Kováčová, 2008). Tieto dva druhy sa najčastejšie používajú pri nepriamej metóde transformácie rastlín (Dubnický, 2010).

4.1.5 Expresia transgénov v rastlinách

Aby v rastlinnej bunke došlo k expresii transgénu, musia byť k vnášanému génu pridané aj rastlinné regulačné sekvencie. Takáto expresná jednotka musí obsahovať: promótor (aktívny v rastlinách), transgén (gén, ktorý chceme preniesť) a terminátor (zodpovedný za ukončenie prepisu sekvencie) (Libantová, Moravčíková, 2010).

Ako promótoary sa najčastejšie používajú tzv. konštitutívne promótoary. Pri nich transkripcia beží stále. Najznámejším je CaMV 35S pochádzajúci z vírusu karfiolovej mozaiky (Odell a kol., 1985). Iné používané promótoary sú aktívne zase len v určitom čase napr. v čase vývinu semena, ide o pletivovo-špecifické promótoary. Ďalšími používanými sú indukovateľné promótoary, aktívne len za určitých podmienok napr. sucho, teplo, svetlo alebo sú také, ktoré sa aktivujú pri poranení rastliny (Dubnický, 2010). Výhodou transgenózy rastlín je, že výberom správneho promótoara je možné ovplyvniť expresiu génu. Terminátory zase slúžia ako transkripčný STOP signál pre RNA polymerázu lebo obsahujú tzv. polyadenylačný signál.

4.2 PREHĽAD TRANSGÉNOV PRE MODIFIKÁCIU RASTLÍN

4.2.1 Transgény upravujúce agronomické vlastnosti rastlín

4.2.1.1 Transgény pre odolnosť voči špecifickým herbicídum

Jedným z problémov v poľnohospodárstve pri pestovaní kultúrnych rastlín sú práve buriny, ktoré ovplyvňujú výnosy a kvalitu plodín. Klasické herbicídy sú často selektívne účinné. Ďalšou ich nevýhodou je ich pomalý rozklad v pôde (Libantová, Moravčíková, 2010). Aj z toho dôvodu bol vytvorený nový širokospektrálny (totálny) herbicíd. Genetickými technológiami vznikli GM rastliny odolné voči tomuto univerzálnemu herbicídu (Hraška, Kuna, 2000). Výrobcovia deklarujú, že takýto herbicíd je rýchlo rozložiteľný v pôde, a nemal by tak mať negatívny účinok na životné prostredie.

Rezistencia na báze glyfosátu

Glyfosát (N-fosfonomethyl-glycin) je široko používaný univerzálny herbicíd. Mechanizmus jeho toxického účinku na rastliny spočíva v inhibícii enzýmu 5-enol pyruvylšikimát-3-fosfátsyntázy (EPSPS). Spomínaný enzým je súčasťou biosyntézy aromatických aminokyselín v rastlinách, jeho blokovanie vedie k narušeniu proteosyntézy a následnému zániku rastliny. Živočíchy takúto biosyntetickú dráhu nemajú a získavajú tak aromatické aminokyseliny z potravy. Podľa Williamsa, glyfosát by pre ne nemal byť toxický (Williams a kol., 2000). Toxické účinky herbicídov na báze glyfosátu (kontaktná a systémová dermatitída, respiračné problémy, podráždenie očí) pozorované u človeka boli vysvetľované ako účinky surfaktantov alebo plnidiel (látok, ktoré uľahčujú aplikáciu

herbicídov). Bolo dokázané, že k prejavom intoxikácie u človeka dochádza po vypití minimálne 85ml herbicídneho prípravku. Takáto intoxikácia sa prejavuje popálením sliznice pažeráka, žalúdka, bolesťami v ústach i epigastriu. Časté je aj poškodenie obličiek, pečene a narušené vedomie. Z toxikologického hľadiska je však ťažké posúdiť ako sa na toxicite podieľa glyfosát a ako ostatné pomocné látky (Bradberry a kol., 2004). Niektoré štúdie však dokázali, že glyfosát nie je až taký bezpečný (Pieniazek a kol., 2003). V roku 2001 bol glyfosát zaradení americkou agentúrou pre ochranu životného prostredia (EPA) do skupiny látok, ktoré pravdepodobne nie sú karcinogénne. Krátko na to štúdia švédskych onkológov preukázala, že môže vyvolávať vznik rakoviny lymfatického systému (Hardell a kol., 2002). V experimente, ktorý vykonali Benachour a Séralini v roku 2008 na ľudských bunkových kultúrach preukázali, že herbicíd na báze glyfosátu usmrcuje všetky buky do 24 hodín, inhibuje mitochondriálnu sukcinát dehydrogenázu a vyvoláva apoptózu buniek (Benachour, Séralini, 2008). Genotoxický potenciál herbicídu na báze glyfosátu bol dokázaný i v mnohých ďalších štúdiách (Heydens a kol., 2008).

V roku 2015 bol glyfosát zaradení Medzinárodnou agentúrou pre výskum rakoviny (IARC) **do skupiny 2A**, čo znamená **pravdepodobný karcinogén pre človeka**. S odôvodnením, že glyfosát môže spôsobovať rakovinu u laboratórných zvierat a u ľudí existujú obmedzené dôkazy o vzniku non Hodgkinovho lymfómu (IARC, 2015).

4.2.1.2 Transgény pre odolnosť voči škodlivému hmyzu

Ďalším problémom pri pestovaní kultúrnych ale i okrasných rastlín je škodlivý hmyz. Poškodzuje rastliny už v období klíčenia ale i počas vegetatívneho rastu a v období tvorby plodov a semien. Napáda celú rastlinu od listov, stonky, pletiva generatívnych orgánov ale i koreňový systém. Poškodzovanie môže pokračovať i po uskladnení úrody v prípade ak hmyz nakladie vajíčka do semien (Libantová, Moravčíková, 2010).

Na prípravu transgénnych rastlín rezistentných voči škodlivému hmyzu sa v súčasnosti používajú dva spôsoby genetickej modifikácie:

- a) vnášanie génov z baktérií, ktoré kódujú insekticídne proteíny v rastline;
- b) vnášanie génov, ktorých expresia zabezpečuje inhibíciu enzýmov v tráviacom trakte hmyzu (Dubnický, 2010).

Vnášanie génov z baktérií, ktoré kódujú insekticídne proteíny

Ako zdroj génov, ktoré zabezpečujú odolnosť rastlín voči škodlivému hmyzu sa používa *Bacillus Thuringiensis* (*Bt*). Ide o baktériu, ktorá sa bežne vyskytuje v pôde,

v nepriaznivých podmienkach je schopná tvoriť spóry, ktoré majú kryštalickú štruktúru s insekticídnyimi vlastnosťami (Ranjeekar a kol. 2003, Broderick a kol. 2006).

Niektoré kmene týchto baktérií sú schopné produkovať Cry proteíny. Tieto proteíny sa označujú ako *Bt* toxíny. Tvorí sa v neaktívnej forme (pro-toxín), no po tom ako sa dostanú do tráviaceho ústrojenstva hmyzu menia sa vplyvom pH a za prítomnosti proteáz na aktívny toxín. Takýto aktívny toxín sa viaže na špecifické receptory čreva hmyzu, vyvoláva porušenie osmotickej rovnováhy v bunke, v dôsledkom čoho hmyz hynie. *Bt* toxíny sú údajne ľahko biodegradovateľné a nepredstavujú vysoké riziko pre kontamináciu pôdy, vody a sú rozložiteľné v tráviacom trakte stavovcov (Sharma a kol., 2000, Covey, Al-Kaff 2000). Problémom *Bt* transgénnych rastlín je možná adaptácia hmyzu k *Bt* toxínu, pretože hmyz je vystavený vysokej dávke toxínu počas celého vegetačného obdobia rastlín (Libantová, Moravčíková, 2010).

Vnášanie génov, ktorých expresia zabezpečuje inhibíciu enzýmov v tráviacom trakte hmyzu

Ako obranu voči škodlivému hmyzu využívajú rastliny tzv. antimetabolické proteíny. Tieto proteíny narúšajú proces trávenia hmyzu. Aby hmyz dokázal štiepiť škrob a proteíny získané z rastliny, musí jeho tráviaca sústava obsahovať alfa amylázy a proteázy. Obrana rastliny tak spočíva v tvorbe alfa amylázových a proteázových inhibítorov. Takýto alfa amylázový inhibítor bol izolovaný z *Phaseolus vulgaris* fazule obyčajnej. Blokuje zásobovanie lariev hmyzu živinami čím dochádza v vyhľadovaní a úhynu (Bežo a kol., 2009).

4.2.2 Transgény upravujúce výživové a iné parametre plodín používaných v poľnohospodárstve

Zlatá ryža

Ako príklad zlepšenia nutričných vlastností slúži „Golden Rice“ – zlatá ryža. Takto modifikovaná ryža má zvýšený obsah β -karoténu, ktorý je prekursor provitamínu A. Rastlinný proces premeny lykopénu na β -karotén dodáva rastlinám ich typickú žltú farbu, podľa ktorej bola aj pomenovaná (Hirschberg, 2001).

Zlatá ryža bola vyvinutá, pre ľudí z oblastí, v ktorých je strava chudobná na vitamín A. Projekt prípravy zlatej ryže začal v roku 1992 a prvé výsledky boli publikované v roku 2000, projekt bol považovaný za prelom v biotechnológiách (Dubnický, 2010).

Takouto transgenózou sa podarilo dosiahnuť aspoň čiastočnú kompenzáciu predpokladanej dennej dávky vitamínu A (Datta a kol. 2007).

Úplne prvá zlatá ryža (Obrázok 1) bola pripravená vpravením génu fytoén syntázy z rastliny narcisu a génu fytoén desaturázy z baktérie *Erwinia uredovora* (Ye a kol., 2000). Zlatá ryža číslo dva (Obrázok 1) bola pripravené v roku 2005 a oproti prvej zlatej ryži mala 23-krát vyšší obsah karotenoidov. Na prípravu zlatej ryže číslo dva bol použitý gén fytoén syntázy z kukurice siatej (Paine a kol., 2005).



Obrázok 1: Zlatá ryža
Zdroj: http://www.goldenrice.org/Content2-How/how1_sci.php

Rajčiak

Dodnes využívaným typom genetickej modifikácie je modifikácia rajčiakov s regulovaným alebo oneskoreným dozrievaním. Využívajú sa v nej transgény redukujúce syntézu etylénu. Plodiny sú tak zbierané v stave zelenej zrelosti a následne sú vystavené účinku plynného etylénu cca 12 až 18 hodín. Počas tejto procedúry dochádza k rovnomernému dozrievaniu plodov (Lacek, 2011).

Repka olejná a sója

Modifikácia rastlín umožňuje ovplyvňovať aj zloženie a obsah mastných kyselín v rastlinách využívaných na produkciu oleja. V roku 1994 bola takto uvedená na trh repka olejná (*Brassica napus*) s vysokým obsahom kyseliny laurovej. Táto modifikácia bola dosiahnutá vnesením tioesterázového génu z magnólie kalifornskej (*Umbellularia californica*). Modifikovaná sója (*Glycine max*) s nízkym obsahom kyseliny linolénovej bola na trh uvedená v roku 2008. Modifikácia bola dosiahnutá vnesením ďalšej kópie génu pre omenag-6 desaturázu (Dubnický, 2010).

Kukurica so zvýšeným obsahom lyzínu

Genetickou modifikáciou je rovnako možné dosiahnuť zmeny v obsahu a zložení aminokyselín. Takýmto príkladom je GM kukurica siata so zvýšeným obsahom lyzínu. Ide o esenciálnu mastnú kyselinu, ktorú si ľudský organizmus sám nedokáže vyprodukovať. Je považovaný za najnepostrádatejšiu aminokyselinu, pretože sa nachádza len vo veľmi malom množstve v obilninách a zrnkách. Táto genetická modifikácia bola dosiahnutá vpravením génu, ktorý kóduje dihydrodipikolinát syntázu z baktérie *Corynebacterium glutamicum* (Dubnický, 2010).

4.2.3 Transgény pre produkciu biologík a liečiv

Rastliny predstavujú veľmi vhodný zdroj na produkciu biologík ako sú napr. protilátky a vakcíny alebo na produkciu iných biofarmaceutík. Geneticky modifikované rastliny, ktoré produkujú takéto látky sa pripravujú pomocou štandardných transformačných metód. Druhou používanou metódou je infikovanie netransgéennej rastliny rekombinovaným vírusom, tento vírus počas replikácie v hostiteľskej rastline exprimuje na transgén (Giddings a kol., 2000).

Zaujímavú časť geneticky modifikovaných rastlín tvoria tzv. jedlé vakcíny. Ide o plody transgéenných rastlín obsahujúce látky, ktoré po požití chránia konzumenta a fungujú tak ako vakcíny. Takto sa pestuje napr. tabak, z ktorého sa získava Sma proteín. Ide o obalový proteín baktérie *Streptococcus mutans* – najčastejší pôvodca zubného kazu (Valková, 2004).

Pri príprave takýchto jedlých vakcín sa nemyslelo len na ľudí a ich zdravie ale aj na zdravie zvierat. Preto boli vyberané najrôznejšie rastliny a plodiny k ich príprave. Napríklad na prípravu vakcíny proti zápalu pľúc u dobytka, ktorý spôsobuje baktéria *Mannheimia haemolytica* bola vybraná d'atelina plazivá (*Trifolium repens*). Proti moru dobytka spôsobeného vírusom bola pripravená vakcína z podzemnice olejnej (*Arachis hypogea*). Pre ľudí boli vybraté plodiny ako napr. mrkva ako vakcína proti osýpkam, či kukurica ako vakcína proti enterotoxickéj *E. coli*. Ďalšími zvažovanými plodinami sú banán, zemiak a rajčiak (Navrátil, 2006).

Avšak ani produkcia biofarmaceutických látok v rastlinách nech je akokoľvek prospešná nezostáva bez problémov či následkov. Tieto látky totiž aj pri nízkych koncentráciách vyvolávajú odpoveď a pri testovaní v otvorených pôdnych podmienkach môže dôjsť k ich bio-akumulácii aj v necieľových organizmoch. Čo sa stalo skutočnosťou

v roku 2001 v USA kedy spoločnosť ProdiGene testovala transgénnu kukuricu, ktorá produkovala trypsín pre diabetes a vakcínu pre VHB. V priebehu testov bolo kontaminovaných pol milióna bušiel sóje. V súčasnosti prebiehajú pôdne testy rôznych rastlín, využitelných vo farmaceutickom priemysle no komerčná produkcia nebola schválená v žiadnom štáte EÚ (Dubnický, 2010).

4.2.4 Transgény pre produkciu priemyselných chemikálií

Prvou komerčne pestovanou geneticky modifikovanou plodinou bola kapusta repková pravá alebo inak nazývaná kanola či repka olejná. Bola modifikovaná k zvýšenej produkcii kyseliny laurovej. Kyselina laurová sa používa predovšetkým pri výrobe kozmetických produktov, detergentov a mydiel. Nemala však zásadný komerčný úspech (Timko, Siekel, Turňa, 2004).

4.2.5 Transgény pre odolnosť voči abiotickému stresu

Rastliny pri tom aby prežili musia odolávať rôznym abiotickým stresom. K takýmto stresom patria teplotné výkyvy, sucho, záplavy, chemický stres (nevhodné pH pôdy, zasolenie či prítomnosť hliníka alebo ťažkých kovov v pôde). Vzhľadom na tieto stresory rastliny reagujú tak, že sa adaptujú alebo odumrú. Jednotlivé rastlinné druhy sa odlišujú v spôsobe adaptácie. Ide o aktiváciu určitého obranného mechanizmu, ktorý môže mať rôzne formy napr. aktivácia metabolických dráh za účelom syntézy ochranných produktov, alebo syntéza proteínov, ktoré majú ochrannú úlohu. Tieto poznatky o ochranných mechanizmoch umožňujú výskum na získanie GM rastlín so zvýšenou toleranciou napr. voči chladu – zmrznutiu vody v bunkách, voči deficitu vody alebo odolnosť k zasolenej pôde atď. (Libantová, Moravčíková, 2010).

5

SPÔSOBY A PODMIENKY POUŽITIA GMO

Geneticky modifikované organizmy a genetické technológie je možné používať spôsobmi, ktoré sú definované v našej i zahraničnej legislatíve.

Používanie geneticky modifikovaných organizmov v **uzavretých priestoroch**. Ide o použitie, pri ktorom je používateľ povinný vytvoriť všetky predpoklady k tomu aby sa používané GMO nedostali spod kontroly a tým sa zamedzilo vzniku havárie. Ide konkrétne o nasledovné priestory: chovné miestnosti, laboratória, skleníky a účelovo podobné priestory. Tieto priestory sú kategorizované do jednej zo štyroch rizikových tried. Podľa priradenia k rizikovej triede sú tieto priestory aj náležite zariadené. Na používanie takýchto zariadení vydáva súhlas MŽP SR (Zákon č.151/2002 Z.z.).

Ďalší spôsob je **uvoľnenie do životného prostredia**. Pri uvoľňovaní GMO do životného prostredia rozoznávame:

- a) **zavádzanie GMO do životného prostredia**, ide o používanie bez bariér, ktoré by prísne obmedzovali ich styk s okolím, jedná sa o malé i stredne veľké pokusy s GM rastlinami, v ktorých sa rastliny pestujú vo voľnej krajine, no sú vytvorené opatrenia na zabránenie voľného šírenia predovšetkým peľu do okolitého prostredia;
- b) **umiestnenie na trh**, v tomto prípade ide o sprístupnenie GMO pre tretie strany, geneticky modifikovaný produkt sa stáva tovarom a je voľne obchodovateľný (Zákon č.151/2002 Z.z.).

5.1 PODMIENKY POUŽÍVANIA GENETICKÝCH TECHNOLOGIÍ A GMO

Každá fyzická i právnická osoba, ktorá chce na Slovensku používať genetické technológie a GMO musí mať splnené nasledovné podmienky:

a) posúdiť environmentálne riziko

Ide o jednu z najdôležitejších činností, ktoré podmieňujú používanie genetických technológií. Jedná sa o odborné komplexné posudzovanie a vyhodnocovanie potenciálnych škodlivých vplyvov GMO na životné prostredie i na ľudskú populáciu. Toto je potrebné uskutočniť pred každým nasledujúcim krokom pri používaní týchto technológií. Odborným poradným orgánom je Komisia pre biologickú bezpečnosť, ktorá bola zriadená Ministerstvom životného prostredia SR. Závery tejto komisie sú odborným podkladom pre vykonávanie spravovacích úkonov MŽP SR.

b) určiť osobu zodpovednú za bezpečnosť projektu

Osoba zodpovedná za vedenie a bezpečnosť projektu, teda vedúci projektu má na starosti konkrétny projekt použitia génových technológií rovnako ako aj kontrolu plnenia povinností vyplývajúcich z príslušných právnych predpisov.

c) vypracovať havarijný plán

V havarijnom pláne sú uvedené opatrenia a činnosti zamerané na zamedzenie ďalšieho šírenia uniknutých GMO v prípade vzniku havárie. Rovnako musí obsahovať postupy na odstránenie či zmiernenie následkov vzniknutej havárie.

d) viesť podrobnú dokumentáciu

Viesť takúto dokumentáciu má vedecký, bezpečnostný, organizačný, kontrolný ale i právny význam.

e) požiadať o vydanie súhlasu a splniť podmienky vo vydanom súhlase

Pri používaní genetických technológií je nutné požiadať o súhlas na používanie príslušných technológií a splniť všetky podmienky a náležitosti podľa vyhlášky MŽP SR č.399/2005, ktorou sa vykonáva zákon č.151/2002 (Bežo, Valková, Valkovičová, 2007).

5.2 ORGÁNY PRÍSLUŠNÉ NA VÝKON ŠTÁTNEJ SPRÁVY KU GENETICKÝM MODIFIKOVANÝM ORGANIZMOM

Každá fyzická i právnická osoba, ktorá chce na území SR používať genetické technológie a GMO, môže tak konať len na základe súhlasu od príslušného orgánu. Orgány príslušné vo veciach povoľovania GMO a narábania s genetickými technológiami na Slovensku sú:

a) Ministerstvo životného prostredia SR

MŽP je orgánom štátnej správy vo veciach, ktoré sa týkajú používania genetických technológií a geneticky modifikovaných organizmov. Dohľad vykonáva podľa zákona 151/2002 Z.z. o používaní genetických technológií a GMO a príslušnej vykonávacej vyhlášky MŽP SR č.399/2005. V rámci ministerstva bol vytvorený odbor biologickej bezpečnosti, ktorý sa zaoberá touto problematikou. Ministerstvo ako kompetentný orgán rovnako zastupuje SR v regulačnom výbore Európskej Komisie, ktorý sa zaoberá zámerným uvoľňovaním GMO do životného prostredia (Valková, Turňa, 2007).

b) Ministerstvo pôdohospodárstva SR

Ministerstvo je orgánom štátnej správy pre uvádzanie GM potravín na trh podľa zákona č.152/1995 Z.z. o potravinách. Ministerstvo zastupuje SR v Stálom výbore Európskej Komisie pre potravinový reťazec a zdravie zvierat (Zákon č.184/2006 Z.z.).

c) Ústredný kontrolný a skúšobný ústav poľnohospodársky v Bratislave

Kontrolný ústav vedie evidenciu pestovateľov, pestovateľských plôch, kontroluje dodržiavanie povinností, vyplývajúcich z pestovania GM rastlín. Rovnako kontroluje kvalitu a správnosť postupov zameraných na predchádzanie výskytu nežiaducej prítomnosti s rozširovania GM rastlín (Zákon č.184/2006 Z.z.).

5.3 OZNAČOVANIE GENETICKY MODIFIKOVANÝCH VÝROBKOV

V súčasnosti je komerčné pestovanie geneticky modifikovaných plodín v Európe obmedzené. Napriek tomu sa na európskom trhu vyskytujú výrobky obsahujúce GM zložky. Všetky potraviny, ktoré obsahujú viac ako **0,9% GM zložky** musia byť označené podľa smernice EÚ. V prípade, že produkt obsahuje stopy GMO, ktoré nepresahujú stanovenú prahovú hodnotu nepodlieha povinnosti označenia. To isté platí aj u krmív pre zvieratá (Turňová, 2010).

Zákon NR SR č.151/2002 Z.z. o používaní genetických technológií a geneticky modifikovaných organizmov hovorí o označovaní geneticky modifikovaných potravín len v súvislosti s uvádzaním nového výrobku na trh. Zákon vyžaduje, aby označenie takéhoto výrobku a sprievodná dokumentácia obsahovali popis odporúčaného používania daného výrobku, ak to nie je všeobecne známe. Rovnako vyžaduje informácie o tom aké použitie

a skladovanie je neprípustné, ako sa majú likvidovať obaly a údaje o výrobcovi v prípade, že výrobok pochádza z dovozu. Iné údaje sú povinné len podľa iných osobitných predpisov. V prípade, že sa jedná o potravinu, označovanie spadá pod Potravinový kódex. Potravinový kódex hovorí o tom, že GM potraviny sa môžu predávať len balené, zavedenie takýchto potravín na trh musí byť pod dozorom Štátnej veterinárnej a potravinovej správy. Potravinový kódex sa rovnako vo viacerých bodoch odvoláva na Nariadenie (ES) č. 1829/2003 Európskeho parlamentu. Toto nariadenie hovorí o používaní GM potravín a krmív v Európskej únii (Bežo, Valková, Valkovičová, 2007).

Nariadenie (ES) č.1829/2003 upravuje potraviny a krmivá, ktoré sú vyrobené „z“ GMO no nie potraviny „s“ GMO. Dôležitým kritériom je to, či sa geneticky modifikovaný materiál v potravinách alebo krmivách priamo nachádza (Nariadenie ES č.1829/2003). Živočíšne produkty ako mäso, mlieko a vajcia, ktoré sú získané zo zvierat kŕmených krmivom obsahujúcim GM zložky však označovaniu nepodliehajú (Turňová, 2010).

Nariadenie (ES) č.1830/2003 hovorí o sledovateľnosti a o označovaní geneticky modifikovaných organizmov. Toto nariadenie sa vzťahuje na všetky produkty, ktoré sú zložené z GMO alebo obsahujú GMO. Čo zahŕňa širokú škálu oblastí. Od výrobkov určených pre vstup do krmivového či potravinového reťazca, cez výrobky určené na priemyslové spracovanie za účelom, iným ako je konzumácia (napr. výroba biopalív), až po výrobky určené k dekoratívnym účelom (napr. výroba rezaných kvetov).

Nariadenie sa rovnako vzťahuje na potraviny, krmivá vyrobené z GMO. Všetky produkty, ktoré sú zložené z GMO alebo obsahujú GMO musia byť označené tak, aby spotrebiteľ mal potrebné informácie a mohol sa tak slobodne rozhodnúť, či si daný produkt zakúpi alebo nie (Nariadenie (ES) č.1830/2003).

Požiadavky na označovanie podľa tohto nariadenia sa nevykonávajú izolovane, nakoľko sú tieto požiadavky spojené s nasledovnými predpismi, ktoré tiež upravujú označovanie:

- smernica 2000/13ES o aproximácii právnych predpisov členských štátov, týkajúcich sa označovania, prezentácie a reklamy potravín;
- nariadenie (ES) č.767/2009 o uvádzaní krmív na trh a ich používaní;
- nariadenie (ES) č. 1829/2003 o geneticky modifikovaných potravinách a krmivách.

Sledovateľnosť je potrebná na sledovanie geneticky modifikovaných organizmov a výrobkov z nich v celom priebehu výrobného reťazca. Ide o systém, ktorý je založený na poskytovaní a uchovávaní informácií od každého prevádzkovateľa.

Produkty zložené alebo obsahujúce GMO

Prevádzkovatelia sú povinný písomne poskytovať informácie o tom, že daný produkt obsahuje GMO. A jednoznačný kód, ktorý je priradený k danému GMO. V prípade ak je produkt zložený z viacerých GMO, prevádzkovateľ môže predložiť prehlásenie o použití ku ktorému sa pripojí zoznam jednoznačných kódov pre všetky použité geneticky modifikované organizmy. Prevádzkovatelia, ktorí uvádzajú na trh už balený produkt obsahujúci GMO, sú povinní zabezpečiť aby v každom kroku výrobného a distribučného procesu bol daný produkt označený štítkom, ktorý upozorňuje na obsah GMO v produkte (Nariadenie (ES) č. 1830/2003).

Produkty vyrobené z GMO

Pri uvádzaní takéhoto výrobku na trh musí prevádzkovateľ zabezpečiť, aby mal spotrebiteľ prístup k nasledovným informáciám;

- údaj o každej potravinovej zložke vyrobenej z GMO;
- údaje o všetkých krmných surovinách alebo prísadách vyrobených z GMO;
- v prípade produktov u ktorých neexistuje zoznam zložiek, musí byť uvedený údaj o tom, že produkt je vyrobený z GMO (Nariadenie (ES) č. 1830/2003).

5.4 BEZPEČNOSŤ POUŽÍVANIA GM POTRAVÍN

Pri používaní GM plodín a potravín je nevyhnutné zamerať sa na ich bezpečnosť. Bezpečnosť a zdravotná neškodnosť GM potravín je v súčasnosti hodnotená dvoma spôsobmi. Už v procese schvaľovania takýchto plodín a potravín sa identifikujú škodlivé komponenty ako napr. toxíny či alergény, bez ohľadu na spôsob prípravy. Tento systém musí byť flexibilný a založený na striktných vedeckých argumentoch. Má všeobecnú platnosť, ktorá sa vzťahuje rovnako na geneticky modifikované ako i na geneticky nemodifikované plodiny. Pri zavádzaní nových postupov prípravy plodín a výroby nových potravín, nie je potrebné tento postup pozmeňovať. Opakom je prístup, ktorý rozlišuje spôsoby prípravy potravinárskych surovín. Legislatíva EÚ striktno rozlišuje medzi geneticky modifikovanými a nemodifikovanými surovinami používanými v potravinárskej výrobe (Timko, Siekel, Turňa 2004). Postupy a mechanizmy určovania zdravotnej bezpečnosti nových potravín sa neustále zdokonaľujú. Na inovácii postupov sa najviac podieľajú (FAO) Organizácia pre výživu a poľnohospodárstvo, (WHO) Svetová zdravotnícka organizácia, Codex Alimentarius Commission, (OECD) Organizácia pre

ekonomickú spoluprácu a rozvoj (Chassy, 2004). Analýza bezpečnosti takýchto plodín a potravín musí byť komplexná. Pri posudzovaní bezpečnosti GM potravín sa skúmajú:

- priame účinky na zdravie (toxicita);
- tendencia vyvolávať alergické reakcie (alergénnosť);
- konkrétne zložky, ktoré by mohli mať výživové alebo toxické vlastnosti;
- stabilita vloženého génu;
- výživové vplyvy súvisiace s genetickou modifikáciou;
- všetky nežiaduce vplyvy, ku ktorým by mohlo dôjsť v súvislosti s vložením génu (Šinková, 2015).

5.4.1 Toxicita a bezpečnosť

Pri posudzovaní bezpečnosti GM surovín sa skúmajú **priame dôsledky**, prítomnosť nového génu alebo jeho produktu a to z pohľadu nutričného, prítomnosti toxínov či alergénov. **Nepriame dôsledky**, ktoré môžu byť zapríčinené zmenou metabolizmu v zmysle posunov výšky hladín pôvodných metabolitov alebo v dôsledku vzniku nových metabolitov kvôli prítomnosti genetických modifikácií (Siekel, Bergerová, 2010).

Ide teda najmä o zdravotnú neškodnosť geneticky upravených plodín, toxicitu exprimovaných nových proteínov alebo metabolických produktov (Holm, 2002). Niektoré línie GM kukurice, ako napr. už spomínaná línia MON810 obsahuje gén z baktérie *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), vďaka ktorému táto kukurica sama produkuje insekticídny proteín a stáva sa tak odolnou voči hmyzu.

Okrem postupov, ktoré hodnotia relatívnu neškodnosť GM potravín vo vzťahu k tradičným potravinám, je potrebné skúmať možnú škodlivosť potravín nového typu aj z aspektu klasickej potravinárskej toxikológie (Timko, Siekel, Turňa 2004).

5.4.1.1 Horizontálny prenos

Pri horizontálnom prenose génov ide o prenos a následnú expresiu genetickej informácie (DNA) medzi sexuálne nepríbuznými organizmami. Prenos sa môže uskutočňovať medzi rôznymi druhmi, bez pohlavného rozmnožovania. Takéto mechanizmy horizontálneho prenosu génov zvyšujú genetickú variabilitu v prostredí a sú spoločné pre všetky organizmy (Kretová, Siekel, 2005).

Pri hodnotení bezpečnosti geneticky modifikovaných potravín z pohľadu horizontálneho prenosu génov na črevnú mikroflóru je základným parametrom úroveň expozície konzumentov transgénou DNA z takýchto potravín. Úroveň expozície závisí od množstva skonzumovaného geneticky modifikovaného materiálu, rovnako od množstva rekombinantnej DNA, ktorá sa nachádza v konkrétnej GM potravine/ plodine, od technologického spracovania potravín a stability DNA pri prechode tráviacim traktom (Van Den Eede a kol., 2004).

Stabilitu a celistvosť DNA v potravinách ovplyvňujú postupy zberu plodín, ich uskladnenie, a technologické spracovanie surovín. Mechanické spracovávanie surovín, nízke pH, tepelné spracovávanie spôsobujú fragmentáciu DNA (Kretová, Kollárovič, Siekel, 2005).

Dôsledkom kyslého prostredia žalúdka spolu s nukleázovou aktivitou v tenkom čreve je nepravdepodobne, aby sa veľké fragmenty DNA dostali do čreva. Aktívne obranné mechanizmy bunky ako napr. špecifická metylácia DNA, sú ďalšími obrannými mechanizmami znižujúcimi možnosť integrácie cudzorodej DNA. Rovnako aj technologickými postupmi spracovania potravín je značne ovplyvnená integrita DNA v potravinách (Kretová, Siekel, 2005).

V publikovanom prehľade o bezpečnosti transgéennej DNA sa píše, že konzumácia takejto DNA predstavuje rovnaké riziko ako konzumácia DNA obsiahnutej v konvenčných potravinách. Degradácia DNA v skonzumovanej potrave je fyziologický proces, ktorý závisí od druhu zvierat a údajne nemá žiadne závažné dôsledky pre biologickú bezpečnosť potravín. V dôsledku degradácie DNA počas prechodu tráviacim traktom je pravdepodobnosť integrácie a expresie intaktného génu v čreve malá (Jonas, Elmadfa, Engel, 2001).

5.4.1.2 Účinok GM plodín na necieľové organizmy

Jedná sa o vplyv GM rastlín na prirodzenú populáciu hmyzu. Ako napríklad u spomínanej línie MON810 v dôsledku použitia génu z *Bacillus thuringiensis*, ktorého úlohou je chrániť rastlinu pred škodlivým hmyzom.

5.4.2 Alergénosť GM potravín

Potravinová alergická reakcia je zdraviu škodlivá imunologická odpoveď organizmu na potravinu alebo na niektoré jej zložky. Pri potravinovej alergii vznikajú alergén-špecifické IgE a tie reagujú s alergénom z potravín a podnecujú tak tvorbu histamínu (Čierna, 2009).

Medzi najčastejšie potravinové alergény patria vaječný albumín, bielkovina kravského mlieka, sója, ryby, arašidy, iné orechy, morské plody, obilniny, zeler atď. (Timko, Siekel, Turňa 2004). Najvyšší výskyt alergických prejavov je zaznamenaný u detí 6-8%, vekom ich výskyt klesá 2-8% (Novotná, 2005). Geneticky modifikované potraviny zatiaľ nie sú výnimkou a rovnako môžu podnecovať imunologickú odpoveď organizmu na niektorú zo zložiek.

Pri posudzovaní zdravotných aspektov GM produktov z rastlín sa hodnotí génový produkt takým spôsobom, že sa porovnáva jeho sekvencia aminokyselín s databázou všetkých známych alergénov. V prípade, že gén pochádza z organizmu, pri ktorom sú záznamy z databázy negatívne a nie sú ani dôkazy o jeho alergénosti, pristupuje sa k fyzikálnochemickému zhodnoteniu a následne ku klinickému vyhodnoteniu produktu (Chassy, 2004). Preto každá novo syntetizovaná bielkovina v GM potravinách musí byť podrobne preskúmaná. Takéto nové GM potraviny musia byť podrobené fyzikálnochemickej analýze a rovnako tak imunologickým testom v podmienkach *in vivo* (Holm, 2002).

5.4.3 Biologická bezpečnosť

Pri príprave GM rastlín ale i iných organizmov sa bežne používajú markerové gény. Tieto gény umožňujú selekciu a identifikáciu geneticky modifikovaných buniek spomedzi pôvodných nemodifikovaných buniek. Gény zodpovedné za rezistenciu voči ATB ako markerové gény sa používajú v súvislosti s využitím baktérií pri tvorbe prvých mikroorganizmov s rekombinantnou DNA. Ich používanie sa neskôr rozšírilo aj na geneticky modifikované kultúrne rastliny (Bennett, 2004).

