



Potencial Alergenicidade dos Alimentos Geneticamente Modificados

Rita Batista

Outubro de 2011



Instituto Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge

Porque melhoramos 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**
- ...

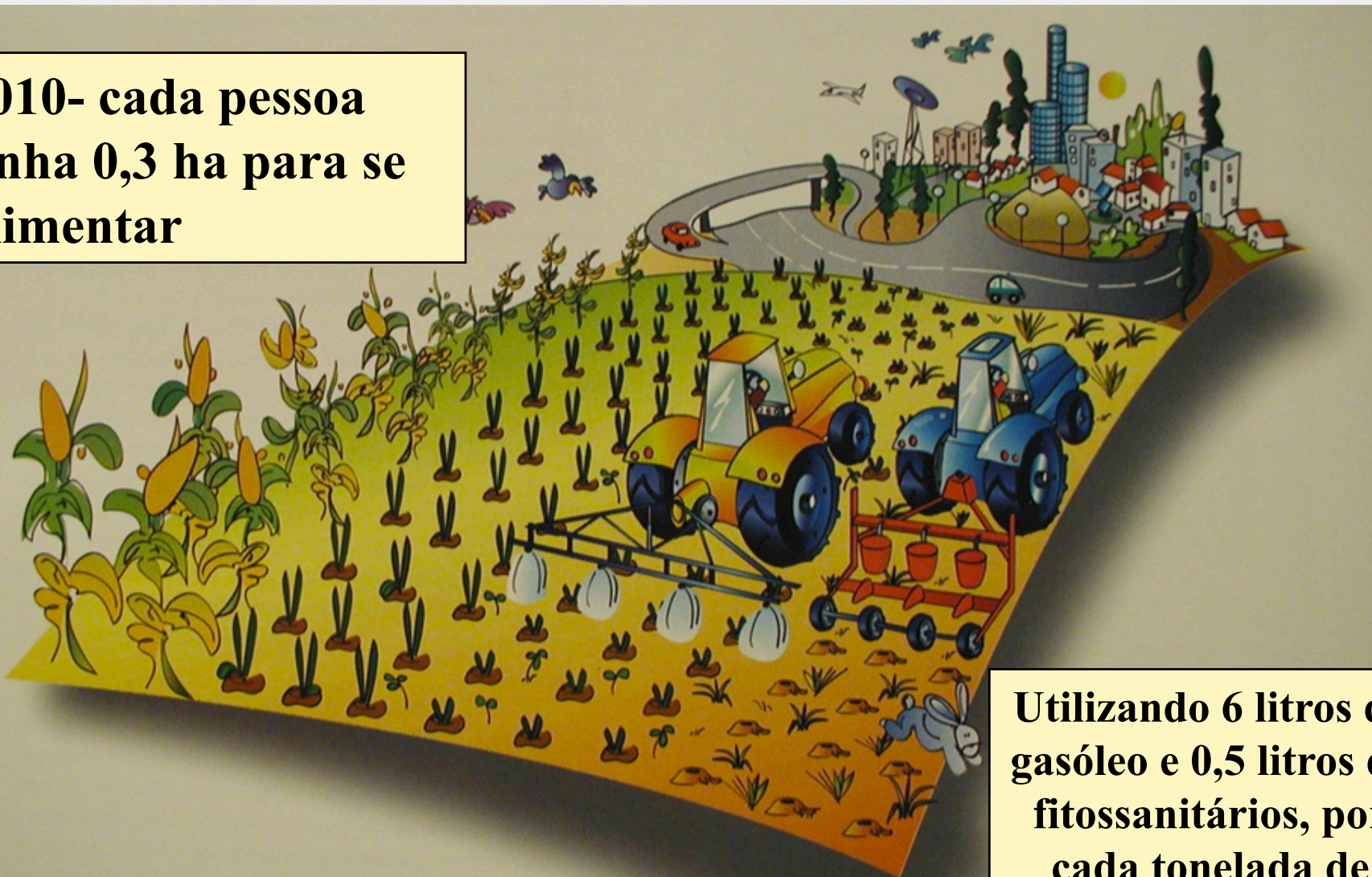
As plantas selvagens não eram boas para a alimentação

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 tinha 0,3 ha para se alimentar



Utilizando 6 litros de gasóleo e 0,5 litros de fitossanitários, 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?!!!

