



INFORME DE LA COMISIÓN NACIONAL DE BIOSEGURIDAD RESPECTO A LOS ESTUDIOS DE TOXICIDAD NECESARIOS PARA EVENTOS DE TRANSFORMACIÓN APILADOS DE PLANTAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE

Introducción

En 2013, entró en vigor el Reglamento de Ejecución (UE) nº 503/2013 de la Comisión, relativo a las solicitudes de autorización de alimentos y piensos modificados genéticamente de conformidad con el Reglamento (CE) Nº 1829/2003 sobre alimentos y piensos modificados genéticamente (MG). Conforme a este Reglamento, cuando se presenta una nueva solicitud para comercializar un alimento o pienso MG o productos derivados de éstos, se exige una determinada información científica y ensayos que tiene que aportar el solicitante para evaluar los riesgos.

El Reglamento (UE) Nº 1829/2003, sobre alimentos y piensos modificados genéticamente, establece una diferenciación entre los alimentos y piensos que sean iguales a sus homólogos convencionales, excluyendo los rasgos derivados de la modificación genética intencionada, y los que no. Esta diferencia se refiere a la composición, el valor o los efectos nutricionales, el uso al que están destinados o los efectos sobre la salud de determinados sectores de la población, así como cualquier característica o propiedad que genere inquietudes de orden ético o religioso. Al valorar esta diferencia, deben tenerse en cuenta las tolerancias aplicadas a las variaciones naturales de sus características, y en caso de existir tales diferencias, debe llevarse a cabo la evaluación del riesgo de las mismas, y señalarse en el etiquetado del alimento modificado genéticamente.

El Reglamento de Ejecución (UE) nº 503/2013 establece en la actualidad la obligatoriedad de los estudios de toxicidad oral de 90 días en animales de experimentación en el proceso de evaluación del riesgo de plantas modificadas genéticamente con eventos simples de transformación. Sin embargo, en el caso de **eventos apilados, la obligatoriedad de los requisitos depende de su valoración “caso por caso” y de los resultados de algunos ensayos previos realizados.**

En general, todos los estudios toxicológicos deben realizarse con arreglo a los principios de calidad establecidos en la Directiva 2004/10/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 11 de febrero de 2004, sobre la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas relativas a la aplicación de los principios de buenas prácticas de laboratorio y al control de su aplicación para las pruebas sobre las sustancias químicas. Si tales estudios se realizan fuera de la Unión Europea deben seguir los principios más avanzados de la OCDE sobre buenas prácticas de laboratorio (BPL).

I) Reglamento (UE) Nº 503/2013: requisitos relacionados con la evaluación de la toxicidad para eventos apilados

El Reglamento (UE) Nº 503/2013 establece en el Anexo I, Parte II, sobre la Información Científica, los requisitos científicos que deben aportarse en la solicitud y que deberán proporcionarse todos a excepción de que dichos requisitos no estén justificados por el ámbito de aplicación de la solicitud.

En lo que respecta a la Toxicología, en el apartado 1.4., se indica que:

Se evaluará el impacto toxicológico de todos los cambios en los alimentos y piensos enteros modificados genéticamente que sean resultantes de la modificación genética, como la introducción de



nuevos genes, el silenciamiento génico o la sobreexpresión de un gen endógeno. La evaluación toxicológica se realizará con objeto de:

- a) demostrar que el efecto o los efectos intencionales de la modificación genética no tienen efectos perjudiciales en la salud humana y animal;
- b) demostrar que el efecto o efectos no intencionales de la modificación o modificaciones genéticas que se han identificado o que se supone que han surgido basándose en los análisis comparativos moleculares, composicionales o fenotípicos anteriores no tienen efectos perjudiciales sobre la salud humana y animal;
- c) identificar los efectos perjudiciales potenciales de los nuevos componentes y determinar la dosis máxima que no da lugar a dichos efectos; a partir de datos obtenidos de un estudio adecuado con animales, puede deducirse una ingesta diaria admisible (IDA) de compuestos únicos para las personas, utilizando factores de incertidumbre o de seguridad que tengan en cuenta las diferencias entre los ensayos con especies animales y con personas, así como las variaciones individuales entre las personas;
- d) identificar los efectos perjudiciales potenciales en los alimentos y piensos enteros modificados genéticamente o abordar las incertidumbres que sigan existiendo mediante la realización de estudios de alimentación de noventa días de duración en roedores.

El solicitante deberá considerar la naturaleza de los ensayos toxicológicos que deban realizarse sobre los nuevos componentes y los alimentos y piensos enteros modificados genéticamente, basándose en el resultado de los análisis moleculares y comparativos.

(...)

Deberán proporcionarse estudios toxicológicos con los productos elaborados, salvo si el solicitante proporciona una determinación del riesgo de la PMG (o de partes pertinentes de la misma) que demuestre su inocuidad y si no hay indicios de que los alimentos y piensos modificados genéticamente difieren de su homólogo convencional. El solicitante deberá proporcionar una justificación adecuada al respecto.

(...)

Para llevar a cabo la evaluación toxicológica en general, se deberá aportar información sobre los ensayos de proteínas de nueva expresión, los ensayos de nuevos componentes distintos de las proteínas, los componentes naturales de los alimentos y piensos, los ensayos del alimento o pienso entero modificado genéticamente (estudios de alimentación de noventa días de duración en roedores, estudios con animales en relación con la toxicidad reproductiva, del desarrollo o crónica y otros estudios con animales para examinar la inocuidad y las características de los alimentos y piensos modificados genéticamente) y las conclusiones de la evaluación toxicológica.

1. Ensayos de proteínas de nueva expresión

Los estudios necesarios para investigar la posible toxicidad de una proteína de nueva expresión deberán seleccionarse “caso por caso”, en función de los conocimientos disponibles sobre el origen, la función o la actividad de la proteína, así como sobre el historial de consumo humano o animal (...).



El reglamento establece que se debe aportar información sobre la caracterización molecular y bioquímica de la proteína de nueva expresión, que incluya la determinación de la estructura primaria, el peso molecular, modificaciones post-traduccionales y descripción de su función. Así mismo, se debe realizar una búsqueda actualizada de homología con proteínas de las que consta que causan efectos perjudiciales, una descripción de la estabilidad de la proteína en las condiciones pertinentes de elaboración y almacenamiento, así como con el tratamiento previsto de los alimentos y piensos, y se debe aportar datos sobre la resistencia de la proteína a las enzimas proteolíticas (como la pepsina), caracterizando y evaluando si la actividad biológica de los productos de degradación pueden causar efectos perjudiciales para la salud.

Asimismo, se realizará un estudio de toxicidad oral con roedores, con dosis repetidas durante veintiocho días y, en función del resultado, se realizarán otros ensayos específicos, incluido un análisis de inmunotoxicidad.

Los ensayos de toxicidad aguda de las proteínas de nueva expresión de las plantas modificadas genéticamente tienen poco valor añadido para la determinación del riesgo (...).