Hodnotenie zdravotnej neškodnosti a bezpečnostných aspektov prítomnosti génov zodpovedných za rezistenciu voči ATB v potravinách prebieha na dvoch úrovniach:

- a) z pohľadu možnej toxicity a alergénosti exprimovaného proteínu (enzýmu) kódovaného génom antibiotickej rezistencie;
- b) z pohľadu možného prenosu génu antibiotickej rezistencie z transgénnych rastlín do genómu črevnej mikrobioty, z dôvodu možného negatívneho ovplyvnenia terapeutických účinkov bežne používaných ATB v humánnej medicíne (Timko, Siekel, Turňa 2004).

Podľa nariadenia EÚ je zakázané používanie génov – markerov rezistencie voči ATB. Takéto nové gény musia byť bezpečné v dôsledku ich možného prenosu na črevné baktérie ľudí. Rovnako to platí aj pre novo použité r-DNA sekvencie (Holm, 2002).

5.4.4 Posudzovanie biologického rizika používania GM mikroorganizmov

Pri posudzovaní rizík spojených s geneticky modifikovanými mikroorganizmami, je nutné brať do úvahy účel ich použitia. Aplikácie GMM podľa ich najčastejšieho použitia sú nasledovné:

- farmaceutická výroba (rekombinantné proteíny a peptidy);
- priemyselná fermentácia (rozpúšťadlá, organické kyseliny, aminokyseliny);
- potravinárske aplikácie mikroorganizmov;
- environmentálne využitie mikroorganizmov (biometalurgia, bioremediácie).

Všetky GMM sa používajú v uzatvorených priestoroch, v EÚ nebolo doposiaľ schválené iné použitie ako v uzatvorených priestoroch. Pre ich používanie platí smernica 90/219/EEC o používaní geneticky modifikovaných mikroorganizmoch v uzatvorených priestoroch a úprava 98/81/EC.

Vedecké úsilie sa zameriava na to, čo je už známe aj na to, čo sa ešte nevie o prospešnosti či bezpečnosti GMO pre človeka a o potenciálne nebezpečných látkach, ktoré obsahujú. Problémy pri hodnotení bezpečnosti GM zložiek potravín či celých plodov sú neustále predmetom diskusií na medzinárodných fórach a predmetom národných opatrení (Kaláč, Kajaba, 2003).

5.5 VÝHODY A NEVÝHODY GENETICKY UPRAVENÝCH PLODÍN

Názory na pestovanie geneticky modifikovaných rastlín rovnako ako názory na používanie geneticky modifikovaných organizmov sa rôznia. Existuje veľké množstvo odborných článkov s názormi odborníkov, ktoré majú úplne protichodné postoje na danú problematiku. Pozornosť sa v súčasnosti zameriava na dve dôležité problematiky používania GMO a to: na dopad na zdravie populácie, **na zdravotné riziká**, ktoré vyvstávajú z používania GMO a na ekologické hľadisko, **a environmentálny dopad** pestovania GM rastlín.

Pri nestrannom hodnotení rizík je nutné predpokladať, že každé nové technológie a teda aj genetické technológie a GMO môžu priniesť určité výhody ale i nevýhody pre

spoločnosť i životné prostredie. Jediné vhodné vedecké hodnotenie výhod a nevýhod môže nastaviť stupeň prijateľného rizika. Akékoľvek hodnotenie sa musí vykonávať v porovnaní s alternatívnymi technológiami, ktoré slúžia rovnakému účelu. Pestovanie GM plodín odolných voči škodcom sa musí porovnávať s pestovaním štandardných odrôd plodín chránených proti škodcom pomocou insekticídov alebo bioagens. Hodnotenie rizík nemajú zmysel pokiaľ nie sú vykonávané s náležitými kontrolami (Sehnal, Drobník, 2009).

5.5.1 Výhody

Biotechnológie patria k najrýchlejšie sa rozvíjajúcej vedenej disciplíne. Geneticky modifikované rastliny boli vytvorené s určitými cieľmi. Medzi tie najhlavnejšie patria: rezistencia GM rastlín voči herbicídov, odolnosť voči špecifickým škodcom, zvyšovanie kvalitatívnych znakov týchto rastlín, tvorba GM rastlín s kombináciou vlastností a znakov (Bežo a kol., 2002).

Výhody pestovania GM rastlín sú nasledovné:

- pestovanie takýchto rastlín prináša zvyšovanie produkcie potravín;
- používaním GM rastlín sa znižujú dávky používaných pesticídov;
- GM rastliny sú chránené pred chorobami a špecifickými škodcami;
- pomocou genetickej modifikácie sú rastliny schopné prežiť aj v nepriaznivých podmienkach, čo umožňuje ich pestovanie na extrémnejších miestach;
- vďaka zlepšeniu kvalitatívnych vlastností umožňujú GM rastliny produkovať výživnejšie potraviny;
- umožňujú úpravu agronomických vlastností poľnohospodárskych plodín;
- rovnako možno skvalitniť chuť takýchto potravín;
- ďalšou výhodou je, že umožňujú produkovať biologicky aktívne látky a liečivá;
- pomocou GM rastlín je možné produkovať aj priemyselné chemické látky;
- môžu byť odpoveďou na otázky alternatívnych zdrojov energie (Brindza, 2007, Bežo a kol., 2009, Žiarovská, Vesele, 2009).

Ako najčastejšie výhody podľa doterajších skúseností s pestovaním transgénnych rastlín odolných voči herbicídov sa uvádzajú nasledovné:

- zvyšuje sa pružnosť ochrany voči burinám;
- využitie technológie, ktorá umožňuje hospodárenie bez orby pôdy;
- menšie poškodenie plodín po použití postemergentných herbicídov;

- zlepšuje sa kvalita zberu plodín;
- znižujú sa náklady na žatvu (Rakouský, Hraška, 2007).

Najčastejšie uvádzané výhody pri pestovaní transgénnych rastlín dolných voči škodlivému hmyzu sú:

- šetrí sa čas, ktorý je nevyhnutný na kontrolu a aplikáciou insekticídov;
- v dôsledku menej častého ošetrovania takýchto plodín sa šetrí aj energia;
- rovnako sa šetrí aj používanie farmárskej techniky;
- pre farmárov je výhodou znížená manipulácia s pesticídmi (Rakouský, Hraška, 2007).

5.5.2 Nevýhody

Ako každá nová technológia i biotechnológie a geneticky modifikované organizmy prinášajú so sebou aj potencionálne riziká. Ide predovšetkým o dopad na zdravie ľudskej populácie a ekologické dôsledky. Doposiaľ však neboli preukázané významnejšie vplyvy GMO na prírodné spoločenstvá. Ich možné negatívne účinky zatiaľ vyplývajú predovšetkým z laboratórnych experimentov a poľných skúšok (Tóthová, 2008). K hlavným nevýhodám či rizikám pestovania GM rastlín patria:

- riziko prenosu cudzorodých, modifikovaných génov na iné divo rastúce rastliny;
- riziko prenosu génov rezistencie voči antibiotikám;
- riziko alergénosti produktov z GM plodín (Bežo a kol., 2009).

Riziká geneticky modifikovaných organizmov sú vyhodnocované na základe najnovších vedeckých poznatkov a objavov, ktoré sú overené aj skúsenosťami s GMO. Pri hodnotení rizika sa vychádza aj z posúdenia priamych a nepriamych škodlivých účinkov GMO. Hodnotenie vždy vychádza z porovnávania GM produktov s tými nemodifikovanými. Skúmajú sa nasledovné parametre:

- vplyv GMO na zdravie populácie ale i rastlín a živočíchov;
- riziko rozšírenia geneticky modifikovaných organizmov v životnom prostredí;
- riziko prenosu cudzorodej genetickej informácie;
- dopad na rôzne alternatívne pestovateľské systémy;
- ekonomicko-sociálne aspekty;
- rovnako sa hodnotia aj etické problémy (Lacek, 2011).

Etické argumenty, ktoré hovoria proti používaniu GMO

Táto skupina argumentov proti používaniu GMO ich považuje za nevhodné a dáva ich do rozporu s normálnym konaním a prirodzeným fungovaním prírody.

Najčastejšie ide o argumenty ako:

- používanie genetických modifikácií zasahuje do prirodzených procesov v prírode;
- tieto technológie nerešpektujú jedinečnosť druhov;
- zasahujú priamo do DNA;
- poškodzujú rovnováhu v prírode;
- neberú do úvahy prirodzené pohlavné rozmnožovanie (Žiarovská, Veselei, 2009).

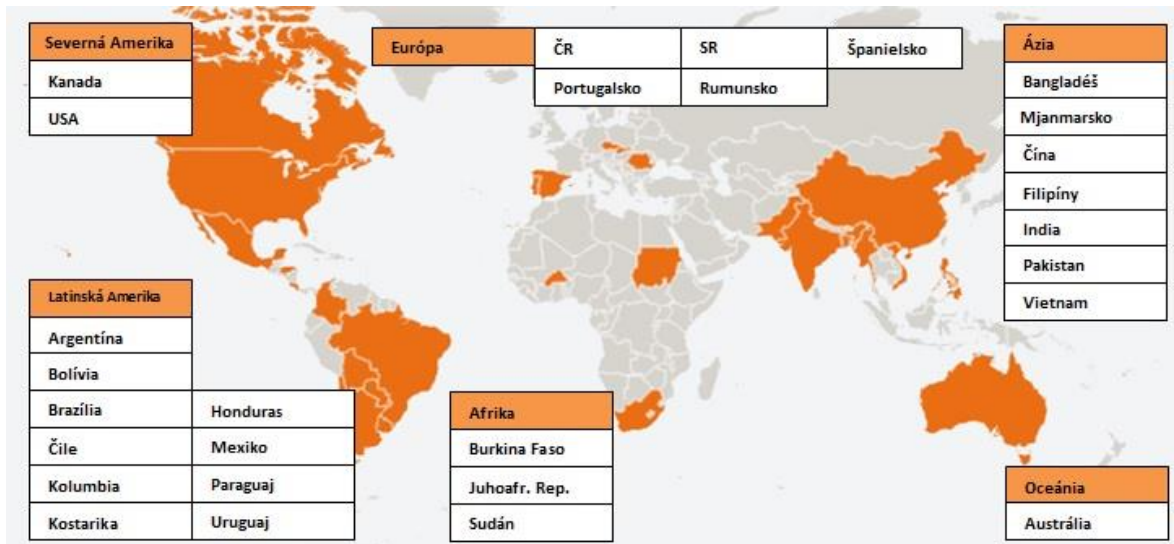
6

PESTOVANIE A VYUŽÍVANIE TRANSGÉNNYCH RASTLÍN V SÚČASNOSTI

6.1 TRANSGÉNNE RASTLINY VO SVETE

V celosvetovom meradle sú geneticky modifikované plodiny významnou zložkou poľnohospodárskej výroby. Celková plocha, na ktorej sa pestovali GM plodiny v roku 2014 dosiahla rekordných 181,5 mil. ha. V roku 2014 sa GM plodiny pestovali v 28 krajinách sveta, najväčší nárast pestovania je v rozvojových krajinách. Od roku 2013 sa zvýšila plocha výsevu GM plodín vo svete o 3,6% z pôvodných 175,2 mil. ha. Od roku 1996 kedy sa začali pestovať tieto plodiny, došlo behom 19 rokov k sto násobnému nárastu plochy. Z celkovej vysiatej plochy v roku 2014 bolo 40% vysiatych v USA. Najväčší pestovatelia GM plodín **USA, Brazília a Argentína** vysiali až 77% z celkovej pestovanej plochy. Najväčšie výmery GM plodín (kukurica, sója, bavlník, repka, cukrová repa, lucerna, papája a dyňa) sa nachádzali v USA s výmerou plochy 73,1 mil. ha, v Brazílii to bolo 42,2 mil. ha (sója, kukurica, bavlník), v Argentíne to bolo 24,3 mil. ha (sója, kukurica, bavlník), v Indii bolo vysiatych 11,6 mil. ha (bavlník), v Kanade bolo vysiatych 11,6 mil. ha (repka, kukurica, sója, cukrová repa), a v Číne to bolo 3,9 mil. ha (bavlník, papája, topol, rajčiak, sladká paprika) (Eagri, 2015).

V roku 2015, nastal mierny pokles v pestovaní geneticky modifikovaných plodín, kedy sa výsev znížil na 179,7 mil. ha. Najväčšími pestovateľmi opäť boli **USA , Brazília a Argentína**. Nasledovala India (11,7 mil. ha), Kanada (10,9 mil. ha), Čína (4 mil. ha), Paraguaj (4 mil. ha), Pakistan (2,8 mil. ha), Juhoafrická republika (2,8 mil. ha), Uruguaj (1,6 mil. ha), Bolívia (0,4 mil. ha) a Filipíny (0,4 mil. ha). Ostatné štáty, v ktorých boli pestované geneticky upravené plodiny sú uvedené v mapke (Obrázok 2) (www.dw.com, 2017).



Obrázok 2: Pestovanie GM plodín vo svete.

<http://www.dw.com/en/global-gmo-cultivation-dipped-in-2015/a-19190800>

6.2 TRANSGÉNNE RASTLINY V EÚ

Členské štáty, ktoré sa rozhodnú pestovať GM plodiny musia zabezpečiť, aby nedochádzalo v prihraničných oblastiach ku kontaminácii. V súčasnosti v EÚ však zostáva nedoriešenou otázkou odškodnenie poľnohospodárov, u ktorých došlo ku kontaminácii úrody GM plodinami (Euractiv, 2015).

Legislatíva EÚ umožňuje členským štátom obmedziť alebo zakázať na svojom území kultiváciu plodín obsahujúcich GMO. Pripravovaná nová legislatíva bude umožňovať členským štátom zakázať GMO z dôvodov súvisiacich s politikou v oblasti životného prostredia, a to nad rámec zdravotných a environmentálnych rizík, na ktoré môže pri posudzovaní poukázať Európsky úrad pre bezpečnosť potravín (EFSA). Štáty EÚ budú môcť zakázať GM plodiny aj z iných dôvodov, napr. požiadaviek v oblasti územného plánovania, sociálno-ekonomických dopadov. Snaha týchto opatrení spočíva v predchádzaní neúmyselnej prítomnosti GMO v iných produktoch.

Predtým ako bude môcť členský štát na svojom území obmedziť alebo zakázať GM plodinu, bude mať možnosť vyjadriť sa k tomuto stanovisku aj dotknutá spoločnosť, ktorá stojí za žiadosťou o povolenie. Členský štát bude môcť prijať obmedzenie aj jednostranne, teda bez ohľadu na to, či predmetná dotknutá spoločnosť súhlasí alebo nie (Enviroportal, 2015).

Pestovanie a využívanie transgénnych rastlín v EÚ

V súčasnosti jedinou GM plodinou povolenou na pestovanie v Európskej únii je kukurica MON810. Pestuje sa v piatich európskych štátoch, v **Španielsku, Portugalsku, Rumunsku a v Slovenskej i Českej republike**. V roku 2013 sa táto kukurica pestovala celkovo na takmer 150 000 hektároch ornej pôdy. Najviac vysadenej plochy bolo v Španielsku až 137 000 hektárov. Okrem spomínanej GM kukurice bolo možné na základe povolenia pestovať aj geneticky modifikované zemiaky známe pod názvom „Amfora“, ktoré sa využívali na priemyselné spracovanie. Povolenie bolo schválené v EÚ v roku 2010, no kvôli procesným chybám bolo toto povolenie v roku 2013 zrušené Všeobecným súdom EÚ a pestovanie týchto GM zemiakov zakázané (Európska komisia, 2015). Niektoré štáty EÚ využili ochrannú legislatívu ohľadom pestovania GM plodín a zakázali tak pestovanie kukurice MON810 na svojom území. Ide o krajiny ako Nemecko, Rakúsko, Luxembursko, Maďarsko, Poľsko, Taliansko, Bulharsko a Grécko.

I keď niektoré členské krajiny neschvaľujú pestovanie GM plodín na svojom území, na európsky trh sú dovážané produkty obsahujúce GM zložky. Ide predovšetkým o krmivá pre zvieratá a potraviny. Umiestňovanie takýchto produktov na trh podlieha povoleniu EÚ, ktoré je podmienené preukázaním ich bezpečnosti pre zdravie ľudí, zvierat i pre životné prostredie. Povolenie musí obsahovať podrobné posúdenie bezpečnosti kompetentného úradu, ktorým je Európsky úrad pre bezpečnosť potravín (EFSA) v spolupráci s vedeckými subjektmi členských štátov. V súčasnosti je v EÚ na používanie v krmivách i potravinách povolených 58 GMO (kukurica, sója, repka olejná, cukrová repa). Čo sa týka potravín, počet GM výrobkov predávaných na trhu EÚ nie je veľmi vysoký. Dôvodom môžu byť požiadavky na označovanie takýchto GM výrobkov, ale i to, že je množstvo dostupných alternatív bez genetickej modifikácie. V tabuľke (Tabuľka 1) sú uvedené plodiny, ktoré majú platné povolenie a môžu byť dovážané i spracované na trhu Európskej únie.

U všetkých GMO povolených v EÚ bolo dokázané, že sú bezpečné, ešte pred tým ako mohli byť uvedené na trh. Rozhodnutie o ich bezpečnosti vydáva Európsky úrad pre bezpečnosť potravín (EFSA) v spolupráci s členskými štátmi. EFSA navyše monitoruje všetky nové vedecké publikácie, ktoré by mohli ovplyvniť bezpečnosť povolených GMO (Európska komisia, 2015).

Tabuľka 1: Povolené GM plodiny na trhu EÚ

Produkty uvedené na trh podľa smernice 2001/18/ES	Rozhodnutie Komisie + Použitie	Používateľ	Štát podania žiadosti	Poznámka
Kukurica RoundupReady NK603 tolerantná k herbicídum s účinnou látkou glyfosát	2004/643/ES dovoz a spracovanie, nie pestovanie	Monsanto	Španielsko	Povolené aj ako potraviny a ich zložky. Rozh. komisie 2005/448/ES ešte podľa nariadenia 258/97
Kukurica MON863 Odolná voči hmyzu <i>Diabrotica</i> (kukuričiar koreňový)	2005/608/ES dovoz a spracovanie, nie pestovanie	Monsanto	Nemecko	Povolené aj ako potravina ešte podľa nariadenia 258/97 – rozh. komisie 2006/68/ES
Repka línia GT 73 tolerantná k herbicídum s účinnou látkou glyfosát	2005/635/ES dovoz a spracovanie, nie pestovanie	Monsanto	Holandsko	Oznámené podľa nar. 258/97 (U.v.EU C208, 25/08/2005) ako existujúca potravina – olej a neskôr podľa nariadenia 1829/2003
Kukurica línia 1507 odolná voči hmyzu Lepidoptera a tolerantná k herbicídum s účinnou látkou glufosinát	2005/772/ES dovoz a spracovanie do krmív, nie pestovanie	Pioneer/ Mycogen	Holandsko	Aj potravina – rozh. 2006/197 ešte podľa nariadenia 258/97. Doplnené s rozh. 2011/365/EÚ, ktoré podľa nar. 1829/2003 obnovilo povolenie na uvádzanie na trh existujúceho krmiva
Kukurica MON863 a MON810 Odolná voči škodcom <i>Diabrotica a Lepidoptera</i>	2006/47/ES dovoz a spracovanie, nie pestovanie	Monsanto	Nemecko	Povolenie aj podľa nariadenia 1829/2003: Rozh. komisie 2010/140/EÚ
Repka línia Ms8, línia Rf3 a Ms8xRf3 tolerantná k herbicídum s účinnou látkou glufosinát	2007/232/ES dovoz a spracovanie, nie pestovanie	Bayer	Belgicko	Povolenie na potraviny, ich zložky a krmivá. Rozh. komisie 2013/327/EÚ podľa nariadenia 1829/2003
Klinček línia 123.2.38 Moonlite zmenená farba kvetu	2007/364/ES dovoz rezaných kvetov	Florigene	Holandsko	
Klinček línia 123.2.12 Moonqua zmenená farba kvetu	2009/244/ES dovoz rezaných kvetov	Florigene	Holandsko	
* Zemiak EH92-527-1 vysoký obsah amylopektínu, obchodný názov Amflora	2010/135/EU pestovanie, spracov. na výrobu technického škrobu	BASF PlantScience (predtým Amylogene)	Švédsko	Zvyšky môžu byť použité ako krmivo na základe rozhodnutia 2010/136/EU vydaného podľa nariadenia 1829/2003.

Zdroj: www.gmo.sk

* Pestovanie zemiaku EH92-527-1 s obchodným názvom Amflora je od roku 2013 zakázané.

V roku 2013 EÚ doviezla 18,5 milióna ton sójovej múčky a 13,5 milióna ton sóje, ktoré sú potrebné pre chov hospodárskych zvierat. Toto množstvo pokrýva len 60% rastlinných proteínov, ktoré EÚ potrebuje (Európska komisia, 2015).

6.3 TRANSGÉNNE RASTLINY NA SLOVENSKU

V roku 2006 sa Slovensko stalo v poradí 21. štátom sveta, v ktorom sa začali pestovať geneticky modifikované plodiny. Prvou vysiatou GM plodinou bola kukurica MON810 (Kraic a kol., 2010). Pestovanie kukurice MON810 bolo v EÚ povolené v septembri roku 2004, kedy bola táto kukurica zapísaná do európskeho katalógu osív. Niektoré krajiny nesúhlasili s pestovaním tejto kukurice na svojom území išlo o Maďarsko, Poľsko, Rakúsko a Grécko (Dubnický, 2010).

V roku 2015 bola celková plocha výsevu GM kukurice MON810 104,07 ha. Pestovala sa v okrese Sobrance (97,28 ha) a Piešťany (6,79 ha) (MPRV SR, 2015). V roku 2016 výsevná plocha tvorila 122,13 ha, výsev uskutočnil jediný pestovateľ z okresu Sobrance (MPRV SR, 2017).

Prehľad pestovania GM kukurice na SR ale i v Európe pre roky 2005-2014 sú uvedené v tabuľke (Tabuľka 2).

Tabuľka 2: Pestovanie GM kukurice na Slovensku v hektároch

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
SR	0	30	900	1900	875	1248	760	189	100	411
ČR	150	1290	5000	8380	6480	4677	5091	3053	2561	1754
Španiel.	53200	53670	75148	79269	76057	76575	97325	116306	136962	131537
Portug.	780	1250	4500	4851	5094	4868	7723	9278	8171	8542
Poľsko	0	100	320	3000	3000	3000	3900	4000	0	0
Rumun.	0	0	350	7146	3244	822	588	217	834	770
Francúz.	500	5000	21147	0	0	0	0	0	0	0
Nemecko	340	950	2685	3171	0	0	0	0	0	0
Celkom	54970	62290	110050	107717	94750	91190	115387	133043	148628	143018

Zdroj: www.eagri.cz

Slovenská republika má prijatý systém právnej ochrany v oblasti používania genetických technológií a GMO plne kompatibilný s predpismi ES. Používanie genetických technológií a GMO podlieha prísnemu procesu posúdenia a schválenia tak, aby riziko bolo minimálne (MPRV SR, 2013).

Kontrola dodržiavania pravidiel pestovania GM

Pri pestovaní GM plodín sa musia dodržiavať určité pravidlá. Kontrolu dodržiavania týchto pravidiel zabezpečuje Ústredný kontrolný a skúšobný ústav poľnohospodársky so sídlom v Bratislave (Zovčinová, 2011).

Dovoz

Každá GM plodina alebo tovar, ktorí sa dováža na slovenský trh musí mať schválený súhlas od príslušného orgánu štátnej správy. Rozhodnutia o dovoze vydáva Ministerstvo zdravotníctva SR a Ministerstvo životného prostredia. MŽP SR vydáva rozhodnutia, ktoré sa týkajú dovozu plodín určených na osivo a skrmovanie a MZ SR vydáva rozhodnutia na dovoz potravín obsahujúcich GM zložky (Kaláč, Kajaba, 2003).


Pol'né pokusy

Na Slovensku rovnako prebiehajú aj poľné pokusy s geneticky modifikovanými plodinami. Prehľad týchto poľných pokusov je uvedený v tabuľke (Tabuľka 3). Zoznam povolených GMO v SR je uvedený v tabuľke (Tabuľka 4).

Tabuľka 3: Prehľad poľných pokusov v rokoch 2007-2015

Konštrukt	PREHĽAD POĽNÝCH POKUSOV V ROKOCH 2007 – 2015								
	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
kukurica NK 603									
kukurica MON 88017						X	X		
kukurica MON 89034				X					
kukurica MON88017 x MON89034									
kukurica 98140				X					
kukurica 98140 x 1507				X					
kukurica 98140 x 1507 x 59122				X					
kukurica 59122			X	X					
kukurica MON89034 x NK603								X	
kukurica NK603 x MON810						X	X	X	
MON89034 x 1507 x MON88017 x 59122			X	X	X				
kukurica Bt11 x MIR604 x GA21					X	X			
kukurica Bt11 x GA21					X	X			
kukurica GA21						X	X		
kukurica 6853; 6896; 6902; 6936; 6981				6902 6981	6902 6981	6902 6981	X	X	
kukurica MIR 604					X	X	X	X	
cukrová repa H7-1								X	

Zdroj: www.gmo.sk

X – pokus sa nerealizoval
 – platné povolenie

Tabuľka 4: Zoznam GMO, ktorých používanie bolo v SR povolené

GMO			Používateľ	Účel použitia	Obdobie povolenia
Druh	Názov	Špecifikácia			
kukurica	NK 603	tolerancia k herbicídu s účinnou látkou glyfosát	SCPV - VURV Piešťany	zavedenie do ŽP	2007-2009
			Monsanto Slovakia	dovoz	
kukurica	MON88017; MON89034; MON88017 x MON89034	odolnosť voči druhom radu <i>Lepidoptera</i> a <i>Coleoptera</i> a tolerancia k herbicídom s účinnou látkou glyfosát	SCPV - VURV Piešťany	zavedenie do ŽP	2008-2010
			Monsanto Slovakia	dovoz	
kukurica	98140; 98170x1507; 98140x1507 x 59122	odolnosť voči druhom radu <i>Lepidoptera</i> tolerancia k herbicídom s účinnou látkou glyfosát a ALS-inhibuje herbicidy	SCPV - VURV Piešťany	zavedenie do ŽP	2008-2010
			PioneerHI- Bred Slovakia	dovoz	
kukurica	59122; NK603	odolnosť voči druhom radu <i>Coleoptera</i> a tolerancia k herbicídom s účinnou látkou glufosinát amónny	SCPV - VURV Piešťany	zavedenie do ŽP	2008-2010
			PioneerHI- Bred Slovakia	dovoz	
kukurica	MON89034 x NK603 NK603x MON810	odolnosť voči druhom radu <i>Lepidoptera</i> , tolerancia k herbicídom s účinnou látkou glyfosát	SCPV - CVRV Piešťany	zavedenie do ŽP	2009-2011
			Monsanto Slovakia	dovoz	
kukurica	MON89034 x 1507x MON88017 x 9122	odolnosť voči druhom radu <i>Lepidoptera</i> a <i>Coleoptera</i> a tolerancia k herbicídom s účinnou látkou glyfosát a glufosinát amónny	SCPV - CVRV Piešťany	zavedenie do ŽP	2009-2011
			Monsanto Slovakia	dovoz	
kukurica	Bt11x MIR604x GA21; Bt11xGA21	odolnosť voči druhom radu <i>Lepidoptera</i> a <i>Coleoptera</i> a tolerancia k herbicídom s účinnou látkou glyfosát a glufosinát amónny a zvýšená produkcia manózy v zrnách	SCPV - CVRV Piešťany (v spolupráci so spol. Syngenta)	zavedenie do ŽP	2009-2012
kukurica	NK 603	tolerancia k herbicídu s účinnou látkou glyfosát	SCPV - VURV Piešťany	zavedenie do ŽP	2010-2012
			Monsanto Slovakia	dovoz	
kukurica	GA21	tolerancia k herbicídu s účinnou látkou glyfosát	CVRV Piešťany (v spolupráci so spol. Syngenta)	zavedenie do ŽP	2010-2013
kukurica	6853; 6896; 6902; 6936; 6981	tolerancia k herbicídu s účinnou látkou glyfosát	CVRV Piešťany (v spolupráci so spol. LimagrainCent ralEurope S.E.)	zavedenie do ŽP	2010-2014
cukrová repa	H7-1	tolerancia k herbicídu s účinnou látkou glyfosát	CVRV Piešťany (v spolupráci so spol. SES VanderHave)	zavedenie do ŽP	2010-2012

Zdroj: www.gmo.sk

SCPV - Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu

VURV - Výskumný ústav rastlinnej výroby

CVRV - Centrum výskumu rastlinnej výroby (následnícka organizácia SCPV)

Na SR vykonávajú pokusy ale i používajú geneticky modifikované organizmy v uzatvorených priestoroch výskumné ústavy, univerzity a podnikateľské subjekty, ktoré majú súhlasné rozhodnutie od príslušného orgánu štátnej správy. Zoznam týchto subjektov je uvedený v tabuľke (Tabuľka 5).

Tabuľka 5: Zoznam používateľov GMO a genetických technológií v uzavretých priestoroch

POUŽÍVATELIA
VÝSKUMNÉ ÚSTAVY
1. Chemický ústav SAV, Bratislava
2. Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Lužianky (Výskumný ústav rastlinnej výroby, Výskumný ústav živočíšnej výroby)
3. Neuroimunologický ústav SAV, Bratislava
4. Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV, Ivanka pri Dunaji
5. Ústav experimentálnej endokrinológie SAV, Bratislava
6. Ústav experimentálnej onkológie SAV, Bratislava
7. Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice
8. Ústav genetiky a biotechnológií rastlín SAV, Nitra
9. Ústav molekulárnej biológie SAV, Bratislava
10. Ústav normálnej a patologickej fyziológie SAV, Bratislava
11. Ústav zoológie SAV, Bratislava
12. Virologický ústav SAV, Bratislava
13. Výskumný a šľachtiteľský ústav zemiakársky, a. s., Veľká Lomnica
UNIVERZITY
14. Slovenska technická univerzita, Bratislava
15. Slovenska zdravotnícka univerzita, Bratislava
16. Univerzita Komenského, Bratislava (Prírodovedecká fakulta, Lekárska fakulta)
17. Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Košice
18. Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice
19. Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra
PODNIKATEĽSKÉ SUBJEKTY
20. Biotika, a. s., Slovenská Ľupča
21. Evonic – Fermas, s. r. o., Slovenská Ľupča
22. DB Biotech, spol. s r. o., Košice

Zdroj: MŽP SR

Plánované používanie GMO a genetických technológií v uzatvorených priestoroch sa zaraďuje do štyroch rizikových tried (RT):

- RT 1 – predstavuje žiadne alebo len zanedbateľné riziko,
- RT 2 – malé riziko,
- RT 3 – stredné riziko,
- RT 4 – veľké riziko.

Zámerné uvoľňovanie je cielečné zavádzanie GMO bez použitia ochranných opatrení do životného prostredia (pokusy). Subjekty ktoré vykonávajú takéto pokusy sú uvedené v tabuľke (Tabuľka 6).

Tabuľka 6: Zoznam používateľov genetických technológií a geneticky modifikovaných organizmov zavedených do životného prostredia bez použitia ochranných opatrení

POUŽÍVATELIA
1. Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum (NPPC), Lužianky (Výskumný ústav rastlinnej výroby (VÚRV), Piešťany)
2. MONSANTO SLOVAKIA, s. r. o., Bratislava

Zdroj: MŽP SR

7

PROJEKTY GRACE A G –TWYST

Toxikologické metódy a postupy pri testovaní chemických látok boli v roku 1982 zosúladené s metódami Organizácie pre hospodársku spoluprácu a rozvoj – OECD. Z dôvodu rozličných vlastností chemických látok, ich rozličného pôsobenia na organizmus a následného interpretovania výsledkov testovanej látky bolo nutné zjednotiť spôsob ich testovania (Spielmann, 2010).

V prípade chemických látok ide o objektívne testovanie a posúdenie podľa spomínaných jednotných metodík. No v prípade posudzovania možnej toxicity krmovín a potravín je potrebné tieto metodiky ešte upraviť (OECD, 1993). Z toho dôvodu vydal Európsky úrad pre bezpečnosť potravín – EFSA odporúčania pre úpravu toxikologických štúdií, ktoré testujú biologický materiál ako sú potraviny, krmoviny a geneticky modifikované organizmy (EFSA, 2011).

Avšak posúdenie dlhodobej bezpečnosti geneticky modifikovaných potravín/krmovín je dlhoročnou kontroverznou témou v Európskej únii. V súčasnosti nie sú k dispozícii štandardizované protokoly (postupy) na štúdium potenciálnej krátkodobej, strednodobej a dlhodobej toxicity GM rastlín a produktov vyrobených z takýchto rastlín. V tomto kontexte je teda hlavným cieľom projektov GRACE a G-TwYST poskytnúť EFSA hodnoverné podklady pre usmernenie krátko-, stredne- a dlhodobých krmných štúdií vykonávaných na zvieratách za účelom posudzovania rizík GMO, a súčasne reagovať na nejasnosti, uvádzané prostredníctvom výsledkov a správ z nedávnych krmných štúdií s použitím GM potravín/krmovín. Za účelom dosiahnutia cieľov boli v rámci projektov vykonané toxikologické štúdie podľa OECD metodík a odporúčaní EFSA, za prísne stanovených podmienok:

1. akreditovaný zverinec so „Specific pathogen free“ jednotkou;
2. správna laboratórna prax;
3. erudovaný toxikologický tím.