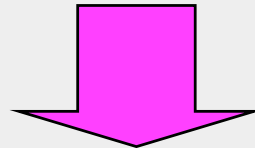


O que é um Organismo Geneticamente Modificado (OGM)?

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)

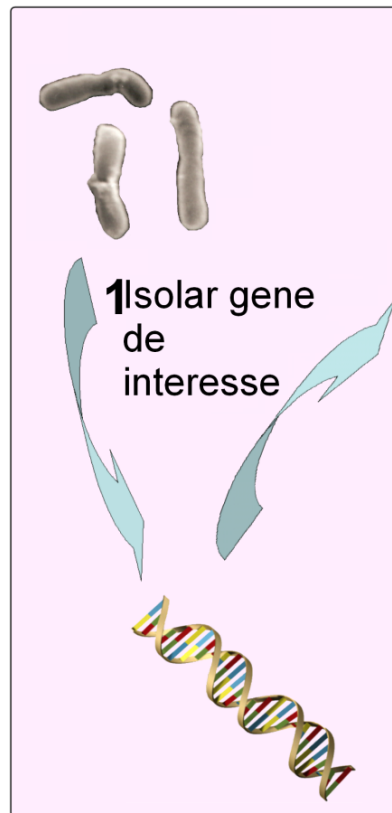


Não há necessidade de compatibilidade sexual

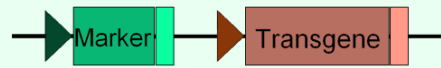
É quebrada a barreira de espécie



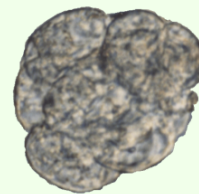
Como se obtém um alimento GM ou transgênico ?



