

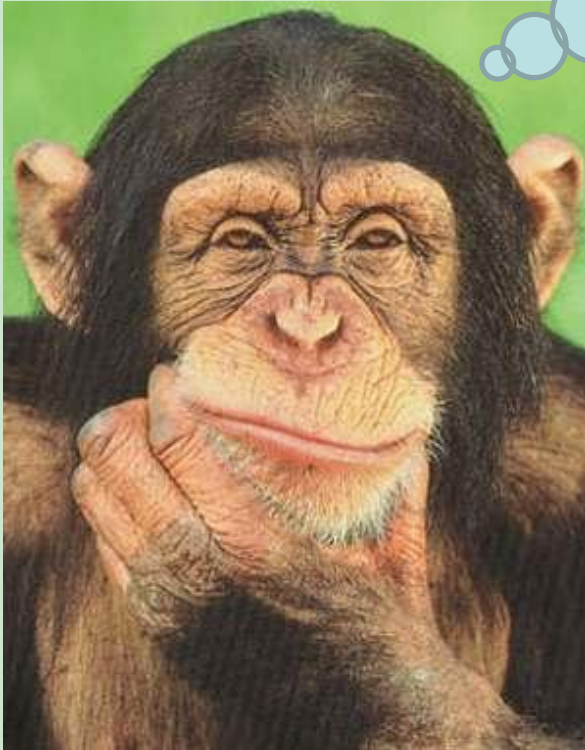


# Alimentos Geneticamente Modificados



Rita Batista  
Lisboa, Maio de 2011

**Porque é que eles  
melhoram as plantas?**



# As plantas fazem-nos muita falta!

---



- **Alimentação (humana e animal)**
- **Ornamentação**
- **Fibras -> roupas**
- **Medicamentos**
- **Corantes**
- **Óleos e resinas (lubrificantes, combustíveis, tintas, sabões, vernizes...)**
- **Cortiça**
- **Papel**
- **Madeira (construção, mobiliário)**
- **Biomassa / biocombustíveis**
- **...**

# As plantas selvagens não eram boas para a alimentação

Há cerca de 1 milhão de anos, cada “pessoa” precisava de cerca de 100 ha para se alimentar



# As plantas que hoje usamos na agricultura foram muito melhoradas

2010- cada pessoa tem 0,3 ha para se alimentar



Tendo que utilizar cerca de metade da energia e dos produtos químicos, por cada tonelada de milho

# As plantas ao longo dos tempos...



**Milho**



5000 anos

800 anos

500 anos

*Iva annua*



**Cultivada há 5000 anos pelos  
nativos americanos**

**Cultivo abandonado por provocar  
muitas reacções adversas (alergias)**

# A engenharia genética é uma tecnologia recente?



**12000 AC - 4000 AC** - Surge a agricultura

**Século XVII** - Reprodução sexual em plantas

**Século XVIII** – Revolução industrial

**1866** - Mendel → padrões de hereditariedade

**1927** - Radiação X → capacidade de induzir mutações

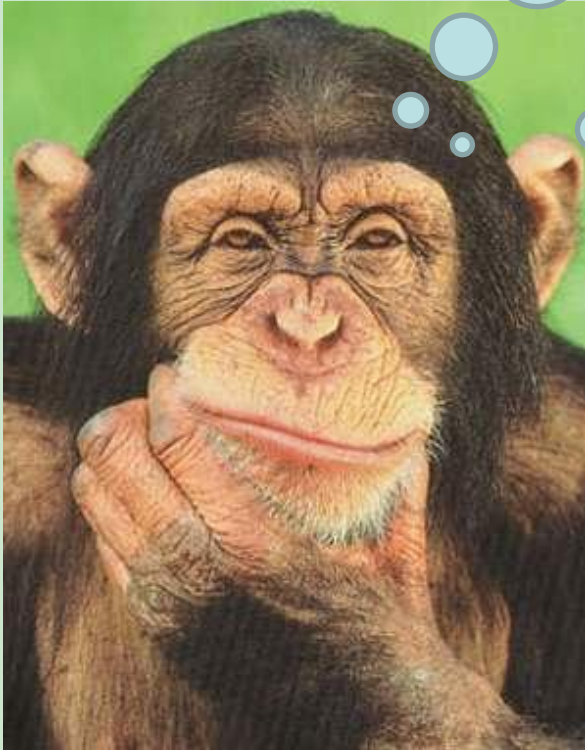
**1953** - Estrutura em dupla hélice do DNA.

**1973** – 1ª molécula DNA recombinante

**1994** - Aprovado 1º alimento GM - tomate FlavrSavr

**1996** - Comercializado 1º alimento GM na UE

**O que é um organismo geneticamente modificado?**



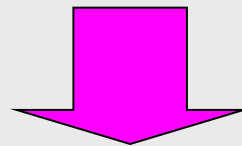
Será um organismo com genes?!!!

# O que é um Organismo Geneticamente Modificado (OGM)?

É um organismo no qual foi introduzido, com recurso à engenharia genética, um ou vários genes (transgenes) que podem provir de qualquer outro organismo.