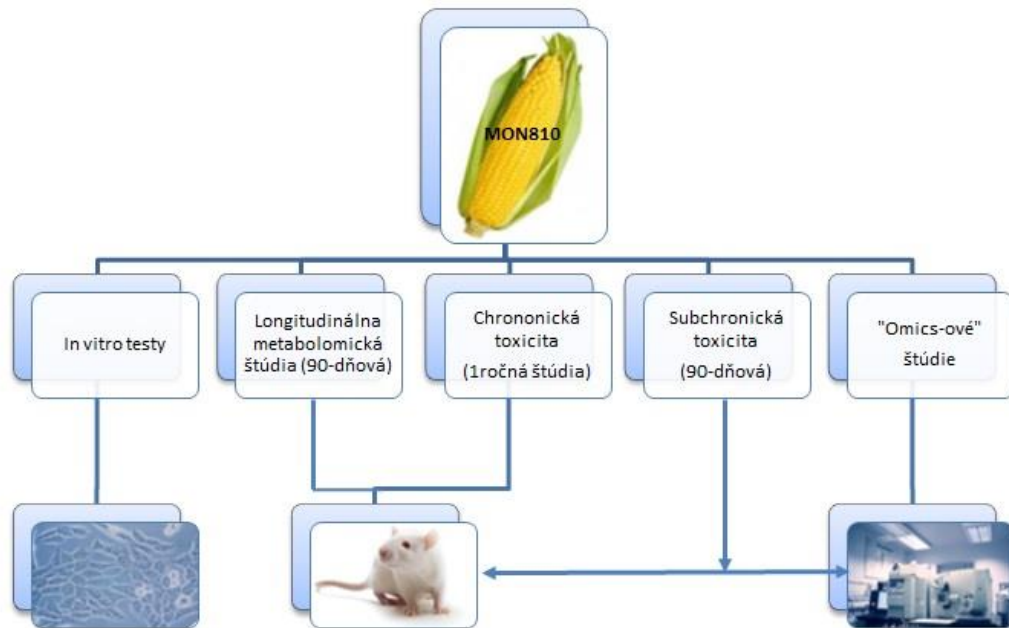
7.1 PROJEKT GRACE

Celý názov projektu znie *GMO Risk Assessment and Communication of Evidence* - GRACE, čo v preklade znamená hodnotenie rizika geneticky modifikovaných organizmov, zdieľanie a diskutovanie o zistených dôkazoch. Projekt mal trvanie od júla 2012 do novembra 2015. GRACE projekt je medzinárodného charakteru financovaný v rámci 7rámcového programu Európskou komisiou. Do projektu bolo zapojených 17 partnerov z 13 európskych krajín.

Jedným z hlavných cieľov projektu GRACE bolo otestovať GM kukuricu odrody MON810 z hľadiska subchronickej a chronickej toxicity, *in vitro* metód ale aj z pohľadu alternatívnych testovacím metód *in silico*, a zistiť tak, ktoré z použitých testovacích metód budú najvhodnejšie a poskytujú najrelevantnejšie informácie o možných rizikách používania takto upravených potravín a krmovín (Obrázok 3). Európska Komisia totiž zvažuje možnosť povinného zavedenia 90-dňových kŕmnych štúdií pri testovaní bezpečnosti a hodnotení rizík geneticky modifikovaných potravín a krmovín.

Projekt GRACE sa preto snaží preskúmať možnosti dlhodobého testovania GM plodín, a porovnať krátkodobé štúdie s dlhodobými z hľadiska stanovenia a objasnenia možného rizika používania takto upravených potravín a krmovín. Za dlhodobé štúdie toxicity sú predovšetkým považované tie, ktoré majú trvanie viac ako tri mesiace, alebo trvajú aspoň 10% života laboratorného zvierat'a / laboratorného potkana (Hayes, 1989).

Ďalším z cieľov projektu GRACE je poskytnúť komplexné informácie (hodnotenie) už získaných dôkazov o dopadoch GM rastlín na ľudské zdravie, sociálno-ekonomické aspekty životné prostredie zahrňujúce rovnako riziká i možné výhody. Informácie boli získavané zo štúdií, ktoré už prebehli a boli realizované na základe postupov EBM evidence-based medicine. Dôležitým aspektom projektu je transparentnosť a preto všetky výsledky vrátane primárnej dokumentácie sú sprístupnené pre verejnosť prostredníctvom databáz a iných komunikačných kanálov (<http://www.grace-fp7.eu>, <https://www.g-twyst.eu>, <https://www.cadima.info/>, <https://www.julius-kuehn.de>).

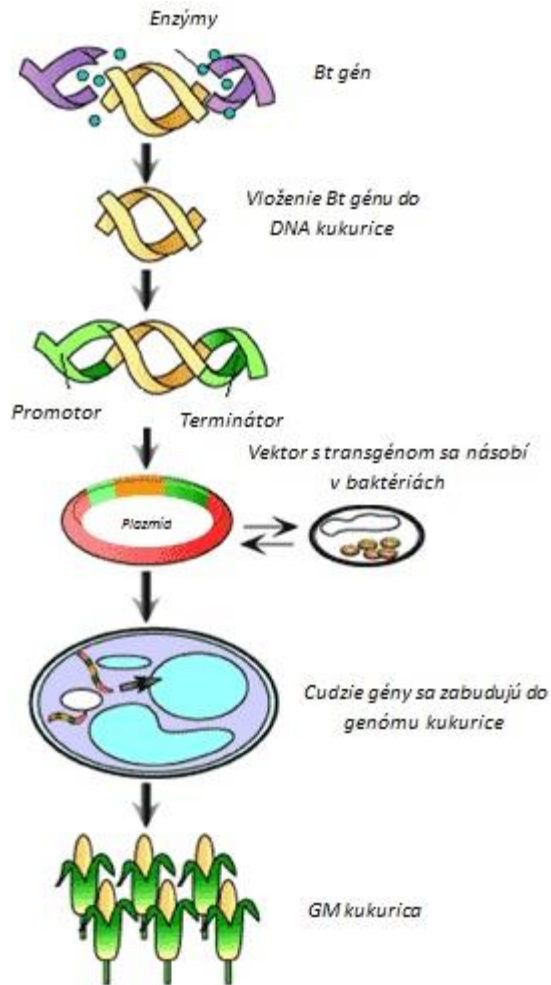


Obrázok 3: Schéma projektu GRACE

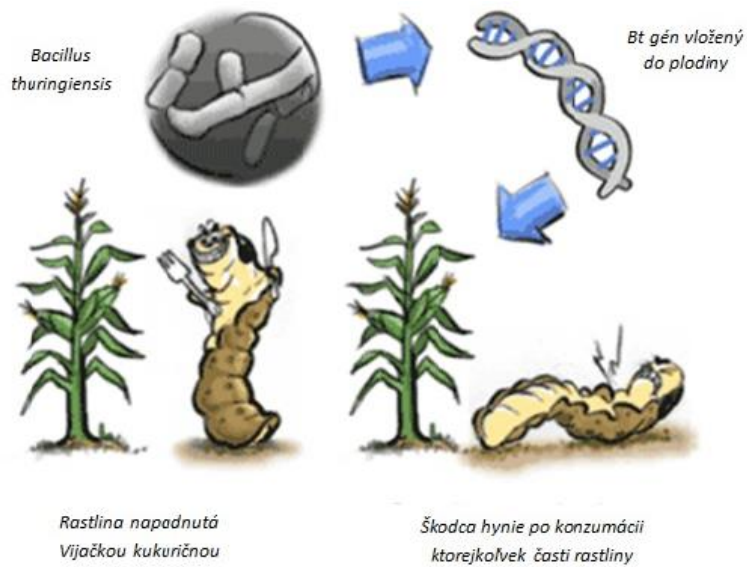
7.1.1 GM kukurica línia MON810

Genetická modifikácia línie MON810 spočíva vo vnesení génu z agrobaktérie *Bacillus thuringiensis* tzv. *Bt*-toxín. Takto upravená rastlina je odolná voči vijačke kukuričnej (*Ostrinia nubilalis*), ale i proti ďalším druhom hmyzu z radu *Lepidoptera*. Nie je teda nutné používať insekticídny postrek počas rastu takto transformovanej kukurice. Na obrázku (Obrázok 4) je znázornená schéma prípravy transgéennej kukurice.

Proteíny Cry1A.105 a Cry2Ab2 pôsobia špecificky proti hmyzu z radu *Lepidoptera*. Mechanizmus účinku proteínov Cry bol dobre charakterizovaný. Všeobecný spôsob účinku proteínu Cry zahŕňa nasledujúce kroky: príjem protoxinového kryštálu hmyzom, rozpustenie kryštálu v strednej časti tráviacej trubice hmyzu, proteolytické štiepenie uvoľneného Cry proteínu tráviacimi enzýmami za vzniku aktívneho toxínu nazývaného *delta* endotoxín, väzba endotoxínu do receptora na povrchu epitelových buniek strednej časti tráviacej trubice cieľového organizmu, tvorba membránových iónových kanálov alebo pórov a následné narušenie bunkovej homeostázy. Nerovnováha elektrolytu a zmeny pH paralyzujú črevo, takže hmyz prestane prijímať potravu a hynie (English, 1992). Larvy hmyzu hynú po požití akejkoľvek časti takto upravenej rastliny obrázok (Obrázok 5). Bunky cicavcov nedisponujú špecifickými väzbovými miestami pre aktivované proteíny Cry, takže napr. človek je na tieto proteíny necitlivý (Kuiper, Noteborn, 2001).



Obr3zok 4: Všeobecn3 sch3ma v3roby GM plod3n
 Zdroj: <http://www.scq.ubc.ca/quarterly023/0203hall.html>



Obr3zok 5: GM kukurica odoln3 vo3i hmyzu
 Zdroj: <http://www.scq.ubc.ca/quarterly023/0203hall.html>

7.2 PROJEKT G-TWYST

Názov projektu znie *Genetically modified plants Two Years Safety Testing, G-TwYST*, čo v preklade znamená geneticky modifikované rastliny – dvojročné testovanie bezpečnosti. Doba trvania projektu je od 21. apríla 2014 do 20. apríla 2018. Ide o medzinárodný projekt financovaný 7. rámcovým programom Európskej komisie. Štúdie v projekte G-TwYST boli uskutočnené podľa metodík vypracovaných organizáciou OECD s príslušnými odporúčaniami zo strany EFSA.

V tomto projekte boli realizované kŕmne štúdie na potkanoch s použitím GM kukurice línie NK603. Pre zachovanie absolútnej objektívnosti boli obdobne ako v projekte GRACE všetky štúdie vykonávané ako „double blended“, teda dvojito zaslepené:

- dve 90-dňové subchronické štúdie toxicity,
- dvojročná kombinovaná štúdia chronickej toxicity a karcinogenity.

Ako súčasť všetkých štúdií boli vykonané aj testy imunotoxicity.

Projekt G-TwYST je prepojený s obdobnými projektmi ako je GRACE a GMO90+, jeho ďalším cieľom je vyvinúť nové kritéria a odporúčania pre hodnotenie vedeckej kvality dlhodobých kŕmnych štúdií.

Priebežné hodnotenie projektu G-TwYST

Experimentálne časti dvoch 90-dňových štúdií sú ukončené, a ďalej sa spracovávajú a vyhodnocujú získané výsledky. Dvojročná kombinovaná štúdia chronickej toxicity a karcinogenity je aktuálne realizovaná. Ukončenie štúdie je naplánované na august 2017. V súčasnosti ešte nie je vyhodnotená ani jedna zo štúdií projektu G-TwYST, nakoľko neboli odtajnené jednotlivé skupiny a preto nie je možné štatistické hodnotenie.

7.2.1 GM kukurica línia NK603

Línia glyfosát tolerantnej kukurice NK603 bola navrhnutá pre zvýšenie odolnosti voči širokému spektru herbicídov, na báze glyfosátu. Potraviny vyrobené z takejto kukurice boli vyhodnotené a schválené pre ľudskú spotrebu. Pri hodnotení rizík sa posudzovalo nasledovné;

- aké gény boli prevedené do tejto línie GM kukurice;
- analýza zmien v DNA;
- analýza bielkovín;
- hodnotenie alergénosti;

- hodnotenie toxicity;
- hodnotenie potenciálnych novovzniknutých proteínov.

Preskúmanie týchto kritérií umožňuje identifikovať zamýšľané ale i nezamýšľané zmeny v línii geneticky modifikovanej kukurice NK603, charakterizovať ich a hodnotiť tak jej bezpečnosť (Technical report, 2003).

V línii kukurice NK603, bola jej vlastnosť **tolerancia voči glyfosátu** dosiahnutá zavedením bakteriálneho génu kódujúceho EPSPS proteín. Ide o kľúčový enzým v biosyntéze aromatických aminokyselín v rastlinách a v mikroboch. Spôsob účinku glyfosátu je v schopnosti viazať sa k rastlinnému EPSPS proteínu, čím sa zhoršuje jeho normálna enzymatická aktivita, čo následne vedie k smrti rastlinných buniek. Bakteriálna forma enzýmu (označeného ako CP4 EPSPS), má nižšiu afinitu ku glyfosátu, teda v prípade ak je takýto enzým v rastlinnej bunke, aktivita zavedeného bakteriálneho enzýmu (CP4 EPSPS) nahradí aktivitu citlivého rastlinného (EPSPS) enzýmu. Výsledkom takejto genetickej modifikácie je, že takto upravená rastlina je schopná prežiť a fungovať aj v prítomnosti (po aplikácii) herbicídu.

Línia NK603 obsahuje dve spojené kópie génu CP4 EPSPS, každý má vlastnú regulačnú sekvenciu. Jedna kópia génu je exprimovaná z ryže (promótor proaktín) a druhá kópia je exprimovaná z karfiolu (promótor vírusu mozaiky), u oboch bola preukázaná priama expresia proteínov v kukurici (EFSA GMO, 2015).

Glyfosát je vysoko účinnou, širokospektrálnou herbicídnou látkou používanou na reguláciu burín. Z dôvodu citlivosti tradičnej kukurice voči glyfosátu nebolo možné použitie herbicídov (na báze glyfosátu) v priebehu rastu plodiny. Expresia glyfosát-tolerantného CP4 EPSPS v NK603 zaisťuje syntézu aromatických aminokyselín i za prítomnosti herbicídu (Kraic, 2009).

Metódy použité pri genetickej modifikácii

Línia GM kukurice NK603 bola vytvorená transformáciou embryonálnych buniek bežnej kukurice *Zea mays* pomocou metódy tzv. zrýchlených častíc. Tento spôsob transformácie umožňuje transformovať špecifický segment plazmidu DNA, ktorý je následne čistený gélovou elektroforézou a pozostáva len z génov „záujmu“ spolu so základnými regulačnými prvkami, ktoré majú byť následne prenesené do rastlinného genómu.

Takto upravená DNA obsahuje gén kódujúci toleranciu voči herbicídu (v tomto prípade, CP4 EPSPS gén). Takto upravené bunky sa následne nechajú rásť za prítomnosti

glyfosátu a len tie, ktoré nesú zmenenú DNA sú schopné prežiť a vyrásť. Samostatná línia NK603 vznikla kultiváciou takto transformovaných buniek kukurice (Technical report, 2003).

Línia kukurice NK603 je povolená na používanie v EÚ podľa platnej legislatívy, na účely komerčného pestovania však nie je povolená.

8

EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

8.1 CIELE DIZERTAČNEJ PRÁCE

Hlavný cieľ:

Hlavným cieľom dizertačnej práce je zhodnotenie vplyvu GM kukurice MON810 na zdravotný stav laboratórných potkanov kmeňa Wistar Han RCC, pomocou štandardných toxikologických metodík. Následne získané výsledky celkového klinického a postmortálneho hodnotenia budú interpretované na možné vplyvy na ľudskú populáciu.

Vedľajšie ciele:

- Zhrnutie údajov o bezpečnosti používania GMO v súvislosti s výživou ľudskej populácie.
- Vytvorenie aktuálneho literárneho prehľadu o súčasnom stave pestovania geneticky modifikovaných rastlín, o platnej legislatíve týkajúcej sa témy GMO, o genetických modifikáciách a technológiách používaných pri ich príprave.

8.2 HYPOTÉZY

1. Predpokladáme, že aj napriek získaným výsledkom 90-dňových štúdií projektu GRACE, v ktorých sa neprejavil nepriaznivý vplyv GM kukurice MON810 na zdravie potkanov kmeňa Wistar Han RCC (Zeljenková a kol., 2014) môže v štúdiu ročnej chronickej toxicity táto GM kukurica ovplyvniť sledované zdravotné ukazovatele (hematologické, biochemické, patologicko-anatomické) a môže tak dôjsť k poškodeniu zdravia sledovaných pokusných potkanov.
2. Predpokladáme, že až celoživotná konzumácia GM kukurice MON810 v 33% zastúpení v krmive, bude mať vplyv na výskyt malígnych a benígnych tumorov.

3. Predpokladáme, že materiál z 90 dňovej a ročnej štúdie (krv a vybrané orgány) použitý pre metabolomické a transgenomické štúdie prispeje k vytvoreniu nových sofistikovaných metódik pre stanovenie potencionálneho vplyvu GMO na organizmus.

8.3 DEFINÍCIE POUŽÍVANÉ V EXPERIMENTÁLNEJ ČASTI DIZERTAČNEJ PRÁCE

Experimentálna / pokusná skupina – skupina zvierat kŕmená jednou z odrôd kukurice používanej v štúdií chronickej toxicity (33% DKC6666, 11% DKC6667-YG+22%DKC6666, 33% DKC6667-YG, 33% SY-NEPAL).

Experimentálne / pokusné krmivo – každé krmivo používané v štúdií chronickej toxicity (33% DKC6666, 11% DKC6667-YG+22%DKC6666, 33% DKC6667-YG, 33% SY-NEPAL).

Kŕmna skupina – skupina zvierat kŕmená GM modifikovanou odrodou kukurice MON810 alebo skupina kŕmená konvenčnou 2 odrodou kukurice (11% DKC6667-YG+22%DKC6666, 33% DKC6667-YG, 33% SY-NEPAL).

Kontrolná skupina / kontrola – skupina zvierat kŕmená nemodifikovanou izogénneou odrodou kukurice (33% DKC6666).

Kontrolné krmivo / kontrolná potrava – krmivo obsahujúcu izogénnu nemodifikovanú odrodu kukurice (33% DKC6666).

Konvenčná 2 skupina - skupina zvierat kŕmená nemodifikovanou konvenčnou odrodou kukurice (33% SY-NEPAL).

11% GM skupina - skupina zvierat kŕmená GM modifikovanou odrodou kukurice MON810 (11% DKC6667-YG + 22%DKC6666).

33% GM skupina - skupina zvierat kŕmená GM modifikovanou odrodou kukurice MON810 (33% DKC6667-YG).

9

MATERIÁL A METÓDY

V rámci projektu GRACE boli realizované na našom pracovisku štyri toxikologické štúdie, dve 90-dňové subchronické orálne toxicity, metabolická štúdia a štúdia ročnej chronickej toxicity. Vo forme kŕmnych štúdií. Všetky štyri štúdie boli realizované v súlade s platnou legislatívou Slovenskej republiky a taktiež so Smernicou Európskeho parlamentu a Rady číslo 2010/63/EÚ, ktorá pojednáva o ochrane zvierat používaných pre vedecké účely. Plány štúdií a pracovné postupy boli schválené Štátnou veterinárnou a potravinovou správou SR a Etickou komisiou Slovenskej zdravotníckej univerzity. Vlastné experimenty boli uskutočnené v akreditovanom zverinci Slovenskej zdravotníckej univerzity SK P 3010 N v Bratislave na Oddelení toxikológie. Štúdie boli realizované podľa zásad správnej laboratórnej praxe v podmienkach SPF (specific pathogen free tzv. bez prítomnosti špecifických patogénov) a v súlade s Európskym dohovorom o ochrane stavovcov používaných pre vedecké účely (1999). V predloženej dizertačnej práci uvádzam metodiku a výsledky zo štúdie ročnej chronickej toxicity s GM kukuricou MON810.

9.1 MATERIÁL

9.1.1 Testovaná látka

Testovaná látka, teda GM kukurica odrody MON810 bola vypestovaná v *Plade Foixá* (Girona, Catalonia) v Španielsku, v priebehu pestovateľskej sezóny v roku 2013. Táto oblasť sa nachádza v blízkosti mora a má stredomorské podnebie. Boli tu vypestované všetky odrody testované v rámci projektu GRACE. GM kukurica MON810, jej najbližšia izogénna nemodifikovaná odroda a rovnako aj pridaná konvenčná odroda kukurice. Z každej odrody testovanej kukurice bolo vysiatych 1,5 ha. Na okolitých poliach nebola vysadená iná kukurica, aby sa zabránilo krížovému opeleniu. Kukurica bola pestovaná za štandardných pestovateľských podmienok v danej oblasti. Neboli použité

žiadne insekticídne prípravky. Počas rastu boli pozorované a zaznamenávané morfológické, agronomické, fenologické (fázy počas vývinu rastlín) a zdravotné parametre, ktoré boli vyhodnotené ako štandardné pre daný pestovateľský región. Napadnutie kukurice konkrétnymi škodcami ako *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) a *Ostrinia nubilalis* (vijačka kukuričná) nebolo pozorované v prípade izogénnej odrody kukurice (DKC6666) a GM kukurice (DKC6667-YG), no v prípade odrody SY-NEPAL kukurica bola napadnutá škodcami v 3,3% (Zeljenková a kol., 2016).

9.1.2 Príprava krmiva

Experimentálne krmivo bolo pripravované rovnakým spôsobom vo všetkých štyroch štúdiách v rámci projektu GRACE. Rozdiel bol v obsahu odrody kukurice a v jej percentuálnom zastúpení v jednotlivých krmivách. Zrelé kukuričné zrná boli zožaté, každá odroda zvlášť, vysušené, rozomleté a zapracované do krmiva pre potkany kmeňa Wistar Han RCC[®]. Krmivo vo forme peliet bolo nutrične vyvážené a zostavené pre tento konkrétny kmeň potkanov. Percentuálne zastúpenie a druhy použitých odrôd kukurice sú uvedené v tabuľke (Tabuľka 7). Okrem testovanej látky – kukurice, krmivo obsahovalo aj v percentuálnom zastúpení nasledovné zložky: proteíny (18,5%), tuky a oleje (5,5%), hrubú vlákninu (4,5%), hrubý popol (6%), vlhkosť (12%). Krmivo obsahovalo rovnako i zložky, ktoré neboli modifikované a boli výlučne rastlinného pôvodu a to: pšeničné otruby, sójový extrahovaný toastovaný šrot, pšenicu, sójový olej, kukuričný lepok, kvasnice, chlorid sodný, uhličitan vápenatý, fosforečnan vápenatý a oxid horečnatý (Zeljenková a kol., 2016). Experimentálne krmivo bolo takýmto spôsobom pripravené v Taliansku (firma Mucedola, Miláno). Okódované a zaslepené bolo odoslané na Oddelenie toxikológie SZU.

Tabuľka 7: Obsah rôznych odrôd kukurice v jednotlivých testovacích skupinách

Krmivo	Odroda kukurice (obsah v %)
33% izogénna nemodifikovaná kukurica	33% DKC6666 ¹
11% MON810	11% DKC6667-YG ² +22%DKC6666
33% MON810	33% DKC6667-YG
33% konvenčná 2	33% SY-NEPAL ³

1 – najbližšia izogénna odroda kukurice od DKC6667-YG (od firmy Monsanto)

2 – modifikovaná/transgénna odroda MON810 (od firmy Monsanto)

3 – konvenčná odroda kukurice (od firmy KoipesolSemillas)

9.2 DIZAJN ŠTÚDIE

Štúdia ročnej chronickej toxicity bola realizovaná podľa štandardnej OECD metodiky TG 452, ktorá je upravená odporúčaniami organizácie EFSA (OECD, 2009, EFSA, 2011a). V slovenskej legislatíve má označenie B.30 – Test chronickej toxicity (Výnos MH SR, 2002). Rovnako štúdia bola uskutočnená v súlade so zásadami správnej laboratórnej praxe, ako multicentrická štúdia (Osvedčenie o správnej laboratórnej praxi – G-036).

Pracovné postupy sa riadili vypracovaným plánom štúdie - **Plán štúdie číslo: 311957- C/14/ GLP**

V pokuse bola použitá GM kukurica MON810 od firmy Monsanto. Experimentálne krmivo obsahovalo, okrem už spomenutých zložiek aj nasledujúce odrody/línie kukurice a ich rôzny podiel v jednotlivých krmivách:

- **33% izogénna nemodifikovaná kukurica odrody DKC6666** (kontrola, bez obsahu GM zložky) – odroda DKC6666 je izogénna odroda od GM odrody DKC6667-YG;
- **11% MON810** – obsahovalo 11% GM zložky odrody DKC6667-YG + 22% nemodifikovanej izogénnej zložky odrody DKC6666;
- **33% MON810** – obsahovalo 33% GM zložky odrody DKC6667-YG;
- **33% konvenčná 2** – obsahovala 33% nemodifikovanej zložky odrody SY-NEPAL; konvenčne používaná odroda kukurice od firmy Koipesol Semillas (Study plan GRACE C/14/ GLP, 2013).

9.2.1 Zvierací model

Štúdia ročnej chronickej toxicity bola kŕmna štúdia. Ako experimentálny zvierací model boli použité biele laboratórne potkany (rodu *Rattus Norvegicus* línia *albino*) kmeň Wistar Han RCC® od dodávateľa Harlan (San Pietro al Natisone, Taliansko). Celkový počet zvierat v štúdiu bol 160 potkanov z toho 80 samcov a 80 samíc (negravidných). Na začiatku pokusu mali zvieratá 5 týždňov a priemernú hmotnosť 110-140g. Zvieratá boli umiestnené v priestoroch experimentálneho zverinca SPF na Oddelení toxikológie SZU. Zverinec spĺňal vhodné chovné podmienky, teplotu $22 \pm 2^\circ \text{C}$, vlhkosť vzduchu 40-70%, svetelný režim 12 hodín svetlo/12 hodín tma. Zvieratá mali nepretržitý prístup k pitnej vode a k potrave. Následne po karanténe, ktorá trvala 5-7 dní, boli zvieratá randomizované

(ŠPP/TOX/V001) podľa hmotnosti a náhodným výberom rozdelené do 4 skupín (Tabuľka 8), (Study plan GRACE C/14/ GLP, 2013).

Obe pohlavia zvierat boli zvlášť umiestnené v chovných boxoch SPF zverinca. Na každú pokusnú skupinu pripadalo 20 samcov a 20 samíc, (10 kliebok na skupinu). Potkany rovnakého pohlavia boli po dvojiciach umiestnené v transparentných polypropylénových chovných klietkach (Tecniplast, Taliansko, typ 2145F), s rozmermi 48 x 26,5 x 21 cm s podstielkou z pilín (Lignocel[®], JRS, Nemecko). Podľa odporúčaní EFSA je za experimentálnu jednotku považovaná jedna chovná klietka s dvomi potkanmi rovnakého pohlavia (EFSA, 2011a). Chovné klietky boli označené odlišnými farebnými identifikačnými štítkami, ktoré obsahovali potrebné údaje (pokusná skupina, číslo klietky, číslo zvierat'a, pohlavie a pod.). Každé zviera bolo označené príslušným identifikačným číslom na koreni chvosta, v súlade so štandardnými pracovnými postupmi Oddelenia toxikológie SZU, (ŠPP/TOX/V002) (Study plan GRACE C/14/ GLP, 2013).

Tabuľka 8: Skupina a k nej prislúchajúce krmivo

Skupina	Odroda kukurice
Kontrolná skupina	33% DKC6666
11% GM skupina	11% DKC6667-YG+ 22%DKC6666
33% GM skupina	33% DKC6667-YG
33% konvenčná 2 skupina	33% SY-NEPAL



Obrázok 6: Rozmiestnenie zvierat v pokusných klietkach

K pokusným skupinám bola pridaná aj tzv. skupina „sentinel“. Išlo o 10 samcov a 10 samíc, ktoré boli umiestnené spolu s experimentálnymi zvieratami, ale dostávali bežné krmivo pre laboratórne zvieratá (Teklad – Mucedola, Taliansko). Táto skupina slúžila ako kontrolná skupina pre hodnotenie a porovnávanie zdravotného stavu zvierat so zvieratami kŕmenými experimentálnym krmivom. Výsledky skupiny „sentinel“ neboli štatisticky porovnávané s pokusnými skupinami zvierat.

9.3 SPOTREBA KRMIVA, HMOTNOSŤ ZVIERAT A KLINICKÉ VYŠETRENIA

9.3.1 Spotreba krmiva

Raz týždenne bola zisťovaná a zaznamenávaná spotreba krmiva. Priemerná spotreba krmiva bola vypočítavaná na klietku (experimentálnu jednotku) v jednotlivých skupinách u oboch pohlaví (Study plan GRACE C/14/ GLP, 2013).

9.3.2 Telesná hmotnosť zvierat

Hmotnosť zvierat bola zisťovaná a zaznamenávaná v nasledovných intervaloch:

- po 48 hodinách od príchodu a umiestnení v experimentálnom zverinci SPF,
- v deň randomizácie zvierat,
- v prvom dni začatia experimentu,
- raz týždenne po dobu prvých 13. týždňov experimentu,
- raz za dva týždne v období do konca experimentu,
- v poslednom dni experimentu (Study plan GRACE C/14/ GLP, 2013).

9.3.3 Klinické vyšetrenia

Zvieratá v experimente boli pozorované dva krát denne. Adspekčne boli zisťované zmeny na koži, srsti, očiach, slizniciach prípadne zmeny v exkrécii, sekrécii. Sledovali sa i zmeny v správaní a v pohybovaní sa zvierat. Detailné vyšetrenie u každého zvierat'a mimo chovnej klievky sa uskutočnilo v prvý deň začatia pokusu, raz týždenne po dobu prvých 13. týždňov a následne raz mesačne až do ukončenia pokusu. Okrem už vyššie spomenutých zmien boli sledované i netypické respiračné prejavy, zmeny veľkosti zreníc,

zmeny v držaní tela zvierat'a a odpovede na manipuláciu i nezvyčajné správanie sa zvierat (sebapoškodzovanie, chodenie dozadu).

Oftalmologické vyšetrenie oboch očí (očného pozadia) sa uskutočnilo v prvý deň začatia experimentu (ešte pred podaním experimentálnej látky) a dva týždne pred koncom experimentu. Všetky zvieratá boli vyšetrené oftalmoskopom (Study plan GRACE C/14/GLP, 2013).

9.4 ODBER A ANALÝZA BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU

Odber a analýza biologického materiálu sa uskutočňoval podľa štandardných pracovných postupov Oddelenia toxikológie SZU.

Vzorky krvi a moču boli odobraté na konci 3. a 6. pokusného mesiaca. Z každej pokusnej skupiny boli vzorky odobraté 10 samcom a 10 samičkám (vždy tým istým zvieratám), po 16-18 hodinovej hladovke. Na konci experimentu, po 12. mesiacoch boli vzorky krvi odobraté všetkým zvieratám, taktiež po 16-18 hodinovej hladovke.

9.4.1 Hematologické vyšetrenia

Vzorky krvi pre hematologickú analýzu boli odobraté z chvostovej žily (*vena caudalis*), bez použitia anestetík. Potkanom bolo odobratých 0,5 ml krvi do skúmaviek s antikoagulačnou látkou (kyselina etyléndiamíntetraoctová - EDTA). Následne bola krv spracovaná/zmeraná do 4 hodín po odbere na hematologickom analyzátore – Sysmex K-4500 (Sysmex, Kobe, Japonsko). Výsledky analýzy krvi boli vyhodnotené štatistickými metódami. Výsledky boli porovnávané aj s referenčnými hodnotami kmeňa Wistar Han RCC[®] od spoločnosti Harlan Laboratories (2014).

Hodnotené boli nasledovné hematologické parametre:

- WBC – počet bielych krviniek,
- RBC – počet červených krviniek,
- HGB – hemoglobín,
- HCT – hematokrit,
- MCV – stredný objem erytrocytov,
- MCH – stredný obsah hemoglobínu v erythrocyte,
- MCHC – stredná koncentrácia hemoglobínu v erythrocyte,

- PLT – počet krvných doštičiek,
- LYM – lymfocyty (Study plan GRACE C/14/ GLP, 2013).

Z krvných náterov, ktoré boli farbené podľa May Grünwald a Giemsa-Romanowski bol hodnotený diferenciálny krvný obraz. Vo svetelnom mikroskope bolo hodnotených 200 buniek. Následne bol vypočítaný percentuálny podiel:

- Lymfocytov,
- Neutrofilov,
- Monocytov,
- Eozinofilov (Study plan GRACE C/14/ GLP, 2013).

9.4.2 Biochemické vyšetrenia

Vzorky krvi pre biochemickú analýzu boli odobraté z chvostovej žily (*vena caudalis*), bez použitia anestetík. Pre analýzu bolo zvieratám odobratých maximálne 1,5 ml krvi. Vzorky boli spracované do 4 hodín na biochemickom analyzátore Ortho Clinical Vitros® 250 Chemistry System (Ortho-Clinical Diagnostics, Raritan, USA).

Analyzované boli nasledovné parametre:

- ALP – alkalická fosfatáza,
- ALT – alanínaminotransferáza,
- AST – aspartátaminotransferáza,
- ALB – albumíny,
- GLU – glukóza,
- CREA – kreatinín,
- TP – celkové bielkoviny,
- U – močovina,
- CHOL – cholesterol,
- Ca – vápnik,
- Cl – chlór,
- K – draslík,
- Na – sodík,
- P – fosfor,
- TRG – triglyceridy.

9.4.3 Biochemická analýza moču

Moč bol odobratý rovnakým zvieratám (10 samcov a 10 samíc), ktorým boli odobraté vzorky krvi. Odber sa uskutočnil na konci 3., 6. a 12. mesiaca pokusu, pomocou metabolických klietok, v ktorých boli zvieratá umiestnené individuálne po dobu 16 hodín, s prístupom k pitnej vode a bez prísunu potravy.

Hodnotené boli nasledovné parametre:

objem,	ketóny,	urobilinogén,
vzhľad,	počet leukocytov,	nitráty,
celkové bielkoviny,	počet erytrocytov,	pH,
glukóza,	bilirubín,	osmolarita.

Pre hodnotenie jednotlivých parametrov boli použité nasledovné analyzátory: Combur¹⁰ Test[®]UX (Roche Diagnostics, Mannheim, Nemecko), Urilux S (Roche Diagnostics), Advanced[®] Model 3300 micro-osmometer Advanced Instruments (Norwood, MA, USA) (Study plan GRACE C/14/ GLP, 2013).

9.4.4 Patologicko-anatomická pitva a histopatologické vyšetrenia

Na konci štúdie (366. deň) boli zvieratá humánne usmrtené a podrobené patologicko-anatomickej pive. Po 16-18 hodinovej hladovke bola zvieratám podaná intraperitoneálna anestézia 10 mg/kg xylazínu v kombinácii so 75 mg/kg ketamínu, v závislosti od ich telesnej hmotnosti. Pred samotnou pitvou bola zvieratám odobratá krv z brušnej aorty (*aorta abdominalis*), čím boli zvieratá usmrtené. Plazma a vybrané tkanivá (mezenterické lymfatické uzliny, vzostupná časť hrubého čreva, stredná časť lačníka a bedrovníka, horná tretina pravej obličky, a pravý bočný lalok pečene) boli odoslané na analýzu (metabolomické, transgenomické, imunologické štúdie) do inštitúcií spolupracujúcich na projekte GRACE a to do INRA (Immuno-Allergie Alimentarie, FR), FUB (Freie Universität Berlin – Institute of Veterinary Biochemistry, Nemecko) a CRAG (Centre for Research in Agricultural Genomics, Španielsko). Výsledky uvedených testov sú nad rámec predloženej dizertačnej práce, preto nie sú uvedené vo výsledkovej časti práce.