2 Elaborar construção a usar na transformação

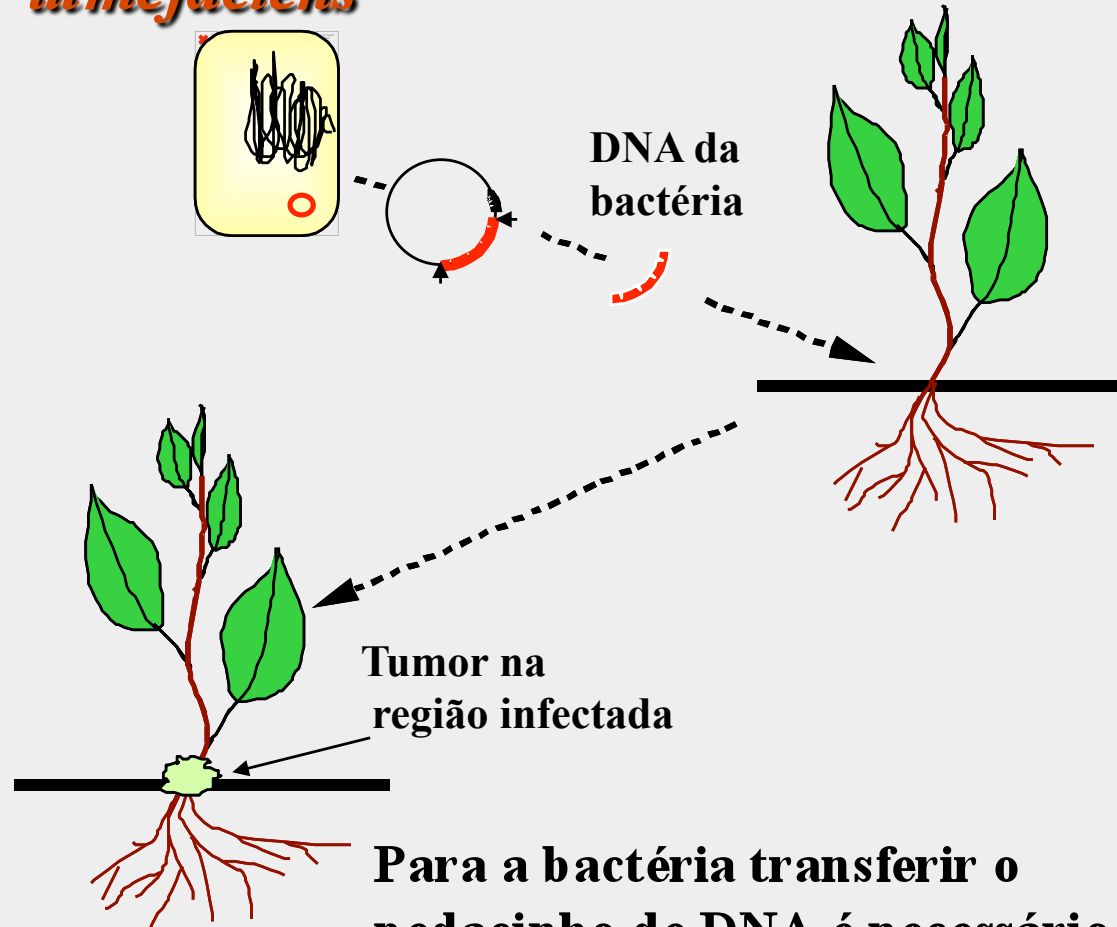


3 Transformar



Há uma bactéria que sabe transferir genes às plantas

Agrobacterium tumefaciens

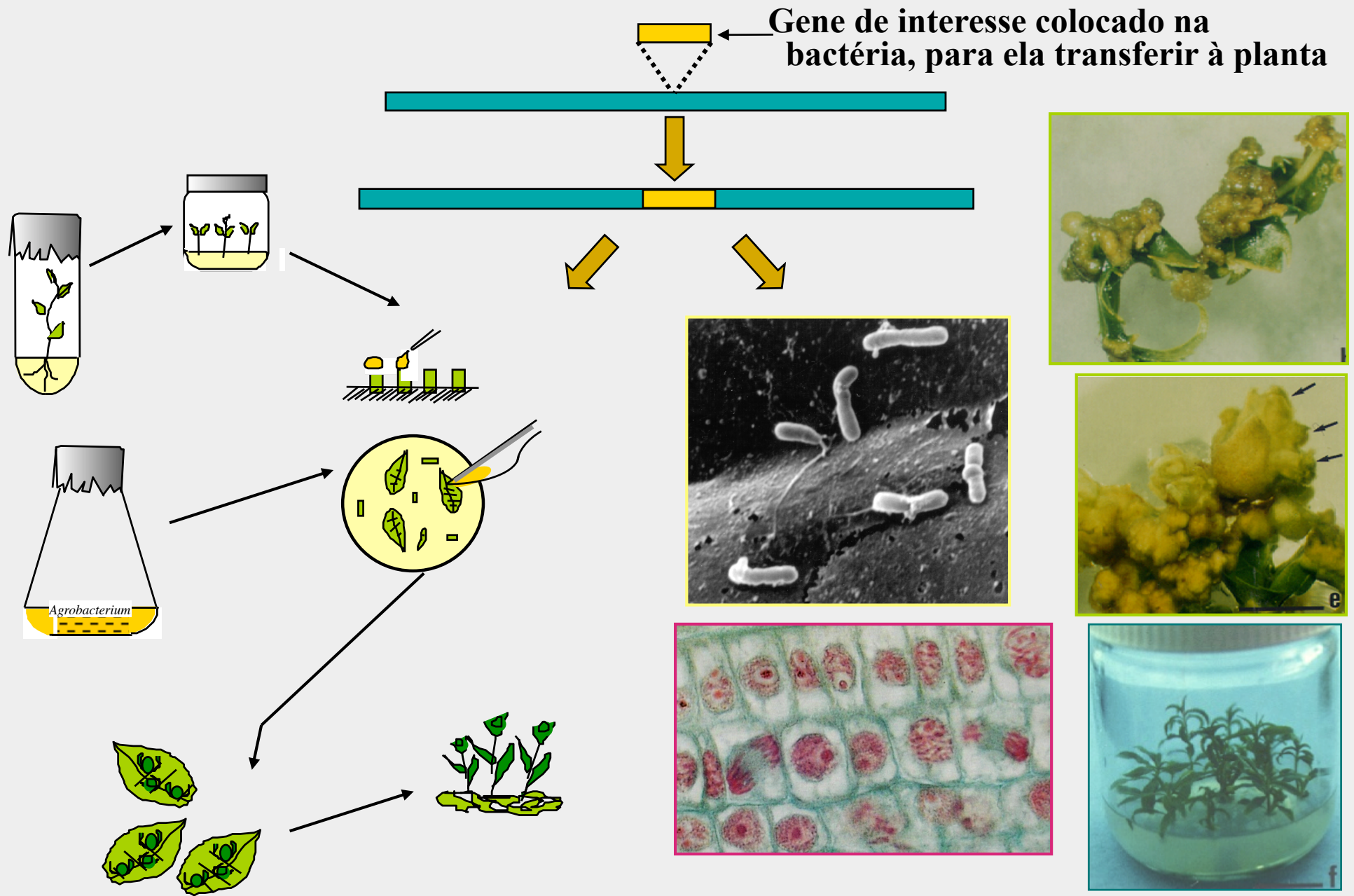


Para a bactéria transferir o pedacinho de DNA é necessário **haver feridas na planta**



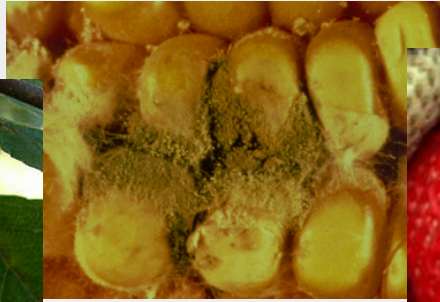
A bactéria original provoca tumores (o seu habitat produtor de alimento exclusivo)

Então como a utilizamos?



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

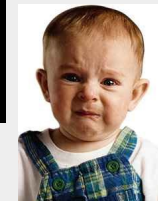




Quem gostaria de comer isto?