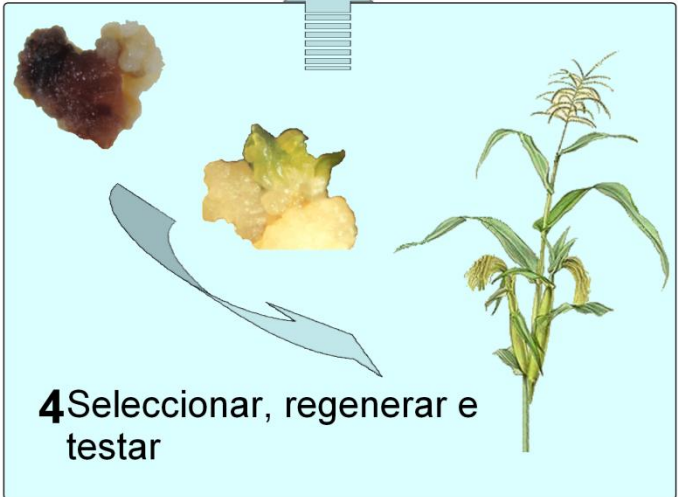
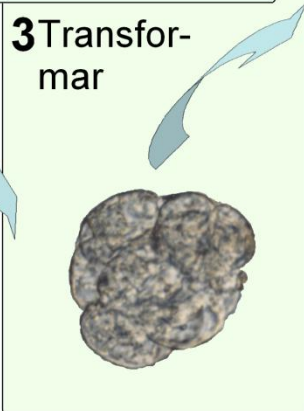
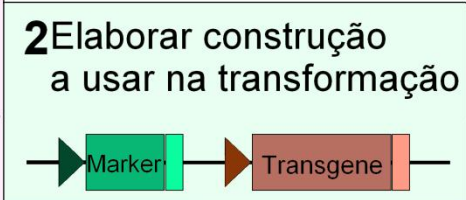
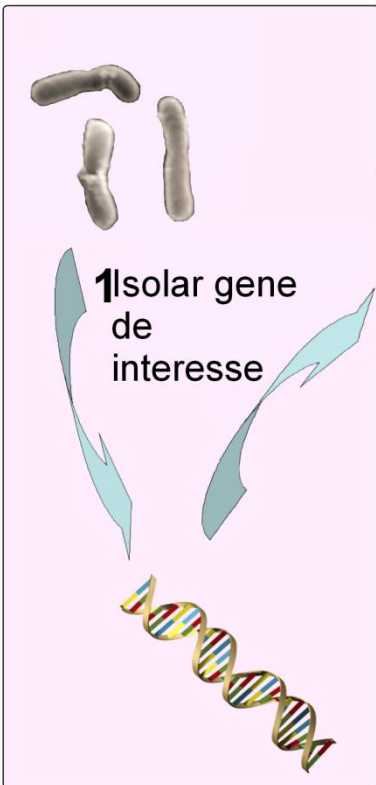


Ex: Genes *Cry* de *Bacillus thuringiensis* conferem resistência a insectos (milho e algodão)



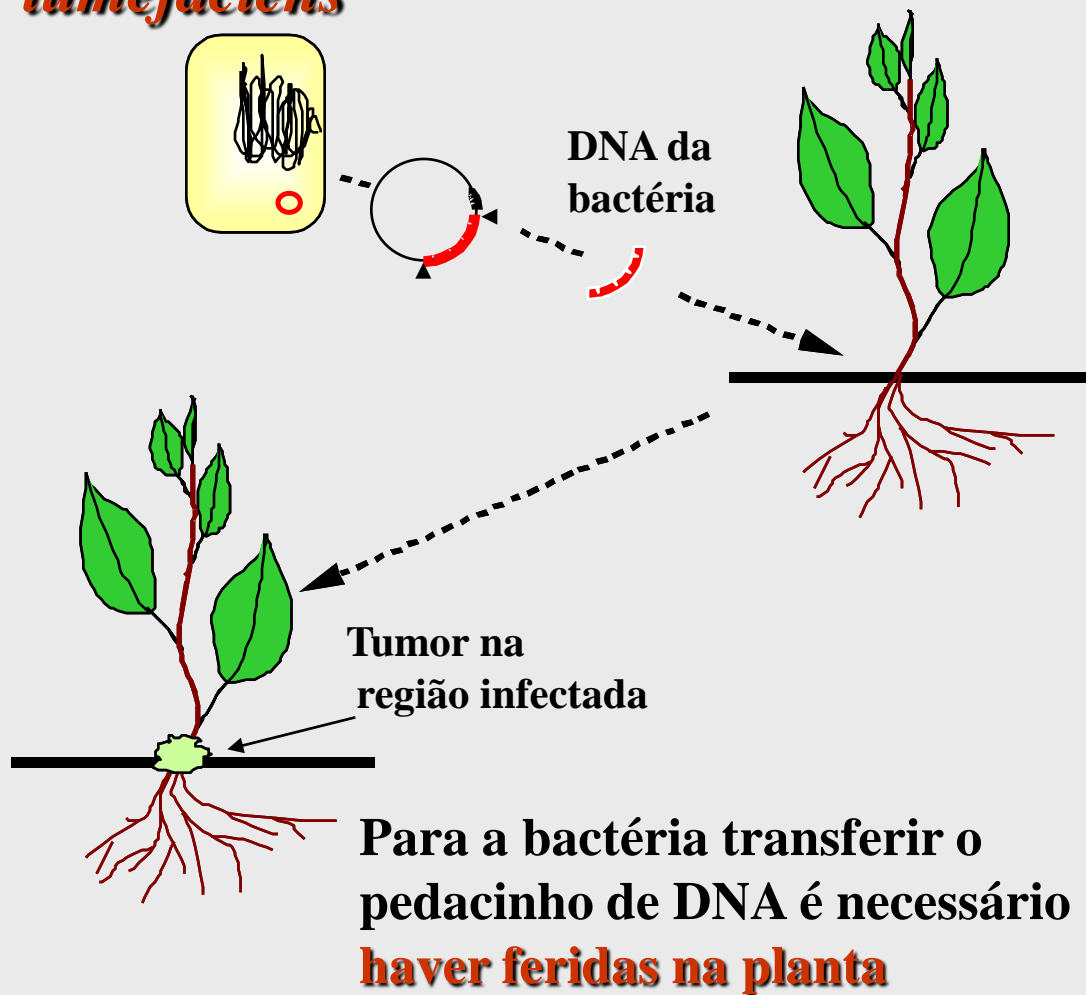
**Não há necessidade de compatibilidade sexual**  
**É quebrada a barreira de espécie**