Počas pitvy boli nasledovné orgány makroskopicky posúdené a fixované v 10% neutrálnom formalíne:

- Mozog (hemisféry, mozoček, predĺžená miecha, most),
- miecha (krčná, hrudná, bedrová časť),
- hypofýza,
- oči,
- štítna žľaza a prištítné telieska,
- slinné žľazy,
- týmus,
- pažerák,
- žalúdok,
- tenké a hrubé črevo,

- slepé črevo,
- pečeň,
- pankreas,
- obličky a nadobličky,
- srdce,
- slezina,
- priedušnica,
- pľúca,
- brušná aorta,
- semenníky a nadsemenníky,
- vaječníky,
- maternica,
- mliečne žľazy,
- prostata,
- močový mechúr,
- lymfatické uzliny,
- periférny nerv,
- kostrový sval,
- kostná dreň,
- koža.

Počas pitvy boli zvážené a zaznamenané absolútne hmotnosti vybraných orgánov: nadobličiek, obličiek, pečene, sleziny, pankreasu, pľúc, srdca, týmusu, semenníkov, nadsemenníkov, vaječníkov, maternice a mozgu. Dodatočne bola vypočítaná aj relatívna hmotnosť orgánov.

Po ukončení pitiev boli skupiny odtajnené a fixované orgány z 33% GM skupiny a kontrolnej skupiny, prípadne patologické nálezy v ostatných skupinách, boli odoslané na histopatologické vyšetrenie do spolupracujúceho pracoviska TOPALAB v Košiciach (Study plan GRACE C/14/ GLP, 2013).

9.5 ŠTATISTICKÉ HODNOTENIE

Primárne dáta z experimentu boli vložené do programu MS Excel a spravované v štatistickom softvéri SPSS[®] verzia 12.0 (Chicago, SPSS Inc.) a SAS verzia 9.4 (SAS, InstituteInc., Cary, NC). Všetky štatistické testy boli robené v hladine významnosti $\alpha = 0,05$. Tieto dáta štatisticky spracovala a vyhodnotila firma BioMath GmbH, ktorá bola členom konzorcia projektu.

Základná štatistika bola spracovaná aj na oddelení toxikológie v spolupráci s Ústavom biofyziky, informatiky a bioštatistiky SZU pomocou programu MS Excel a SPSS[®] verzia 19.0.

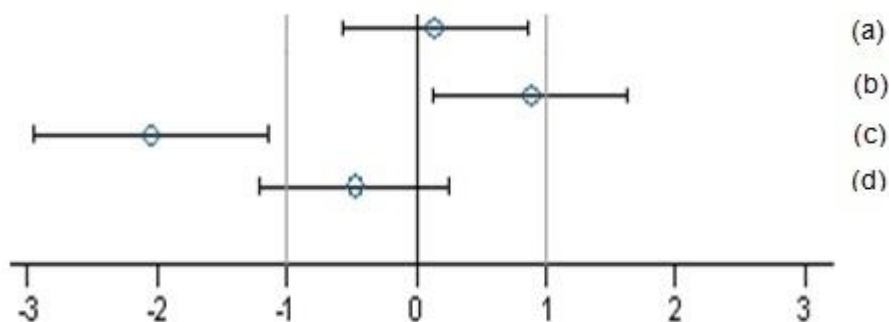
Pre štatistické spracovanie boli hodnoty jednotlivých parametrov udané osobitne od každého zvierat'a s výnimkou hodnoty spotreby krmiva. Podľa odporúčaní EFSA je za experimentálnu jednotku považovaná klieťka s dvomi zvieratami (2011a). Preto boli

vypočítané priemerné hodnoty jednotlivých parametrov na jednu klietku (dve zvieratá). Tieto hodnoty sú vyjadrené ako priemery hodnôt, ktoré boli namerané u dvoch zvierat nachádzajúcich sa v jednej kletke. Hodnoty telesnej hmotnosti zvierat boli hodnotené osobitne, na jedno zviera.

V prvej fáze štatistickej analýzy bola urobená deskriptívna štatistika pre každú skupinu a pohlavie zvlášť. Extrémne a odľahlé hodnoty boli vylúčené zo štatistického hodnotenia. Hodnoty spotreby krmiva boli v prvých 13. týždňoch hodnotené raz týždenne a následne raz za dva týždne až po koniec experimentu. Pre hodnoty telesnej hmotnosti zvierat boli vytvorené rastové krivky s týždennými intervalmi. Pre zvyšné sledované parametre boli vyjadrené smerodajná odchýlka, aritmetický priemer, stredná hodnota, 95% interval spoľahlivosti, medián, minimum a maximum. Analýza moču bola hodnotená deskriptívnou štatistikou.

V druhej fáze štatistickej analýzy boli Kovariančnou analýzou, metódou maximálnej vierohodnosti hodnotené hmotnosť zvierat, spotreba krmiva, hematologické a biochemické parametre. Príslušnosť ku skupine bola považovaná za fixný faktor a za kovariát bol považovaný časový interval (týždeň). Pre jednotlivé ukazovatele bola počítaná aj štandardizovaná miera efektívnosti dávky – SES s 95% intervalom spoľahlivosti (v 12. mesiaci). Jednotlivé skupiny a hodnoty parametrov boli porovnávané s kontrolnou skupinou: 11% GM skupina s kontrolou, 33% GM skupina s kontrolou a konvenčná 2 skupina s kontrolou. Štandardizovaná miera efektívnosti dávky – SES bola následne počítaná ako rozdiel aritmetických priemerov skúmaného parametra v kŕmnej a kontrolnej skupine, ktorý bol delený smerodajnou odchýlkou (Zeljenková a kol., 2016, Schmidt a kol. 2016). V grafoch štandardizovanej miery efektívnosti dávky sú znázornené všetky potrebné hodnoty, čo umožňuje jednoduchšie porovnávanie parametrov medzi skupinami.

V tretej fáze štatistického spracovania boli použité aj „klasické“ štatistické metódy. Neparametrické metódy ako Wilcoxonov test, Kruskal-Wallisov test a parametrické metódy ako ANOVA – analýza rozptylu s post-hoc testami (Dunnettov test, *t*-test). Pre zistenie normálneho rozdelenia hodnôt bol použitý Kolmogorov-Smirnov test. Najvýpovednejšiu hodnotu v tejto práci majú vypočítané štandardizované miery efektívnosti dávky s 95% intervalom spoľahlivosti. Znázornenie štatistickej významnosti pri použití SES s 95% IS je uvedené na obrázku (Obrázok 7).



Obrázok 7: Znárodzenie štatistickej významnosti, biologického a možného toxického vplyvu
Zdroj: Zeljenková a kol., 2016

Stredy úsečiek v grafe (Obrázok 7) znázorňujú SES – štandardizovanú mieru efektívnosti dávky. Koncové body úsečiek reprezentujú spodnú a hornú hranicu 95% IS. V prípade keď 95% IS nezahŕňa hodnotu 0, teda úsečky nepretínajú vertikálnu priamku prechádzajúcu bodom 0 (prípady b, c) – **ide o štatistickú významnosť**. V prípade keď 95% IS zahŕňa hodnotu 0, teda úsečky pretínajú vertikálnu priamku prechádzajúcu bodom 0 (prípady a, d) – **nejde o štatistickú významnosť** a to z dôvodu, že je 95% pravdepodobnosť, že rozdiel v skúmanom parametri medzi experimentálnou a kontrolnou skupinou je rovný 0. Vertikálne priamky, ktoré prechádzajú bodmi -1 a 1 ($\pm 1,0$ SD) naznačujú predpokladaný biologický a možný toxikologický vplyv. Predpokladaný biologický a možný toxikologický vplyv nastáva v prípade, ak **úsečka IS leží mimo** spomínaných vertikálnych priamok (prípady c). Na základe vyššie uvedeného vysvetlenia:

- prípad (a) nejedná sa o štatistickú významnosť, ani biologický vplyv;
- prípad (b) jedná sa o štatistickú významnosť, no neurčitý biologický vplyv;
- prípad (c) jedná sa o štatistickú významnosť, aj biologický a možný toxikologický vplyv;
- prípad (d) nejedná sa o štatistickú významnosť, no s určitosťou neodmieta biologický vplyv (Zeljenková a kol., 2014).

10

VÝSLEDKY

Výsledky predloženej dizertačnej práce sú súčasťou výsledkov medzinárodného projektu GRACE, ktorý prispieva k hodnoteniu možných rizík vyvstávajúcich z používania genetických technológií k príprave geneticky modifikovaných organizmov. V práci sú uvedené výsledky z ročného pokusu – chronickej toxicity. V pokuse bol použitý zvierací experimentálny model (laboratórny potkan kmeň Wistar Han RCC), ktorý bol po celú dobu pokusu exponovaný testovanej látke – geneticky modifikovanej kukurici MON810 v rôznych koncentráciách. Výsledky takejto štúdie umožňujú hodnotiť potencionalne dopady na zdravie predovšetkým z dlhodobého – chronického hľadiska.

Telesná hmotnosť

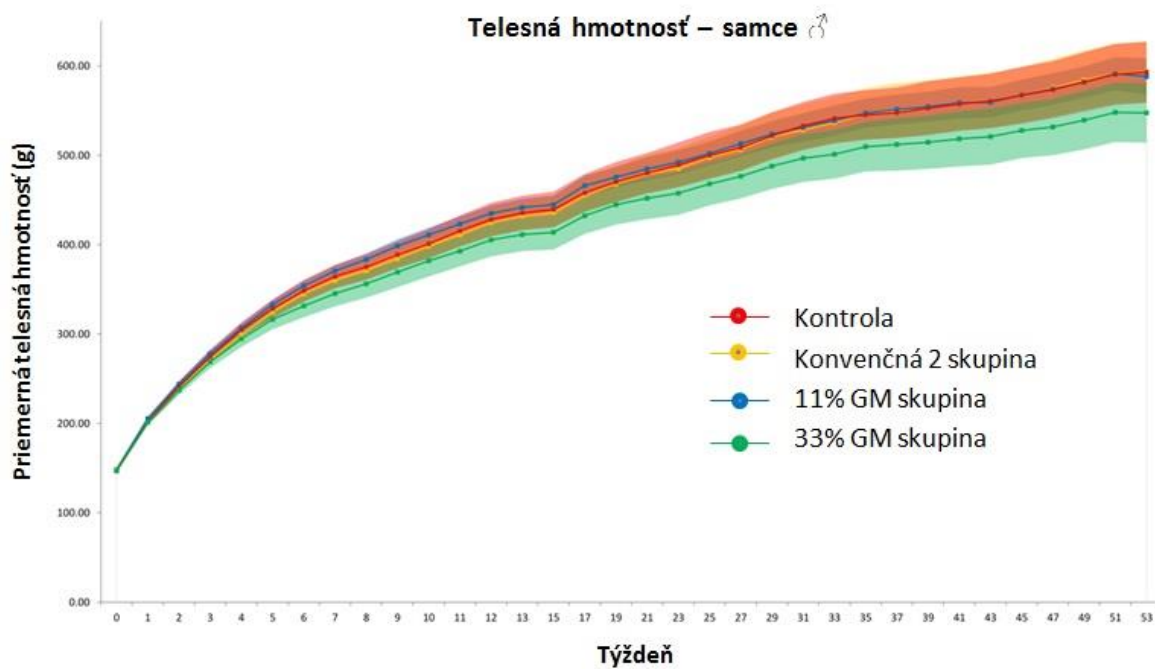
Telesná hmotnosť je jedným z ukazovateľov zdravotného stavu zvierat. Hmotnosť zvierat sa zvyšovala v čase, v súlade s ich fyziologickým vývinom.

Samce

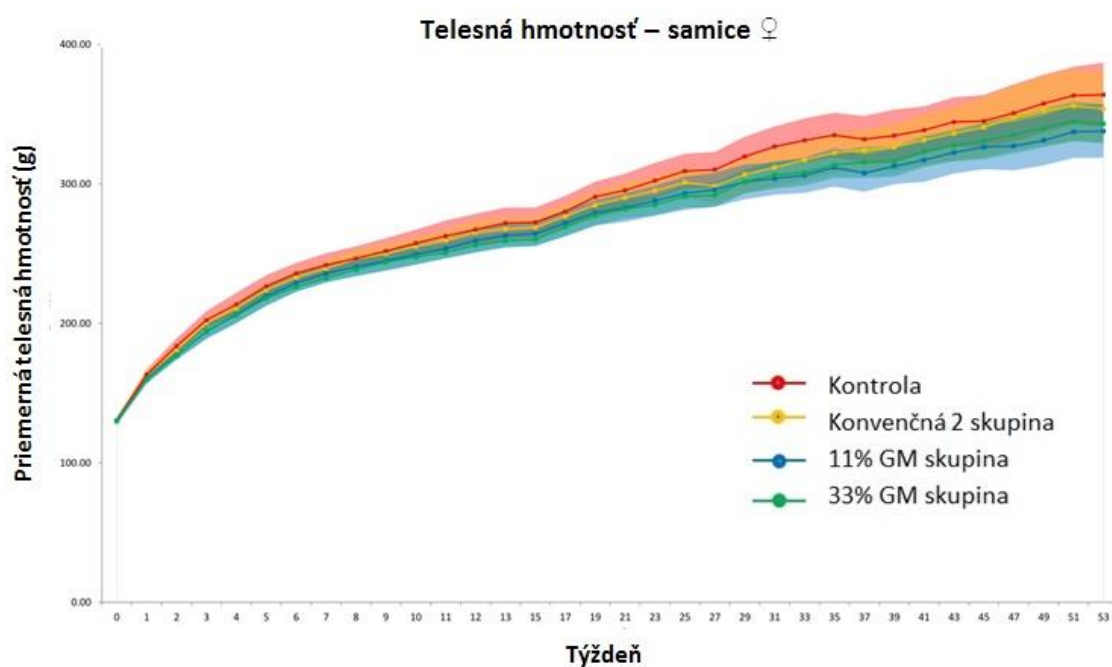
Na konci štúdie dosiahla priemerná hmotnosť samcov v skupinách: kontrola, konvenčná 2 skupina a 11% GM skupina 594g, 598g a 592g. U samcov v 33% GM skupine priemerná hmotnosť dosiahla 550g. Rozdiely v telesnej hmotnosti samcov medzi jednotlivými skupinami neboli štatisticky významné (Obrázok 8).

Samice

Priemerná telesná hmotnosť samíc v jednotlivých skupinách dosiahla nasledovné hodnoty: kontrola 367g, konvenčná 2 skupina 358g, 11% GM skupina 339g, 33% GM skupina 344g. Rovnako ako u samcov, ani u samíc neboli rozdiely v telesnej hmotnosti medzi jednotlivými pokusnými skupinami štatisticky významné (Obrázok 9).



Obrázok 8: Telesné hmotnosti samcov počas 53 týždňov štúdie



Obrázok 9: Telesné hmotnosti samíc počas 53 týždňov štúdie

Spotreba krmiva

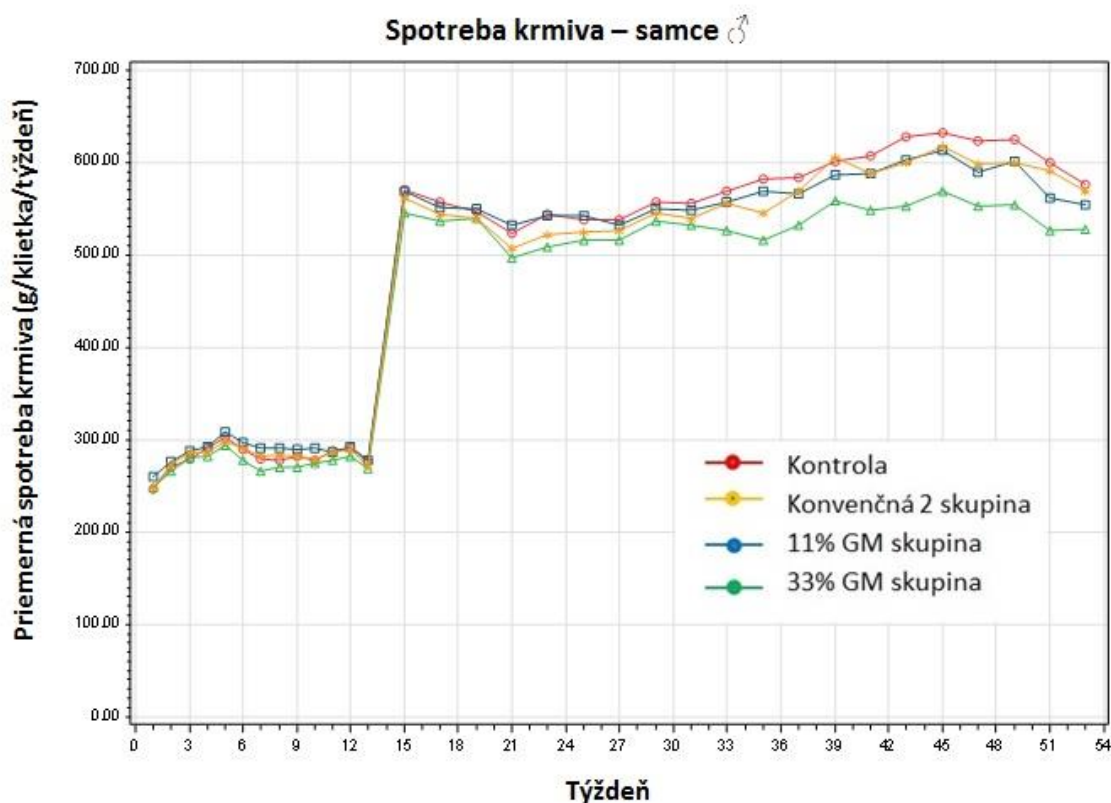
Ďalším ukazovateľom vplyvu geneticky modifikovaného krmiva na zdravotný stav zvierat je jeho spotreba. Spotreba krmiva bola v 1-13 týždni zaznamenávaná raz týždenne a v 15-53 týždni raz za dva týždne.

Samce

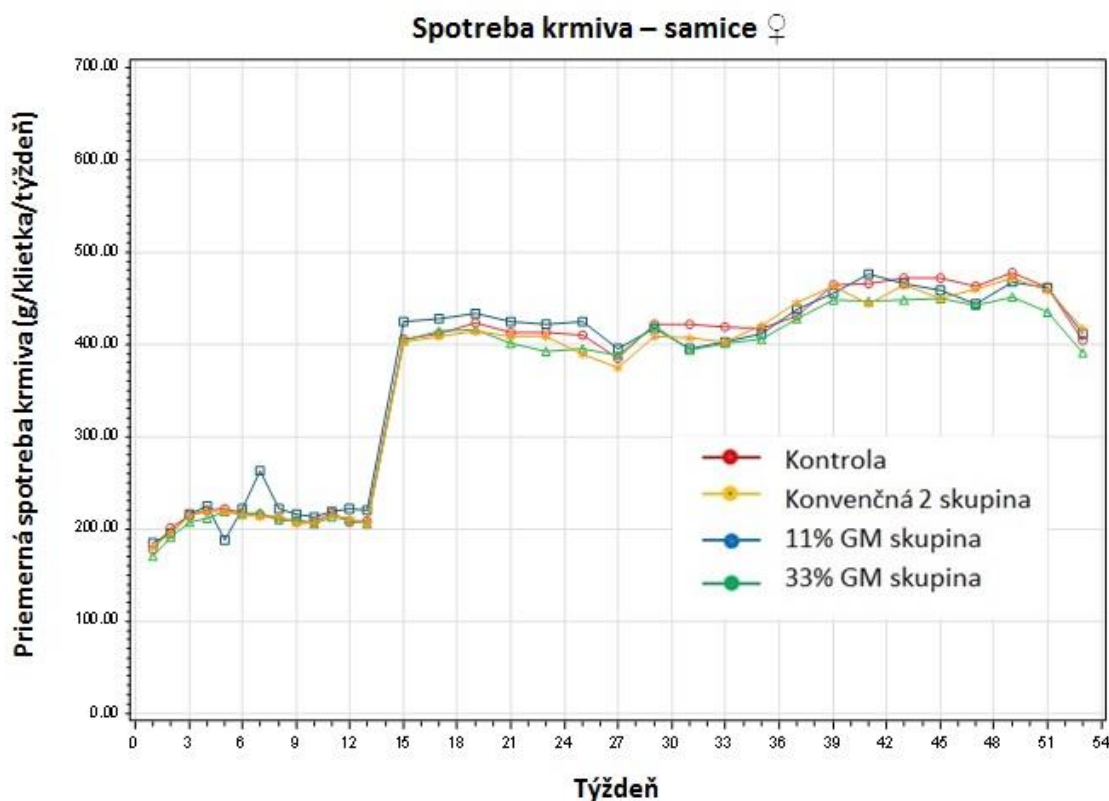
Spotreba experimentálneho krmiva u samcov stúpala v prvých 5 týždňoch pokusu, následne zostala konštantná až do 31. týždňa. Opäť mierne stúpala až do 49. týždňa pokusu (Obrázok 10). Zvieratá z kŕmnych skupín (33% GM skupina < 11% GM skupina < konvenčná 2 skupina) konzumovali menej krmiva ako zvieratá z kontrolnej skupiny. Tieto rozdiely však neboli štatisticky významné.

Samice

Spotreba experimentálneho krmiva u samíc stúpala prvé 4 týždne pokusu, konštantná zostala do 35. týždňa a potom opäť stúpala až do 39. týždňa pokusu (Obrázok 11). Spotreba krmiva bola rovnaká v skupinách kontrola, konvenčná 2 skupina a v 11% GM skupina. V 33% GM skupine bola spotreba nižšia. Ani v prípade samíc tieto rozdiely neboli štatisticky významné.



Obrázok 10: Priemerná spotreba krmiva (na klietku) u samcov počas 53 týždňov pokusu



Obrázok 11: Priemerná spotreba krmiva (na klietku) u samíc počas 53 týždňov pokusu

Klinické vyšetrenia

Počas experimentu museli byť tri potkany predčasne usmrtené (ešte pred koncom pokusu).

- Samec (č.15) z 33% GM skupiny bol utratený v 227. deň pokusu z dôvodu paraplégie panvových končatín, ktorá viedla k veľkému poklesu telesnej hmotnosti zvierat'a.
- Samička (č.131) z 11% GM skupiny bola utratená v 244. deň pokusu z dôvodu vývoja karcinómu na pravom vaječníku, ktorý viedol k vytvoreniu metastatických ložísk v brušnej dutine.
- Samička (č.159) z kontrolnej skupiny bola utratená v 327. deň pokusu z dôvodu vývoja karcinómu mliečnej žľazy.

V ostatných prípadoch bol pozorovaný len nízky výskyt klinických nálezov. Zaznamenané klinické nálezy sú zhrnuté v tabuľke (Tabuľka 9).

Oftalmologické vyšetrenie očného pozadia oboch očí neodhalilo žiadne odchýlky od normálu na začiatku a na konci pokusu.

Tabuľka 9: Klinické nálezy počas 53 týždňov u samcov a samíc kmeňa Wistar Han RCC

	Skupina	Číslo zvierat'a	Číslo týždňa	Klinický nález
Samce	33% GM	2	10	Hnačka
		7	25	Rany spôsobené uhryznutím ľ lopatka, ľ brušná strana
		15	31	Paraplégia panvových končatín
	Kontrola	50	6	Hnačka
	Konvenčná 2	63	9	Difúzne krvácanie z nosa, (chromodacryorrhea)
		79	40	Exoftalmus – oboch očí, hnačka
Samice	33% GM	102	43	Difúzne krvácanie z nosa, (chromodacryorrhea)
		106	25	Rednutie srsti medzi lopatkami
		107	23-53	Rany spôsobené uhryznutím, svrbenie, chrasty medzi lopatkami
		109	26	Rana na chvoste
	11% GM	126	30	Rany spôsobené uhryznutím medzi lopatkami
		129	42-53	Rednutie srsti na ľ strane tváre
		131	33-34	Strata hmotnosti, apatia, piloerekcia, hypersalivácia, hemateméza, chromodacryorrhea, zväčšenie brušnej dutiny, abdominalgia, dýchavičnosť
		135	26	Rana na chvoste
	Kontrola	144	42-53	Deformácia hornej časti čeľuste, exoftalmus, chromodacryorrhea, dýchavičnosť
		147	9	Rany spôsobené pohryznutím na chrbte
		159	31-47	Absces na mliečnej žľaze

Hematológia

Hematologické parametre namerané zo vzoriek krvi samcov a samíc v 3., 6. a 12. mesiaci sú uvedené v tabuľke (Tabuľka 10). Hodnoty jednotlivých hematologických parametrov sú udávané ako priemery hodnôt nameraných u dvoch potkanov v jednej klietke. Použité štatistické metódy na zistenie štatistickej významnosti sú uvedené pomocou indexov vysvetlených za tabuľkou. Pre hodnoty hematológie boli vypočítané aj SES s 95% IS, ktoré sú považované v tomto prípade za smerodajné (viď príloha A-F). V tomto kontexte štatistická významnosť nastáva v prípade ak 95% interval spoľahlivosti nezahŕňa hodnotu 0. A v prípade, že 95% IS zahŕňa hodnotu 0, nejedná sa o štatistickú významnosť (Obrázok 7). V grafoch štandardizovanej miery efektívnosti dávky sú použité parametre namerané v 12. mesiaci pokusu.

Hematológia po 3 mesiacoch

Po troch mesiacoch neboli zistené žiadne štatisticky významné zmeny v hematologických parametroch u samcov a samíc v kŕmnych skupinách (11% GM skupina, 33% GM skupina, konvenčná 2 skupina) oproti kontrolnej skupine (Tabuľka 10).

V prípade diferenciálneho krvného obrazu bolo percento eozinofilov štatisticky významne zvýšené u samíc z 33% GM skupiny v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Hematológia po 6 mesiacoch

Po šiestich mesiacoch boli zistené nasledovné štatisticky významné zmeny. U samcov z 11% GM skupiny a 33% GM skupiny bol štatisticky významne zvýšený počet bielych krviniek (WBC) v porovnaní s kontrolnou skupinou. Rovnako tak aj u samíc z konvenčnej 2 skupiny bol štatisticky významne zvýšený počet bielych krviniek (WBC) oproti kontrolnej skupine (Tabuľka 10).

V prípade krvného obrazu bol pozorovaný štatisticky významný pokles percenta eozinofilov u samíc z 33% GM skupiny v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Hematológia po 12 mesiacoch

Po dvanástich mesiacoch neboli pozorované žiadne štatisticky významné zmeny v hematologických parametroch u samcov a samíc v jednotlivých krmných skupinách v porovnaní s kontrolnou skupinou.

V diferenciálnom krvnom obraze bolo štatisticky významne zvýšené percento eozinofilov u samcov z 11% GM skupiny a konvenčnej 2 skupiny v porovnaní s kontrolnou skupinou. A u samíc z 11% GM skupiny a konvenčnej 2 skupiny bolo štatisticky významne znížené percento eozinofilov oproti kontrolnej skupine (Tabuľka 10).

Tabuľka 10: Priemerné hodnoty (so smerodajnou odchýlkou ± SD) hematologických parametrov samcov a samíc z 3., 6. a 12.mesiaca pokusu

Parameter*	samce				samice			
	Kontrola ^a	Konvenčná 2 ^a	11% GM ³	33% GM ³	Kontrola ^a	Konvenčná 2 ^a	11% GM ⁷	33% GM ⁷
po 3 mesiacoch								
WBC (10 ⁷ /μl)	7.16 ± 0.83	6.44 ± 0.94	8.24 ± 1.89	7.71 ± 1.39	5.71 ± 1.45	6.65 ± 1.23	5.65 ± 1.58	6.71 ± 1.39
RBC (10 ⁶ /μl)	8.12 ± 0.22	8.26 ± 0.34	7.98 ± 0.51	8.14 ± 0.39	7.16 ± 0.24	8.07 ± 0.25	7.27 ± 0.43	7.41 ± 0.43
HGB (g/dl)	16.09 ± 0.34	15.94 ± 0.72	16.05 ± 0.62	16.12 ± 0.74	15.15 ± 0.93	15.64 ± 0.38	14.83 ± 0.97	14.99 ± 0.81
HCT (%)	44.90 ± 1.17	45.11 ± 2.40	43.87 ± 2.85	45.25 ± 2.37	43.72 ± 1.46	45.04 ± 1.09	41.69 ± 2.40	41.71 ± 1.97
MCV (fl)	55.32 ± 0.89	54.64 ± 1.47	54.91 ± 0.65	55.68 ± 1.03	56.74 ± 1.16	55.84 ± 1.28	57.39 ± 0.39	56.34 ± 0.95
MCH (pg)	19.86 ± 0.44	19.32 ± 0.41	20.17 ± 1.07	19.85 ± 0.36	18.20 ± 4.24	19.39 ± 0.56	20.42 ± 0.27	20.26 ± 0.27
MCHC (g/dl)	35.94 ± 0.48	35.35 ± 0.39	36.79 ± 2.30	35.64 ± 0.43	31.93 ± 7.30	34.73 ± 0.51	35.59 ± 1.12	35.95 ± 0.34
PLT (10 ⁷ /μl)	678.00 ± 140.75	717.70 ± 34.10	766.90 ± 112.28	748.60 ± 143.33	689.40 ± 203.54	723.70 ± 99.60	656.50 ± 110.51	655.70 ± 114.11
LYM (10 ⁷ /μl)	4.93 ± 0.82	4.42 ± 0.68	5.87 ± 1.33	5.95 ± 1.30	3.31 ± 0.84	4.40 ± 0.78	3.76 ± 1.01	4.42 ± 1.04
lymfocyty [%]	71.00 ± 4.51	68.10 ± 5.39	70.80 ± 4.83	73.70 ± 3.51	70.45 ± 4.01	67.65 ± 4.79	69.85 ± 3.26	69.35 ± 6.89
neutrofilly [%]	23.90 ± 4.21	26.00 ± 3.81	23.85 ± 5.36	21.70 ± 2.72	25.00 ± 4.05	26.55 ± 4.02	24.60 ± 2.58	24.60 ± 6.09
monocyty [%]	2.75 ± 0.64	4.10 ± 3.16	2.25 ± 0.59	3.05 ± 1.02	2.65 ± 0.63	3.20 ± 0.45	2.75 ± 0.61	2.35 ± 0.84
eozinofily [%]	2.35 ± 0.89	1.80 ± 0.97	3.10 ± 1.59	1.55 ± 0.48	1.85 ± 0.52	2.55 ± 1.14	2.80 ± 0.93	3.65 ± 0.96 ^{a,c}
bazofily [%]	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.05 ± 0.11	0.05 ± 0.11	0.00 ± 0.00	0.05 ± 0.11
po 6 mesiacoch								
WBC (10 ⁷ /μl)	7.06 ± 0.57	8.44 ± 2.09	8.48 ± 0.63 ^{b,c}	9.10 ± 1.49 ^c	6.06 ± 1.36	7.85 ± 0.87 ^b	7.05 ± 1.44	7.02 ± 1.00
RBC (10 ⁶ /μl)	8.34 ± 0.18	8.28 ± 0.16	8.07 ± 0.20	8.21 ± 0.25	7.69 ± 0.23	7.72 ± 0.42	7.36 ± 0.25	7.56 ± 0.44
HGB (g/dl)	16.13 ± 0.54	15.83 ± 0.46	15.39 ± 0.55	15.94 ± 0.52	15.55 ± 0.27	15.29 ± 0.50	15.23 ± 0.37	15.40 ± 0.65
HCT (%)	46.29 ± 1.29	45.62 ± 1.40	44.49 ± 1.41	45.48 ± 1.30	44.85 ± 0.95	44.16 ± 1.67	43.23 ± 1.10	43.69 ± 1.93
MCV (fl)	55.53 ± 1.26	55.10 ± 1.31	55.11 ± 0.57	55.47 ± 0.79	58.37 ± 1.14	57.27 ± 1.58	58.78 ± 0.70	57.81 ± 1.26
MCH (pg)	19.36 ± 0.59	19.12 ± 0.51	19.06 ± 0.37	19.47 ± 0.32	20.25 ± 0.66	19.84 ± 0.90	20.71 ± 0.31	20.42 ± 0.51
MCHC (g/dl)	34.85 ± 0.37	34.71 ± 0.51	34.60 ± 0.44	35.08 ± 0.33	34.69 ± 0.53	34.63 ± 0.71	35.24 ± 0.40	35.31 ± 0.36
PLT (10 ⁷ /μl)	749.10 ± 52.24	785.90 ± 139.31	782.60 ± 147.63	629.80 ± 112.45	730.40 ± 78.00	798.60 ± 47.15	733.40 ± 75.11	732.00 ± 110.25
LYM (10 ⁷ /μl)	5.55 ± 1.06	5.95 ± 1.70	6.74 ± 1.23	7.10 ± 1.89	3.87 ± 0.63	4.67 ± 0.78	4.65 ± 0.90	4.85 ± 0.69
lymfocyty [%]	69.35 ± 4.16	63.60 ± 5.54	64.65 ± 4.70	65.20 ± 4.28	71.45 ± 5.90	64.25 ± 6.56	72.15 ± 4.95	77.85 ± 2.78
neutrofilly [%]	25.40 ± 3.99	31.85 ± 6.57	29.25 ± 4.27	30.45 ± 3.64	24.45 ± 5.83	30.55 ± 6.47	23.35 ± 5.01	18.95 ± 2.87
monocyty [%]	2.75 ± 0.98	3.05 ± 0.82	4.00 ± 0.94	2.45 ± 0.65	1.90 ± 0.60	2.50 ± 0.84	2.45 ± 0.54	2.00 ± 0.61
eozinofily [%]	2.45 ± 0.86	1.50 ± 0.83	2.10 ± 0.22	1.90 ± 0.72	2.20 ± 0.27	2.70 ± 0.80	2.05 ± 0.65	1.20 ± 0.57 ^{b,c}
bazofily [%]	0.05 ± 0.11	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
po 12 mesiacoch								
WBC (10 ⁷ /μl)	9.10 ± 1.18	8.06 ± 1.32	9.41 ± 2.26	8.88 ± 1.32	6.76 ± 1.50	7.02 ± 2.29	6.15 ± 1.54	6.73 ± 1.25
RBC (10 ⁶ /μl)	8.41 ± 0.26	8.37 ± 0.21	8.30 ± 0.33	8.33 ± 0.51	7.55 ± 0.39	7.69 ± 0.37	7.43 ± 0.22	7.54 ± 0.19
HGB (g/dl)	16.59 ± 0.46	16.34 ± 0.92	16.42 ± 0.55	16.43 ± 0.33	15.93 ± 0.39	15.91 ± 0.39	15.90 ± 0.30	15.98 ± 0.45
HCT (%)	46.99 ± 1.49	46.82 ± 1.40	45.87 ± 1.63	45.71 ± 2.33	43.62 ± 2.11	44.01 ± 1.26	43.39 ± 1.12	43.59 ± 1.07
MCV (fl)	55.89 ± 1.32	55.99 ± 1.50	55.32 ± 1.04	55.01 ± 1.78	57.79 ± 0.94	57.33 ± 1.86	58.46 ± 0.79	57.80 ± 0.97
MCH (pg)	19.74 ± 0.64	19.54 ± 0.95	19.82 ± 0.71	19.85 ± 1.48	21.17 ± 1.07	20.75 ± 0.86	21.43 ± 0.51	21.18 ± 0.39
MCHC (g/dl)	35.30 ± 0.54	34.93 ± 2.14	35.84 ± 0.71	36.08 ± 2.48	36.62 ± 1.83	36.18 ± 0.54	36.66 ± 0.66	36.67 ± 0.39
PLT (10 ⁷ /μl)	715.80 ± 139.47	760.30 ± 119.31	781.00 ± 124.22	746.10 ± 105.94	748.65 ± 107.91	792.40 ± 137.52	726.60 ± 133.61	773.25 ± 113.78
LYM (10 ⁷ /μl)	6.03 ± 1.18	5.55 ± 1.43	6.68 ± 1.87	6.37 ± 0.82	4.43 ± 1.08	4.75 ± 1.45	4.23 ± 0.89	4.66 ± 0.81
lymfocyty [%]	63.60 ± 4.73	63.80 ± 7.83	63.00 ± 3.46	64.88 ± 4.66	66.43 ± 6.12	64.40 ± 5.99	64.35 ± 5.94	65.60 ± 3.17
neutrofilly [%]	31.33 ± 4.42	30.13 ± 7.10	30.35 ± 3.44	29.20 ± 4.82	27.18 ± 6.64	31.08 ± 5.97	31.13 ± 5.08	29.30 ± 3.15
monocyty [%]	3.48 ± 0.74	3.25 ± 0.59	3.98 ± 0.90	3.65 ± 0.75	3.20 ± 0.65	2.68 ± 1.39	2.88 ± 1.17	2.98 ± 1.04
eozinofily [%]	1.60 ± 0.56	2.83 ± 1.50 ^{a,c}	2.65 ± 0.49 ^{b,c}	2.28 ± 1.02	3.20 ± 1.35	1.83 ± 1.09 ^{a,c}	1.65 ± 0.92 ^{a,c}	2.13 ± 1.03
bazofily [%]	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.03 ± 0.08	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.03 ± 0.08	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

* WBC – počet bielych krviniek, RBC – počet červených krviniek, HGB – hemoglobín, HCT – hematokrit, MCV – stredný objem erytrocytov, MCH – stredný obsah hemoglobínu v erythrocyte, MCHC – stredná koncentrácia hemoglobínu v erythrocyte, PLT – počet krvných doštičiek, LYM – lymfocyty

¹ 9, 10 a 20 (19 v prípade LYM) samcov kŕmených 33%DKC6666izogénnou nemodifikovanou kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

² 10, 10 a 20 samcov kŕmených 33% SY-NEPAL konvenčnou kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

³ 10, 10 a 20 samcov kŕmených 11% DKC6667-YG (GM) + 22%DKC6666 kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

⁴ 9, 10 a 19 samcov kŕmených 33% DKC6667-YG (GM) kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

⁵ 10, 10 a 19 samíc kŕmených 33%DKC6666izogénnou nemodifikovanou kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

⁶ 10, 10 a 20 samíc kŕmených 33% SY-NEPAL konvenčnou kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

⁷ 10, 10 a 19 (18 v prípade PLT) samíc kŕmených 11% DKC6667-YG (GM) + 22%DKC6666 kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

⁸ 10, 10 a 20 (18 v prípade PLT) samíc 33% DKC6667-YG (GM) kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

^a ANOVA, post hoc *t* test ($p < 0.05$) a post hoc Dunnettov test ($p < 0.05$)

^b Wilcoxonov test ($p < 0.05$)

^c SES s 95% IS

Biochémia

Biochemické parametre namerané zo vzoriek séra samcov a samíc v 3., 6. a 12.mesiaci sú uvedené v tabuľke (Tabuľka 11). Hodnoty jednotlivých biochemických parametrov sú udávané ako priemery hodnôt nameraných u dvoch potkanov v jednej klietke. Použité štatistické metódy na zistenie štatistickej významnosti sú uvedené pomocou indexov vysvetlených za tabuľkou. Pre hodnoty klinickej biochémie boli vypočítané aj SES s 95% IS, ktoré sú považované v tomto prípade za smerodajné (viď príloha A-F). V grafoch štandardizovanej miery efektívnosti dávky sú použité parametre namerané v 12.mesiaci pokusu.