Cuando la modificación genética dé lugar a la expresión de dos o más proteínas en la PMG o cuando, basándose en conocimientos científicos, se determine la posibilidad de interacciones sinérgicas o antagónicas, se deberán realizar estudios con una administración combinada de las proteínas.

En caso de que el historial de utilización segura para su consumo como alimento y/o pienso tanto de la planta como de las proteínas de nueva expresión esté debidamente documentado, no será necesario realizar los ensayos de toxicidad específicos establecidos en esta sección. En tal caso, el solicitante deberá facilitar la información necesaria sobre el historial de utilización segura de las proteínas.

(...).

2. Información sobre la alteración de los niveles de los componentes de los alimentos y piensos

Se debe demostrar la seguridad de la alteración, intencionada o no, producida por la modificación genética en los niveles de los componentes de los alimentos y piensos, como los macronutrientes y micronutrientes, los antinutrientes y las toxinas naturales, así como de otros metabolitos vegetales secundarios. El solicitante debe presentar una determinación del riesgo detallada basada en el conocimiento de la función fisiológica y/o las propiedades tóxicas de estos componentes.

El resultado de dicha determinación del riesgo debe establecer si el solicitante deberá presentar, y en qué medida, ensayos toxicológicos además del estudio de alimentación de noventa días de duración en roedores con alimentos y piensos enteros modificados genéticamente, sobre componentes seleccionados de los alimentos y piensos.

(...).

3. Ensayo del alimento o pienso entero modificado genéticamente

El solicitante debe basar principalmente su determinación del riesgo del alimento o pienso modificado genéticamente en la caracterización molecular, y en el análisis comparativo agronómico, fenotípico y de la composición global, así como en la evaluación toxicológica de los efectos intencionales y no intencionales identificados, lo que incluye un estudio de alimentación de noventa días de duración en roedores, con alimentos o piensos enteros modificados genéticamente, como se especifica en el punto 1.4.4.1.



En las circunstancias expuestas en los puntos 1.4.4.2 y 1.4.4.3 de la presente sección, se realizarán estudios toxicológicos específicos adicionales con el alimento o pienso entero modificado genéticamente (...).

En el Anexo II, Apartado 2., sub-apartado 2.2. sobre: “Consideraciones específicas para eventos apilados”, se indica que para la determinación del riesgo de los alimentos y piensos modificados genéticamente que contienen eventos de transformación apilados obtenidos mediante la hibridación convencional de PMG con uno o varios eventos de transformación, el solicitante deberá facilitar la determinación del riesgo de cada evento de transformación único o hará referencia a solicitudes ya presentadas. La determinación del riesgo **incluirá una evaluación de:**

- a) la estabilidad de los eventos de transformación;**
- b) la expresión de los eventos de transformación, y,**
- c) los posibles efectos sinérgicos o antagonistas resultantes de la combinación de los eventos de transformación.**

Igualmente, se debe incluir **un estudio de alimentación de noventa días de duración en roedores**, con alimentos y piensos enteros, cuando los alimentos y piensos estén compuestos por o se hayan producido a partir de PMG **con eventos de transformación apilados no obtenidos mediante hibridación convencional** de PMG que contengan un evento de transformación único.

Sin embargo, en el caso de **eventos de transformación apilados obtenidos mediante hibridación convencional** de PMG que contengan uno o varios eventos de transformación, se incluirá un estudio de alimentación de noventa días de duración en roedores, con alimentos y piensos enteros, para cada PMG con el evento de transformación único que se haya utilizado.

En el caso de que se identifiquen indicios de posibles efectos perjudiciales durante la evaluación de la estabilidad de los insertos, la expresión de los insertos, y los posibles efectos sinérgicos o antagónicos resultantes de la combinación de los eventos de transformación, se incluirá otro estudio de alimentación de noventa días de duración en roedores, con alimentos y piensos enteros, obtenidos de la planta modificada genéticamente con los eventos de transformación apilados.

Para los alimentos y piensos modificados genéticamente que contengan, estén compuestos por o se hayan producido a partir de plantas modificadas genéticamente cuyo cultivo esté asociado a la producción de material modificado genéticamente que contenga varias subcombinaciones de eventos de transformación (cultivos segregados), la solicitud incluirá todas las subcombinaciones, independientemente de cuál sea su origen, que aún no hayan sido autorizadas. En tal caso, el solicitante aportará una justificación científica de que no es necesario aportar datos experimentales obtenidos para las subcombinaciones de que se trate, o, a falta de tal justificación científica, proporcionará los datos experimentales (...).

Para los alimentos y piensos modificados genéticamente que contengan, estén compuestos por o se hayan producido a partir de plantas modificadas genéticamente cuyo cultivo no dé lugar a la producción de material modificado genéticamente que contenga varias combinaciones de eventos de transformación (cultivos no segregados), la solicitud deberá abarcar únicamente la combinación que vaya a comercializarse (...).

Estas normas se aplicarán, mutatis mutandis, a eventos de transformación que se combinen por otros medios, como la cotransformación y la retransformación.



En conclusión:

- 1) Se realizará un estudio de toxicidad oral de 28 (sub-agudo) en roedores cuando no se disponga de un **historial de uso seguro¹ de la proteína**.
- 2) Se debe realizar un **estudio toxicidad oral de 90 días (sub-crónico) en roedores** con el **alimento y/o pienso**:
 - a. Con cada evento único.
 - b. **Con eventos apilados** cuando no han sido obtenidos por cruce convencional.
 - c. **Con eventos apilados** obtenidos por cruce convencional siempre y cuando haya indicios de riesgos (inestabilidad genética o cambios de expresión de los insertos, posibles efectos sinérgicos o antagónicos, o cuando se alteran los niveles de los componentes de los alimentos y/o piensos).
- 3) En **el alimento elaborado**, si la planta difiere de su homólogo convencional y cuando la modificación genética de lugar a una alteración en los componentes de los alimentos y piensos que van más allá de la variación natural. Para demostrar la seguridad de la alteración el solicitante deberá presentar una determinación del riesgo basada en la función fisiológica y propiedades tóxicas de estos componentes y en base a esa determinación se valorará en qué medida se presentan estudios toxicológicos, además del estudio de 90 días.
- 4) **Los ensayos toxicológicos con eventos apilados obtenidos por cruce convencional se realizarán o no basándose en los resultado de los análisis moleculares y comparativos previamente realizados.**

II. Guía de EFSA sobre la evaluación del riesgo de alimentos y piensos de plantas modificadas genéticamente

El panel de OMG de la EFSA publicó una Guía revisada para la evaluación de alimentos modificados genéticamente derivados de PMG en el año 2011 (*EFSA Journal 2011; 9(5):2150*). La evaluación a seguir se basa en un proceso de análisis comparativo entre la PMG y su homólogo convencional².