# Como se obtém um alimento GM ou transgênico ?



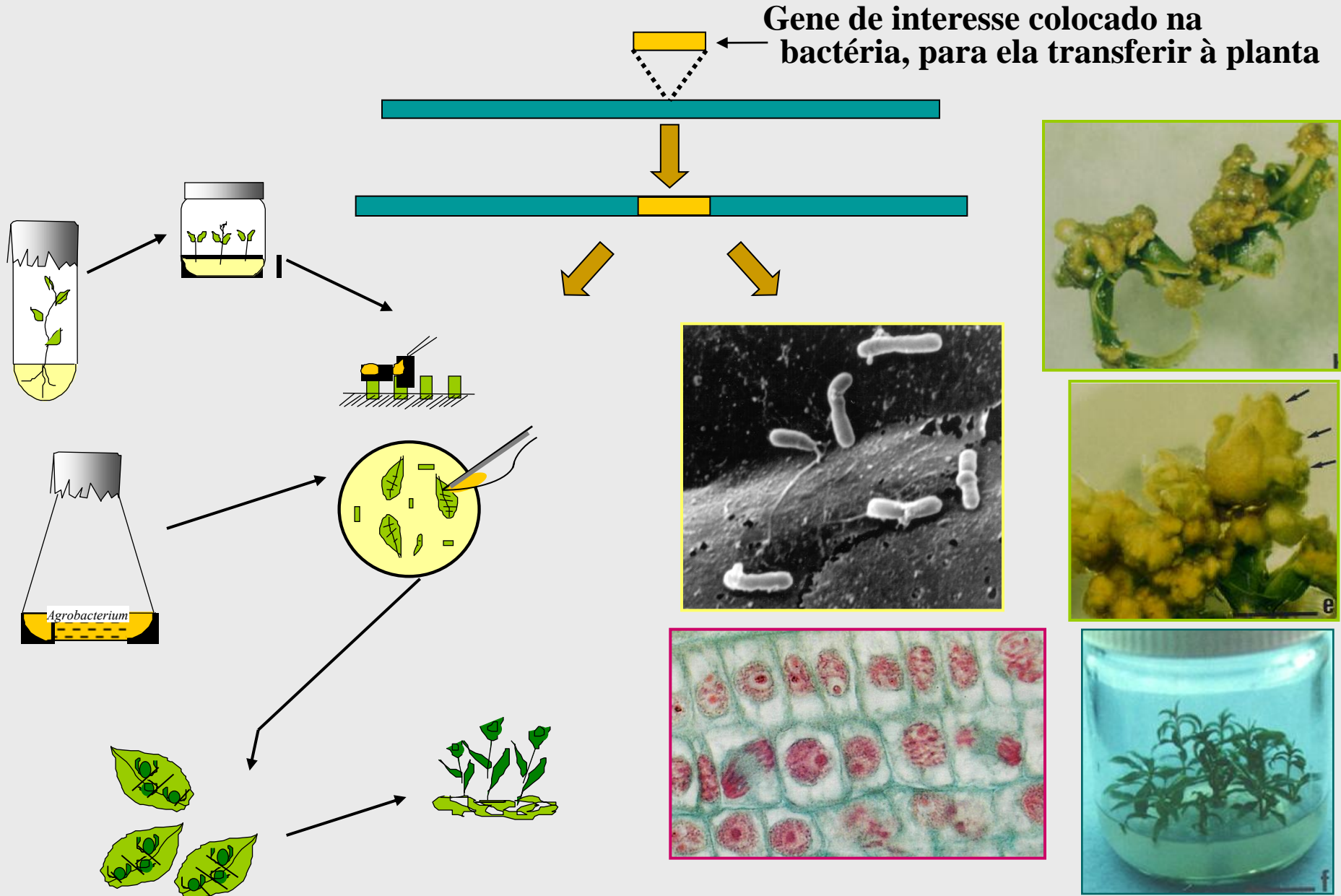
# Há uma bactéria que sabe transferir genes às plantas

## *Agrobacterium tumefaciens*



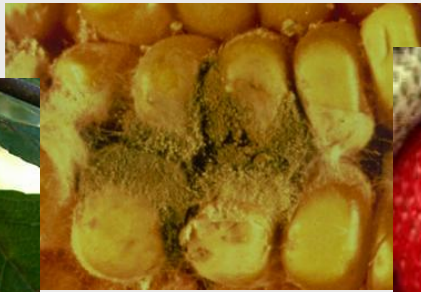
A bactéria original  
provoca tumores  
(o seu habitat produtor  
de alimento exclusivo)

# Então como a utilizamos?



**Para que é que a  
Engenharia Genética lhes  
serve?**





**Quem gostaria de comer isto?**



**Eu Não!!!**



# Eliminação de doenças

## Papaia do Havai - resistente ao “ringspot virus”

**1997-** vírus tinha destruído a indústria de papaia do Havai (a 5ª cultura + importante)

**Comercializada em 1998-** papaia Rainbow - resultados imediatos - produção restituída a níveis equivalentes aos de antes da invasão pelo vírus



## Resistência a insectos

**Proteína Cry (de *Bacillus thuringiensis*) confere resistência a insectos.**

**Já em comercialização em algodão e milho**



# O que há no mercado europeu ?

## 5 espécies vegetais aprovadas para consumo humano:

- ➔ Soja (bebidas, tofu, óleo, farinha, lecitina, etc...)
- ➔ Milho (óleo, farinha, xaropes, milho doce, flocos, etc...)
- ➔ Colza (óleo)
- ➔ Algodão (óleo)
- ➔ Beterraba (açúcar)

## 2 tipos de genes introduzidos :

- ➔ Tolerância a herbicida (genes CP4EPSPS e PAT)
- ➔ Resistência a insectos (genes Cry)




## Outros exemplos já conseguidos ou em desenvolvimento...

---



➔ **Arroz dourado** - enriquecido em pro-vitamina A



➔ **Milho multivitaminado** - enriquecido em  $\beta$ -caroteno (pro-vit A), ácido ascórbico (vit. C) e folato (vit B9)



➔ **Trigo** - sem glúten



➔ **Bananas ou outros frutos** - contendo vacinas contra cólera e hepatite



# Quais as principais questões?

Serão os OGM adequadamente regulamentados?

Deverá a sociedade permitir que este tipos de produtos sejam patenteados?

Será que este tipo de alimentos provoca danos no ambiente, ou na **saúde**?


Serão estes produtos realmente necessários no mundo em que vivemos?

Deverão este tipo de produtos ser rotulados?