Biochémia po 3 mesiacoch

Štatisticky významné zmeny v hodnotách biochemických parametroch boli pozorované u samcov z konvenčnej 2 skupiny, kde bola aktivita aspartátaminotransferázy – AST štatisticky významne nižšia ako u kontrolnej skupiny. Rovnako štatisticky významný pokles bol pozorovaný u samcov z 33% GM skupiny v hladine chlóru Cl, v porovnaní s kontrolnou skupinou (Tabuľka 11).

Biochémia po 6 mesiacoch

Po šiestich mesiacoch bolo pozorované štatisticky významné zvýšenie v aktivite aspartátaminotransferázy – AST u samcov z 11% GM skupiny a 33% GM skupiny oproti kontrolnej skupine. U samcov z 33% GM skupiny a 11% GM skupiny bol pozorovaný štatisticky významný nárast hodnôt fosforu –P. Štatisticky významný pokles nastal

v hodnotách chlóru – Cl a sodíka – Na v konvenčnej 2 skupine v porovnaní s kontrolnou skupinou.

V hodnotách biochemických parametrov meraných v sérach samíc bol zistený štatisticky významný pokles v hladine glukózy – GLU v 33% GM skupine v porovnaní s kontrolnou skupinou (Tabuľka 11).

Biochémia po 12 mesiacoch

U samcov bol pozorovaný štatisticky významný pokles v hladine glukózy – GLU v 11% GM skupine a naopak štatisticky významný nárast v hladine fosforu – P oproti kontrolnej skupine (Tabuľka 11).

U samíc štatisticky významný nárast nastal v hladine kreatinínu – CREA v 11% GM skupine a v aktivite aspartátaminotransferázy – AST v 33% GM skupine. Štatisticky významný pokles bol pozorovaný v hladine draslíka – K v konvenčnej 2 skupine oproti kontrolnej skupine.

Biochemická analýza moču

Samce

Hodnotenie proteínov, ketónov, leukocytov a erytrocytov u samcov neodhalilo žiadne významné rozdiely v jednotlivých pokusných skupinách. U vzoriek moču od samcov z 11% GM a 33% GM skupiny bola pozorovaná tendencia zvyšovania hladiny pH moču v porovnaní s konvenčnou 2 a kontrolnou skupinou. Osmolarita moču stúpala s vekom zvierat a podobný rozsah mala vo všetkých experimentálnych skupinách. U samcov nebola zistená prítomnosť glukózy, bilirubínu, urobilinogénu a nitrátov v žiadnej z analyzovaných vzoriek.

Samice

U samíc hodnotenie proteínov, ketónov, leukocytov, erytrocytov a rovnako i pH moču neodhalilo významné rozdiely medzi jednotlivými pokusnými skupinami. Osmolarita moču stúpala s vekom zvierat a podobný rozsah mala vo všetkých experimentálnych skupinách. U samíc tiež nebola zistená vo vzorkách moču prítomnosť glukózy, bilirubínu, urobilinogénu a nitrátov.

Tabuľka 11: Priemerné hodnoty (so smerodajnou odchýlkou \pm SD) biochemických parametrov samcov a samíc z 3., 6. a 12.mesiaca pokusu

Parameter*	samce				samice			
	Kontrola ¹	Konvenčná 2 ²	11% GM ³	33% GM ⁴	Kontrola ⁵	Konvenčná 2 ⁶	11% GM ⁷	33% GM ⁸
po 3 mesiacoch								
ALP (μ kat/l)	1.18 \pm 0.12	1.09 \pm 0.20	1.10 \pm 0.22	1.13 \pm 0.19	0.62 \pm 0.07	0.61 \pm 0.12	0.69 \pm 0.06	0.58 \pm 0.20
ALT (μ kat/l)	0.47 \pm 0.08	0.42 \pm 0.07	0.46 \pm 0.03	0.52 \pm 0.09	0.49 \pm 0.37	0.34 \pm 0.11	0.52 \pm 0.22	0.51 \pm 0.14
AST (μ kat/l)	2.07 \pm 0.19	1.67 \pm 0.16 ^{b, c}	2.27 \pm 0.64	2.50 \pm 0.33	2.68 \pm 1.02	1.78 \pm 0.61	3.06 \pm 1.24	3.44 \pm 0.75
ALB (g/l)	38.44 \pm 2.08	37.91 \pm 1.17	39.34 \pm 2.61	39.16 \pm 2.74	46.64 \pm 3.29	45.18 \pm 3.53	45.73 \pm 0.78	48.47 \pm 2.39
GLU (mmol/l)	6.46 \pm 0.57	6.54 \pm 0.83	6.26 \pm 0.87	6.06 \pm 0.68	6.62 \pm 0.50	6.78 \pm 1.40	7.29 \pm 0.59	6.10 \pm 0.78
CREA (μ mol/l)	48.21 \pm 6.06	50.29 \pm 6.44	48.10 \pm 2.56	46.99 \pm 4.65	50.72 \pm 6.91	54.41 \pm 8.42	49.39 \pm 3.22	52.28 \pm 7.31
TP (g/l)	63.53 \pm 1.83	62.80 \pm 0.46	64.95 \pm 3.45	64.25 \pm 2.89	70.07 \pm 2.80	67.46 \pm 3.69	68.78 \pm 1.44	71.76 \pm 2.81
U (mmol/l)	6.21 \pm 0.59	6.73 \pm 0.67	5.88 \pm 0.58	5.97 \pm 0.48	6.18 \pm 0.41	6.31 \pm 0.80	6.61 \pm 0.42	6.57 \pm 0.64
CHOL (mmol/l)	2.03 \pm 0.18	2.10 \pm 0.13	1.93 \pm 0.08	1.99 \pm 0.12	1.88 \pm 0.33	1.71 \pm 0.15	2.13 \pm 0.26	1.87 \pm 0.14
Ca (mmol/l)	2.50 \pm 0.04	2.48 \pm 0.04	2.45 \pm 0.07	2.44 \pm 0.03	2.57 \pm 0.06	2.58 \pm 0.06	2.56 \pm 0.02	2.56 \pm 0.02
Cl (mmol/l)	104.80 \pm 1.04	104.60 \pm 0.96	103.20 \pm 0.97	102.60 \pm 1.39 ^{a, c}	101.70 \pm 2.71	103.10 \pm 1.64	100.20 \pm 3.58	100.00 \pm 1.32
K (mmol/l)	4.80 \pm 0.18	4.78 \pm 0.19	5.37 \pm 1.14	5.50 \pm 1.27	5.13 \pm 0.86	4.66 \pm 0.32	5.02 \pm 0.62	5.48 \pm 0.84
Na (mmol/l)	144.50 \pm 1.46	143.50 \pm 0.50	144.10 \pm 1.67	144.20 \pm 1.92	141.90 \pm 3.13	143.40 \pm 1.95	141.60 \pm 2.22	141.30 \pm 1.15
P (mmol/l)	2.08 \pm 0.16	2.08 \pm 0.20	2.36 \pm 0.39	2.43 \pm 0.35	2.02 \pm 0.41	2.00 \pm 0.29	1.91 \pm 0.13	1.99 \pm 0.27
TRG (mmol/l)	0.80 \pm 0.12	1.05 \pm 0.22	0.88 \pm 0.20	0.80 \pm 0.15	0.71 \pm 0.16	0.61 \pm 0.09	0.57 \pm 0.07	0.67 \pm 0.14
po 6 mesiacoch								
ALP (μ kat/l)	1.26 \pm 0.13	1.42 \pm 0.12	1.31 \pm 0.23	1.17 \pm 0.21	0.63 \pm 0.15	0.60 \pm 0.16	0.59 \pm 0.21	0.53 \pm 0.08
ALT (μ kat/l)	0.39 \pm 0.05	0.43 \pm 0.11	0.40 \pm 0.03	0.45 \pm 0.21	0.59 \pm 0.37	0.61 \pm 0.26	0.48 \pm 0.30	0.58 \pm 0.37
AST (μ kat/l)	2.42 \pm 0.19	3.26 \pm 1.21	2.54 \pm 0.48 ^c	3.38 \pm 0.81 ^c	3.15 \pm 1.60	3.42 \pm 1.24	3.13 \pm 1.08	3.87 \pm 1.45
ALB (g/l)	38.17 \pm 2.54	36.83 \pm 1.53	38.60 \pm 0.64	39.20 \pm 1.04	45.18 \pm 3.26	46.91 \pm 2.83	45.68 \pm 1.97	47.17 \pm 4.00
GLU (mmol/l)	7.05 \pm 1.09	7.89 \pm 0.98	6.15 \pm 0.40	6.07 \pm 1.00	7.85 \pm 0.44	7.56 \pm 0.64	7.00 \pm 0.63	6.07 \pm 1.46 ^{a, c}
CREA (μ mol/l)	44.38 \pm 6.29	42.74 \pm 4.79	42.45 \pm 3.78	44.72 \pm 3.72	41.60 \pm 2.55	42.31 \pm 2.61	44.29 \pm 1.43	48.92 \pm 8.42
TP (g/l)	68.31 \pm 3.76	66.91 \pm 2.78	68.53 \pm 1.40	69.17 \pm 1.42	72.59 \pm 3.15	75.29 \pm 3.15	75.00 \pm 2.54	75.53 \pm 3.55
U (mmol/l)	5.54 \pm 0.91	5.84 \pm 0.61	5.27 \pm 0.12	5.29 \pm 0.20	6.39 \pm 0.56	5.81 \pm 0.51	6.23 \pm 0.31	6.11 \pm 0.49
CHOL (mmol/l)	2.26 \pm 0.19	2.41 \pm 0.22	2.21 \pm 0.14	2.37 \pm 0.19	2.08 \pm 0.32	2.11 \pm 0.30	2.47 \pm 0.21	2.20 \pm 0.25
Ca (mmol/l)	2.63 \pm 0.07	2.61 \pm 0.11	2.62 \pm 0.04	2.62 \pm 0.09	2.57 \pm 0.07	2.59 \pm 0.05	2.59 \pm 0.04	2.54 \pm 0.05
Cl (mmol/l)	103.90 \pm 1.39	101.40 \pm 1.29 ^{a, c}	102.80 \pm 0.76	103.10 \pm 1.75	100.90 \pm 1.39	99.70 \pm 2.36	100.50 \pm 2.06	100.30 \pm 2.56
K (mmol/l)	4.97 \pm 0.44	5.16 \pm 0.18	5.24 \pm 0.25	5.63 \pm 0.64	4.90 \pm 0.48	4.94 \pm 0.22	5.15 \pm 0.70	5.36 \pm 0.98
Na (mmol/l)	146.30 \pm 1.30	144.20 \pm 1.04 ^{a, c}	146.80 \pm 0.57	146.50 \pm 0.79	143.70 \pm 1.79	144.40 \pm 1.98	143.30 \pm 2.51	144.80 \pm 2.31
P (mmol/l)	1.65 \pm 0.20	1.51 \pm 0.27	2.05 \pm 0.28 ^{a, c}	2.01 \pm 0.23 ^c	1.36 \pm 0.19	1.37 \pm 0.07	1.64 \pm 0.22	1.87 \pm 0.47
TRG (mmol/l)	1.17 \pm 0.36	1.10 \pm 0.07	1.12 \pm 0.18	1.08 \pm 0.21	0.71 \pm 0.17	0.72 \pm 0.06	0.58 \pm 0.15	0.58 \pm 0.23
po 12 mesiacoch								
ALP (μ kat/l)	1.31 \pm 0.24	1.23 \pm 0.20	1.42 \pm 0.23	1.17 \pm 0.23	0.59 \pm 0.25	0.51 \pm 0.07	0.56 \pm 0.13	0.53 \pm 0.14
ALT (μ kat/l)	0.80 \pm 0.34	0.75 \pm 0.34	0.71 \pm 0.11	0.70 \pm 0.21	0.68 \pm 0.17	0.79 \pm 0.33	0.61 \pm 0.16	0.86 \pm 0.34
AST (μ kat/l)	2.58 \pm 0.79	2.48 \pm 0.63	2.50 \pm 0.49	2.76 \pm 0.62	2.46 \pm 0.79	2.69 \pm 0.71	2.39 \pm 0.57	3.36 \pm 1.06 ^a
ALB (g/l)	40.04 \pm 1.94	39.46 \pm 1.65	40.52 \pm 1.47	39.76 \pm 1.94	42.62 \pm 2.07	42.85 \pm 3.01	43.62 \pm 3.40	42.77 \pm 2.48
GLU (mmol/l)	6.28 \pm 1.13	6.17 \pm 0.75	5.32 \pm 0.49 ^c	5.65 \pm 1.08	5.47 \pm 0.51	5.77 \pm 0.80	5.51 \pm 0.95	4.91 \pm 0.65
CREA (μ mol/l)	42.53 \pm 4.38	40.31 \pm 3.53	42.03 \pm 3.24	39.40 \pm 4.37	41.50 \pm 2.96	42.07 \pm 4.30	44.91 \pm 2.66 ^{b, c}	42.85 \pm 4.61
TP (g/l)	69.39 \pm 1.93	68.64 \pm 2.45	69.75 \pm 1.57	68.06 \pm 2.50	71.69 \pm 2.70	71.92 \pm 2.70	72.70 \pm 3.19	70.14 \pm 2.92
U (mmol/l)	5.24 \pm 0.71	5.52 \pm 0.51	5.20 \pm 0.69	5.12 \pm 0.69	5.31 \pm 0.67	4.81 \pm 0.32	5.58 \pm 0.66	5.34 \pm 0.38
CHOL (mmol/l)	2.76 \pm 0.34	2.69 \pm 0.37	2.55 \pm 0.29	2.73 \pm 0.49	2.20 \pm 0.39	2.46 \pm 0.52	2.55 \pm 0.42	2.24 \pm 0.29
Ca (mmol/l)	2.66 \pm 0.07	2.66 \pm 0.10	2.64 \pm 0.06	2.61 \pm 0.05	2.60 \pm 0.03	2.61 \pm 0.04	2.62 \pm 0.07	2.59 \pm 0.04
Cl (mmol/l)	105.70 \pm 2.50	105.30 \pm 2.12	104.45 \pm 1.54	103.70 \pm 2.24	101.90 \pm 1.91	101.40 \pm 1.91	102.55 \pm 1.50	102.95 \pm 1.54
K (mmol/l)	5.41 \pm 0.27	5.53 \pm 0.49	5.76 \pm 0.51	5.54 \pm 0.31	4.71 \pm 0.23	4.41 \pm 0.20 ^{b, c}	4.67 \pm 0.50	4.88 \pm 0.64
Na (mmol/l)	145.50 \pm 2.17	145.15 \pm 1.49	145.80 \pm 1.23	143.65 \pm 1.72	141.80 \pm 1.09	142.45 \pm 1.54	142.35 \pm 1.08	142.70 \pm 1.55
P (mmol/l)	1.89 \pm 0.19	1.98 \pm 0.26	2.12 \pm 0.15 ^{b, c}	1.95 \pm 0.21	1.52 \pm 0.25	1.46 \pm 0.31	1.57 \pm 0.27	1.63 \pm 0.32
TRG (mmol/l)	1.44 \pm 0.43	1.57 \pm 0.64	1.41 \pm 0.54	1.45 \pm 0.46	1.05 \pm 0.29	1.01 \pm 0.30	0.98 \pm 0.28	0.90 \pm 0.23

*APL – alkalická fosfatáza, ALT – alanínaminotransferáza, AST – aspartátaminotransferáza, ALB – albumíny, TP – celkové bielkoviny, GLU – glukóza, CREA – kreatinín, U – močovina, CHOL – cholesterol, Ca – vápnik, Cl – chlór, K – draslík, Na – sodík, P – fosfor, TRG – triglyceridy

¹10, 10 a 20 samcov kŕmených 33%DKC6666 izogénnou nemodifikovanou kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

²10, 10 a 20 samcov kŕmených 33% SY-NEPAL konvenčnou kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

³10 (9 v prípade ALT), 10 a 20 (18 v prípade ALB, TP, K) samcov kŕmených 11% DKC6667-YG (GM) + 22%DKC6666 kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

⁴9 (8 v prípade ALT), 10 (9 v prípade ALT) a 19 (17 v prípade ALB, TP, K) samcov kŕmených 33% DKC6667-YG (GM) kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

⁵10, 10 a 19 samíc kŕmených 33%DKC6666 izogénnou nemodifikovanou kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

⁶10 (9 v prípade CHOL), 10 a 20 samíc kŕmených 33% SY-NEPAL konvenčnou kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

⁷10 (9 v prípade ALT), 10 a 19 (17 v prípade ALP) samíc kŕmených 11% DKC6667-YG (GM) + 22%DKC6666 kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

⁸10 (9 v prípade ALP), 10 (9 v prípade ALP) a 20 (19 v prípade AST, TP, CHOL, TRG, Ca, K, P a 18 v prípade ALP, ALT, ALB) samíc 33% DKC6667-YG (GM) kukuricou v 3.,6. a 12.mesiaci bolo analyzovaných

^aANOVA, post hoc t test ($p \leq 0.05$) a post hoc Dunnettov test ($p \leq 0.05$)

^bWilcoxonov test ($p < 0.05$)

^cSES s 95% IS

Relatívna hmotnosť orgánov

Pre výpočet relatívnej hmotnosti orgánov bol použitý nasledovná postup:

$$\text{relatívna hmotnosť orgánov} = \frac{\text{hmotnosť orgánu}}{\text{telesná hmotnosť na konci pokusu}} \times 100$$

Telesná hmotnosť na konci pokusu = hmotnosť v posledný deň pokus (pred utratením). Relatívne hmotnosti orgánov (RHO) pre samce a samice sú uvedené v tabuľkách. Použité štatistické metódy na zistenie štatistickej významnosti sú uvedené pomocou indexov za tabuľkami. Pre relatívnu hmotnosť orgánov boli vypočítané aj SES s 95% IS, ktoré sú považované v tomto prípade za smerodajné.

Samce

U samcov neboli zistené žiadne štatisticky významné zmeny relatívnej hmotnosti orgánov medzi jednotlivými experimentálnymi skupinami (Tabuľka 12).

Samice

U samíc z konvenčnej 2 skupiny bol zistený štatisticky významný pokles relatívnej hmotnosti P (pravého) vaječníka, a naopak štatisticky významný nárast relatívnej hmotnosti L (ľavej) obličky u samíc z 33% GM skupiny v porovnaní s kontrolnou skupinou (Tabuľka 13).

Tabuľka 12: Relatívna hmotnosť orgánov (na kletku) samce

Orgán	Samce ¹			
	Kontrola	Konvenčná 2	11% GM	33% GM
Oblička (pravá)	0.234 ± 0.018	0.233 ± 0.017	0.239 ± 0.016	0.245 ± 0.012
Oblička (ľavá)	0.219 ± 0.015	0.219 ± 0.016	0.228 ± 0.020	0.224 ± 0.016
Slezina	0.182 ± 0.020	0.175 ± 0.009	0.174 ± 0.016	0.186 ± 0.029
Pečeň	2.370 ± 0.122	2.410 ± 0.174	2.380 ± 0.144	2.466 ± 0.199
Nadoblička (pravá)	0.004 ± 0.0003	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
Nadoblička (ľavá)	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
Pľúca	0.247 ± 0.020	0.235 ± 0.022	0.244 ± 0.018	0.251 ± 0.020
Srdce	0.207 ± 0.010	0.207 ± 0.009	0.197 ± 0.011	0.209 ± 0.012
Týmus	0.095 ± 0.018	0.091 ± 0.014	0.095 ± 0.019	0.101 ± 0.012
Pankreas	0.124 ± 0.023	0.114 ± 0.015	0.121 ± 0.013	0.129 ± 0.021
Semenník (pravý)	0.370 ± 0.038	0.355 ± 0.072	0.367 ± 0.019	0.374 ± 0.036
Semenník (ľavý)	0.366 ± 0.035	0.346 ± 0.067	0.367 ± 0.016	0.373 ± 0.041
Nadsemenník (pravý)	0.117 ± 0.013	0.112 ± 0.019	0.115 ± 0.009	0.118 ± 0.011
Nadsemenník (ľavý)	0.116 ± 0.011	0.112 ± 0.020	0.116 ± 0.007	0.116 ± 0.012
Mozog	0.391 ± 0.037	0.383 ± 0.036	0.394 ± 0.023	0.410 ± 0.040

Tabuľka 13: Relatívna hmotnosť orgánov (na kletku) samice

Orgán	Samice ²			
	Kontrola	Konvenčná 2	11% GM	33% GM
Oblička (pravá)	0.280 ± 0.032	0.306 ± 0.027	0.307 ± 0.025	0.300 ± 0.015
Oblička (ľavá)	0.262 ± 0.025	0.278 ± 0.024	0.282 ± 0.030	0.278 ± 0.018 ^b
Slezina	0.227 ± 0.041	0.227 ± 0.036	0.229 ± 0.028	0.226 ± 0.027
Pečeň	2.559 ± 0.235	2.667 ± 0.268	2.639 ± 0.203	2.583 ± 0.149
Nadoblička (pravá)	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.001
Nadoblička (ľavá)	0.009 ± 0.002	0.010 ± 0.002	0.010 ± 0.003	0.010 ± 0.002
Pľúca	0.305 ± 0.027	0.317 ± 0.030	0.326 ± 0.028	0.318 ± 0.024
Srdce	0.248 ± 0.021	0.252 ± 0.017	0.259 ± 0.018	0.259 ± 0.012
Týmus	0.119 ± 0.019	0.120 ± 0.013	0.123 ± 0.012	0.137 ± 0.022
Pankreas	0.185 ± 0.024	0.201 ± 0.022	0.184 ± 0.025	0.176 ± 0.023
Maternica	0.177 ± 0.051	0.219 ± 0.046	0.235 ± 0.075	0.203 ± 0.055
Vaječník (pravý)	0.012 ± 0.003	0.009 ± 0.003 ^{a, c}	0.013 ± 0.003	0.011 ± 0.003
Vaječník (ľavý)	0.012 ± 0.003	0.009 ± 0.003	0.012 ± 0.003	0.010 ± 0.001
Mozog	0.600 ± 0.052	0.612 ± 0.063	0.646 ± 0.057	0.627 ± 0.052

¹Orgány boli hodnotené z nasledovného počtu zvierat : 20 samcov (19 v prípade P nadobličky) z kontrolnej skupiny, 20 z konvenčnej 2 skupiny, 20 samcov z 11% GM skupiny a 19 samcov z 33% GM skupiny

²Orgány boli hodnotené z nasledovného počtu zvierat: 19 samíc z kontrolnej skupiny, 20 samíc z konvenčnej 2 skupiny, 19 samíc z 11% GM skupiny, 20 samíc z 33% GM skupiny

^a ANOVA ($p \leq 0.05$) post-hoc test apost-hoc Dunnettov test ($p < 0.05$)

^b Wilcoxonov test ($p < 0.05$)

^c SES s 95% IS

Patologicko-anatomická pitva a histopatologické vyšetrenia

Výsledky patologicko-anatomickej pitvy a následného histopatologického vyšetrenia vzoriek orgánov samcov i samíc z 33% GM skupiny a kontrolnej skupiny sú zhrnuté v tabuľkách. Ak by sa v najvyššej dávkovej skupine vyskytoval abnormálny počet patologických nálezov, v tom prípade sa odosielaajú na vyšetrenie aj zvyšné skupiny.

Samce

U piatich samcov z kontrolnej skupiny a u jedného samca z 33% GM skupiny boli pozorované makroskopické nálezy počas pitvy, ktoré však neboli podporené histopatologickým nálezom (Tabuľka 14).

Výskyt rôznych nerakovinových lézií u samcov z 33% GM a kontrolnej skupiny bol podobný a nízky (1-2 zvieratá v skupine, Tabuľka 16).

Nebol zaznamenaný žiadny výskyt benígnych a malígnych tumorov u samcov v kontrolnej a 33% GM skupine.

Samice

U jedenástich samíc z kontrolnej skupiny boli pozorované makroskopické zmeny počas pitvy, v jednom prípade zo spomenutých jedenástich nezodpovedal makroskopický nález histopatologickému nálezu (Tabuľka 15).

U šestnástich samíc z 33% GM skupiny boli pozorované makroskopické zmeny počas pitvy, u piatich zo spomenutých šestnástich samíc sa makroskopické nálezy nezhodovali s histopatologickým nálezom (Tabuľka 15).

Výskyt nerakovinových lézií u samíc z 33% GM a kontrolnej skupiny bol podobný a nízky (1-2 zvieratá v skupine, Tabuľka 17). No v prípade výskytu cýst na vaječníkoch bol výskyt o niečo vyšší, tie boli pozorované u štyroch samíc z kontrolnej skupiny a u šiestich samíc z 33% GM skupiny (Tabuľka 17).

Výskyt benígnych a malígnych tumorov v kontrolnej a 33% GM skupine bol nízky (Tabuľka 18). Benígne tumory boli pozorované u dvoch samíc z kontrolnej skupiny (lipóm, kožný papilóm), a u jednej samice z 33% GM skupiny (lipóm). Malígny tumor bol pozorovaný u jednej samice z kontrolnej skupiny (karcinóm mliečnej žľazy).

Tabuľka 14: Makroskopické a histopatologické nálezy u samcov

	Číslo zvierat'a	Makroskopické nálezy	Histopatologické nálezy
Kontrola	41	bez nálezu	bez nálezu
	42	bez nálezu	bez nálezu
	43	bez nálezu	fokálna intersticiálna nefritída Ľ a P obličky lymfoepiteloidný kalcifikovaný granulóm v tenkom čreve
	44	bez nálezu	bez nálezu
	45	bez nálezu	bez nálezu
	46	červeno-hnedo sfarbený povrch na P strane prostaty	bez nálezu
	47	zhrubnutá plocha na čelnej kosti	neanalyzované
	48	bez nálezu	hyperplázia Meibomovej žľazy
	49	bez nálezu	fokálna mononukleárna infiltrácia v srdci
	50	bez nálezu	bez nálezu
	51	hnedo sfarbená, oválna, mäkká masa v tukovom tkanive obklopujúca Ľ prsemenník	bez nálezu
	52	bez nálezu	fokálna mononukleárna infiltrácia v srdci chronický fokálny intersticiálny zápal prostaty, ektázia lymfatického sínusu
	53	bez nálezu	bez nálezu
	54	potenciálne bilaterálne krvácanie (podsánková lymfatická uzlina)	bez nálezu fokálna mononukleárna infiltrácia v srdci
	55	bez nálezu	bez nálezu
	56	bez nálezu	tubulárna dilatácia a atrofia Ľ a P obličky
57	šedo sfarbené tukové tkanivo obklopujúce P nadsemenník	bez nálezu	
58	bez nálezu	bez nálezu	
59	bez nálezu	cysta na hypofýze	
60	bez nálezu	bez nálezu	
33% GM skupina	1	bez nálezu	fokálna mononukleárna infiltrácia v srdci
	2	šedo sfarbené tukové tkanivo	bez nálezu fokálna intersticiálna nefritída Ľ a P obličky
	3	bez nálezu	bez nálezu
	4	bez nálezu	bez nálezu
	5	bez nálezu	bez nálezu
	6	bez nálezu	bez nálezu
	7	bez nálezu	lymfoepiteloidný kalcifikovaný granulóm v tenkom čreve fokálna mononukleárna infiltrácia v srdci
	8	bez nálezu	tubulárna dilatácia a atrofia Ľ a P obličky
	9	bez nálezu	cysta na hypofýze
	10	bez nálezu	bez nálezu
	11	bez nálezu	nodulárna hyperplázia kôry Ľ nadobličky
	12	bez nálezu	nodulárna hyperplázia kôry P nadobličky folikulárna cystická hyperplázia v štítnej žľaze
	13	bez nálezu	fokálna degenerácia vakuol v kôre P nadobličky
	14	bez nálezu	bez nálezu
15	bez nálezu	bez nálezu	
16	bez nálezu	fokálna mononukleárna infiltrácia v srdci	
17	bez nálezu	bez nálezu	
18	bez nálezu	bez nálezu	
19	bez nálezu	bez nálezu	
20	bez nálezu	tubulárna dilatácia a atrofia Ľ a P obličky	

Tabuľka 15: Makroskopické a histopatologické nálezy u samíc

	Číslo zvierat'a	Makroskopické nálezy	Histopatologické nálezy
Kontrola	141	bez nálezu	bez nálezu
	142	bez nálezu	bez nálezu
	143	cysta na P vaječníku	folikulárna cysta na P vaječníku
	144	potenciálne bilaterálne krvácanie (podsáňková LU*), hyperemická hypofýza, deformácia maxily, zhrubnutá oblasť kože	kožný papilóm cystická hyperplázia endometria
	145	cysta na P vaječníku	folikulárna cysta na P vaječníku
	146	cysta na P a Ľ vaječníku	folikulárna cysta na P a Ľ vaječníku
	147	bilaterálna hyperémia podsáňkovej LU	cysta na týmuse
	148	bez nálezu	folikulárna cysta na Ľ vaječníku
	149	bez nálezu	tubulárna dilatácia a atrofia P obličky
	150	bez nálezu	bez nálezu
	151	bez nálezu	fokálna intersticiálna nefritída P obličky
	152	bez nálezu	bez nálezu
	153	hyperémia P podsáňkovej lymfatickej uzliny petechie na Ľ podsáňkovej lymfatickej uzline cysta na P a Ľ vaječníku	tubulárna dilatácia a atrofia P obličky bez nálezu
	154	potenciálne bilaterálne krvácanie (podsáňková LU)	bez nálezu
	155	bez nálezu	bez nálezu
	156	diafragmálna hernia	vzorka bránice neanalyzovaná
	157	hnedo sfarbená masa tukového tkaniva na P strane brušnej dutiny	lipóm
	158	zhrubnutie P maternicového rohu	cystická hyperplázia endometria fokálna hyperplázia P nadobličky
	159	absces na mliečnej žľaze potenciálne bilaterálne krvácanie (podsáňková LU)	karcinóm mliečnej žľazy
	160	bez nálezu	bez nálezu
33% GM skupina	101	cysta na P vaječníku	folikulárna cysta na P vaječníku
	102	svetlo hnedo sfarbená masa v epigastriu	lipóm
	103	bilaterálne petechiálne krvácanie (podsáňková LU) atrofia P a Ľ vaječníka	bez nálezu nedostatok sekundárnych a terciárnych folikulov v P a Ľ vaječníku
	104	hyperemická, tmavá podsáňková lymfatická uzlina	bez nálezu
	105	hyperemická hypofýza	bez nálezu
	106	cysta na P a Ľ vaječníku	folikulárna cysta na P a Ľ vaječníku
	107	povrchové poškodenie kože	vzorka kože neanalyzovaná
	108	bez nálezu	bez nálezu
	109	cysta na P a Ľ vaječníku	folikulárna cysta na P a Ľ vaječníku
	110	bilaterálna hyperémia podsáňkovej LU cysta na P a Ľ vaječníku	bez nálezu folikulárna cysta na P a Ľ vaječníku
	111	bilaterálna hyperémia podsáňkovej LU	endometriálna hyperplázia
	112	poškodenie povrchu kože	fokálna hyperkeratóza, hypertrofia mazových žliaz, folikulárna dysplázia, folikulárna cysta na P a Ľ vaječníku
	113	bilaterálna hyperémia podsáňkovej LU	bez nálezu
	114	bilaterálna hyperémia podsáňkovej LU	bez nálezu
	115	bez nálezu	lymfoepiteloidný kalcifikovaný granulóm v tenkom čreve
	116	bilaterálne petechiálne krvácanie (podsáňková LU)	tubulárna dilatácia a atrofia Ľ obličky
	117	cysta na Ľ vaječníku	folikulárna cysta na Ľ vaječníku, lymfoepiteloidný kalcifikovaný granulóm v tenkom čreve, cysta na hypofýze
	118	bilaterálne petechiálne krvácanie (podsáňková LU)	bez nálezu
	19	bez nálezu	bez nálezu
20	bez nálezu	bez nálezu	

Tabuľka 16: Sumár histopatologických nálezov samcov z kontrolnej a 33% GM skupiny

Orgán	Histologický nález	Kontrola	33% GM skupina
nadoblička	fokálna hyperplázia	0/20	2/19
	fokálna degenerácia vakuol v kôre	0/20	1/19
srdce	mononukleárna infiltrácia	3/20	2/19
hypofýza	cysta	1/20	1/19
oblička	fokálna intersticiálna nefritída	1/20	1/19
	tubulárna dilatácia a atrofia	1/20	2/19
lymfatické uzliny	ektázia lymfatického sinusu	1/20	1/19
Meibomova žľaza	hyperplázia	1/20	0/19
prostata	chronická intersticiálna prostatitída	1/20	0/19
tenké črevo	lymfoepiteloidný granulóm	1/20	1/19
štítna žľaza	folikulárna cystická hyperplázia	0/20	1/19

Tabuľka 17: Sumár histopatologických nálezov samíc z kontrolnej a 33% GM skupiny

Orgán	Histologický nález	Kontrola	33% GM skupina
nadoblička	fokálna proliferácia intersticiálnych buniek	0/19	0/20
endometrium	cystická endometrialna hyperplázia	2/19	1/20
	stromálna endometrialna hyperplázia	0/19	0/20
hypofýza	cysta	0/19	1/20
oblička	fokálna intersticiálna nefritída	1/19	0/20
	tubulárna dilatácia a atrofia	2/19	1/20
vaječníky	cysta	4/19	6/20
	proliferácia stromálnych intersticiálnych buniek	0/19	0/20
koža	fokálna hyperkeratóza, hypertrofia mazových žliaz, folikulárna dysplázia	0/19	1/20
tenké črevo	lymfoepiteloidný granulóm	0/19	2/20
týmus	cysta	1/19	0/20

Tabuľka 18: Benígne a malígne tumory pozorované u zvierat v kontrolnej a 33% GM skupine

		Kontrola	33% GM skupina
samice	Benígne tumory		
	lipóm	1/19	1/20
	kožný papilóm	1/19	0/20
	Malígne tumory		
	karcinóm mliečnej žľazy	1/20	0/20

11

DISKUSIA

Cieľom teoretickej časti predloženej dizertačnej práce bolo poskytnúť literárny prehľad o súčasnom stave pestovania geneticky modifikovaných plodín, o platnej legislatíve, o metódach a technológiách používaných pri ich príprave.