La hipótesis subyacente del enfoque comparativo es que los cultivos tradicionales disponen ya de un historial de uso seguro para los consumidores y/o animales. Este enfoque permite sustentar la importancia de los posibles riesgos planteados por una PMG y los alimentos y productos derivados en el contexto de los planteados por su comparador, al evaluar si las propiedades modificadas intencionalmente y no intencionalmente de la PMG alteran el nivel de riesgo o se producen riesgos adicionales (Kok and Kuiper, 2003). La relevancia de los cambios observados, intencionados y no intencionados, para la salud humana y animal se evalúa más a fondo investigando las propiedades toxicológicas, alergénicas y nutricionales de la PMG.

¹ Historial de uso alimentario seguro en un tercer país:

Definición: que la seguridad del alimento en cuestión se ha confirmado con datos sobre su composición y a partir de la experiencia de uso continuo **durante al menos veinticinco años** dentro de la dieta habitual de un número significativo de personas en al menos un tercer país, antes de la notificación contemplada en el artículo 14 (Reglamento (UE) n° 2015/2283 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 25 de noviembre de 2015, relativo a los nuevos alimentos).

² Homólogo convencional: un alimento o pienso similar al producido sin la ayuda de modificación genética y para el cual hay un historial ya establecido de uso seguro.



Para dicho análisis comparativo se utilizan, simultáneamente, dos pruebas complementarias (van der Voet *et al.*, 2011):

- 1) Prueba de diferencia: para evaluar si la PMG, aparte de las modificaciones genéticas introducidas, es diferente de su comparador y tiene el potencial de causar efectos adversos.
- 2) Prueba de equivalencia: se utiliza en la evaluación de riesgos para evaluar si las características agronómicas, fenotípicas y de composición de la PMG se encuentran dentro del rango de variación natural. El rango de variación natural se estima a partir del conjunto de variedades de plantas no modificadas genéticamente de referencia con un historial de uso seguro (EFSA, 2010).

Estos dos pasos son complementarios, ya que las diferencias estadísticamente significativas pueden apuntar a cambios biológicos causados por la modificación genética, pero estos pueden o no ser significativos en términos de daños a los seres humanos, los animales y el medio ambiente (EFSA, 2011f). Si una diferencia estadísticamente significativa se encuentra dentro del rango conocido para la planta, entonces puede considerarse biológicamente insignificante; de lo contrario, constituirá un cambio involuntario que requiere consideración en la evaluación del riesgo.

Las directrices actualizadas prestan especial atención al diseño y análisis estadístico de los ensayos de campo realizados para generar datos compositivos y agronómicos/fenotípicos para respaldar el análisis comparativo de PMG. Las recomendaciones proporcionadas garantizan que los futuros ensayos de campo de composición y agronómicos/fenotípicos tengan suficiente poder estadístico para detectar cambios previstos y no deseados en la PMG, y permiten una estimación fiable de la variabilidad natural.

Para respaldar la implementación del análisis estadístico de datos de composición y agronómicos/fenotípicos en línea con los requisitos establecidos en las directrices actualizadas, la EFSA encargó el desarrollo de un software fácil de usar que se puede utilizar para analizar los resultados derivados de estos datos de composición y de ensayos de campo agronómicos/fenotípicos según los requisitos de la EFSA (EFSA, 2010a).

El enfoque seguido por la EFSA en la evaluación del riesgo toxicológico de las PMG es consistente con el de los productos químicos: se caracterizan los peligros asociados con los cambios biológicamente relevantes en el organismo modificado genéticamente (OMG) y se determinan los niveles de exposición para realizar una estimación del riesgo. En las directrices se hace referencia a los protocolos acordados internacionalmente para la evaluación toxicológica de productos químicos que pueden utilizarse selectivamente para la evaluación de los OMG, centrándose en las proteínas nuevas expresadas, otros constituyentes nuevos y compuestos naturales cuyos niveles pueden haber sido alterados debido a la modificación genética (EFSA, 2011b).

Dependiendo de la evaluación de las nuevas proteínas y del resultado de la evaluación comparativa, es posible que se requieran pruebas toxicológicas adicionales de todos los alimentos y piensos MG en cada caso (EFSA 2011b). La EFSA publicó dos directrices separadas que brindan recomendaciones sobre el uso de ensayos de alimentación animal para caracterizar los peligros en la evaluación del riesgo de OMG y para detectar cualquier posible efecto toxicológico de la dieta problema en comparación con la dieta de control (EFSA, 2008), así como en el protocolo que se debe seguir cuando se va a consumir alimentos y piensos enteros.

Los requisitos en cuanto a los datos que deben suministrarse para la evaluación del riesgo serán los relativos a:

- La modificación genética y sus consecuencias;



- Las características agronómicas, morfológicas y de composición de la PMG y sus productos derivados;
- La toxicidad potencial (a largo plazo) y alergenicidad de la PMG y sus productos;
- La influencia del procesado;
- El impacto nutricional e ingesta dietética.

Para obtener material de referencia para estos estudios se realizan ensayos de campo con un diseño experimental también establecido por la EFSA (emplazamiento; duración 1 o más años; número de variedades comerciales, al menos 6 variedades comerciales en todos los sitios; etc.).

Con el material obtenido se realizan los análisis comparativos de composición, con unos límites mínimos y máximos de equivalencia, sobre el/los compuestos objetivo, los macro y micro nutrientes, las toxinas naturales, los antinutrientes y la especificidad y la sensibilidad de los métodos.

Igualmente se procede a una evaluación de un amplio espectro de compuestos para intentar detectar vías interconectadas y relaciones complejas o una mayor probabilidad de detectar efectos no deseados.

En el apartado 3.1.4. de la Guía de la EFSA se recoge los requisitos para la evaluación toxicológica de los componentes de los alimentos o piensos modificados genéticamente. El propósito de realizar estudios toxicológicos de compuestos, utilizando animales de experimentación y/o sistemas *in vitro*, es caracterizar cualquier peligro relacionado con su presencia y determinar los niveles de exposición que no produzcan efectos adversos para los seres humanos y los animales, utilizando factores de incertidumbre o de seguridad. Estos factores deben tener en cuenta las diferencias entre las especies animales experimentales y los seres humanos (Factor 10), y las variaciones entre individuos en los seres humanos (Factor 10). Este enfoque aceptado internacionalmente, es similar al aplicado para ensayar sustancias químicas en alimentos (Renwick *et al.*, 2003; Smith, 2002).

Los requisitos de información y las estrategias de ensayo para evaluar el impacto toxicológico de cualquier cambio biológicamente relevante de los alimentos completos, como puede ser la PMG y los alimentos y piensos derivados que resulten de la modificación genética, tendrán en cuenta la expresión de genes introducidos, el silenciamiento de genes o la sobreexpresión de un gen endógeno.