# Quais as principais questões no que respeita a saúde?

---

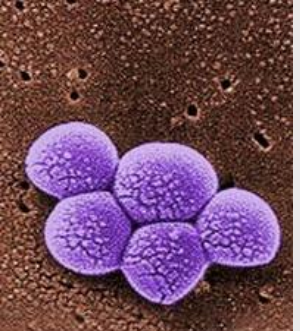
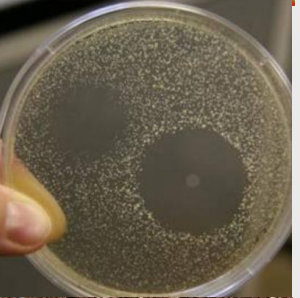
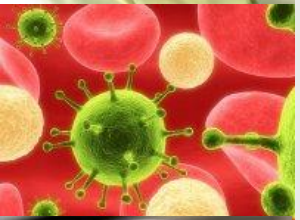
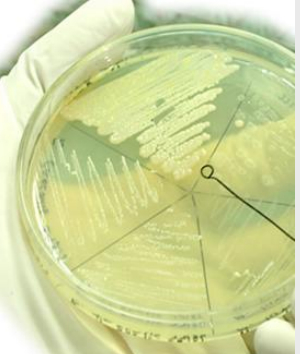


➔ Potencial transferência horizontal dos genes marcadores de resistência a antibióticos

➔ Consumo de DNA “estranho”

➔ Alteração indesejada da composição nutricional

➔ Potencial alergenicidade/ toxicidade do AGM



**Até à data não existe qualquer evidência científica que comprove a captação e integração, por bactérias gastrointestinais, do DNA ingerido, como consequência do consumo de alimentos**

# Potencial transferência horizontal de genes

Outra preocupação:

## Inativação de doses orais de antibiótico pelos genes marcadores

- ➡ Directamente
- ➡ Por integração dos genes marcadores de resistência a antibióticos em células do epitélio gastrointestinal

nptII

- ⚡ Gene marcador de resistência a antibióticos mais usado
- ⚡ Provém de *E. coli* → omnipresente na natureza
- ⚡ Rapidamente degradado pelo ácido estomacal e enzimas digestivas
- ⚡ Confere resistência a antibióticos sem relevância terapêutica

**Argumento que aponta para uma aumento da resistência aos antibióticos por parte das bactérias gastrointestinais, devido à utilização do nptII, é inaceitável**

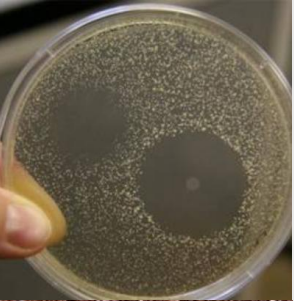
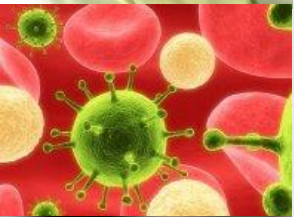
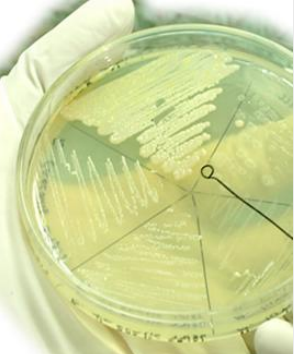
# Potencial transferência horizontal de genes

## Inativação de doses orais de antibiótico pelo produto dos genes marcadores

➡ Por integração dos genes marcadores de resistência a antibióticos em células do epitélio gastrointestinal

⚡ Células do epitélio gastrointestinal não se dividem e têm um tempo de vida de aproximadamente 7 dias

**Integração de genes de resistência a antibióticos em células do epitélio gastrointestinal não comprometeriam terapia com antibióticos**



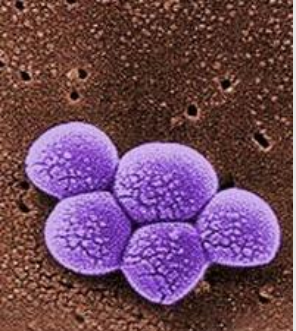
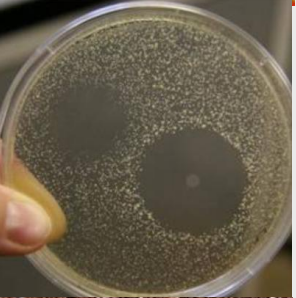
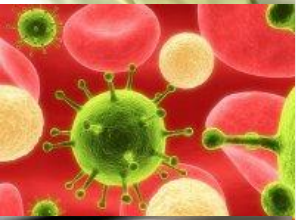
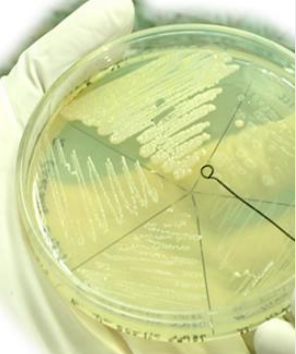
# Potencial transferência horizontal de genes

Apesar de:

**Até a data não se ter identificado qualquer risco significativo associado à utilização de genes marcadores de resistência a antibióticos**

Têm sido efectuados esforços para produzir OGM livres de genes marcadores de resistência a antibióticos

- Remoção dos genes após selecção das plantas transgênicas
- Utilização de genes marcadores contendo intrões
- Utilização de genes de resistência de plantas





# Consumo de DNA “estranho”

Consumo de DNA de espécies “estranhas” (ex. Vírus e bactérias)

- ⚡ Bactérias e vírus sempre presentes nos alimentos
- ⚡ Todos os DNA são quimicamente equivalentes

O risco potencial associado ao consumo de DNA não dependerá da espécie de origem → apenas da sua sequência



# Consumo de DNA “estranho”

O CaMV35Spro poderá levar à sob expressão de genes das espécies para o qual é transferido?

- Várias barreiras limitariam potencial interacção entre o CaMV35Spro e o DNA humano
- CaMV está presente em 10% das couves e couves-flor
- CaMV infecta maior parte das células vegetais e produz 105 partículas por célula (cada com uma cópia dos promotores 19S e 35S)

**Consumo de vegetais infectados com CaMV resulta na ingestão de maior número de cópias do 35Spro que o consumo de plantas transgênicas contendo este promotor**

# Alteração indesejada da composição nutricional

A EG poderá causar algum efeito inesperado e/ou indesejado na composição nutricional do produto final?

⚡ Preocupação também válida para plantas obtidas por utilização de técnicas de melhoramento convencional

⚡ Características bioquímicas e nutricionais dos OGM são testadas antes da sua comercialização



# Alergenicidade/ toxicidade

Produtos dos genes introduzidos são alérgénios e/ou tóxicos e/ou induzem efeitos indesejados no metabolismo da plantas que levam à sob expressão de alérgénios ou toxinas?