Hlavným cieľom praktickej časti dizertačnej práce bolo zhodnotenie vplyvu geneticky modifikovanej kukurice MON810 na zdravotný stav laboratórnych potkanov kmeňa Wistar Han RCC pomocou štandardných toxikologických metodík. Štúdia ročnej chronickej toxicity poskytuje údaje o dlhodobom pôsobení testovanej látky na organizmus. Experiment bol uskutočnený podľa OECD metodiky a v súlade so zásadami správnej laboratórnej praxe. Testovanou látkou bola geneticky modifikovaná kukurica MON810 od firmy Monsanto, ktorá bola v dvoch rôznych koncentráciách zapracovaná do nutrične vyváženého krmiva. Zvieratá boli počas celej doby pokusu klinicky sledované (zdravotný stav) a v stanovených časových intervaloch (po 3., 6. a 12. mesiacoch) im boli odobraté vzorky krvi a moču na hematologickú a biochemickú analýzu. Telesné hmotnosti zvierat a spotreba krmiva boli zaznamenávané v súlade s metodikou. Na konci pokusu boli zvieratá podrobené kompletnej patologicko-anatomickej pitve, pri ktorej bola zisťovaná aj hmotnosť vybraných orgánov. Fixované orgány boli ďalej histologicky spracované a vyhodnotené. Získané výsledky sú súčasťou medzinárodného projektu GRACE, ktorý prispieva k hodnoteniu rizík geneticky modifikovaných organizmov. Na základe všetkých štúdií projektu GRACE budú navrhované a upravované metodiky testovania geneticky modifikovaných organizmov.

Telesná hmotnosť je často veľmi citlivý ukazovateľ pohody/ prospievania zvierat. Úbytok telesnej hmotnosti nemusí byť spojovaný vždy len s nepriaznivým efektom testovanej látky, ale môže byť spôsobený aj nevyvážením alebo nedostatkom živín v krmive. Táto možnosť však bola eliminovaná zostavením presne nutrične vyváženého krmiva určeného pre použitý kmeň laboratórnych potkanov. Telesná hmotnosť zvierat bola zisťovaná a zaznamenávaná pravidelne. V prvých trinástich týždňoch kedy zvieratá rýchlo rastú a dospievajú, bola ich hmotnosť zaznamenávaná jedenkrát týždenné, a po dosiahnutí

pohlavnej dospelosti po trinástom týždni bola hmotnosť zaznamenávaná v dvojtýždňových intervaloch. Telesná hmotnosť zvierat sa zvyšovala v súlade fyziologickým vývinom. Priemerná hmotnosť samcov na konci štúdie v jednotlivých skupinách dosiahla nasledovné priemerné hodnoty: kontrolná skupina 594g, konvenčná 2 skupina 598g, 11% GM skupina 592g a 33% GM skupina 550g. Priemerná telesná hmotnosť v najvyššej dávkovej skupine 33% GM bola nižšia ako v kontrolnej skupine. V konvenčnej 2 a najnižšej dávkovej skupine 11% GM nebol zistený rozdiel v telesných hmotnostiach v porovnaní s kontrolnou skupinou. Tieto rozdiely v telesnej hmotnosti medzi pokusnými skupinami však neboli štatisticky významné. Priemerné hmotnosti samíc na konci štúdie dosiahli v kontrole 367g, konvenčnej 2 skupine 358g, 11% GM skupine 339g a v 33% GM skupine 344g. Samice z 11% a 33% GM skupín mali nižšie priemerné hmotnosti ako samice z kontrolnej skupiny. Rovnako ako u samcov ani tieto rozdiely medzi pokusnými skupinami neboli štatisticky významné. Rozdiely v telesnej hmotnosti a v spotrebe krmiva neboli zaznamenané ani v 42dňovej štúdii s GM repkovým a borákovým olejom testovaných na potkanoch Sprague-Dawley (Palomboet al. 2000).

Nižšie priemerné hmotnosti zvierat kŕmených krmivom s obsahom GM zložky súviseli aj s nižšou spotrebou tohto krmiva. Rozdiely medzi pokusnými skupinami v spotrebe krmiva neboli štatisticky významné. Nižšia spotreba krmiva s geneticky modifikovanou zložkou nebola spôsobená (naproti nášmu predpokladu) inou tvrdosťou ani veľkosťou krmivových peliet. Fyzikálne vlastnosti peliet boli testované vo výskumnom inštitúte technológie výroby krmív (Research Institute of Feed Technology) v Nemecku a neodhalili rozdiely vo veľkosti a tvrdosti peliet z jednotlivých experimentálnych krmív.

V subchronickej 90-dňovej štúdií realizovanej v rámci projektu GRACE, rovnako s GM kukuricou MON810 (pracovný názov–štúdia A) bol pozorovaný pokles telesných hmotností samcov i samíc z konvenčnej 2 skupiny (nemodifikovaná odroda SY-NEPAL). Priemerné telesné hmotnosti samcov a samíc z konvenčnej 2 skupiny po 90dňoch boli o 4-4,5% nižšie ako v prislúchajúcej kontrolnej skupine. Tieto rozdiely však neboli štatisticky významné (Zeljenková a kol., 2014).

Firma Monsanto pre vlastnú potrebu testovala GM kukuricu MON863 v 90dňovej subchronickej kŕmnej štúdií na laboratórnych potkanoch Sprague-Dawley (Hammond et al., 2006a). Údaje z tejto štúdie boli nanovo nezávisle analyzované z dôvodu možnej hepatorenálnej toxicity. Nová analýza údajov odhalila rozdiely v raste zvierat. U samcov 3,3% pokles telesnej hmotnosti a u samíc 3,7% nárast hmotností v porovnaní s kontrolnou

skupinou. Spomínané rozdiely sú štatisticky významné a sú považované za dávkoovo závislé (Séralini, Cellier, Vendomois, 2007).

Prežívanie a úmrtnosť zvierat v pokuse môže byť priamo spojená s podávaním testovacej látky ale rovnako môže byť ovplyvnená aj ďalšími faktormi. Umierajúce zvieratá boli predčasne usmrtené v súlade s metodikou, predovšetkým aby sa predišlo ich utrpeniu a strate cenných dôkazov o príčine neprospievania daného jedinca z dôvodu *post-mortem* autolýzy. Ešte pred koncom experimentu boli predčasne usmrtené tri potkany. Samec z 33% GM skupiny bol utratený z dôvodu paraplégie panvových končatín, čím mal obmedzenú pohyblivosť a došlo aj k poklesu telesnej hmotnosti. U samičky z 11% GM skupiny sa vyvinul karcinóm pravého vaječníka, ktorý viedol k vytvoreniu metastatických ložísk v brušnej dutine. Počas klinického pozorovania samička bola apatická, javila známky piloerectie, hypersalivácie a hematémie. Samičke z kontrolnej skupiny sa v priebehu pokusu vytvoril absces na mliečnej žľaze, ktorý ju obmedzoval v pohyblivosti. Histopatologické vyšetrenie odhalilo karcinóm mliečnej žľazy. U ostatných zvierat neboli pozorované iné závažné zmeny zdravotného stavu. Oftalmologické vyšetrenie očného pozadia oboch očí neodhalilo žiadne odchýlky od normálu. U ostatných zvierat neboli pozorované zmeny v zdravotnom stave či v oftalmologických výsledkoch. Podľa autorov Malley et al., (2007) bola v ich prípade predčasne utratená samička z kontrolnej skupiny, pitva odhalila pyelonefritídu, zápal v obličkách, nekrózu a krvácanie v močovom mechúre. Zmeny v zdravotnom stave, správaní a aktivite v súvislosti s testovanou kukuricou MON 88017 neboli zaznamenané ani v 90-dňovej štúdií na potkanoch Sprague-Dawley (Healy, 2008). Zistené nálezy predstavujú podstatne nižší výskyt patologických nálezov ako je percento patologických nálezov v historických databázach uvedeného kmeňa.

V rámci projektu GRACE boli realizované aj dve 90-dňové subchronické krmné štúdie s GM kukuricou MON810 od dvoch rôznych firiem. Štúdia A bola s MON810 od firmy Monsanto a štúdia B s MON810 od firmy Pioneer. V štúdií A počas 90 dní neboli pozorované žiadne zmeny zdravotného stavu zvierat ani nebol zaznamenaný predčasný úhyn zvierat. Oftalmologické vyšetrenie na konci štúdie neodhalilo žiadne zmeny na očnom pozadí, rovnako ako v ročnej štúdií. V štúdií B neboli počas trvania pokusu pozorované závažné zmeny zdravotného stavu. Oftalmologické vyšetrenie na konci štúdie odhalilo u jedného samca z 11% GM skupiny krvácanie na očnom pozadí (Zeljenková a kol., 2014). Pre porovnanie v prípade štúdie s GM paradajkami obsahujúcimi Cry1Ab proteín potkany boli kŕmené semi-syntetickou potravou, ktorá obsahovala 10% (w/w) lyofilizovaných GM paradajok alebo kontrolných paradajok v práškovej forme. Potkany

boli kŕmené 91 dní. Priemerný denný príjem bol približne 200g paradajok/ deň/ potkan, čo zodpovedá 13kg dennej spotreby pre človeka. 10% (w/w) obsah paradajok v krmive bol stanovený ako najvyššia možná dávka z dôvodu vysokého obsahu draslíka v paradajkách (40-60 g/kg), vyššia dávka by mohla viesť k renálnej toxicite, čo by skreslilo výsledky štúdie. Počas týchto 91 dní neboli zaznamenané žiadne klinické zmeny zdravotného stavu ani toxikologické či histopatologické abnormality (Neteborn, Kuiper, 1994).

Interpretácia výsledkov hematológie a klinickej biochémie je veľmi nápomocná pri vysvetľovaní odpovedi organizmu na testovaciu látku. Je však nutné prihliadať aj faktorom, (ako napríklad stres) ktoré by mohli ovplyvniť hodnoty vyšetovaných parametrov. Zvieratám bola krv na hematologickú a biochemickú analýzu odobratá z chvostovej žily (*vena caudalis*) v 3., 6. a 12. mesiaci pokusu. Skúmané boli základné hematologické parametre ako počet bielych krviniek, počet červených krviniek, hemoglobín, hematokrit, stredný objem erytrocytov, stredný obsah hemoglobínu v erytrocytoch, stredná koncentrácia hemoglobínu v erytrocytoch, počet krvných doštičiek a lymfocytov. Z krvných náterov bol hodnotený diferenciálny krvný obraz, percentuálny podiel lymfocytov, neutrofilov, monocytov a eozinofilov v 200 bunkách. Z biochemických parametrov boli hodnotené alkalická fosfatáza, alanínaminotransferáza, aspartátaminotransferáza, albumíny, glukóza, kreatinín, celkové bielkoviny, močovina, cholesterol, vápnik, chlór, draslík, sodík, fosfor, triglyceridy. Výsledky po troch mesiacoch nepreukázali žiadne štatisticky významné zmeny hematologických parametrov u samcov ani u samíc v 11% GM skupine, 33% GM skupine ani v konvenčnej 2 skupine v porovnaní s kontrolnou skupinou. Štatisticky významná zmena bola zaznamenaná v diferenciálnom krvnom obraze kde došlo k zvýšeniu percenta eozinofilov u samíc v 33% GM skupine oproti kontrolnej skupine. Výsledky hematológie po šiestich mesiacoch pokusu odhalili zmeny v počte bielych krviniek, kde nastal štatisticky významný nárast u samcov z 11% GM a 33% GM skupiny a u samíc z konvenčnej 2 skupiny v porovnaní s kontrolnou skupinou. U krvného obrazu bol pozorovaný štatisticky významný pokles percenta eozinofilov u samíc z 33% GM skupine oproti kontrole. Po dvanástich mesiacoch pokusu neboli pozorované žiadne štatisticky významné zmeny vo vyšetovaných hematologických parametroch samcov a samíc v kŕmnych skupinách v porovnaní s kontrolnou skupinou. V diferenciálnom krvnom obraze bolo štatisticky významne zvýšené percento eozinofilov u samcov z 11% GM a konvenčnej 2 skupiny, no u samcov z 33% GM skupiny nebola zaznamenaná žiadna zmena v percentuálnom zastúpení eozinofilov. Naopak u samíc z 11% GM a konvenčnej 2 skupiny bolo percento eozinofilov znížené v porovnaní s kontrolnou

skupinou, opäť u samíc z 33% GM skupiny bolo percento eozinofilov v norme (v rámci referenčných hodnôt Wistar potkanov). Percento eozinofilov bolo štatisticky významne zvýšené u samíc z 33% GM skupiny po troch mesiacoch pokusu, no po šiestich mesiacoch bolo u týchto samíc percento eozinofilov naopak štatisticky významne znížené v porovnaní s kontrolnou skupinou. V súčasnosti nie je dôkaz o tom, že by testovaná GM kukurica MON810 ovplyvňovala percento eozinofilov v diferenciálnom krvnom obraze. Imunitné parametre a odpoveď imunitného systému na spomínanú GM kukuricu (obsahujúcu Cry 1Ab) boli predmetom jednej zo štúdií projektu GRACE a v súčasnosti je pripravovaná publikácia.

Sakamoto et al. (2008) hodnotil vo svojej štúdií bezpečnosť GM glyfosát tolerantnej sóje na experimentálnom modeli potkana (obe pohlavia). Tieto potkany boli kŕmené krmivom s obsahom GM sóje alebo nemodifikovanej sóje v 30% zastúpení v krmive. Na konci štúdie v 104 týždni bola zvieratám odobratá krv na hematologickú a biochemickú analýzu. Následne boli zvieratá podrobené patologickej pitve. U hematologických parametrov neboli zaznamenané žiadne zmeny v skupine, ktorá bola kŕmená GM sójou a kontrolnou skupinou, ktorá dostávala nemodifikovanú odrodu sóje. Rovnako ako v našej štúdií, po 12 mesiacoch pokusu neboli zaznamenané štatisticky významné rozdiely v hematologických parametroch medzi kŕmnymi skupinami a kontrolou. Zmeny boli zaznamenané v diferenciálnom krvnom obraze v percente eozinofilov u samcov v 11% GM a konvenčnej 2 skupine, kde nastal nárast oproti kontrole. Zvýšenie počtu eozinofilov v krvnom obraze môže mať za následok infekčná, parazitárna poprípade alergická imunitná reakcia organizmu. Tieto možnosti sú však v našom prípade vylúčené z dôvodu priebehu štúdie za konštantných SPF podmienok.

Transgénnu glyfosát tolerantnú sóju skúmal aj Deleprane et al. (2009). V pokuse porovnávali glyfosát tolerantnú sóju s nemodifikovanú BIO sójou, ktoré tiež boli zapracované do krmiva pre laboratórne zvieratá. Po dobu 455 dní bolo toto krmivo podávané potkanom samčieho pohlavia (Wistar), rozdelené boli do troch skupín (n=10). Všetky experimentálne krmivá obsahovali 10% proteínov. Skúmaný bol vplyv na rast zvierat a na krvný obraz. V raste zvierat neboli zaznamenané rozdiely medzi jednotlivými skupinami. Biochemická analýza odhalila, že koncentrácia albumínu a sérových proteínov bola rovnaká vo všetkých skupinách. Hodnoty hematokritu a hemoglobínu boli znížené v skupine kŕmenej BIO sójou a v skupine kŕmenej GM sójou v porovnaní s kontrolnou skupinou. V našej štúdií sme nezaznamenali zmeny v spomínaných hematologických parametroch. Neskôr rovnaké pracovisko skúmalo dopad rovnakej GM a nemodifikovanej

sóje na rast a kardiometabolické parametre potkanov (Wistar, samce). Tridsať potkanov bolo rozdelených do troch skupín ($n=10$). Po dobu 455 dní dostávali experimentálne krmivo (*ad libitum*). Sledované boli cholesterol, inzulín, glukóza, testosterón a hrúbka aorty. Celkový cholesterol, koncentrácia glukózy a hrúbka aorty boli znížené ($p < 0,05$) v skupine krmenej nemodifikovanou sójou a v skupine krmenej GM sójou v porovnaní s kontrolnou skupinou. Neboli zistené rozdiely v skúmaných parametroch v skupine krmenej nemodifikovanou sójou a v skupine krmenej GM sójou (Delepranet al., 2010).

V nami vykonanej štúdií výsledky klinickej biochémie po troch mesiacoch odhalili štatisticky významný pokles aktivít AST u samcov z konvenčnej 2 skupiny a štatisticky významný pokles v hladine chlóru u samcov z 33% GM skupiny v porovnaní s kontrolnou skupinou. Po šiestich mesiacoch boli aktivity AST štatisticky významne zvýšené u samcov z 11% GM a 33% GM skupiny v porovnaní s kontrolnou skupinou. U rovnakých samcov bol v rovnakom čase zistený štatisticky významný nárast v hladine fosforu. Aktivita AST bola štatisticky významne zvýšená u samíc z 33% GM skupiny po dvanástich mesiacoch pokusu oproti kontrolnej skupine. V žiadnej zo skupín však neboli pozorované zmeny v ostatných pečeňových parametroch ako ALP, ALT, TP či ALB. Počas pitiev neboli pozorované žiadne makroskopické zmeny na pečeni zvierat, ani histopatologická analýza neodhalila zmeny v pečeňových bunkách. Nakoľko aktivita AST bola zmenená aj v skupine, ktorá bola kŕmená nemodifikovanou odrodou kukurice (SY-NEPAL) a neboli zmenené iné pečeňové parametre, histopatologické vyšetrenie tiež neodhalilo zmeny na pečeni, môžeme usúdiť, že sa nejedná o hepatotoxicitu, ktorá by bola spôsobená testovanou látkou. Z hľadiska toxického účinku testovanej látky patrí pečeň k významným ukazovateľom toxicity danej látky (Vandenberghe, 1996). Štatisticky významný pokles v hladine chlóru a sodíka bol pozorovaný u samcov po šiestich mesiacoch v konvenčnej 2 skupine v porovnaní s kontrolnou skupinou. Významný pokles hladiny chlóru bol zaznamenaný aj v treťom mesiaci u samcov z 33% GM skupiny, a štatisticky významný nárast hladiny fosforu bol pozorovaný v šiestom mesiaci u samcov z 11% GM a 33% GM skupín v porovnaní s kontrolnou skupinou. Po dvanástich mesiacoch pokusu bol štatisticky významný nárast hladiny fosforu pozorovaný už len u samcov z 11% GM skupiny. U samíc z 11% GM skupiny došlo po dvanástich mesiacoch k štatisticky významnému nárastu aktivity kreatinínu v porovnaní s príslušnou kontrolou. U samíc z konvenčnej 2 skupiny bol pozorovaný štatisticky významný pokles hladiny draslíka v dvanástom mesiaci pokusu. Nebola pozorovaná dávková závislosť v zmenených biochemických parametroch, ktoré by mohli indikovať renálnu toxicitu. Histopatologické

vyšetrenie obličiek neodhalilo zmeny, ktoré by súviseli so zmenenými parametrami. Nepredpokladá sa teda, že by testovaná látka viedla k renálnej toxicite. Obličky sú ďalším z citlivých (cieľových) orgánov, ktoré sú dôležité pri skúmaní toxickej povahy testovanej látky (Nagelkerke, 1996). V biochemickej analýze séra potkanov po dvanástich mesiacoch pokusu bol zaznamenaný štatisticky významný pokles v hladine glukózy u samcov z 11% GM. U biochemických parametrov meraných v sérach samíc bol zistený štatisticky významný pokles hladiny glukózy v 33% GM skupine po šiestich mesiacoch pokusu. Po dvanástich mesiacoch bola u samíc hladina glukózy v norme (v referenčných hodnotách).

Aj keď niektoré hematologické i biochemické parametre boli štatisticky významne zmenené, boli náhodne a sporadicky rozdelené vo všetkých skupinách a v čase. Na základe uvedených nálezov nebola zistená dávková závislosť. Preto za daných podmienok pokusu nedefinujeme toxický účinok.

Mac Kenzie et al. (2007) testovali GM kukuricu líniu 1507 obsahujúcu Cry1F endotoxín (*Bacillus thuringiensis* var *aizawai*) a fosfinotricin-N-acetyltransferázu (PAT) (gén z *Streptomyces viridochromogenes*) v 90-dňovej orálnej subchronickej štúdiu na laboratórnych potkanoch kmeňa Sprague-Dawley. Pri porovnávaní biochemických parametrov bol zistený štatisticky významný pokles aktivít ALP ($p < 0.05$) u samcov konzumujúcich 33% 1507 GM kukuricu v porovnaní s kontrolnou skupinou. Autori túto zmenu nepokladajú za biologický významnú z dôvodu nepreukázania iných štatisticky významných zmien v danom parametri v ostatných pokusných skupinách. V ostatných biochemických parametroch neboli zaznamenané iné štatisticky významne zmeny u samcov ani u samíc. Tutel'ian et al. (2008, 2009) vo svojich štúdiách testovali GM kukuricu MON88017 (glyfosát tolerantná) a GM kukuricu MIR604 (odolnú voči *Diabrotica spp.*). Analýza hematologických a biochemických parametrov neodhalila toxický účinok testovaných GM kukuríc.

Potkany kmeňa Wistar křímené v 90-dňovej štúdiu GM ryžou (Cry1Ab proteín) v pokusnej skupine samcov (obsah ryžovej múky 60%) mali štatisticky signifikantne vyššiu koncentráciu urei (+10%; $p < 0.05$) a glukózy (+13%, $p < 0.05$) zatiaľ čo koncentrácia TP bola štatisticky signifikantne nižšia 5% ($p < 0.05$) v porovnaní s kontrolnou skupinou. U samíc bol zaznamenaný len štatisticky významný nárast hladiny sodíka (1%; $p < 0.05$) (Schröder et al., 2007). V porovnaní s výsledkami našej štúdie bola hladina glukózy u samcov z 11% GM skupiny po dvanástich mesiacoch štatisticky významne nižšia. Rovnako po šiestich mesiacoch u samíc z 33% GM skupiny bola hladina glukózy štatisticky významne nižšia ako v porovnaní s príslušnými kontrolnými

skupinami. Po dvanástich mesiacoch boli u samíc hladiny glukózy v norme (v referenčných hodnotách).

V trojgeneračnej štúdií s GM kukuricou (*Bt toxin*) a potkanmi kmeňa Wistar, ktorých tri generácie boli kŕmené danou kukuricou v potrave s podielom 20%, bola skúmaná tretia F₃ generácia. Biochemická analýza odhalila štatisticky významný nárast v aktivitách kreatinínu v referenčnej skupine (skupina II) samíc a štatisticky významný pokles u samcov z pokusnej skupiny (skupina III) v porovnaní s príslušnými kontrolami. Globulín a TP boli štatisticky signifikantne zmenené v referenčnej skupine (skupina II) u samcov aj samíc, v pokusnej skupine (skupina III) tieto zmeny neboli zaznamenané. Iné biochemické parametre, ktoré by mohli súvisieť s poškodením pečene (AST, ALT, ALP) alebo urea, kyselina močová, ktoré by mohli súvisieť s poškodením obličiek neboli štatisticky významne zmenené (Kilic, Akay, 2008). Je nutné poznamenať, že v prípade tejto štúdie bola biochemická analýza robená z aortálnej krvi a nie z periférnej venóznej ako v našej štúdií. Vo výsledkoch našej štúdie bol zaznamenaný u samíc z 11% GM skupiny po dvanástich mesiacoch štatisticky významný nárast aktivít kreatinínu v porovnaní s príslušnou kontrolou. Nebola však pozorovaná dávková závislosť v zmenených biochemických parametroch, ktoré by mohli indikovať renálnu toxicitu. Poulsen et al. (2007) vo svojich výsledkoch zaznamenal štatisticky významný pokles aktivity kreatinínu ale nárast aktivity ALT v plazme u samíc kŕmených GM ryžou (GNA lectin). Histopatologická analýza tkanív pečene i obličiek nepreukázala patologické zmeny, preto autor nepredpokladá, že by testovaná látka viedla k hepatotoxicite či renálnej toxicite.

Japonský vedci skúmali účinky GM ryže obsahujúcej hybridný peptid ľudských T-bunkových epitopov (7Crp) z japonského cédra (peľové alergény), na primátoch *Cynomolgus macaques*, ktorým bola táto GM ryža podávaná v orálnej 26 týždňovej štúdií. Ryža bola pripravená formou kaše vo vode 40% (w/v). Primáty boli rozdelené do troch skupín, vysoká, nízka a kontrolná skupina, po troch primátoch v skupine. Použité boli obe pohlavia. Počas trvania štúdie neboli zaznamenané zmeny v správaní sa opíc ani v ich telesných hmotnostiach. Hematologické a biochemické vyšetrenia taktiež nevykazovali štatisticky signifikantne rozdiely medzi pokusnými skupinami. Ani histopatologické vyšetrenie nepreukázalo nepriaznivý účinok na zdravie primátov. Autori preto vyvodili záver, že nimi testovaná GM ryža obsahujúca peptid ľudských T-bunkových epitopov (7Crp) z japonského cédra (peľové alergény) nemá nepriaznivý efekt na zdravie, pri každodennom používaní (Domon et al., 2009).

Hodnotenie hodnôt proteínov, ketónov, leukocytov a erytrocytov v rámci biochemickej analýzy moču u samcov i samíc neodhalilo významné rozdiely v jednotlivých pokusných skupinách. U vzoriek moču od samcov z 11% GM a 33% GM skupiny bola pozorovaná tendencia zvyšovania hladiny pH moču v porovnaní s konvenčnou 2 a kontrolnou skupinou. Osmolarita moču stúpala s vekom zvierat (samcov i samíc) a podobný rozsah mala vo všetkých experimentálnych skupinách. Glukóza, bilirubín a urobilinogén neboli zistené v žiadnej z analyzovaných vzoriek samcov i samíc. Analýza moču v štúdiu podľa Hammonda, preukázala mierne zvýšenú hladinu fosforu a draslíka v moči samcov (Sprague–Dawley) kŕmených najvyššou dávkou Round up Ready kukurice v porovnaní s kontrolnou skupinou, tieto zmeny však boli v rozmedzí referenčných hodnôt daného kmeňa potkanov (Hammond et al., 2004). O dva roky neskôr Hammond et al., testovali v 90-dňovej štúdiu GM kukuricu MON810 na potkanoch Sprague–Dawley, výsledky ktorej nepreukázali štatisticky významné zmeny v pokusných skupinách oproti kontrolnej skupine (Hammond et al., 2006b).

Štatisticky významné rozdiely neboli zistené ani v parametroch meraných v moči experimentálnych skupín oproti kontrolnej skupine v 90-dňovej štúdiu s GM kukuricou (DAS-Ø15Ø7-1xDAS-59122-7) odolnou voči hmyzu radu *Lepidoptera* a *Coleoptera*. (Appenzeller et al., 2009).

Počas pitvy sú zaznamenávané hmotnosti vybraných orgánov. Hmotnosť orgánov sa zaznamenáva v absolútnych hodnotách a následne sa prepočítava vzhľadom na hmotnosť tela ako relatívna hmotnosť orgánov. Pri interpretácii takýchto výsledkov je však nutné prihliadať na súvislosti medzi hmotnosťami orgánov a pohlavím, makro- aj mikropatologickými nálezmi, dávkovou závislosťou a hmotnosťou zvierat'a. Nemožno sa preto opierať len o štatistické porovnanie medzi skupinami (Report of the EFSA, 2008, Sellers, 2007). U samcov neboli zistené žiadne štatisticky významné zmeny relatívnej hmotnosti orgánov medzi jednotlivými experimentálnymi skupinami. U samíc z konvenčnej 2 skupiny bol zistený štatisticky významný pokles relatívnej hmotnosti P (pravého) vaječníka, a naopak štatisticky významné zvýšenie relatívnej hmotnosti L (ľavej) obličky u samíc z 33% GM skupiny v porovnaní s kontrolnou skupinou. Štatisticky významné zmeny v hmotnostiach orgánov u samcov (Sprague-Dawley) neboli zaznamenané ani v 90-dňovej štúdiu s GM kukuricou (DAS-59122-7). U samíc zo skupiny kŕmenej GM kukuricou bola štatisticky významne zvýšená priemerná hmotnosť maternice v porovnaní s kontrolnou skupinou (Malley et al., 2007). Hmotnosti maternice sa líšia v rámci trvania štúdie v závislosti od fyziologických premenných ako napríklad v akej fáze estrálneho

cyklu sa samičky nachádzajú (OECD, 2003). V štúdiu 1-ročnej chronickej toxicity sme nezistovali u samičiek vplyv GM kukurice na ich estrálny cyklus a na hormonálnu aktivitu. V projekte G-TwYST bola jedna zo štúdií zameraná práve na vplyv GM kukurice NK603 na hladiny hormónov u samičiek, a na ich estrálny cyklus.

Paralelne k našim výsledkom podľa Poulsena (2007), boli štatisticky významne zvýšené absolútne aj relatívne hmotnosti nadobličiek u samíc kŕmených GM ryžou (*Galanthus nivalis* lectin) v 90-dňovej štúdiu s potkanmi Wistar. Hmotnosti oboch nadobličiek však boli hodnotené spolu, ako párový orgán. V našich výsledkoch neboli relatívne hmotnosti nadobličiek štatisticky významne zvýšené v jednotlivých skupinách v prípade ich samostatného hodnotenia (P a L nadoblička zvlášť). Autori navyše zistili štatisticky významný nárast relatívnej hmotnosti tenkého čreva, a pokles relatívnej hmotnosti mezenterálnych uzlín u rovnakých samíc v porovnaní s kontrolnou skupinou. Hmotnosti tenkého čreva, ani mezenterálnych uzlín neboli zaznamenávané v našom prípade. Vo výsledkoch 90-dňovej štúdie s GM kukuricou BT799 na potkanoch kmeňa Wistar, neboli štatisticky významné zmeny v relatívnych hmotnostiach orgánov medzi pokusnými skupinami (Qian-ying Guo et al., 2015).

Carman et al. (2013) v štúdiu s GM sójou, ktorá bola podávaná v potrave ošípaným, zistil, že hmotnosť materníc u ošípaných kŕmených GM sójou bola vyššia ako v kontrolnej skupine. U exponovaných ošípaných bol tiež vyšší výskyt zápalu žalúdka ako v kontrolnej skupine.

Počas pitiev bol pozorovaný len nízky počet makroskopických lézií vo všetkých experimentálnych skupinách. Histopatologické vyšetrenie orgánov a tkanív zvierat bolo vykonané u kontrolnej a najvyššej dávkovej skupiny. To odhalilo iba nízky počet patologických zmien. Histopatologické nálezy sa vyskytovali v kontrolnej aj 33% GM skupine, preto sa predpokladá, že tieto zmeny nie sú spôsobené testovanou GM kukuricou. Výskyt benígnych a malígnych tumorov v kontrolnej a 33% GM skupine bol ojedinelý. Benígne tumory boli pozorované u dvoch samíc z kontrolnej skupiny (lipóm, kožný papilóm), a u jednej samice z 33% GM skupiny (lipóm). Malígny tumor bol pozorovaný u jednej samice z kontrolnej skupiny (karcinóm mliečnej žľazy). U samíc z 33% GM skupiny nebol pozorovaný žiadny výskyt malígnych tumorov. U samcov nebol zaznamenaný žiadny výskyt benígnych ani malígnych tumorov. U potkanov kmeňa Wistar Han RCC je len nízky výskyt spontánnych neoplastických a non-neoplastických lézií, čo potvrdzujú aj výsledky od iných autorov (King-Herbert, Thayer 2006, Weber et al. 2011).