El solicitante debe **considerar las necesidades de pruebas toxicológicas basadas en los resultados de los análisis moleculares y comparativos**, es decir, las diferencias intencionadas y no intencionadas y/o la falta de equivalencias identificadas entre la PMG y su comparador teniendo en cuenta la variación natural. Por tanto, la evaluación del riesgo debe considerar:

1. Evaluación de las nuevas proteínas expresadas

Los estudios de alimentación requeridos para investigar la toxicidad potencial de una nueva proteína expresada deben seleccionarse caso por caso, dependiendo del conocimiento disponible con respecto a la fuente de la proteína, su función y actividad, y su historial de consumo para humanos/animales. No se requieren pruebas de toxicidad específicas en caso de que su uso adecuado y un consumo seguro como alimento y pienso y las proteínas recién expresadas estén debidamente documentados.

La proteína utilizada para los ensayos de toxicidad debe ser equivalente a la nueva proteína tal como se expresa en la PMG. Si se utiliza una proteína producida por microorganismos debido a la falta de suficiente cantidad de material para las pruebas, se debe demostrar la equivalencia estructural,



bioquímica y funcional de este sustituto microbiano de la nueva proteína vegetal. Para proporcionar la evidencia de la equivalencia sustancial se comparará el peso molecular, la secuencia de aminoácidos, la modificación postraduccional, la reactividad inmunológica y, en el caso de las enzimas, la actividad enzimática. En caso de diferencias entre la nueva proteína expresada en la planta y su sustituto microbiano, la importancia de estas diferencias debe evaluarse con respecto al impacto potencial en la seguridad.

En este sentido, para demostrar la seguridad de las proteínas recién expresadas, el solicitante debe proporcionar:

- a) Caracterización molecular y bioquímica de la proteína recién expresada, incluida la secuencia de aminoácidos, el peso molecular, las modificaciones postraduccionales y una descripción de la función. En el caso de enzimas recién expresadas, se debe proporcionar información sobre las actividades enzimáticas, incluida la temperatura y el rango de pH para una actividad óptima, especificidad de sustrato y posibles productos de reacción. Las interacciones potenciales entre las proteínas expresadas y otros componentes de la planta deben evaluarse con respecto al impacto en la seguridad.

La información que se tiene que presentar se concreta en:

i) Naturaleza y fuente de los vectores utilizados, incluidas las secuencias de nucleótidos destinadas a la inserción:

- un mapa físico de los elementos funcionales y otros componentes de plásmido/vector junto con la información relevante necesaria para la interpretación de los análisis moleculares (por ejemplo, sitios de restricción, la posición de los cebadores utilizados en la PCR, la ubicación de las sondas utilizadas en el análisis Southern). La región destinada a la inserción debe estar indicarse claramente;
- una tabla que identifique cada componente del plásmido/vector (incluida la región destinada a la inserción), su tamaño, su origen y su función prevista.

ii) Información sobre las secuencias realmente insertadas/eliminadas o modificadas:

- Tamaño y número de copia de todas las inserciones detectables, tanto completas como parciales. Esto es típicamente determinado por el análisis Southern. Las combinaciones de sonda/enzima de restricción utilizadas para este propósito deben proporcionar una cobertura completa de las secuencias que podrían insertarse en la planta huésped, como cualquier parte del plásmido/vector, o cualquier vehículo restante o ácido nucleico extraño introducido en la PGM. El análisis Southern debe abarcar todo el locus/loci transgénicos, así como las secuencias flanqueantes e incluir todos los controles apropiados;
- organización y secuencia del material genético insertado en cada sitio de inserción;
- en el caso de eliminación(es), tamaño y función de la(s) región(es) eliminada(s), siempre que sea posible;
- ubicación(es) subcelular(es) del (de los) inserto(s) (en cromosomas nucleares, plástidos o mitocondriales, o mantenidos en una forma no integrada) y métodos para su determinación;
- secuencia de información para ambas regiones flanqueantes 5' y 3' en cada sitio de inserción (ORF, Open Reading Frames³), con el objetivo de identificar interrupciones de genes conocidos. Los análisis bioinformáticos deben llevarse a cabo utilizando bases de datos actualizadas con el objetivo de realizar búsquedas de similitud dentro de las especies y entre especies. En el caso de **PGM que contienen eventos apilados**, los solicitantes deben evaluar

la seguridad de las posibles interacciones entre cualquier modificación no intencionada en cada sitio de inserción;

- Los marcos de lectura abiertos (ORF) se encuentran dentro de la inserción y abarcan los sitios de unión y deben analizarse entre los codones de parada, sin limitar sus longitudes. Deben realizarse análisis bioinformáticos para investigar posibles similitudes y diferencias con toxinas o alérgenos conocidos utilizando bases de datos actualizadas, como se describe con más detalle en la opinión científica de la EFSA sobre la evaluación de la alergenidad de plantas y microorganismos MG, y alimentos y piensos derivados (EFSA, 2010). Dependiendo de la información recopilada, se pueden necesitar análisis adicionales para completar la evaluación del riesgo.

iii) Información sobre la expresión de la secuencia insertada/modificada:

- El solicitante debe proporcionar información para demostrar si la secuencia insertada/modificada produce los cambios previstos en los niveles de proteína, ARN y/o metabolitos. En muchos casos, la modificación genética prevista conducirá a la expresión de nuevas proteínas, por lo que los datos de dicha expresión serán los más relevantes. En otros casos (por ejemplo, en el silenciamiento o cuando las vías bioquímicas se han modificado intencionalmente), el análisis de ARN(s) específico(s) o metabolito(s) puede ser el más informativo.
- Los datos deben derivarse de plantas cultivadas en condiciones representativas de las prácticas de cultivo típicas y los conjuntos de datos deben proporcionarse a partir de plantas cultivadas en el campo. Dichos datos deben obtenerse de las partes de la planta relevantes para el alcance de la solicitud. El requisito mínimo es que provengan de tres sitios en cultivo o de un sitio durante tres temporadas. Las permutaciones de los sitios y las estaciones son aceptables siempre que se cumpla con el requisito mínimo. El solicitante deberá presentar la siguiente información: Métodos utilizados y conjuntos de datos en bruto. Debe demostrarse la especificidad del método de análisis de proteínas; el inserto codifica nueva(s) proteína(s), el rango y los valores medios para los niveles de la proteína(s) recién producida(s). En casos específicos, se proporcionarán niveles de los ARN(s), proteína(s) o metabolito(s) relevantes:
 - **Para las PGM que contienen eventos apilados** para alimentos, piensos, importación y procesado, el objetivo principal del análisis es evaluar el potencial de cualquier interacción entre los eventos que pueda generar preocupación para la seguridad. Si las proteínas expresadas están presentes en la PGM, se deben comparar sus niveles, en los mismos ensayos de campo, con los niveles en cualquier conjunto de PGM que hayan sido evaluadas y que incluyan entre ellas todos los eventos apilados en el PGM bajo evaluación, y no otras. Este conjunto de PGM puede incluir líneas MG parentales, si se evaluó previamente el riesgo, o plantas MG que contienen los eventos únicos en caso de que la línea(s) MG parental no haya sido evaluada.
 - **Los datos de expresión para tratamientos específicos relacionados con el rasgo(s) (por ejemplo, el uso de herbicidas), solo son necesarios si los datos obtenidos de las PGM que contienen los eventos individuales respectivos indican un posible problema de seguridad.** Para expedientes de PGM que contienen eventos individuales o apilados, y que incluye el cultivo en el alcance, se deben cumplir los requisitos anteriores para alimentos, piensos, importación y procesado (incluido el diseño de prueba de campo). Según el rasgo y el alcance de la solicitud, también se puede requerir información para la evaluación de los impactos en los organismos objetivo y no objetivo. En tales casos, se requiere información sobre la expresión en varias partes de la planta durante la temporada de crecimiento (EFSA, 2010a). Los datos deben derivarse de plantas cultivadas en condiciones representativas de prácticas de cultivo típicas en Europa.