- ⚡ Vários estudos alegando uma maior toxicidade/alergenicidade dos alimentos GM → desacreditados por conterem falhas graves
- ⚡ Dois problemas relacionados com potencial alergenicidade prontamente detectados pelas autoridades regulamentadoras

Soja GM da Pioneer Hi-Bred

Milho GM Starlink da Aventis

**Até à data, não existe qualquer evidência experimental que aponte para um maior grau de toxicidade/ alergenicidade dos alimentos GM aprovados para consumo humano quando comparados com os análogos não GM**

# Quais têm sido os nossos interesses científicos?

---



**Serão os alimentos GM mais alergénicos que os convencionais que lhes deram origem?**

**Colmatar a escassez de dados científicos**

**Estabelecer novas possíveis aproximações para a avaliação da segurança alimentar de plantas GM**

# Ausência de alergenicidade detectável em amostras de milho e soja geneticamente modificados e em comercialização na UE



Batista R, Nunes B, Carmo M, Cardoso C, José HS, Almeida AB, Manique A, Bento L, Ricardo CP, Oliveira MM. Lack of Detectable Allergenicity of Transgenic Maize and Soya Samples. *JACI* 2005; 116: 403-410

# Alergias: Resposta IgE

⊕ Alergia → Resposta imunológica anormal ( normalmente IgE )

⊕ Resposta IgE 10-25%  
⊕ Resposta Alergica requer segundo contacto

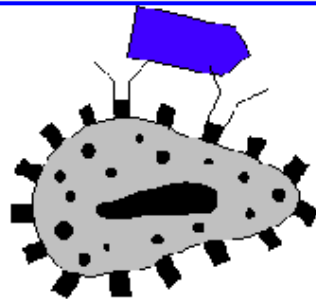
⊕ Resposta IgE (prot. alimentares) 1-2% população  
5-8% pop. Infantil

⊕ 8 grupos alimentares → + 90% reacções alérgicas

leite de vaca, ovos, peixe, crustáceos (lagosta, camarões, caranguejo), amendoins, soja, frutos secos (amêndoas, avelãs, etc.), e trigo

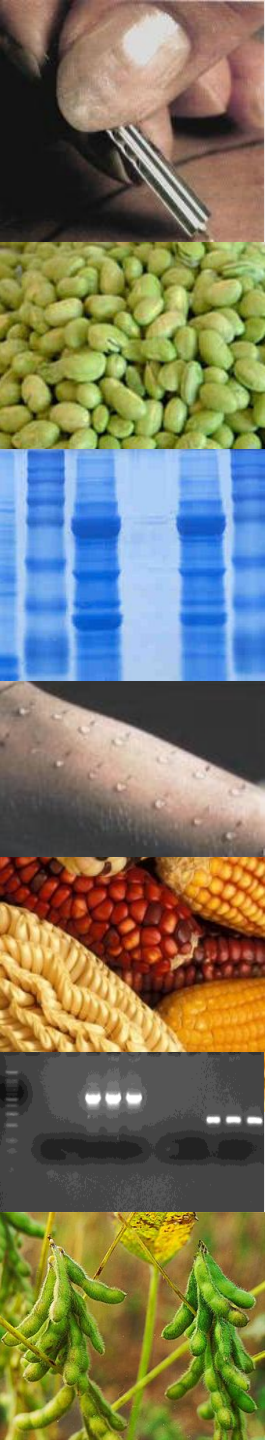
Mastócito

Alergénio



Mediadores

Reacção alérgica



# Estratégia do estudo

---

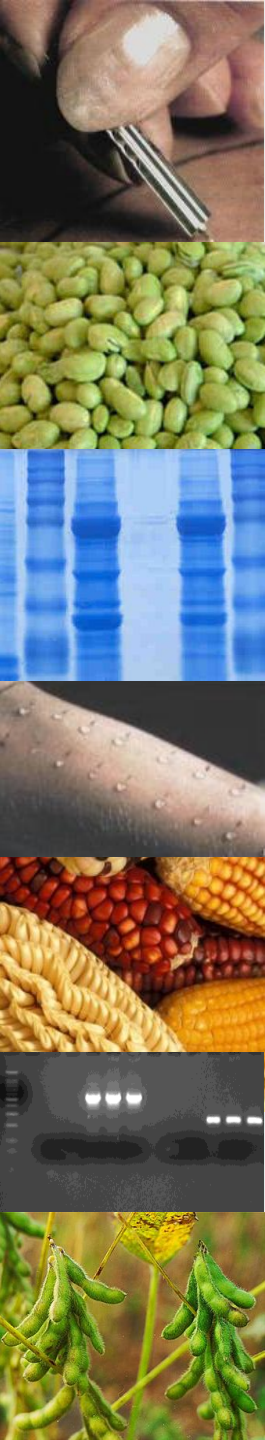
**1- Extractos proteicos** farinhas milhos e soja transgénicos e controlos não GM (Laboratórios Leti- Madrid)

**2- Ensaio cutâneo** método de prick com extractos proteicos

Indivíduos alérgicos a alimentos **(27 indivíduos)**

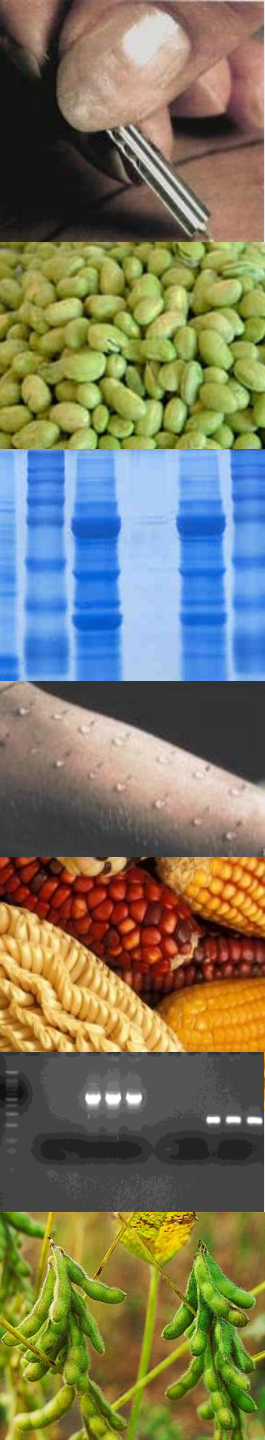
Indivíduos asmáticos **(50 indivíduos)**