Aj preto sú potkany kmeňa Wistar Han RCC vhodné ako testovací model v toxikologických štúdiách.

Výskyt rôznych nerakovinových lézií u samcov a samíc z 33% GM a kontrolnej skupiny bol obdobný (1-2 zvieratá v skupine). Z histologických nálezov sa v oboch skupinách (kontrola a 33% GM skupina) samcov vyskytla fokálna mononukleárna infiltrácia v srdcovom svale. Ide o typickú menšiu léziu v myokarde, ktorá sa spontánne vyskytuje u zvierat z toxikologických štúdií (Isaacs, 1998). Nekróza myokardu je nešpecifická odpoveď organizmu s rôznou etiológiou zahrňujúcou toxické látky, nutričnú nedostatočnosť, ischémiu, metabolické poruchy a pod. Lymfoepiteloidný kalcifikovaný granulóm v tenkom čreve bol rovnako pozorovaný v oboch skupinách samcov, v prípade samíc sa vyskytol u jednej samičky z 33% GM skupiny. Spontánny nález môže byť vyvolaný pôsobením stresových faktorov (Meddings, Swain, 2000). Na obličkách boli pozorované tubulárna dilatácia a atrofia epiteliálnych buniek kôry a drene obličiek v oboch skupinách, a u oboch pohlaví. V prípade oboch skupín samcov a jednej samičky z kontrolnej skupiny sa vyskytla fokálna intersticiálna nefritída. Nodulárna hyperplazia kôry nadobličiek, ktorá je často spojovaná so starnutím nadobličiek (Dobbie, 1969), bola pozorovaná u troch samcov z 33% GM skupiny a u jednej samičky z kontrolnej skupiny. Fokálna vakuolová degenerácia buniek kôry obličiek bola pozorovaná u jedného samca z 33% GM skupiny, táto zmena môže vzniknúť spontánne, alebo ako následok chemicky indukovanej toxicity (Rosol, et al., 2001). Na hypofýze u samcov z oboch skupín bola pozorovaná cysta, tento nález sa často pripisuje ku kongenitálnym léziám (Frith et al., 2000, Elmore, 2006). U samcov z oboch skupín bol pozorovaný chronický zápal prostaty, ktorý pravdepodobne nebol spôsobený baktériami. Predpokladá sa, že vznikol ako následok refluxu moču do prostaty, čo môže následne vyvolať chronickú prostatitídu (Takechiet al., 1999). Takéto zápalové lézie sú často pozorované v prostate u starších samcov, ako spontánne nálezy alebo ako následok urogenitálnej infekcie (Creasy, 1998, Greaves, 2007). V prípade výskytu cýst na vaječníkoch bol výskyt o niečo vyšší, tie boli pozorované u štyroch samíc z kontrolnej skupiny a u šiestich samíc z 33% GM skupiny. Etiológia vzniku cystických folikulov nie je stále úplne jasná, predovšetkým z dôvodu ich náročného skúmania počas ich tvorby. Folikulárne cysty môžu byť dôsledkom vplyvu estrogénov alebo sa môžu vyvinúť z preovulačných folikulov, u ktorých zlyhala ovulácia (Lewis and Gopinath, 1998). U samičky z 33% GM skupiny bola makroskopicky popísaná atrofia oboch vaječníkov, z histologického hľadiska sa jednalo o nedostatok

sekundárných a terciárných folikulov v oboch vaječníkoch. Ide o nález, ktorý súvisí s vekom zvierat.

Lipóm – benígny tumor bol pozorovaný u jednej samice z kontrolnej skupiny a u jednej samice z 33% GM skupiny. Vo všeobecnosti sa lipómy môžu vyskytovať v kontrolnej i exponovanej skupine v rôznych častiach tela (Hardisty et al., 2007). Histopatologické zmeny v jednotlivých orgánoch a tkanivách sa vyskytovali u pokusných zvierat náhodne, bez dávkovej závislosti. Histopatologické zmeny boli zaznamenané rovnako v najvyššej 33% GM skupine ako aj v kontrolnej skupine. Ani v štúdií podľa Xiao Yun He et al. (2009) neboli zaznamenané histopatologické nálezy, ktoré by súviseli s podávaním testovanej látky GM kukurice (Y642) na potkanoch Sprague-Dawley.

Na základe výsledkov 90-dňových štúdií projektu GRACE, ktoré sú však nad rámec predloženej dizertačnej práce, bol predpoklad, že v štúdií ročnej chronickej toxicity sa už môžu prejavovať následky expozície GM kukurice MON810 na ukazovateľoch zdravotného stavu použitých zvierat. Tento predpoklad sa nepotvrdil, ani po ročnej expozícii testovanej látky sa neprejavili zmeny na zdravotnom stave pokusných zvierat v daných testovacích podmienkach. Štatisticky významné zmeny, ktoré sa vyskytovali boli náhodné rozdelené vo všetkých pokusných skupinách, neboli teda dávkovo ani časovo závislé. Hypotéza číslo 1 sa nepotvrdila.

Zo získaných výsledkov možno konštatovať, že celoživotná konzumácia GM kukurice MON810 v najvyššom 33% zastúpení v krmive, nevedla k vyššiemu výskytu malígnych ani benígnych tumorov v danej skupine. V 33% GM skupine sa vyskytol jeden benígny tumor – lipóm. Ide o jeden prípad z dvadsiatich (5%). Ide o náhodný výskyt u daného jednotlivca. Hypotéza číslo 2 sa teda nepotvrdila.

Hypotézou číslo 3 sme predpokladali, že nami poskytnutý materiál z 90-dňovej a 1-ročnej štúdie, prispeje k vytvoreniu nových metodík pre stanovenie možného vplyvu GMO na organizmus. Metabolomické a transgenomické štúdie v súčasnosti stále prebiehajú, čiastkové výsledky dávajú predpoklad pre vytvorenie nových metodík. Z dôvodu ich neúplného ukončenia ich nemožno plnohodnotne hodnotiť.

Sumárne výsledky zo štúdie ročnej chronickej toxicity s GM kukuricou MON810 na potkanoch kmeňa Wistar Han RCC, nepreukázali negatívny vplyv na zdravie zvierat v rámci daného pokusu. Expozícia GM kukurici MON810 v najvyššej dávkovej skupine 33% GM v krmive nevedla k toxikologicky relevantným zmenám zdravotného stavu u samcov ani u samíc daného kmeňa potkanov a v daných testovacích podmienkach.

ZÁVER

Výsledky predloženej dizertačnej práce sú súčasťou medzinárodného projektu GRACE, ktorý prispieva k hodnoteniu rizík geneticky modifikovaných potravín a krmovín. Testovanou látkou bola GM kukurica MON810. Táto kukurica bola pridaná v 11% a 33% podiely do nutrične vyváženej potravy určenej pre konkrétny kmeň použitých laboratórnych potkanov Wistar Han RCC.

Telesná hmotnosť

- Samce: rozdiely telesných hmotností medzi jednotlivými pokusnými skupinami **neboli štatisticky významné**.
- Samice: rozdiely telesných hmotností medzi jednotlivými pokusnými skupinami **neboli štatisticky významné**.

Spotreba experimentálneho krmiva

- Samce: rozdiely v spotrebe experimentálneho krmiva medzi jednotlivými pokusnými skupinami **neboli štatisticky významné**.
- Samice: rozdiely v spotrebe experimentálneho krmiva medzi jednotlivými pokusnými skupinami **neboli štatisticky významné**.

Klinické a oftalmologické vyšetrenia

- Pred koncom štúdie boli predčasne usmrtené 3 zvieratá. Samec z 33% GM skupiny, samica z 11% GM skupiny a samica z kontrolnej skupiny.
- Oftalmologické vyšetrenie oboch očí neodhalilo **žiadne zmeny** na očnom pozadí v jednotlivých pokusných skupinách.

Hematológia a biochémia

Po 3 mesiacoch

- Samce a samice: **neboli** zistené žiadne štatisticky významné zmeny v hematologických parametroch v jednotlivých skupinách.
- Samice: **33% GM skupina** – zvýšené ↑ percento eozinofilov

- Samce: **konvenčná 2 skupina** – znížené ↓ AST
33% GM skupina – znížené ↓ Cl

Po 6 mesiacoch

- Samce: **11% GM skupina** – zvýšené ↑ WBC, AST, P,
33% GM skupina – zvýšené ↑ WBC, AST, P,
konvenčná 2 skupina – znížené ↓ Cl, Na,
- Samice: **konvenčná 2 skupina** – zvýšené ↑ WBC
33% GM skupina – znížené ↓ percento eozinofilov, GLU

Po 12 mesiacoch

- Samce a samice: **neboli** pozorované žiadne štatisticky významné zmeny v hodnotách hematologických parametrov v jednotlivých kŕmnych skupinách.
- Samce: **11% GM skupina** – zvýšené ↑ percento eozinofilov, P,
– znížené ↓ GLU,
konvenčná 2 skupina – zvýšené ↑ percento eozinofilov,
- Samice: **11% GM skupina** – znížené ↓ percento eozinofilov,
– zvýšené ↑ CREA,
33% GM skupina – zvýšené ↑ AST,
konvenčná 2 skupina – znížené ↓ percento eozinofilov, K,

Biochemická analýza moču

- Samce a samice: prítomnosť hodnôt glukózy, bilirubínu, urobilinogénu a nitrátov bola vo všetkých analyzovaných vzorkách **negatívna**.

Relatívna hmotnosť orgánov

- Samce: **neboli** zistené žiadne štatisticky významné zmeny relatívnej hmotnosti orgánov medzi jednotlivými experimentálnymi skupinami.
- Samice: **33% GM skupina** – zvýšená ↑ relatívna hmotnosť L obličky,
konvenčná 2 skupina – znížená ↓ relatívna hmotnosť P vaječníka,

Patologicko-anatomická pitva a histopatologické vyšetrenia

- Výskyt rôznych nerakovinových lézií u samcov a samíc z 33% GM a kontrolnej skupiny bol obdobný (1-2 zvieratá v skupine).

- Samce: **nebol** zaznamenaný žiadny výskyt benígnych a malígnych tumorov v kontrolnej ani 33% GM skupine
- Samice: **33% GM skupina** – cysty na vaječníkoch sa vyskytli u 6 samíc, **kontrolná skupina** – cysty na vaječníkoch sa vyskytli u 4 samíc,

Výskyt malígnych a benígnych tumorov v 33% GM a kontrolnej skupine bol ojedinelý. Malígny tumor bol pozorovaný u jednej samice z kontrolnej skupiny (karcinóm mliečnej žľazy). Benígne tumory boli pozorované u dvoch samíc z kontrolnej skupiny (lipóm, kožný papilóm), a u jednej samice z 33% GM skupiny (lipóm). Výskyt spomínaných tumorov môžeme hodnotiť ako spontánny výskyt.

Na základe výsledkov uskutočneného pokusu možno hodnotiť, že v prípade štatisticky významných zmien niektorých skúmaných parametrov u samcov a samíc laboratórnych potkanov kmeňa Wistar Han RCC, išlo o sporadické odchýlky od normálu, ktoré boli ešte v rozmedzí referenčných hodnôt daného kmeňa. Konzumácia GM kukurice MON810 v 11% a 33% zastúpení v krmive, nevedla k poškodeniu zdravia v daných testovacích podmienkach.

Väčšina hodnôt sledovaných parametrov bola v rozmedzí referenčných hodnôt zvierat rovnakého kmeňa i veku. Na základe tejto skutočnosti je možné, že geneticky modifikované rastliny / plodiny neovplyvňujú krmné štúdie z toxikologického hľadiska.

11.1 ODPORÚČANIA PRE PRAX

- Na základe výsledkov toxikologických štúdií projektu GRACE, komisia EFSA navrhne záväzné metodiky testovania GM potravín a krmovín v EÚ.
- Formou populárno-náučného článku objasniť širokej verejnosti klady a zápory geneticky modifikovaných potravín, a dať tak možnosť vlastného rozhodnutia o konzumácii takýchto potravín.
- V spolupráci s pracoviskami, ktoré participovali na projekte GRACE navrhnuť nové, alternatívne metódy testovania geneticky modifikovaných potravín a krmovín.

LITERATÚRA

APPENZELLER, L.M. ET AL. 2009. Subchronic feeding study with genetically modified stacked trait lepidopteran and coleopteran resistant (DAS-Ø15Ø7-1×DAS-59122-7) maize grain in Sprague–Dawley rats. In *Food Chemical Toxicology*, 2009. vol,47, Issue 7, pp.1512–20.

BENACHOUR, N. – SÉRALIN, I G.E. 2009. Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells. In *Chemical Research in Toxicology*, ISSN 0893-228X, 2009, roč. 22, č.1, s. 97-105.

BENNETT, P. M. ET AL. 2004. An assessment of the risks associated with the use of antibiotic resistance genes in genetically modified plants: report of the Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. In *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, ISSN 1460-2091, 2004, roč. 53, č.3, s.418–431.

BEŽO, M. 1999. Princíp tvorby geneticky modifikovaných organizmov. In *Možnosti využívania geneticky modifikovaných organizmov : Zborník referátov z odborného seminára konaného dňa 25. novembra 1999*, Nitra : SPU, 1999, s. 4–11.

BEŽO, M. A KOL. 2002. Biologická bezpečnosť pri tvorbe a využívaní GMO v systéme potravinových zdrojov. In *Biologická bezpečnosť v agropotravinárstve: Zborník referátov z odborného seminára cyklu Biologická bezpečnosť*. Nitra: SPU, 2002, s.22-30. ISBN 80-8069-064-2.

BEŽO, M. – VALKOVÁ, D. – VALKOVIČOVÁ, L. 2007. *Geneticky modifikované organizmy a biologická bezpečnosť na Slovensku*. Bratislava: Veda, 2007.12s. ISBN 978-80-224-0988-9.

BEŽO, M. a kol. 2009. *Geneticky modifikované rastliny – prínosy a nástrahy*. 1. vyd. Nitra: SPU, 2009. 26-27 s. ISBN 978-80-552-0314-0

BRADBERRY, SM. – PROUDFOOT, AT. – VALE, JA. 2004. Glyphosate poisoning. In *Toxicological Reviews*, ISSN 1176-2551, 2004, roč. 23, č.3, s.159-167.

BRODERICK, N.A. – RAFFA, K.F. – HANDELSMAN, J. 2006. Midgut bacteria required for *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity. In *PNAS* [online]. 2006, roč.103, č.41 [cit.24.6.2015]. Dostupné na internete: <http://www.pnas.org/content/103/41/15196.long>. ISSN1091-6490.

CARMAN A. J. ET AL.2013. A long-term toxicology study on pigs fed a combined genetically modified (GM) soy and GM maize diet, In *Journal of Organic Systems*, ISSN 1177-425, vol. 8, Issue1, pp.38-54.

COVEY, S.N. – AL-KAFF, N.S. 2000. Plant DNA viruses and genes ilencing. In *Plant Molecular Biology* [online]. 2000, roč. 43, č.2-3[cit.24.6.2015]. Dostupné na internete: <http://link.springer.com/article/10.1023%2FA%3A1006408101473>. ISSN 1573-5028.

CREASY D.M. 1998.The male reproductive system. In: *Target organ pathology*, Ed. By Turton, J., Hooson, J. 1998 by Taylor&Francis, New York, pp. 484.

ČIERNA, I. 2009. Prevencia potravinovej alergie. In *Pediatrica pre prax*, ISSN 1339-4231, 2009, roč.10 , č.4 , s.184-188.

DALEPRANE, J.B. ET AL. 2009. Organic and genetically modified soybean diets: consequences in growth and in hematological indicators of agedrats. In *Plant Foods for Human Nutrition*, ISSN 1573-9104, 2009, vol. 64, pp. 1–5.

DALEPRANE, J.B. ET AL. 2010. The impact of non- and genetically modified soybean diets in aorta wall remodeling. In *Journal of Food Science*, vol. 75, Issue. 7., pp.126-131.

DATTA, S. K.a kol. 2007. Golden rice: introgression, breeding, and field evaluation. In *Euphytica* [online]. 2007, roč.154, č.3[cit.24.6.2015]. Dostupné na internete: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10681-006-9311-4>. ISSN 1573-5060.

DOBBIE, J. W. 1969. Adrenocortical nodular hyperplasia: the aging adrenal. In *The Journal of Pathology*, ISSN: 1096-9896, 1969, vol.99, Issue 1, pp.1-18.

DOMON, E. ET AL. 2009. 26-Week oral safety study in macaques for transgenic rice containing major human T-cell epitope peptides from Japanese cedar pollen allergens. In *Journal of Agriculture Food Chemistry*, ISSN 1520-5118, 2009, vol.57, pp.5633–8.

DUBNICKÝ, P. 2010. *Genetické transformácie rastlín a ich aplikácie*. bakalárska práca. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2010. 15 s.

DÚHA, J. 2001. *Geneticky modifikované organizmy–Základné pojmy*. Ministerstvo životného prostredia SR Stála konferencia o biologickej bezpečnosti a bioetike SR ústav experimentálnej fytopatológie a entomológie SAV: ASCO art&science prvé vydanie. 2001.ISBN 80-88820-20-0.

EAGRI. 2014. *Pěstování GM kukuřice v EU* [online]. [cit.8.9.2015]. Dostupné na internete:http://eagri.cz/public/web/file/370600/Pestovani_GM_kukurice_v_EU_2005_2014.pdf

EAGRI. 2015. *GM plodiny - Pěstování geneticky modifikovaných plodin* [online]. [cit.8.9.2015]. Dostupné na internete: http://eagri.cz/public/web/file/370600/Pestovani_GM_kukurice_v_EU_2005_2014.pdf

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2015. Scientific Opinion on an application (EFSA-GMO-NL-2010-80) for the placing on the market of herbicide-tolerant genetically modified maize NK603 × T25 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. In *EFSA Journal* [online]. 2015, roč.13, č.7 [cit.8.9.2015]. Dostupné na internete: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4165>

EFSA. 2011. Guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain. In *EFSA Journal* [online]. 2011, roč.9, č.5 [cit.8.9.2015]. Dostupné na internete: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal>

EFSA. 2011a. EFSA guidance on conducting repeated-dose 90-day oral toxicity study in rodents on wholefood/feed. In *EFSA Journal*, 2011, vol.9 (12):2438,p.1-21.

ELMORE S.A. 2006. Histopathology of the lymph nodes. In *Toxicologic Pathology*, 2006, vol.34, pp.425-454.

ENGLISH, L. – SLATIN, S.L. 1992. Mode of action of delta-endotoxins from *Bacillus thuringiensis*: a comparison with other bacterial toxins. In *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. ISSN.2150-421, roč.22, s1-7.

ENVIROPORTAL. 2015. *EP umožní členským štátom zakázať geneticky modifikované plodiny na svojo múzemi*. [online].[cit.8.9.2015]. Dostupné na internete: <http://www.enviroportal.sk/clanok/ep-umozni-clenskym-statom-zakazat-geneticky-modifikovane-plodiny-na-svojom-uzemi>

EURACTIV. 2015. Členské štáty dostanú nad GMO kontrolu [online].[cit.8.9.2015]. Dostupné na internete: <http://www.euractiv.sk/slovensko-v-ep/clanok/clenske-staty-dostanu-nad-gmo-kontrolu-023286>

EURÓPSKY DOHOVOR O OCHRANE STAVOVCOV VYUŽÍVANÝCH NA POKUSNÉ A INÉ VEDECKÉ ÚČELY. 1999. In *Úradný vestník Európskej únie* 1999, 15, zv.4, dodatok A, 326-333s.

EURÓPSKA KOMISIA. 2015. Informačný prehľad. *Informačný list: Otázky a odpovede o politikách EÚ v oblasti GMO*. [online].[cit.8.9.2015]. Dostupné na internete: http://europa.eu/rapid/press-release_MEMO-15-4778_sk.htm

FARAGÓ, J. 1999. Súčasný stav a perspektívy využitia geneticky modifikovaných odrôd rastlín. In *Perspektívy genetiky šľachtenia a semenárstva rastlín. Zborník referátov k tematickým okruhom odbornej diskusie*. Nitra: SPU Nitra, 1999, 16-24 s.

FERENČÍK, I. – HUTTA, V. 2006. *Zákon o používaní genetických technológií a geneticky modifikovaných organizmov s komentárom*. Bratislava: Veda, 2006. 9–19s. ISBN 80-224-0914-6.

FERENČÍK, I. 2009. *Národný rámec regulácie používania geneticky modifikovaných organizmov a výrobkov z nich*. Vydavateľstvo Veda, Bratislava. 2009. s.19. ISBN 978-80-224-1089-2

FERENČÍK, I.- SIEKEL, P.- DUGOVIČ, L. 2007. *Geneticky modifikované organizmy z pohľadu životného prostredia, potravín a legislatívy*. Vydavateľstvo Veda, Bratislava. 2007. s.11. ISBN 80-224-0871-9

FRITH C. H., ET AL. 2000. Non-proliferative lesions of the endocrine system in rats. E-1: In: *Guides for toxicologic pathology*, 2000, pp.1-22.

GÁLOVÁ, Z. – BALÁŽOVÁ, Ž. a kol. 2008. *Biotechnológie v rastlinnej produkcii*. SPU Nitra: 2008. 149s. ISBN 978-80-552-0146-7.

GOLDEN RICE.2015. [online]. [cit.26.9.2015]. Dostupné na internete: http://www.goldenrice.org/Content2-How/how1_sci.php

GMO. 2014. *Zoznam produktov umiestnených na trh Európskeho spoločenstva a Európskej únie podľa smernice 2001/18/ES*. [online]. [cit.26.9.2015]. dostupné na internete: <http://www.gmo.sk/sk/?page=38>

GMO. 2015. *Zoznam geneticky modifikovaných organizmov, ktorých používanie v Slovenskej republike bolo povolené podľa paragrafu 17 ods. 1 zákona č. 151/2002 Z.z. v znení neskorších predpisov - poľné pokusy*. [online]. [cit.26.9.2015]. dostupné na internete: <http://www.gmo.sk/sk/?page=38>

GREAVES, P. 2007. *Histopathology of Preclinical Toxicity Studies 3th Edition: Interpretation and Relevance in Drug Safety Evaluation*. Elsevier Science, 2007, p.623. ISBN 97 8044 45386 11.

HAMMOND, B. ET AL. 2004. Results of a 13 Week safety assurance study with rats fed grain from glyphosate tolerant corn. In *Food and Chemical Toxicology*, ISSN 0278-6915, 2004, vol.42, Issue 6, pp.1003–1014.

HAMMOND B. ET AL.2006a. Results of a 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn rootworm-protected corn. In *Food and Chemical Toxicology*, ISSN 0278-6915, 2006, vol.44, p.147-160.

HAMMOND, B. ET AL. 2006b. Results of a 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn borer protected corn. In *Food and Chemical Toxicology*, ISSN 0278-6915., vol.44, Issue 7, pp.1092–1099.

HARDELL, L. – ERIKSSON, M. – NORDSTROM, M. 2002. Exposure to pesticides as risk factor for non-Hodgkin's lymphoma and hairy cell leukemia: pooled analysis of two Swedish case-control studies. In *Leukemia & lymphoma*, ISSN 1029-2403,2002, roč. 43, č.5, s.1043-1049.

HARDIST, J.F. et al. 2007. Histopathology of hemangiosarcomas in mice and hamsters and lipoarcomas/ fibrosarcomas in rats associated with ppar agonists, In *Toxicologic pathology*, 2007, vol.35,pp. 928-941.

HARLAN LABORATORIES. 2014. Historical and current background data: Rcc Han TM: WIST rats. [online].[cit.3.1.2017]. Dostupné na internete: <http://webapps.harlan.com/wistarhannover>.

HAYES, W. A. 1989. *Principles and Methods of Toxicology*, second edition. New York: Raven Press, 1989. s.237-250. ISBN 0-88167-439-7

HEALY C.– HAMMOND B. – KIRKPATRICK J.2008.Results of a 13-week safety assurance study with rats fed grain from corn rootworm-protected, glyphosate-tolerant MON 88017corn. 2008. In *Food Chemical Toxicology*,vol.46, pp.2517–24.

HEYDENS, W.F. A KOL. 2008. Genotoxic potential of glyphosate formulations: mode-of-action investigations. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, ISSN 0021-8561, 2008, roč.56, č.4,s1517-1523.

HIRSCHBERG, J. 2001. Carotenoid biosynthesis in flowering plants. In *Current Opinion in Plant Biology*, ISSN 1369-5266, 2001,roč. 4,č.3, s. 210-218.

HOLM, F. 2002. *Geneticky modifikované potraviny*. Syntetická správa z riešenia výskumu projektu Flair-Flow Europe financovaného EÚ. Nitra: ÚVTIP Nitra, NOI, 2002. 19s. ISBN 80-89088-02-3

HRAŠKA, Š. – KUNA, R. 2000. *Perspektívy genetiky, šľachtenia a semenárstva rastlín*. Nitra: 2000. 3–10s. ISBN 80-7137-792-9.

CHASSY, B. a kol. 2004. *Nutritional and Safety Assessments of Foods and Feeds Nutritionally Improved through Biotechnology*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2004, č.3, s. 1–70.

CHRÁST, L. 2015. *Dějiny GMO: Od zkvašeného vína k ovci Dolly*. [online]. [cit.11.6.2015]. Dostupné na internete: <http://www.veda.muni.cz/vite/5602-dejiny-gmo-od-zkvaseneho-vina-k-ovci-dolly#.VXq1aVKE5ki>

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. 2015. ARC Monographs Volume 112: evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides. [online].[cit.18.6.2015]. Dostupné na internete: <http://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/pdf/MonographVolume112.pdf>

ISAACS, K.R. 1998.The cardiovascular system. In: Target organ pathology, Ed. by Turton, J., Hooson, J. 1998 by Taylor&Francis, New York, pp. 484. ISBN 0-203-48192-5.

JONAS, D. A. - ELMADFA, I. - ENGEL, K. H. et al. 2001. Safety considerations of DNA in food. In *Annals of Nutrition and Metabolism*, ISSN 1421-9697, 2001, roč. 45, č. 6, s. 235-254.

KALÁČ, J. – KAJABA, I. 2003. Potraviny pripravené z geneticky modifikovaných organizmov. In *Životné prostredie*, ISSN 1335-4175, 2003, roč. 37, č. 2,

KARAMI, O. a kol. 2009. *Agrobacterium*- mediated genetic transformation of plants: the role of host. In: *Biologia Plantarum*, ISSN 1573-8264 , 2009, roč. 53, č.2, s.201-212.

KEMPER, S. 2015. A public health giant: C-E.A. Winslow, who launched public health at Yale a century ago, still influential today. In *Yale Public Health magazine*, [online]. 2015, [cit.10.9.2015]. Dostupné na internete: <http://news.yale.edu/2015/06/02/public-health-giant-c-ea-winslow-who-launched-public-health-yale-century-ago-still-influe>

KHAN, E.U. – LIU, J.H. 2009. Plant biotechnological approaches for the production and commercialization of transgenic crops. In: *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, ISSN 1314-3530, 2009, roč. 23, č.3, s.1281-1288.

KILIÇ, A., AKAY, M.T. 2008. A three-generation study with genetically modified *Bt* corn in rats: biochemical and histopathological investigation. In *Food Chemical Toxicology*, vol.46, Issue 3, pp.1164–1170.

KING-HERBERT A. –THAYER K. 2006. NTP workshop: animal models for the NTP rodent cancer bioassay: stocks and strains–should we switch? In *Toxicologic Pathology*, vol. 34, pp.802–805. [online].[cit.3.1.2017]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1937573/>

KOVAČOVÁ, V. 2008. *Aplikace baktérie Agrobacterium tumefaciens*. bakalárska práca. Brno: Vysoké učení technické v Brne, 2008. 8s.

KRAIC, J. 2009. *Žiadosť o vydanie súhlasu so zavedením geneticky modifikovaných vyšších rastlín do životného prostredia za účelom realizácie poľných pokusov*. Piešťany: Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu, Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany, 2009, 14,17,24s.

KRAIC, J. 2010. Pozícia geneticky modifikovaných rastlín v slovenskom poľnohospodárstve. In *Riziká a prínosy genetickej modifikácie organizmov*. Nitra:

Agentúra Slovenskej akadémie pôdohospodárskych vied, 2010, 8-13s. ISBN 978-80-89162-45-1

KRETOVÁ, M. – SIEKEL, P. 2005, Možnosť prenosu génov z potravinových zdrojov na konzumentov a ich mikrofóru v tráviacom trakte zvierat a človeka. In *Bulletin potravinárskeho výskumu*, ISSN 0231-9950, 2005, roč. 44, č.3-4., s. 157-167.

KRETOVÁ, M. – KOLLÁROVIČ, G. – SIEKEL, P. 2005, Fragmentácia DNA a geneticky modifikované potraviny. In *Bulletin potravinárskeho výskumu*, ISSN 0231-9950, 2005, roč. 44, č.1-2., s. 17-26.

KUIPER, H.A. – NOTEBORN, H.P. 2001. Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. IN *The plant journal*. [online]. 2001, roč.27, č.6, [cit.10.9.2015]. Dostupné na internete: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-313X.2001.01119.x/full>ISSN 1365-313X

LACEK, J. 2011, *Geneticky modifikovaná kapusta repková pravá a agrosystéme*. bakalárska práca. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2011. 11s.

LEWIS D.J. – GOPINATH CH.1998.The female reproductive system. In *Target organ pathology*, Ed. By Turton, J., Hooson, J. 1998 by Taylor&Francis, New York, pp. 484.

LODISH, H. A KOL. 1995. *Molecular cell biology, third edition*. New York: Scientific Americans Book. Inc. 1995. 101-140.s. ISBN 0-7167-2380-8

LIBANTOVÁ, J. – MORAVČÍKOVÁ, J. 2010. Geneticky modifikované rastliny. In *Riziká a prínosy genetickej modifikácie organizmov*. Nitra: Agentúra Slovenskej akadémie pôdohospodárskych vied, 2010, 19-25s. ISBN 978-80-89162-45-1

MACKENZIE, S.A. ET AL. 2007. Thirteen week feeding study with transgenic maize grain containing event DASO1507-1 in Sprague–Dawley rats. In *Food Chemical Toxicology*, vol. 45, Issue 4, pp. 551–562.

MALLEY, L.A. ET AL.2007. Subchronic feeding study of DAS-59122-7 maize grain in Sprague–Dawley rats. In *Food Chemical Toxicology*, vol.45, Issue 7, pp.1277–1292.

MEDDINGS J.B. – SWAIN M.G.2000. Environmental stress-induced gastrointestinal permeability is mediated by endogenous glucocorticoids in rat. In *Gastroenterology*, 2000, vol.119, Issue 4, pp.1019-1028.

MINISTERSTVO PÔDOHOSPODÁRSTVA A ROZVOJA VIDIEKA SR. 2015. *Informácia o vysiatej ploche geneticky modifikovanej kukurice MON 810 v roku 2015*. [online]. [cit.10.9.2015]. Dostupné na internete:
<http://www.mpsr.sk/index.php?navID=764&navID2=764&sID=40&id=9573>

MINISTERSTVO PÔDOHOSPODÁRSTVA A ROZVOJA VIDIEKA SR. 2017. *Informácia o vysiatej ploche geneticky modifikovanej kukurice MON 810 v roku 2016*. [online]. [cit.10.9.2015]. Dostupné na internete:
<http://www.mpsr.sk/index.php?navID=764&navID2=764&sID=40&id=11635>

MINISTERSTVO PÔDOHOSPODÁRSTVA A ROZVOJA VIDIEKA SR. 2013. *Informácia o ploche autorizovaných geneticky modifikovaných vyšších rastlín osiatych v Slovenskej republike v roku 2013*. [online]. [cit.10.9.2015]. Dostupné na internete:
<http://www.mpsr.sk/index.php?navID=764&navID2=764&sID=40&id=7688>

NAGELKERKE, J. F. 1996. Nephrotoxicology: toxicological pathology and biochemical toxicology. In *Toxicology Principles and Applications*. Ed. By Niesink R.J.M, Varies, J, Hollinger, M. 1996. CRC Press, pp. 725-756. ISBN 0-8493-9232-2

NARIADENIE (ES) č.1829/2003 EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY z 22. septembra 2003o geneticky modifikovaných potravinách a krmivách

NARIADENIE (ES) č. 1830/2003 EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY z 22. septembra 2003 o sledovateľnosti a označovaní geneticky modifikovaných organizmov a sledovateľnosti potravín a krmív vyrobených z geneticky modifikovaných organizmov a ktorým sa mení a dopĺňa smernica 2001/18/ES

NAVRÁTIL, O. 2006. Transgenóze rostlin. In Molekulární biologie a genetika XII [online]. Praha: Ústav molekulární genetiky AV ČR, 2006. 77-89s. [cit.20.6.2015]. Dostupné na internete: <http://www.ueb.cas.cz/cs/content/transgenoze-rostlin>

NOTEBORN, H.P.J.M., KUIPER, H.A., 1994. Safety assessment strategies for genetically modified plant products. Case study: *Bacillus thuringiensis* toxin tomato. In: Jones, D.D. (Eds.), Proceedings of the Third International Symposium on the Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Microorganisms. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, 1994. Oakland,CA , pp. 199–207.

NOVOTNÁ, B. 2005. Alergie zažívacího traktu. In *Interní medicína pro praxi*, ISSN 1212-7299, 2005, roč. 7, č.11, s 492.

ODELL, J.T. – NAGY, F. – CHUA, N.H. 1985. Identification of DNA sequences required for activity of the Cauliflower mosaic virus 35S promoter. In *Nature*, ISSN 1476-4687, 1985, roč. 313, č.6, s. 810–812.

OECD.2003.OECD Series on Testing and Assessment.Detailed Background Review of the Uterotrophic Assay. Summary of the available literature in support of the project of the OECD taskforce on endocrinedisruptor testing and assessment (EDTA) to standardize and validate the uterotrophic bioassay, Organisation of Economic Co-operation and Development, Paris, France (2003)

OECD. 2009. *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, Health effects: Test No. 452chronic toxicity studies*. OECD Publishing. doi:10.1787/9789264071209-en

ONDŘEJ, M. – DROBNÍK, J. 2002. *Transgenóze rostlin*. 1. vyd. Praha: Academia, 2002. 484 s. ISBN 80-200-0958-2.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT – OECD.1993. *OECD guidelines for testing of chemicals*. Paris: roč.2, 1993,. ISBN 92-64-14018-2

PAINE, J.A. – SHIPTON, C.A. – CHAGGAR, S. 2005. Improving the nutritional value of golden rice through increased pro vitamin A content. In *Nature Biotechnology*, ISSN 1546-1696, 2005, roč. 23, č.4, s.482-487.

PALOMBO, J.D. ET AL. 2000. Comparison of growth and fatty acid metabolism in rats fed diets containing equal levels of γ -linolenic acid from high γ -linolenic acid canola oil or borage oil. 2000. In *Lipids*, vol. 35, pp. 975–981

PENZEŠOVÁ, I. 2011. *Biotech/GM kapusta repková pravá – názory na pestovanie GMO a dôkazy ich prítomnosti v produktoch rastlinného pôvodu*. diplomová práca. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2011, 15 s.