iv) Estabilidad genética de la secuencia insertada/modificada y estabilidad fenotípica de la PMG:

Se debe proporcionar información para demostrar la estabilidad genética del locus transgénico (loci) y la estabilidad fenotípica y los patrones de herencia mendeliana de la(s) característica(s) introducida(s). En el caso de **PMG que contienen eventos apilados**, el solicitante debe establecer que la integridad de los eventos se mantiene en la PMG.



- b) Búsqueda actualizada de homología con proteínas que se sabe que causan efectos adversos (proteínas tóxicas o alergénicas). Una búsqueda de homología con proteínas que ejercen una función metabólica o estructural normal también puede aportar información valiosa. Deben especificarse la base(s) de datos y la metodología utilizada para llevar a cabo dicha revisión sistemática.
- c) Información sobre la estabilidad de la proteína en las condiciones relevantes de procesamiento y almacenamiento de los alimentos y piensos derivados de la PMG. Se deben examinar las influencias de los cambios de temperatura y pH. Deben caracterizarse las modificaciones potenciales de las proteínas (por ejemplo, la desnaturalización) y/o la producción de fragmentos de proteínas estables generados a través del procesamiento y almacenamiento;
- d) Datos relativos a la resistencia de la proteína recién expresada a enzimas proteolíticas (p. e. pepsina), por ejemplo mediante investigaciones *in vitro* utilizando pruebas apropiadas y estandarizadas. Los productos de descomposición estable deben caracterizarse y evaluarse con respecto a los riesgos potenciales asociados con su actividad biológica;
- e) Estudios de toxicidad con dosis repetidas en animales de laboratorio, a menos que se pueda proporcionar información fiable que demuestre la seguridad de la proteína recién expresada (incluido su modo de acción), y se demuestre que la proteína no está relacionada estructural y funcionalmente con proteínas con efectos adversos en los humanos o animales. El estudio de toxicidad oral de 28 días con dosis repetidas en roedores con la nueva proteína expresada debe realizarse de acuerdo con la directriz 407 de la OCDE. Dependiendo del resultado del estudio de toxicidad de 28 días, pueden requerirse ensayos específicos.

Si existe la posibilidad de interacciones sinérgicas o antagónicas entre dos o más proteínas expresadas que puedan afectar la seguridad, el solicitante debe realizar estudios adicionales con la administración combinada de estas proteínas.

La prueba de toxicidad aguda de las nuevas proteínas expresadas tiene poco valor adicional para la evaluación del riesgo del consumo repetido humano y animal de alimentos y piensos derivados de PMG y, por lo tanto, no se recomienda.

2. Evaluación de nuevos constituyentes distintos a las proteínas.

El solicitante debe proporcionar una evaluación de seguridad de los nuevos constituyentes identificados. Esta evaluación debe incluir una evaluación del potencial tóxico, y puede requerir pruebas toxicológicas tal y como se describe en la Guía para la evaluación de los riesgos de aditivos alimentarios en alimentos y piensos de PMG del Comité Científico de Alimentos (SCF, 2001) y en el Reglamento (CE) n° 429/2008 de la Comisión, de 25 de abril de 2008, sobre normas detalladas para la aplicación del Reglamento (CE) n° 1831/2003 (CE, 2008) para la preparación y presentación de solicitudes, la evaluación y la autorización de aditivos en piensos. Si existe un historial documentado de uso y consumo seguro como alimento y/o piensos para los nuevos componentes, no se necesitan pruebas toxicológicas adicionales.

3. Evaluación de los niveles alterados de los alimentos y componentes de los piensos

Si la modificación genética cambia intencional o involuntariamente el contenido en los alimentos y los componentes de los piensos, como los macro y micronutrientes, antinutrientes, toxinas naturales y



otros metabolitos de las plantas, más allá de los niveles esperados para el homólogo convencional, el solicitante debe realizar una evaluación de riesgos basada en el conocimiento de la función fisiológica y/o propiedades tóxicas de estos constituyentes, así como los cambios anticipados en los niveles de ingesta. El resultado de esta evaluación determinaría si, y en qué medida, se requieren pruebas toxicológicas.

4. Evaluación de los alimentos y/o piensos completos derivados de PMG

En general y para eventos simples, si la composición del alimento y/o pienso derivado de la PMG se modifica sustancialmente, o si hay alguna indicación de la posible aparición de efectos no intencionados basados en los análisis moleculares, de composición o fenotípicos anteriores, no solo los nuevos constituyentes, sino también la totalidad de los alimentos y piensos derivados de la PMG deben ser testados. En tal caso, el programa de ensayos **debe incluir un estudio de toxicidad oral de 90 días de duración en roedores**.

En cualquier caso estos estudios se realizarán “caso por caso”, según un enfoque basado en la evidencia científica y no por rutina.

Diseño y rendimiento del estudio de alimentación de 90 días en roedores

El diseño del estudio de toxicidad con alimentos completos y piensos derivados de una PMG debe realizarse de acuerdo con los principios de la [directriz 408 de la OCDE](#) siguiendo un protocolo adaptado. Normalmente se utilizan un mínimo de dos dosis de prueba y un control negativo. La dosis más alta debe ser la máxima alcanzable sin causar desequilibrio nutricional; la dosis más baja debe contener los alimentos y/o piensos probados en una cantidad al menos equivalente a la consumida por humanos o animales. Se recomienda que, siempre que sea posible, la información sobre la variación natural de los parámetros se derive de datos de antecedentes históricos en lugar de la inclusión de variedades de referencia, que consiste en alimentos disponibles comercialmente y piensos derivados de plantas no modificadas genéticamente con un historial de uso seguro. El análisis estadístico debe centrarse en la detección de posibles diferencias entre el material de ensayo y su control. La discusión detallada está disponible en la opinión del Comité Científico de la EFSA sobre el protocolo de ensayo alimentación de 90 días (EFSA, 2011b). Dependiendo del resultado de estos estudios, pueden ser necesarios más estudios de toxicidad (por ejemplo, estudios sobre efectos reproductivos/de desarrollo, y toxicidad crónica).

Respecto a la evaluación de riesgos de PMG que contienen eventos apilados, en el punto 2.3.1. de la Guía de la EFSA se indica que se requiere la evaluación de riesgos de las PMG que contienen los eventos únicos.