**3- Ensaio de Western** com soros humanos → Diferença na reacção das IgE - milhos e soja transgénicos vs controlos não GM **(57 indivíduos com alergia alimentar)**



# Materiais em teste

Espécie	Evento	Característica Resistência (R)/ Tolerância (T)	Empresa
Milho	Bt11 2% GM	R. insectos ( <b>CryIA(b)</b> ) T. fosfinotricina ( <b>PAT</b> )	Syngenta
	Bt176 100% GM	R. insectos ( <b>CryIA(b)</b> ) T. fosfinotricina ( <b>PAT</b> )	
	T25 100% GM	T. fosfinotricina ( <b>PAT</b> )	Bayer Crop Sciences
	MON810 100% GM	R. insectos ( <b>CryIA(b)</b> )	Monsanto
Soja	Roundup Ready 5% GM	R. glifosato ( <b>CP4EPSPS</b> )	



# Resultados - Inquérito alimentar

	n	Número médio de produtos consumidos contendo milho ou soja, CI 95%	Probabilidade de consumo de produtos com proteínas transgênicas, CI 95%
<b>Total</b>	106	39.3 ( $\pm$ 4,1)	0,999902 ( $\pm$ 0,000125)
<b>Sexo</b>			
<b>Masc.</b>	48	34.8 ( $\pm$ 5,6)	0,999719 ( $\pm$ 0,000490)
<b>Fem.</b>	58	43.0 ( $\pm$ 5,6)	0,999959 ( $\pm$ 0,000080)
<b>Grupo etário</b>			
<b>&lt;5</b>	20	29.5 ( $\pm$ 6,9)	0,999024 ( $\pm$ 0,002370)
<b>5-10</b>	56	41.1 ( $\pm$ 5,9)	0,999936 ( $\pm$ 0,000120)
<b>10-25</b>	11	48.8 ( $\pm$ 13,2)	0,999990 ( $\pm$ 0,000120)
<b><math>\geq</math>25</b>	19	38.9 ( $\pm$ 11,4)	0,999893 ( $\pm$ 0,000775)

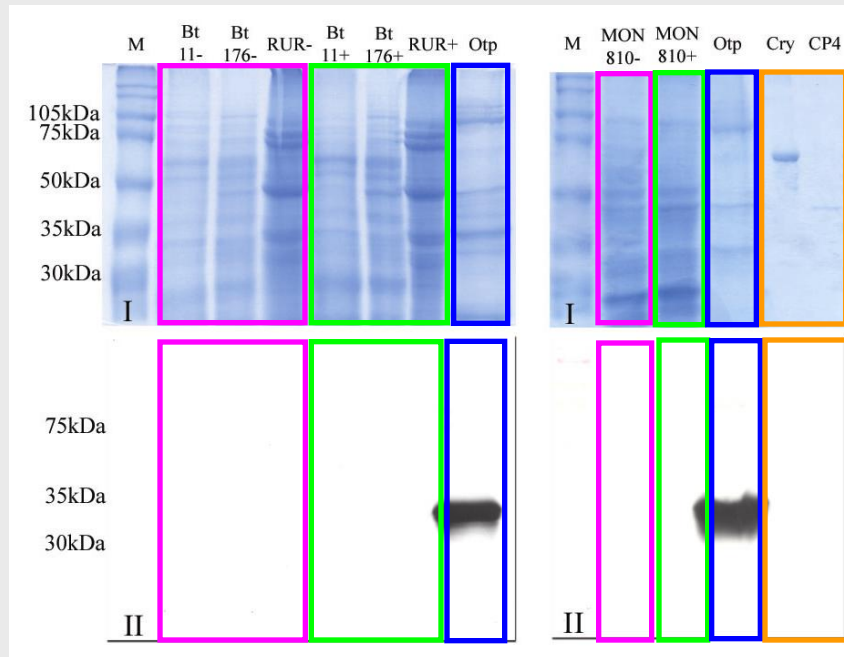
**Nº de indivíduos inquiridos: 106**

**Nº de produtos constantes no inquérito: 205**

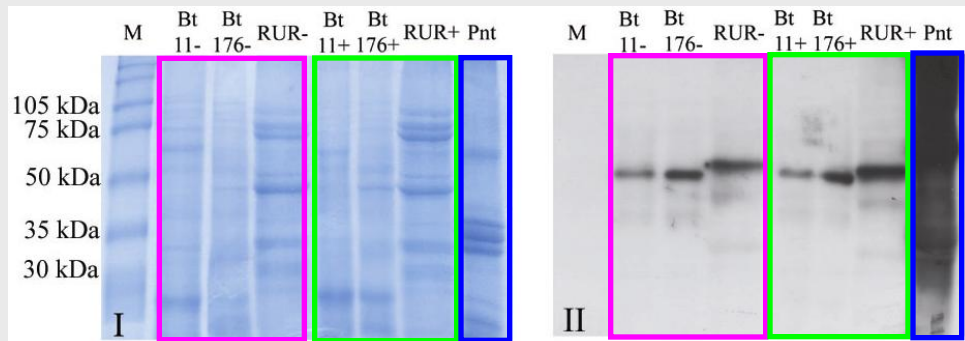
# Resultados - Ensaios de Western

**Indivíduo 1**  
Alergia a:  
Polvo

Detecção  
presença de  
IgE específica  
no soro  
humano



**Indivíduo 2**  
Alergia a:  
Amendoim  
Soja  
Milho  
...



# Resultados gerais e conclusões

	Testes "prick"		Western	
	Nº indivíduos	% positivos	Nº indivíduos	% positivos
Proteína transgénica				
PAT	77	0	nd	nd
CRY1A(b)	77	0	57	0
CP4EPSPS	27	0	57	0

⚡ Quase 100% da população portuguesa já consumiu produtos com soja ou milho transgénicos