PIENIAZEK, D. – BUKOWSKA, B. – DUDA, W. 2003. Glyphosate a non-toxic pesticide?. In *Medycyna Pracy*, ISSN 0465-5893, 2003, roč. 2003, č. 54(6), s579-583.

POULSEN ET, A.L. 2007. A 90-day safety study in Wistar rats fed genetically modified rice expressing snow drop lectin *Galanthus nivalis* (GNA). In *Food Chemical Toxicology*, vol.45, Issue 3, pp. 350–363.

QIAN-YING GUO ET AL. 2015. Effects of 90-Day Feeding of Transgenic Maize BT799 on the Reproductive System in Male Wistar Rats, In *International Journal of Environmenta lResearch and Public Health*, vol.12, Issue12, pp.15309–15320.

RAKOUSKÝ, S. – HRAŠKA, M. 2007. Transgenní plodiny - realita a perspektívy. In *Geneticky modifikované organismy v agroekosystému a jeho okolí - Sborníkze semináře porádaného Ministerstvem zemědělství ČR a Českou zemědělskou univerzitou: Praha, 2007, s. 18-23.*

RANJEKAR P.K. A KOL. 2003. Genetic engineering of crop plants for insect resistance. In *Current Science*, ISSN 0011-3891, 2003, roč.84, č.3, s.321-327.

RAO, A.Q. A KOL. 2009. The myth of plant transformation. In *Biotechnology Advances*, ISSN 0734-9750, 2009, č. 27, s753–763.

REPORT OF THE EFSA GMO PANEL WORKING GROUP ON ANIMAL FEEDING TRIALS, 2008, Safety and nutritional assessment of GM plants and derived food and feed: The role of animal feeding trials, in *In Food Chemical Toxicology*, vol.46, pp.2-70. [online].[cit.3.1.2017]. Dostupné na internete:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691508000884>

ROSOL T. J. ET AL. 2001. Adrenal gland: Structure, function, and mechanisms of toxicity, *In Toxicologic Pathology*, 2001, vol.29, pp.41-48

SAKAMOTO, Y., ET AL. 2008. A 104-week feeding study of genetically modified soybeans in F344 rats. *J. Food Hyg. Soc. Japan* 49, 272–282.

SEHNAL, F. – DROBNÍK. J. 2009. *Whitebook – genetically modified crops*. Praha: Biology Centre of the Academy of Sciences of the Czech Republic, 2009, 95s. ISBN 978-80-86668-05-3

SELLERS, R.S.ET. AL. 2007. Society of Toxicologic Pathology Position Paper: Organ weight recommendations for toxicology studies. *In Toxicologic Pathology*, ISSN: 1533-1601, 2007, vol. 35(5), p.751–755

SÉRALINI G.E. – CELLIER D. – VENDOMOIS J.S. 2007. New Analysis of Rat Feeding Study with a Genetically Modified Maize Reveals Signs of Hepatorenal Toxicity. *In Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, ISSN 1432-0703, 2007, vol. 52, p. 596-602.

SHARMA, H.C. – SHARMA. K.K. – SEETHARAMA, N. – ORTIZ, R. 2000. Prospect for using transgenic resistance to insect in crop improvement. *In Electronic Journal of Biotechnology* [online]. 2000, roč.3, č.2, [cit.24.6.2015]. Dostupné na internete: <http://www.ejbiotechnology.info/index.php/ejbiotechnology/article/view/v3n2-3/847> ISSN 0717-3458

SCHMIDT, K. ET AL. 2016. Variability of control data and relevance of observed group differences in five oral toxicity studies with genetically modified maize MON810 in rats. *In Archives of Toxicology*. 2016. vol.91, Issue 4, pp.1977-2006.

SCHRØDER, M. ET AL. 2007. A 90-day safety study of genetically modified rice expressing Cry1Ab protein (*Bacillus thuringiensis toxin*) in Wistar rats. In *Food Chemical Toxicology*, 2007, vol.45, Issue 3, pp.339–49.

SIEKEL, P. – BERGEROVÁ, E. 2010. Geneticky modifikované potraviny v 21.storočí – trendy a perspektívny. In *Riziká a prínosy genetickej modifikácie organizmov*. Nitra: Agentúra Slovenskej akadémie pôdohospodárskych vied, 2010, 48-53s. ISBN 978-80-89162-45-1

SPIELMANN, H. 2010. *Methods in Toxicology*. In *Advances in toxicology: Textbook for Advanced Toxicology Course*. Bratislava: SETOX, 2010. 262s. ISBN 978-80-969474-4-7

STUDY PLAN GRACE, C/14/GLP, 2013, *Chronic toxicity (1year) study of rats with Monsanto MON 810 maize*. [online]. Study No:311957 C/14/GLP.[cit.3.1.2017].Dostupné na internete:

http://www.gracefp7.eu/sites/default/files/DRAFT%20StudyPlan_Chronic%20toxicity%20%281%20year%29%20study.pdf

ŠINKOVÁ, T. 2015. *Informácie pre spotrebiteľov*. [online].[cit.6.6.2015]. Dostupné na internete:<http://www.vup.sk/index.php?mainID=4&navID=35&id=11>

ŠULCOVÁ, M. – ČIŽNÁR, I. – FABIANOVÁ, E. 2012. Verejné zdravotníctvo. Bratislava: VEDA, vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied, 2012, 7-15s. ISBN 978-80-224-1283-4

TAKECHI S. et al. 1999. Nonbacterial prostatitis caused by partial urethral obstruction in the rat. In *Urology Research*, 1999, vol.27, pp. 346-350.

TECHNICAL REPORT NO. 25, 2003. *Food derived from glyphosate tolerant corn line NK603*. A safety assessment Australia New Zealand: Food standards Australia New Zealand, 2003. 4,7s. ISBN 0-642-34550-3

TIMKO, J. – SIEKEL, P. – TURŇA, J. 2004. *Geneticky modifikované organizmy*. Bratislava: Veda, 2004. 60-63s. ISBN 80-224-0834-4

TÓTH, D. A KOL. 2007. *Biologická bezpečnosť*. Nitra: Slovenská Poľnohospodárska univerzita v Nitre, 463s. ISBN 978-80-8069-846-1

TÓTHOVÁ, T. 2008. *Horizontálny prenos génov v komplexných mikrobiálnych ekosystémoch*. Auto referát dizertačnej práce. Košice: Univerzita P.J. Šafárika v Košiciach, 2008. 5s.

TURŇOVÁ, T. 2010. *Zhodnotenie spotrebiteľského správania sa vo vzťahu k nákupu a označovaniu potravín*. bakalárska práca. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2010. 13 s.

TUTEL'IAN, V.A. ET AL. 2008. Medical and biological safety assessment of genetically modified maize event MON88017. Report 1. Toxicologo-hygienic examinations. In *Vopr Pitan*, 2008, vol.77, pp. 4-12.[online].[cit.3.1.2017]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19048881>

TUTEL'IAN, V.A. ET AL. 2009. Medical and biological safety assessment of genetically modified maize event MIR604: Report 1. Toxicologo-hygienic examinations. In *Vopr Pitan*, 2009, vol.78, pp.24–32. [online].[cit.3.1.2017]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19514339>

VALKOVÁ, D. 2004. *Geneticky modifikované organizmy - základ modernej biotechnológie*. [online]. [cit.15.6.2015]. Dostupné na internete: <http://www.gmo.sk/sk/?page=2>

VALKOVÁ, D. – TURŇA, J. 2007. *Metodická príručka pre postup hodnotenia rizika z používania génových techník a geneticky modifikovaných organizmov*. Vydavateľstvo Veda, Bratislava. s.40. ISBN 978-80-224-0962-9

VANDENBERGHE, J. 1996. Hepatotoxicity: mechanisms of liver toxicity and methodological aspects. In *Toxicology Principles and Applications*. Ed. By Niesink R.J.M, Varies, J, Hollinger, M. 1996. CRC Press, pp. 703-723. ISBN 0-8493-9232-2

VAN DEN EEDE, G. – AARTS, H. – BUHK, H. J. et al. 2004. The relevance of gene transfer to the safety of food and feed derived from genetically modified (GM) plants, Review. In *Food and Chemical Toxicology*, ISSN 1873-6351, 2004, roč.42, č.7, s. 1127-1156.

VITÁRIUSOVÁ, A. 2007. Legislatíva EÚ a SR v oblasti pestovania geneticky modifikovaných rastlín, skúsenosti štátnej odbornej kontroly s pestovaním. In *Biologická bezpečnosť a agropotravinárstvo '07*. Nitra: SPU Nitra, 2007, 11 – 15 s. ISBN 978-80-8069-926-0.

VÚOOD, Výskumný ústav ovocných a okrasných drevín a.s. Bojnice. 2016. [online]. [cit.20.1.2016]. Dostupné na internete: <http://www.vuood.sk/slachtenie/>

VÝNOS MINISTERSTVA HOSPODÁRSTVA SLOVENSKEJ REPUBLIKY č. 2/2002 na vykonanie zákona č. 163/2001 Z.z. o chemických látkach a chemických prípravkoch. Príloha číslo 5., podrobnosti o testovacích metódach.

WANG, K. A KOL. 1995. Whisker mediated plant transformation: an alternative technology. In *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, ISSN 1475-2689, 1995, roč.31, č. 2, 1995, s. 101-104.

WEBER K. ET AL. 2011. Differences in rat models used in routine toxicity studies. In *International Journal of Toxicology*, ISSN: 1092-874X, vol.30, Issue 2, pp.162–173.

WILLIAMS, G.M. – KROES, R. – MUNRO, I.C. 2000. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. In *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, ISSN 0273-2300, 2000, roč. 31, č. 4,s.117-165.

XIAO YUN HE ET AL. 2009.A 90-day toxicology study of transgenic lysine-rich maize grain (Y642) in Sprague–Dawley rats.In *Food and Chemical toxicology*. 2009. Vol. 47, Issue 2, pp. 425–432

ZÁKON NR SR č.151/ 2002 Z.z. o používaní genetických technológií a geneticky modifikovaných organizmov

ZÁKON NR SR č.184/2006 Z.z. o pestovaní geneticky modifikovaných rastlín v poľnohospodárskej výrobe

ZELJENKOVÁ D., A KOL. 2014. Ninety-day oral toxicity studies on two genetically modified maize MON810 varieties in Wistar Han RCC rats (EU 7th Framework Programme project GRACE). In *Archives of Toxicology*, ISSN 0340-5761, 2014, roč.88, č.12., 2289–2314s.

ZELJENKOVÁ D., A KOL. 2016. One-year oral toxicity study on a genetically modified maize MON810 variety in Wistar Han RCC rats (EU 7th Framework Programme project GRACE). In *Archives of Toxicology*, ISSN 0340-5761, 2016, roč.90, č.10., 2531–2562s.

ZOVČINOVÁ, M. 2011. *Biotech/GM kukurica siata – Názory na pestovanie GMO a dôkazy ich prítomnosti v produktoch rastlinného pôvodu*. diplomová práca. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2011. 13-16 s.

ŽIAROVSKÁ, J. – VESELEI, M. A KOL. 2009. *Geneticky modifikované rastliny - Etické východiská hodnotenia*. Nitra: Slovenská Poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2009, 74s. ISBN 978-80-552-0315-7.

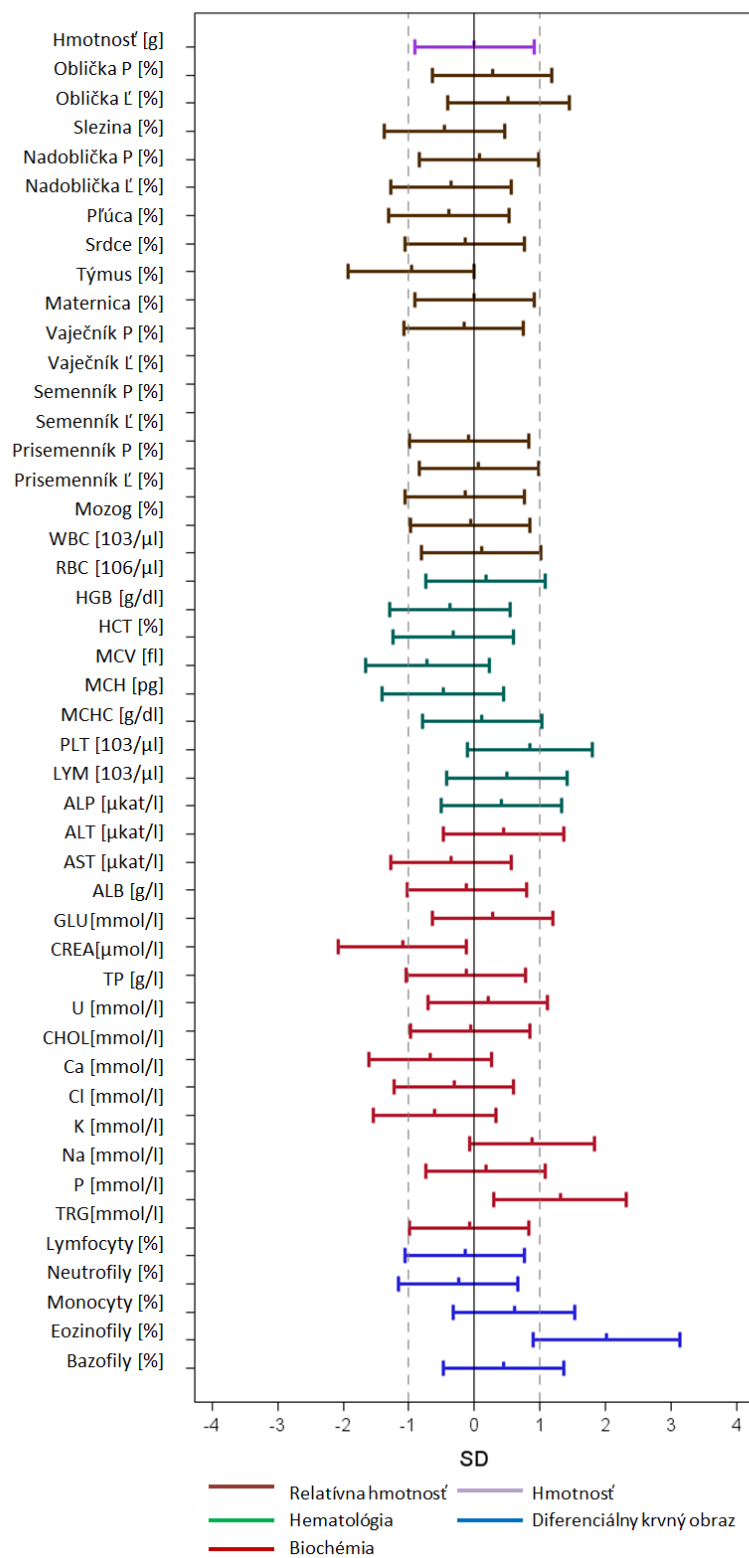
PRÍLOHY

ZOZNAM PRÍLOH

- Príloha A** – Porovnanie SES: **11% GM skupina – kontrola ♂**, po 12.mesiacoch
- Príloha B** – Porovnanie SES: **33% GM skupina – kontrola ♂**, po 12.mesiacoch
- Príloha C** – Porovnanie SES: **konvenčná 2 skupina – kontrola ♂**, po 12.mesiacoch
- Príloha D** – Porovnanie SES: **11% GM skupina – kontrola ♀**, po 12.mesiacoch
- Príloha E** – Porovnanie SES: **33% GM skupina – kontrola ♀**, po 12.mesiacoch
- Príloha F** – Porovnanie SES: **konvenčná 2 skupina – kontrola ♀**, po 12.mesiacoch

PRÍLOHA A

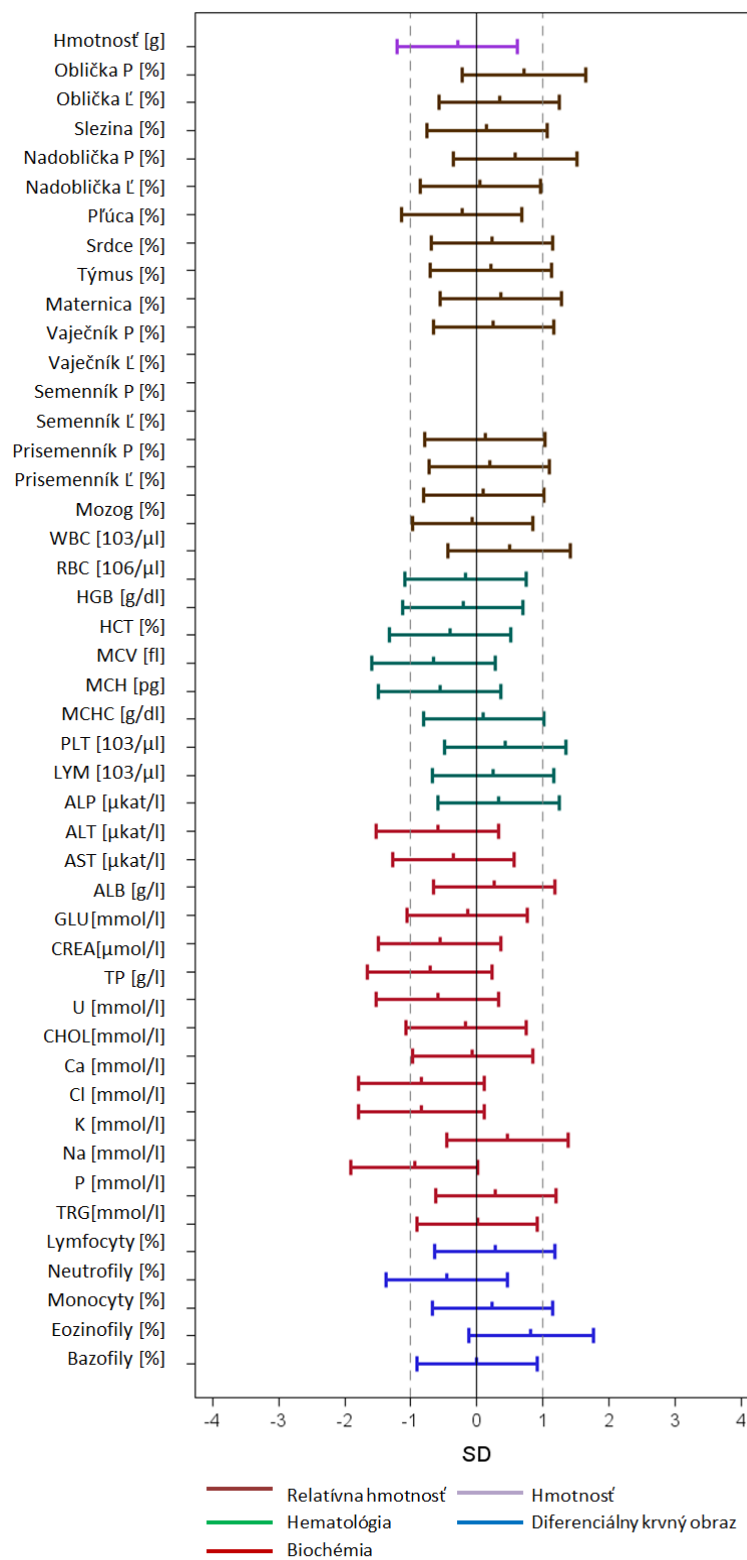
Porovnanie 11% GM skupina – kontrola,
samce ♂, po 12 mesiacoch



Zdroj: Zeljenková a kol., 2016

PRÍLOHA B

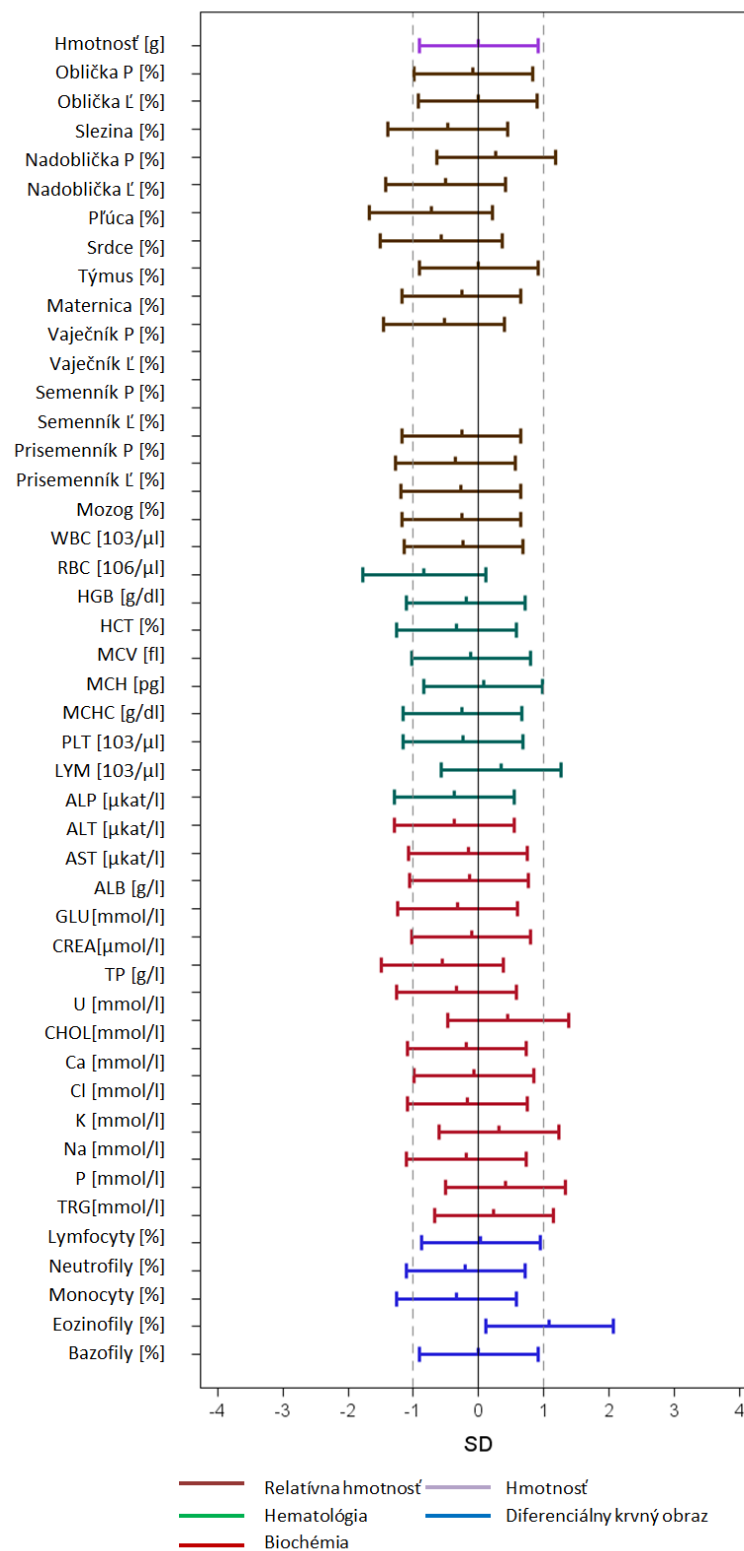
Porovnanie 33% GM skupina – kontrola,
samce ♂, po 12 mesiacoch



Zdroj: Zeljenková a kol., 2016

PRÍLOHA C

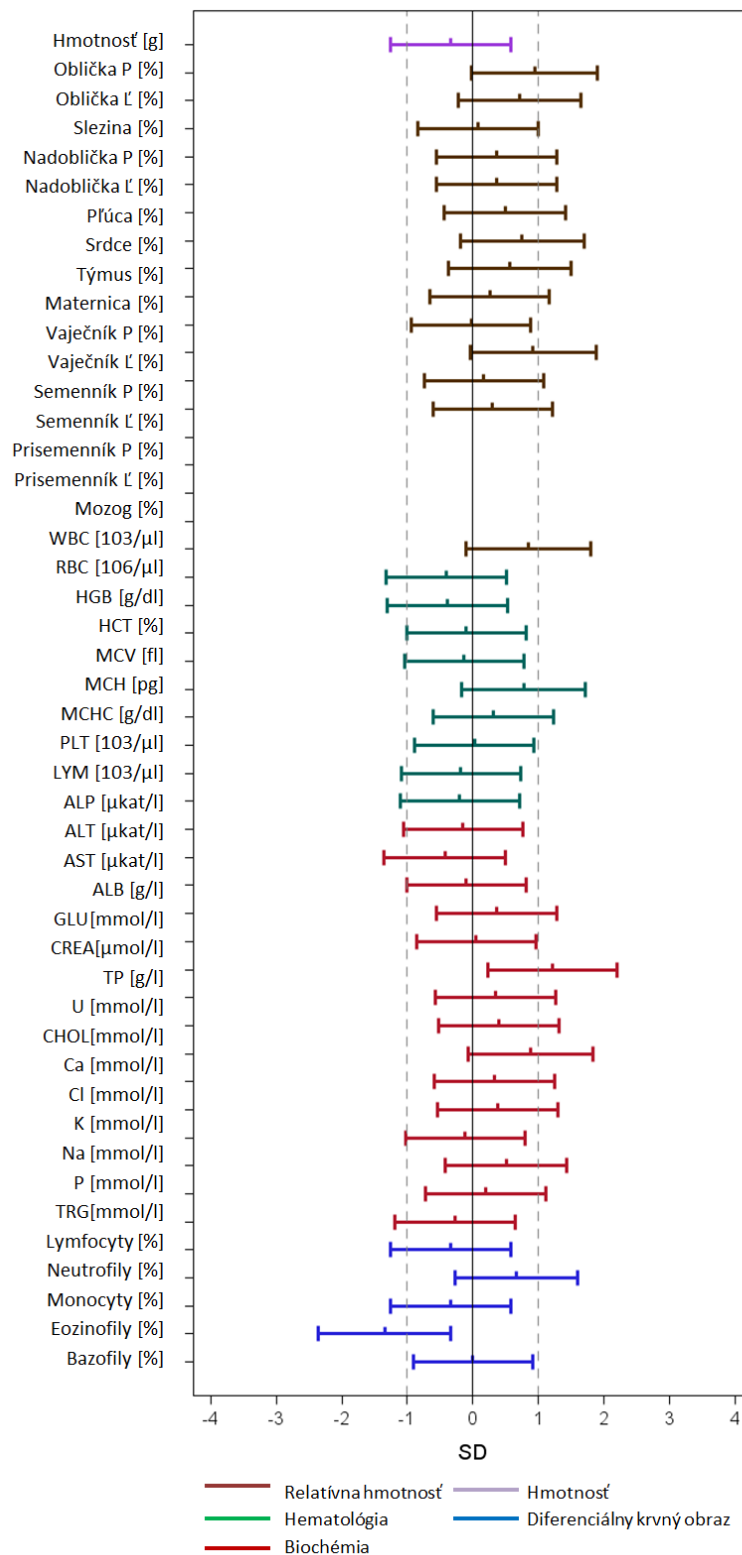
Porovnanie Konvenčná 2 – kontrola,
samce ♂, po 12 mesiacoch



Zdroj: Zeljenková a kol., 2016

PRÍLOHA D

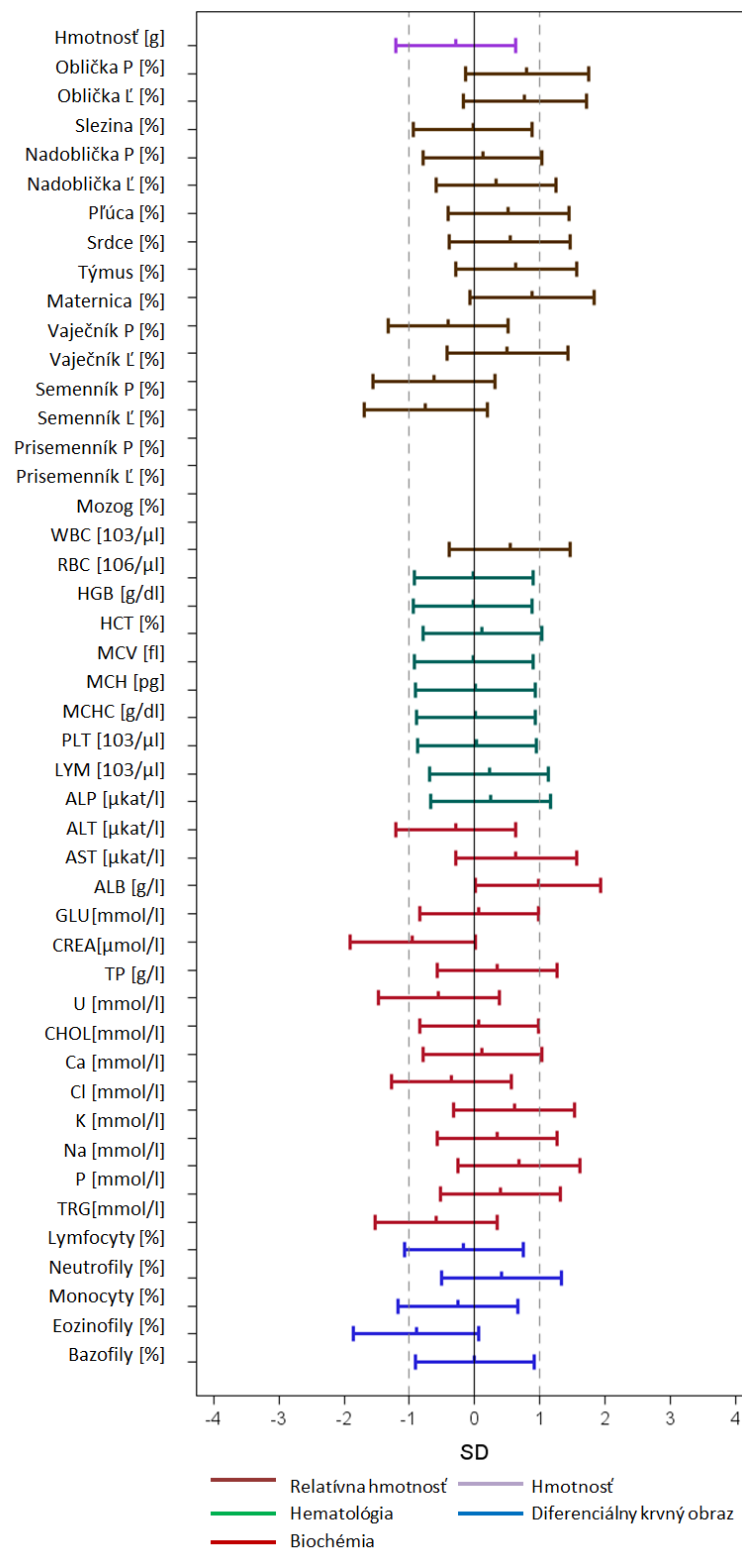
Porovnanie 11% GM skupina – kontrola,
Samice ♀, po 12 mesiacoch



Zdroj: Zeljenková a kol., 2016

PRÍLOHA E

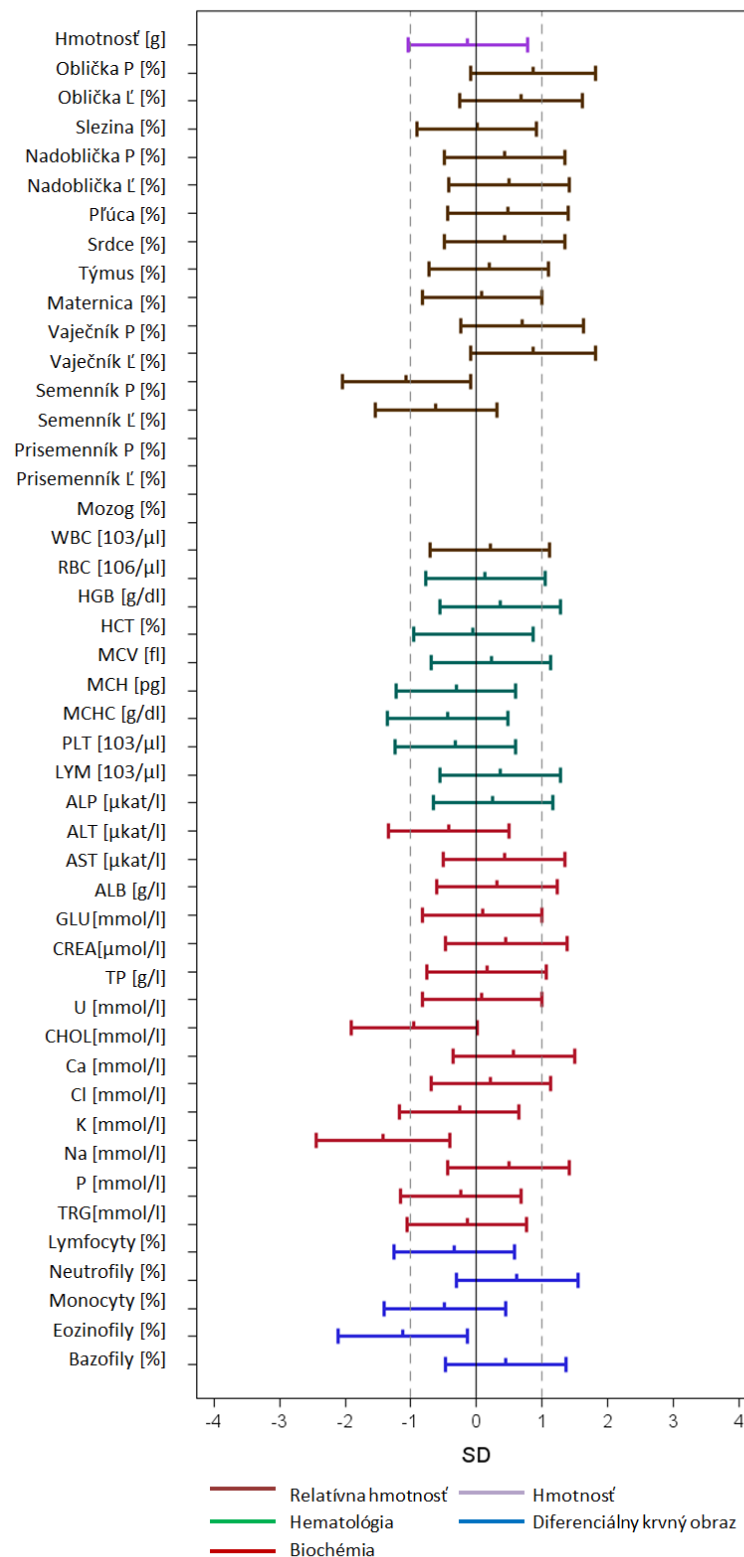
Porovnanie 33% GM skupina – kontrola,
Samice ♀, po 12 mesiacoch



Zdroj: Zeljenková a kol., 2016

PRÍLOHA F

Porovnanie Konvenčná 2 – kontrola,
Samice ♀, po 12 mesiacoch



Zdroj: Zeljenková a kol., 2016