Para las PMG que contienen eventos apilados, la principal preocupación para la evaluación de riesgos es establecer que la combinación de eventos es estable y que no se producen interacciones entre ellos, lo que puede generar problemas de seguridad en comparación con los eventos individuales. **En este caso la evaluación de riesgos para eventos apilados se centra en temas relacionados con: a) estabilidad de los insertos; b) expresión de los genes introducidos y sus productos; y c) Efectos sinérgicos o antagónicos potenciales resultantes de la combinación de los eventos.**

Se debe demostrar la estabilidad genética y fenotípica del locus transgénico (o loci) y los patrones de herencia mendeliana de la(s) característica(s) introducida(s). El solicitante debe establecer que la integridad de los eventos se mantiene. La estructura de las inserciones debe compararse con la estructura de las mismas tal y como está en los eventos individuales correspondientes. Dicha comparación debe realizarse utilizando materiales vegetales representativos de los destinados a la producción comercial y se debe proporcionar una justificación adecuada sobre el material vegetal



utilizado. Así mismo, se debe considerar las implicaciones de seguridad por la pérdida de la función de genes específicos, por la inserción en la planta de los casetes de expresión de múltiples genes.

Además debe proporcionar datos correspondientes a cinco generaciones o ciclos vegetativos, especificando la fuente del material, el diseño de muestreo y el número de plantas utilizadas para el análisis. Al analizar los patrones de herencia, se deben aplicar métodos estadísticos apropiados.

Se deben considerar las pruebas toxicológicas del alimento completo y/o el pienso derivado de la PMG cuando haya indicios de posibles interacciones entre los eventos apilados dentro de la PMG.

Dichos indicios se pueden obtener a partir del resultado de la caracterización molecular y del conocimiento del modo de acción de las proteínas recién expresadas y, posiblemente, de la caracterización de la composición de la PMG que contiene eventos apilados.

Si las proteínas expresadas están presentes en la PMG, se deben comparar sus niveles, en los mismos ensayos de campo, con los niveles en cualquier conjunto de PMG que hayan sido evaluadas y que incluyan entre ellas todos los eventos apilados en el PMG bajo evaluación, y no otras. Este conjunto de PMG puede incluir líneas MG parentales, si se evaluó previamente el riesgo, o PMG que contienen los eventos únicos en caso de que la línea(s) MG parental no haya sido evaluada. Los datos de expresión para tratamientos específicos relacionados con el rasgo(s) (por ejemplo, el uso de herbicidas), solo son necesarios si los datos obtenidos de las PMG que contienen los eventos individuales respectivos indican un posible problema de seguridad. Además, si incluye el cultivo en el alcance, también se puede requerir información para la evaluación de los impactos en los organismos objetivo y no objetivo. En tales casos, se requiere información sobre la expresión en varias partes de la planta durante la temporada de crecimiento (EFSA, 2010a). Los datos deben derivarse de plantas cultivadas en condiciones representativas de prácticas de cultivo típicas en Europa.

Dependiendo del resultado de este análisis, se puede requerir información toxicológica y nutricional adicional. La evaluación de riesgos de una PMG que contiene eventos apilados debe abordar todas las sub-combinaciones que ocurren por segregación natural de la PMG. Siempre que sea relevante, también se deben evaluar las sub-combinaciones producidas por los enfoques de reproducción selectiva, que pueden combinar cualquiera de los eventos en todas las permutaciones posibles. La evaluación del riesgo de estas sub-combinaciones debe tener en cuenta los diferentes niveles de exposición cubiertos por el alcance de la aplicación. Los solicitantes deben proporcionar datos apropiados para permitir la evaluación de riesgos de las sub-combinaciones.

Finalmente en la guía de la EFSA se recoge que:

- La estrategia de evaluación comparativa de los riesgos de los alimentos/piensos derivados de PMG desarrollada por la EFSA es sólida y garantiza un alto nivel de seguridad para los consumidores y los animales.
- La caracterización molecular, el análisis de composición y el historial de uso (seguro) de alimentos/piensos MG son elementos clave para determinar el desempeño de la evaluación de riesgo toxicológico.
- La realización de ensayos de alimentación animal con alimentos/piensos MG completos pueden considerarse siempre en base a una evidencia científica pero no de manera rutinaria.

Tanto en el Reglamento (UE) n° 503/2013 como en la guía de la EFSA la determinación del riesgo de los alimentos y piensos MG que consisten o se obtienen a partir de PMG con eventos de transformación apilados, incluirá una evaluación de la estabilidad de los eventos apilados, la



expresión de dichos eventos y de los posibles efectos sinérgicos o antagonistas resultantes de su combinación.

a) Estabilidad de los eventos de transformación:

La inclusión de este aspecto en la evaluación de la seguridad de los eventos de transformación apilados refleja la preocupación de que la estabilidad del inserto estaría en mayor riesgo al cruzar variedades de PMG en comparación con la estabilidad genética en cruzamientos de variedades convencionales o al cruzar una variedad MG con una variedad convencional. Se considera que tales preocupaciones son infundadas ya que en los tres tipos de cruces de plantas puede haber cambios a nivel genético, pero no hay evidencias en las evaluaciones de seguridad llevadas a cabo hasta el momento de que la estabilidad genética sea diferente en el caso de eventos apilados MG (Kok *et al.*, 2014).

b) Expresión de los eventos de transformación:

Este requisito supone que la expresión génica puede cambiar con más frecuencia y/o en mayor medida en el caso de un evento apilado en comparación con cualquier otro tipo de cruce. Está bien establecido que el fondo genómico de una planta puede influir en los niveles de expresión de los genes, incluidos los genes recién introducidos en el caso de las variedades de PMG. De manera similar, es bien sabido que después de la aprobación de un evento único, la reproducción tradicional posterior con la línea MG puede llevar a niveles de expresión de genes insertados que pueden diferir considerablemente de los niveles de expresión del evento inicialmente autorizado. Sin embargo, no existe una base científica para suponer que los cambios en los niveles de expresión en un evento apilado son de alguna manera diferentes a los de cualquier otro tipo de cruce. Esto incluye la frecuencia con la que pueden ocurrir estos cambios (Kok *et al.*, 2014).

Además, las mutaciones en el genoma de una planta ocurren naturalmente, como resultado de elementos genéticos transponibles, errores en la duplicación normal del ADN o inducidos por factores externos, como radiación UV, químicos o infecciones virales o bacterianas. Dichas mutaciones también pueden alterar la expresión de los genes, incluidos los insertados en la PMG. Adicionalmente, las condiciones ambientales (por ejemplo, las condiciones del suelo o del clima) influirán enormemente en los niveles de expresión de muchas rutas metabólicas de las plantas (Chen. W. *et al.*, 2002; Ni, F-T. *et al.*, 2009). Por lo tanto, se deberá asumir implícitamente en la evaluación de riesgo de cualquier evento único que los niveles de expresión génica podrían fluctuar considerablemente durante los procedimientos de reproducción, producción de semillas y el cultivo, que pueden tener lugar después de que se haya otorgado la autorización, incluyendo implícitamente la variabilidad en la expresión de los genes introducidos.

c) Posibles efectos sinérgicos o antagonistas resultantes de la combinación de los eventos de transformación.