⚡ Nenhum dos indivíduos testados apresentou reacções diferenciais contra as amostras não transgénicas vs transgénicas em estudo

⚡ Os produtos testados parecem ser seguros no que respeita ao seu potencial alergénico

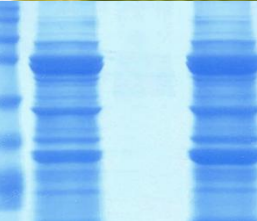
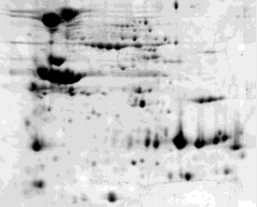
# A proteómica na identificação da resposta alérgica à soja em amostras transgênicas *versus* não transgênicas



Batista R, Martins I, Jenö P, Ricardo CP, Oliveira MM- A proteomic study to identify soya allergens- The human response to transgenic *versus* non-transgenic soya samples, Int Arch Allergy Immunol 2007; 144: 29-38

# Estratégia do estudo

---

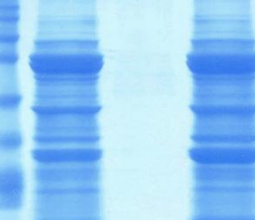
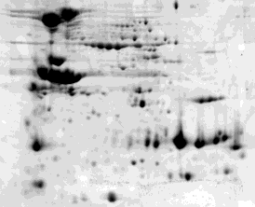


**1- Electroforese 2D** - soja Roundup ready e controlos

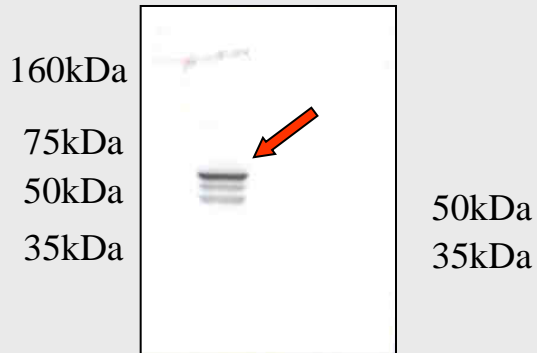
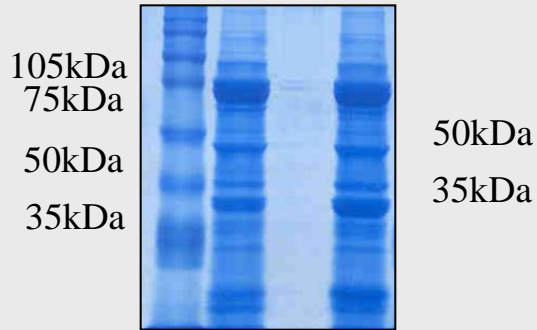
**2- Immunoblot** com plasma de indivíduos alérgicos à soja - diferenças na ligação IgE-alergénios extractos transgénicos vs convencionais

**3- Espectrometria de massa** - caracterização de “spots”

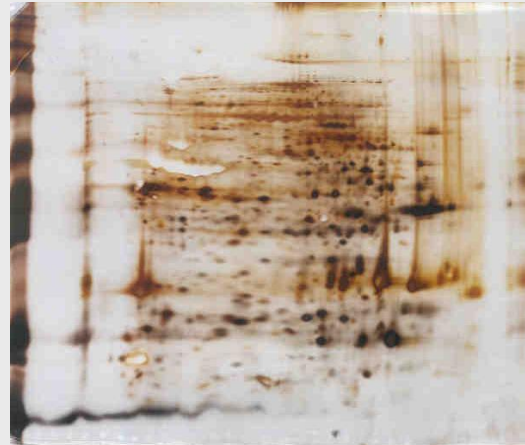
# Resultados - Presença da CP4EPSPS na soja GM



M OGM 5% Cont. 0%



Controlo  
0% GM

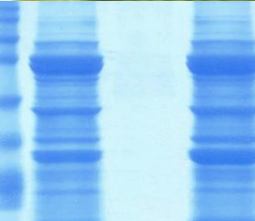
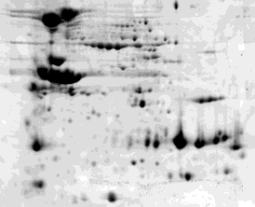


Transgénica  
5% GM

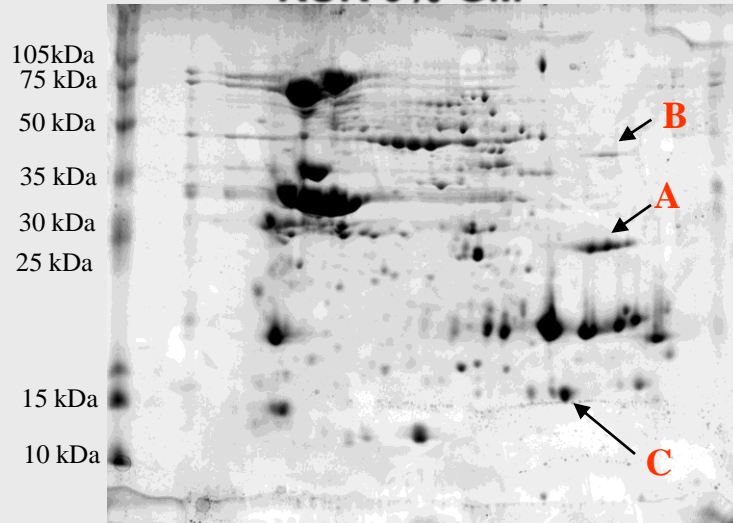


Detecção  
presença  
CP4EPSPS  
nos extractos  
proteicos

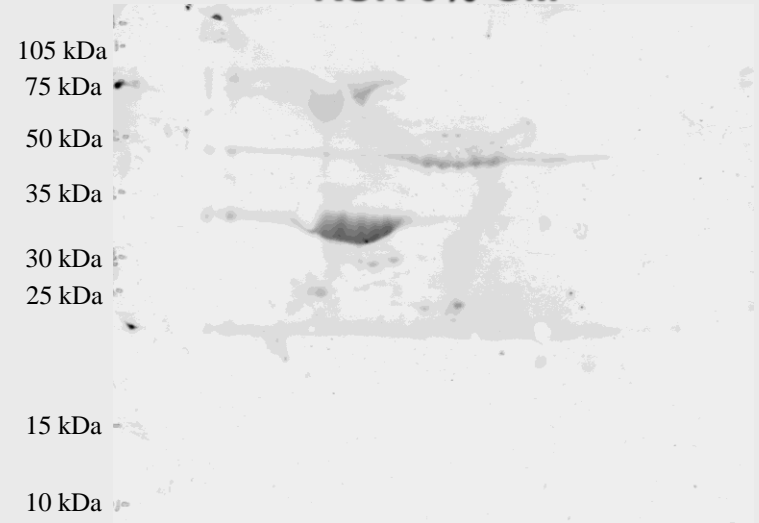
# Resultados - Detecção ligação IgE-alergénios