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 características introduzidas :

- ➔ 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 β -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?

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

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

Serão estes produtos
realmente necessários
no mundo em que
vivemos?

Deverão este tipo de
produtos ser
rotulados?



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 Alérgica requer segundo contacto
⊕ Resposta IgE (prot. alimentares) 1-2% população

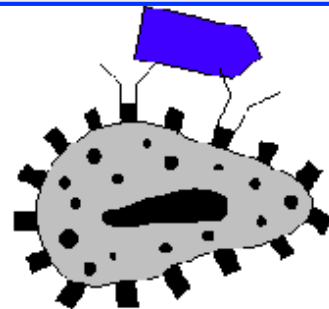
5-8% pop. Infantil

⊕ 8 grupos alimentares → + 90% reacções alérgicas

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

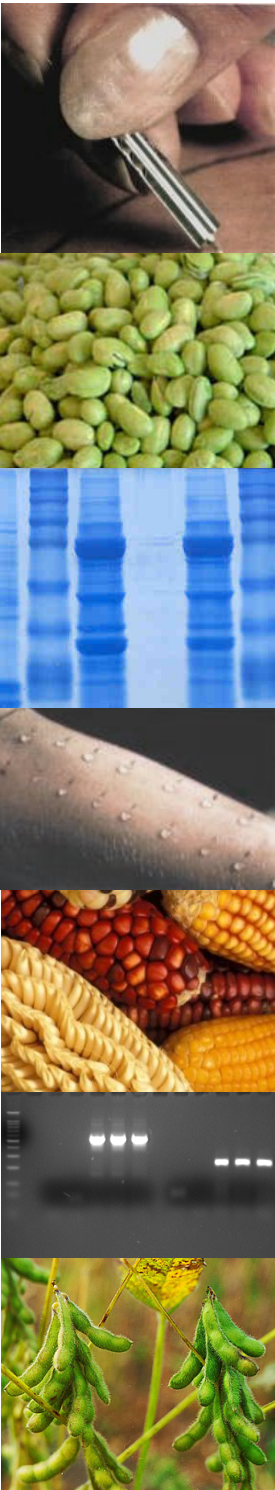
Mastócito

Alergénio



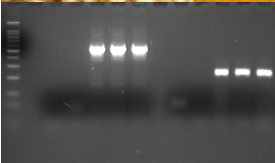
Mediadores

Reacção alérgica

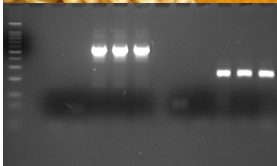


Estratégia do estudo

- 1- Extractos proteicos** farinhas milhos e soja transgénicos e controlos não GM (Laboratórios Leti- Madrid)
- 2- Ensaaios cutâneos** método de prick com extractos proteicos
 - Indivíduos alérgicos a alimentos **(27 indivíduos)**
 - Indivíduos asmáticos **(50 indivíduos)**
- 3- Ensaaios 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