El último aspecto se relaciona con los posibles efectos sinérgicos o antagónicos que pueden ocurrir en plantas con eventos apilados, es decir, la interacción entre las dos o más modificaciones genéticas y los nuevos productos genéticos expresados o los componentes alterados que resulten de estas modificaciones.

La interacción entre los componentes de la PMG puede tener lugar en dos niveles diferentes. El primer nivel es entre los componentes de la PMG, donde la interacción es causada por la presencia al mismo tiempo de dos o más nuevos productos génicos expresados, por ejemplo, proteínas, o de dos o más componentes alterados en el alimento o pienso. Un posible problema de seguridad podría ser un efecto combinado o una interacción, más allá de lo esperado, en relación con el consumo de los



productos o componentes genéticos individuales. Sin embargo, este riesgo potencial no se limita al evento apilado, sino que también es factible cuando los eventos únicos ya se hayan aprobado y se consumen simultáneamente. Dado que se espera que las interacciones previstas con los alimentos/piensos que se quieran comercializar son evaluados por la EFSA, la evaluación de las interacciones a nivel de alimentos/piensos para eventos apilados puede considerarse como una duplicación de la evaluación del evento único, sin valor adicional en términos de seguridad de alimentos y piensos. Además, el mismo fenómeno de interacción entre productos genéticos y/o componentes de plantas no es único para las PMG y puede ocurrir en cualquier mezcla nueva en alimentos o piensos derivados de dos variedades de plantas convencionales.

El segundo nivel donde puede tener lugar la interacción es a nivel de las células vivas de la planta con eventos apilados. Aquí, la interacción se debe a alguna acción común en la célula, por ejemplo, cuando los nuevos productos genéticos de las PMG están interfiriendo o actuando por la misma vía y, por lo tanto, cambian el nivel de los componentes celulares o incluso dan lugar a nuevos componentes. Esta interacción es una de las muchas nuevas interacciones dentro de las células vegetales que pueden ocurrir con cualquier nuevo cruzamiento y por lo tanto, este tipo de peligro no es de ninguna manera, exclusivo para eventos apilados. Como consecuencia, no hay razón para evaluar por separado y específicamente esta interacción específica para estos eventos apilados cuando estas interacciones pueden ser y han sido implícitamente parte de la evaluación de seguridad de los eventos individuales anteriores. La interacción de los nuevos productos genéticos expresados con una ruta metabólica en eventos apilados es parte del conjunto limitado de interacciones que, hasta cierto punto, se pueden prever y evaluar de antemano, cuando se evalúa la introducción en el mercado de los eventos individuales. (Por ejemplo, evaluación de las interacciones en la vía del ácido oleico en el caso de una soja MG con alto contenido de ácido oleico).

En definitiva, no hay razón para que las interacciones de las variedades de PMG en general requieran atención adicional. Desde la experiencia hasta el momento en la evaluación de muchas notificaciones diferentes, no ha habido indicios que justifiquen una atención específica para los cruzamientos de variedades de PMG con relación a las nuevas interacciones que se pueden producir en una variedad de evento único de PMG (Kok *et al.*, 2014).

Discusión

La evaluación del riesgo de las plantas modificadas genéticamente es objeto de discusión en el ámbito científico. Se cuestiona la validez y utilidad de los estudios toxicológicos para valorar el riesgo que pueden representar para la salud humana la introducción o eliminación de rasgos a través de modificación genética que vayan más allá de lo que resulta de la variabilidad natural. Sin embargo, no se han desarrollado alternativas suficientemente fiables.

Las incertidumbres actuales respecto a la necesidad y el diseño de ensayos de alimentación de noventa días de duración se abordaron en un gran proyecto de investigación en el marco del programa de trabajo para 2012 del tema 2, «Agricultura y pesca, alimentos y biotecnología», del VII Programa Marco de Investigación.

En conjunto, los datos obtenidos de los proyectos GRACE y G-Twist apoyan el razonamiento científico de que, **solo en caso** de que se haya identificado algún indicio durante los análisis previos moleculares, de composición, fenotípicos y/o agronómicos, estos ensayos de alimentación con alimentos/piensos completos pueden proporcionar un valor científico añadido.



El considerable número de animales sacrificados en el curso de estos estudios y la sensibilidad limitada de las pruebas se confrontan con el principio de las tres R (3R) y el objetivo de reducir los ensayos en animales promovidos por la CE (Directiva 2010/63/UE sobre la protección de los animales utilizados con fines científicos). Debido a estas limitaciones no podría justificarse, a la luz del objetivo europeo de reemplazar las pruebas en animales y reducir el sufrimiento de los animales, la solicitud obligatoria de tales ensayos en el curso de la evaluación del riesgo de OMG.

En el meeting celebrado en 2014 “Bases genéticas de los efectos no intencionados en PMG” se concluye que no hay ningún sistema de modificación genética, incluyendo los métodos convencionales de hibridación, que no produzcan efectos no intencionados, aunque no intencionado no debe considerarse sinónimo de peligroso. Esta es la razón por la cual, en el caso de los eventos apilados, incluso en los obtenidos por hibridación convencional, es necesario asegurar a través de la metodología recogida en el Reglamento 503/2013 y en la Guía de EFSA, que la nueva PMG no tiene efectos negativos sobre la salud humana, la sanidad animal o el medioambiente, como establece el Reglamento 1829/2003. Cualquier desviación en el método o en los resultados, debe alertar al evaluador, y considerar la posibilidad de requerir pruebas adicionales.

Se concluye también que las herramientas y recursos emergentes como las redes metabólicas a escala del genoma, el modelado cuantitativo de redes y la metabolómica, pueden ayudar a evaluar los efectos de la modificación genética en el metabolismo y pueden facilitar la evaluación racional de los posibles efectos no intencionados de la modificación genética en el metabolismo. Los usos de las redes y otras tecnologías basadas en ómics aún se están evaluando y se consideran posibles medios para identificar posibles efectos no intencionados no probados por enfoques específicos. Como se discutió durante la reunión, todavía no hay acuerdo sobre si los métodos analíticos y estadísticos actualmente disponibles son suficientes para determinar si el perfil de una nueva variedad es significativamente diferente (ya sea globalmente o en el comportamiento de los puntos de datos individuales) de los de variedades existentes (Transgenic Res (2015) 24:587–603 DOI 10.1007/s11248-015-9867-7).