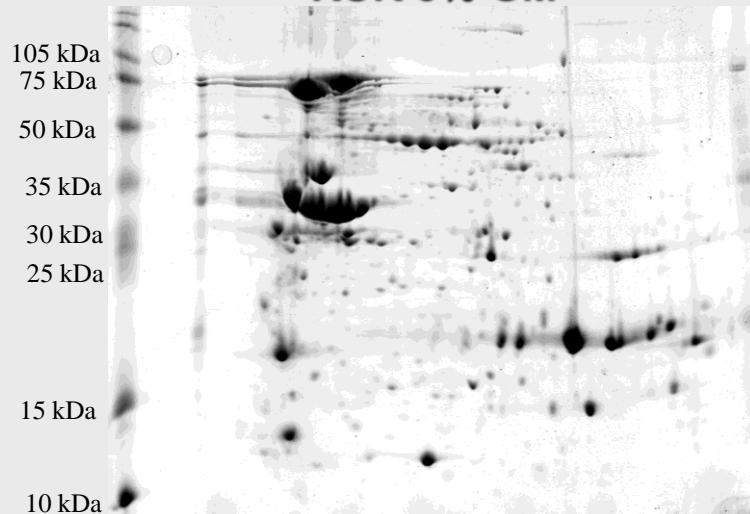
RUR 0% GM



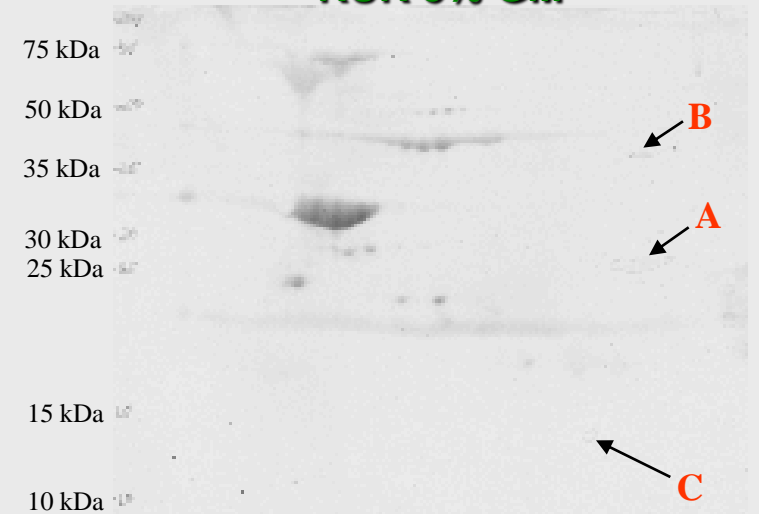
RUR 0% GM



RUR 5% GM



RUR 5% GM

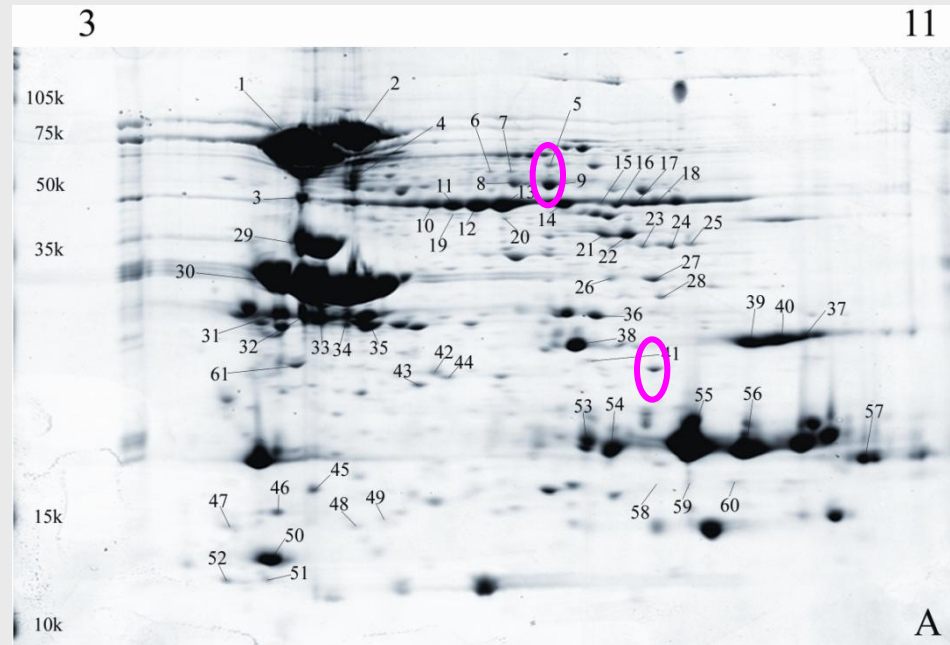


# Resultados gerais e conclusões

MS de 61 spots



identificados 55



Identificados **dois novos potenciais alergénios**


Spots 5 e 9- proteína LEA

Spot 41- inibidor da proteinase da cisteína

**Alergénios endógenos da soja Roundup Ready não alterados** pela modificação genética

# Conclusões gerais

---



≈ 100% da população portuguesa já consumiu produtos com soja ou milho transgénicos



Nenhum dos produtos testados apresentou alergenicidade acrescida após modificação genética

**A avaliação da segurança alimentar de variedades vegetais melhoradas deve ser efectuada caso-a-caso e não deve ser restrita às plantas obtidas por engenharia genética**