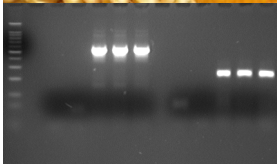
Espécie	Evento	Característica Resistência (R)/ Tolerância (T)	Empresa
Milho	Bt11 2% GM	R. insectos (CryIA(b)) T. fosfinotricina (PAT)	Syngenta
	Bt176 100% GM	R. insectos (CryIA(b)) T. fosfinotricina (PAT)	
	T25 100% GM	T. fosfinotricina (PAT)	Bayer Crop Sciences
	MON810 100% GM	R. insectos (CryIA(b))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

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%
Total	106	39.3 (\pm 4,1)	0,999902 (\pm 0,000125)
Sexo			
Masc.	48	34.8 (\pm 5,6)	0,999719 (\pm 0,000490)
Fem.	58	43.0 (\pm 5,6)	0,999959 (\pm 0,000080)
Grupo etário			
<5	20	29.5 (\pm 6,9)	0,999024 (\pm 0,002370)
5-10	56	41.1 (\pm 5,9)	0,999936 (\pm 0,000120)
10-25	11	48.8 (\pm 13,2)	0,999990 (\pm 0,000120)
\geq25	19	38.9 (\pm 11,4)	0,999893 (\pm 0,000775)

Nº de indivíduos inquiridos: 106

Nº de produtos constantes no inquérito: 205

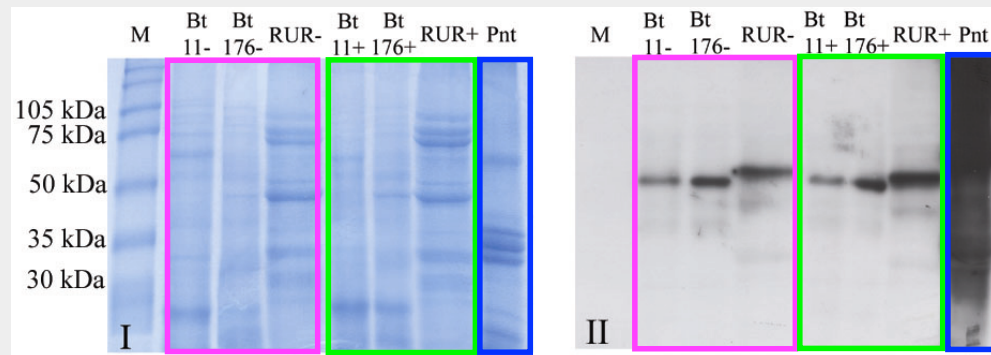
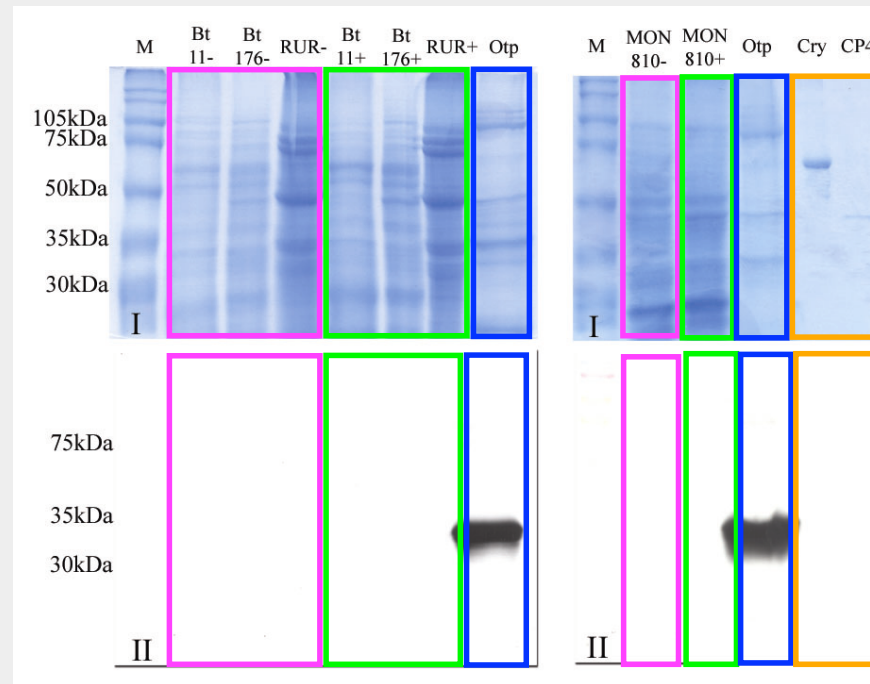