OPINIÓN DE LA COMISIÓN NACIONAL DE BIOSEGURIDAD

Teniendo en cuenta los requisitos que exigen las normas europeas y el Panel de expertos de EFSA, la Comisión Nacional de Bioseguridad considera que:

- Para la evaluación de los eventos apilados de PMG se deberán aplicar los principios establecidos en el Reglamento (UE) N°1829/2003, el Reglamento (UE) n° 503/2013 y en la Guía de EFSA, para asegurar que la PMG no tiene efectos negativos sobre la salud humana, la sanidad animal o el medio ambiente.
- El cruce convencional tiene un historial de uso seguro para combinar información genética para la mejora de variedades de plantas de cultivo. La seguridad para los humanos, los animales y el medio ambiente de las plantas así obtenidas se basa en la premisa subyacente de que es poco probable que las variedades generadas, a partir de variedades de cultivos existentes con un historial de uso seguro, produzcan efectos no deseados.
- Los mismos principios se deberían aplicar para las plantas obtenidas mediante el cruce convencional de PMG portadoras de un evento único, siempre y cuando de la evaluación del riesgo de dichos eventos únicos se haya demostrado su seguridad y que al combinarse a través del cruce convencional sea poco probable que las proteínas expresadas interactúen de una manera que afecte



a la seguridad. Como resultado, las evaluaciones de la seguridad realizadas a las PMG con eventos únicos, que se consideraron tan seguros como sus comparadores, también pueden tenerse en cuenta para predecir la seguridad de las PMG con eventos apilados. No obstante, la identificación de indicios de posibles efectos perjudiciales durante la evaluación de la estabilidad de los insertos, su expresión y los posibles efectos sinérgicos o antagónicos resultantes de la combinación de varios eventos, o una diferencia de los niveles de los componentes de alimentos y piensos con su homólogo convencional que vaya más allá de la variabilidad natural con diferencias estadísticamente significativas, deberá conducir a considerar la posibilidad de requerir pruebas adicionales.

- Las solicitudes de autorización de **eventos apilados obtenidos por cruce convencional** se evaluarán siempre y como todas las PMG, “*caso por caso*”, teniendo en cuenta las vías metabólicas que podrían verse influenciadas por la expresión de los transgenes en los eventos individuales, y si tales interacciones podrían dar como resultado cambios en la planta que podrían afectar la seguridad de los alimentos y los piensos.
- Los ensayos previos de caracterización molecular y los estudios comparativos de composición, agronómicos y fenotípicos, así como el historial de uso seguro de alimentos y piensos modificados genéticamente se consideran de importancia para la evaluación del riesgo toxicológico y constituyen una base relevante en la evaluación del riesgo de las **nuevas proteínas expresadas** para establecer:
 - la estabilidad, presencia y niveles de las mismas,
 - expresión genética, posibles interacciones y efectos sinérgicos/antagónicos entre ellas,
 - cambios en los niveles de constituyentes endógenos (más allá de las variaciones naturales),
 - presencia potencial de otros nuevos constituyentes,
 - su homología con otras proteínas tóxicas o alergénicas,
 - la estabilidad ante el procesado y las condiciones de almacenamiento, y,
 - la resistencia a las enzimas proteolíticas.
- Para los alimentos y piensos modificados genéticamente que contienen eventos de transformación apilados obtenidos mediante la hibridación convencional de PMG con uno o varios eventos de transformación, los datos de la evaluación de la estabilidad de los eventos de transformación, de la expresión de los eventos de transformación y de los posibles efectos sinérgicos o antagonistas resultantes de la combinación de los eventos de transformación, aportarán la información suficiente para determinar si son necesarios más estudios.
- Tal y como establece EFSA, en los casos en los que los estudios moleculares, agronómicos, fenotípicos y otros análisis demuestren la equivalencia entre la planta MG y sus productos derivados con su comparador convencional, excepto por el rasgo insertado y no sean indicativos de reacciones adversas no deseadas, la realización de estudios de alimentación son de poco valor para la evaluación de riesgo y no es necesario hacerlos de forma rutinaria.
- Los ensayos de toxicidad oral subcrónica (90 días de duración) con roedores para identificar los posibles efectos adversos (*end-points*) de naturaleza toxicológica, deben ser de carácter obligatorio con eventos apilados obtenidos de cruce convencional, siempre y cuando haya indicios de riesgos



(inestabilidad o cambios de expresión de los insertos o posibles efectos sinérgicos o antagónicos). De esta forma se garantiza que la realización de estos ensayos de toxicidad con roedores no se realizan de forma rutinaria.

- Se debería evitar, en la medida de lo posible, la utilización de animales de experimentación en consonancia con la Directiva 2010/63/UE y fomentar el uso de métodos alternativos validados a los estudios de toxicidad oral subcrónica (90 días de duración) en roedores, de acuerdo con el principio de las 3R (reemplazo, reducción y refinamiento).

Madrid a 18 de junio de 2019



Referencias

Chen, W. *et al.* (2002) Expression profile matrix of Arabidopsis transcription factor genes suggests their putative functions in response to environmental stresses. *Plant Cell* 14, 559–574

EFSA, 2008. Safety and nutritional assessment of GM plants and derived food and feed: The role of animal feeding trials. *Food and Chemical Toxicology*, 46, S2-S70.

EFSA, 2010. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Scientific opinion on Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. *EFSA Journal*, 8(11): 1879, 111pp.

EFSA, 2011a. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO); Scientific Opinion on Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. *EFSA Journal* 2011; 9(5): 2150. [37 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2011.2150.

EFSA, 2011b. EFSA guidance on conducting repeated-dose 90-day oral toxicity study in rodents on whole food/feed. *EFSA Journal* 2011;9(12):2438 [21 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2011.2438.

Kok EJ and Kuiper HA, 2003. Comparative safety assessment for biotech crops. *Trends Biotechnology*, 21, 439-444.

Kok *et al.*, 2014. Plants with stacked genetically modified events: to assess or not to assess? *Trends Biotechnology* 32, Issue 2, February 2014, Pages 70-73.

Ladics GS, Bartholomaeus A, Bregitzer P, Doerrner NG, Gray A, Holzhauser T, Jordan M, Keese P, Kok E, Macdonald P, Parrott W, Privalle L, Raybould A, Rhee AY, Rice E, Romeis J, Vaughn J, Wal JM, Glenn K. 2015. Genetic basis and detection of unintended effects in genetically modified crop plants. *Transgenic Research*, 24, 587–603.

Ni, F-T. *et al.* (2009) Gene expression and regulation of higher plants under soil water stress. *Curr. Genomics* 10, 269–280.

Renwick AG, Barlow SM, Hertz-Picciotto I, Boobis AR, Dybing E, Edler L, Eisenbrand G, Greig JB, Kleiner J, Lambe J, Müller DJG, Smith MR, Tritscher A, Tuijelaars S, Brandt PA, Walker R and Kroes R, 2003. Risk characterisation of chemicals in food and diet. *Food and Chemical Toxicology*, 41, 1211-1271.

Smith M, 2002. Food Safety in Europe (FOSIE): risk assessment of chemicals in food and diet: overall introduction. *Food and Chemical Toxicology*, 40, 141-144.

van der Voet H, Perry J, Amzal B and Paoletti C, 2011. A statistical assessment of differences and equivalences between genetically modified and reference plant varieties. *BMC Biotechnology*, 11, 15.