Resultados - Ensaios de Western

Indivíduo 1
Alergia a:
Polvo

Detecção
presença de
IgE específica
no soro
humano

Indivíduo 2
Alergia a:
Amendoim
Soja
Milho
...



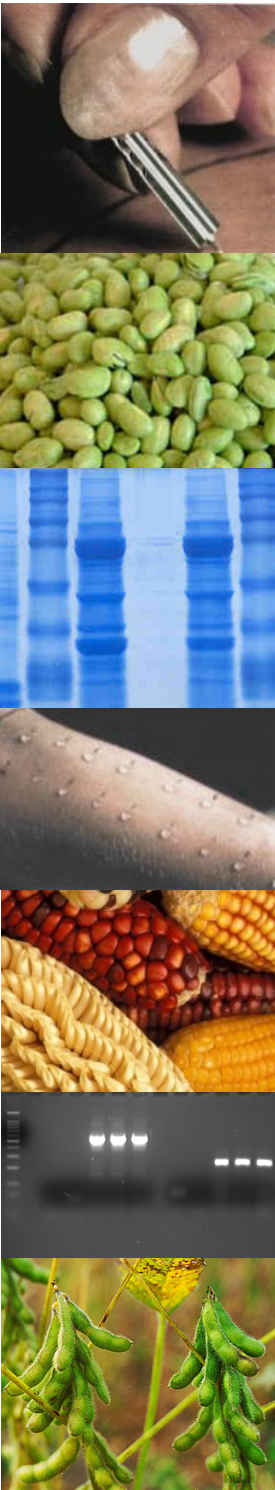
Resultados gerais e conclusões

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

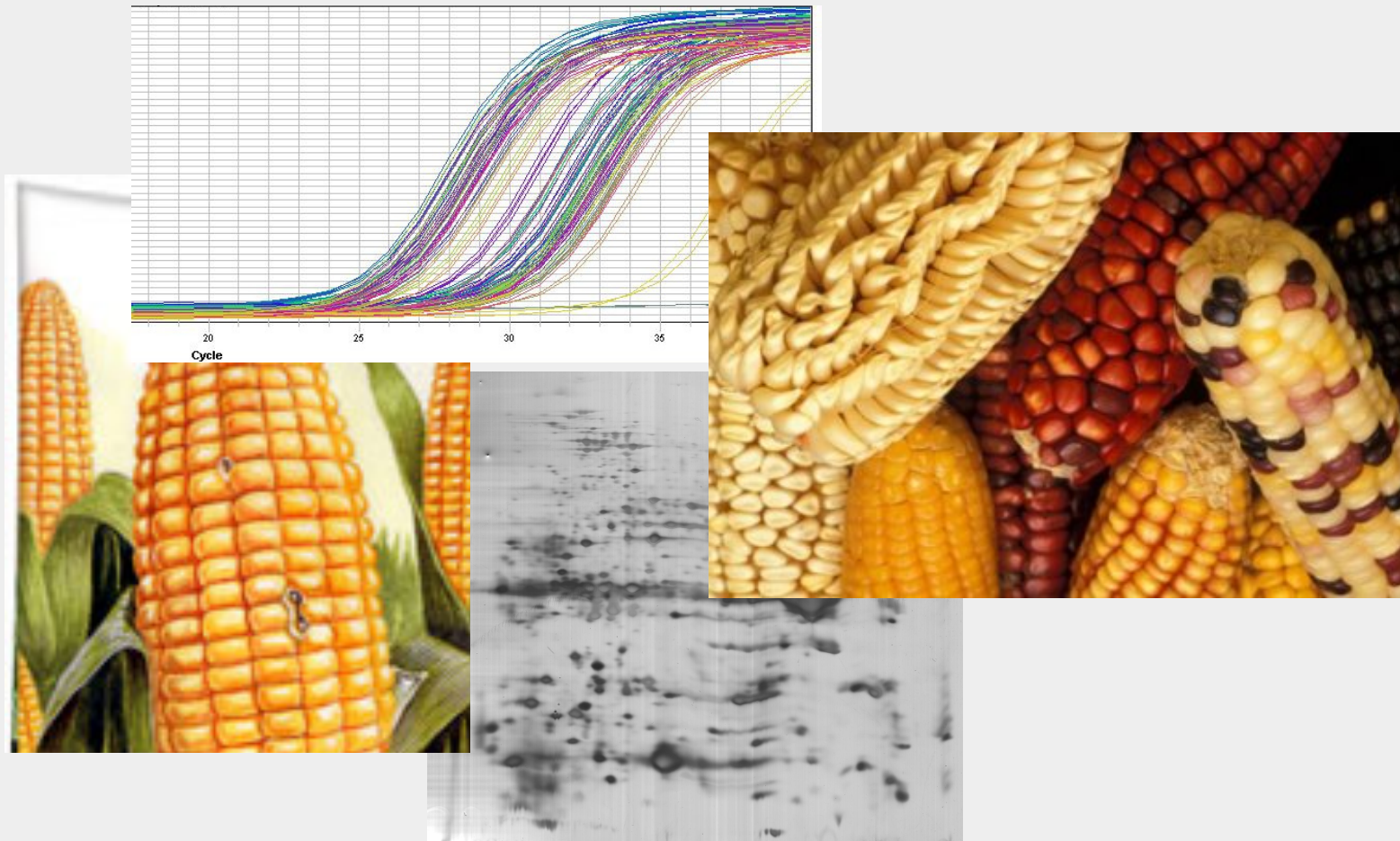
⚡ Quase 100% da população portuguesa já consumiu produtos com soja ou milho transgénicos

⚡ 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



Caracterização dos alérgenos do milho- MON810 *versus* o seu controlo não transgénico



Fonseca C, Planchon S, Renaut J, Oliveira MM, Batista R- Characterization of maize allergens- MON810 vs. its non-transgenic counterpart. Submitted

Estratégia do estudo

1- **Real time RT-PCR**– testar a expressão de cinco alergénios de milho já conhecidos ao longo do desenvolvimento da semente

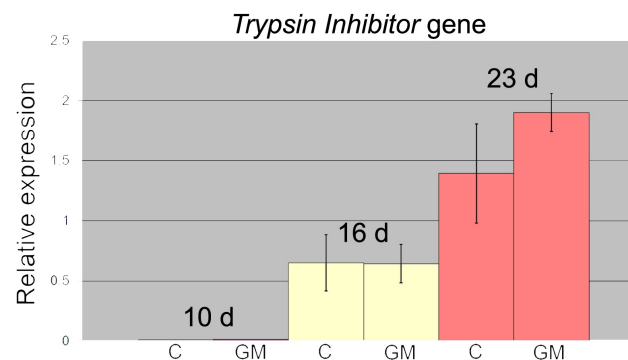
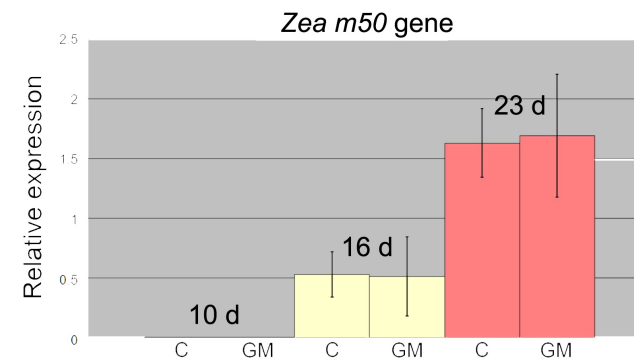
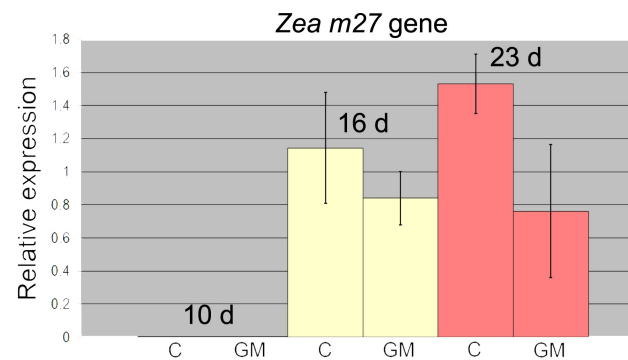
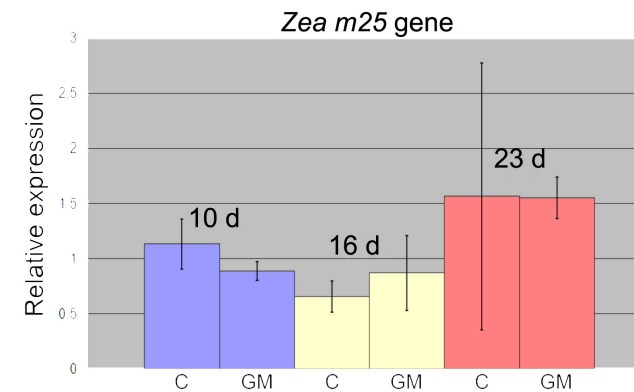
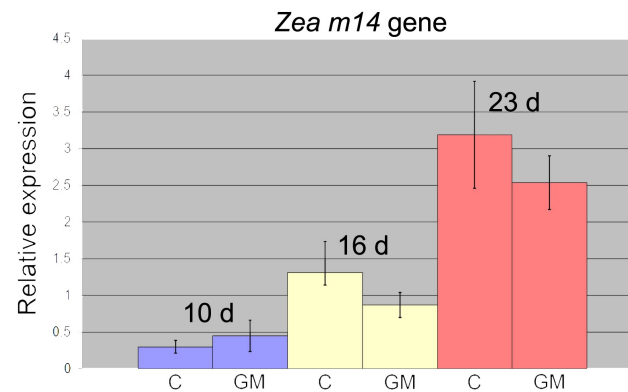
2- **Electroforese 2D** – Milho MON810 e controlos

3- **Immunoblot** com plasma de indivíduos alérgicos ao milho - diferenças na ligação IgE- alergénios extractos transgénicos vs convencionais

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



Ensaio de Real time RT-PCR



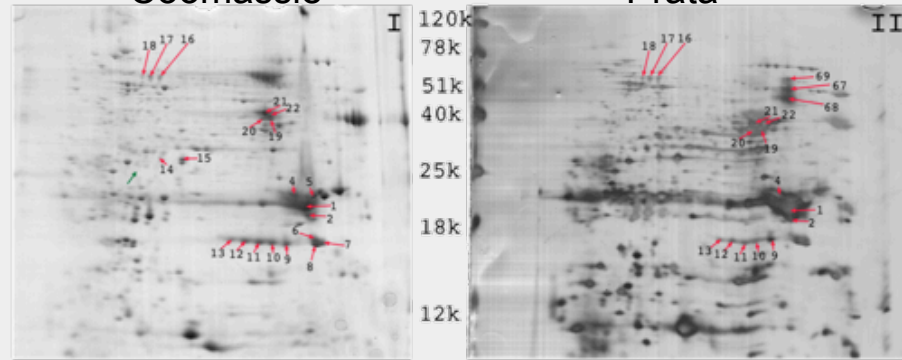
Ausência de diferenças estatisticamente significativas (t-test $p < 0,05$) na expressão dos 5 alergêneos testados ao longo do desenvolvimento da semente



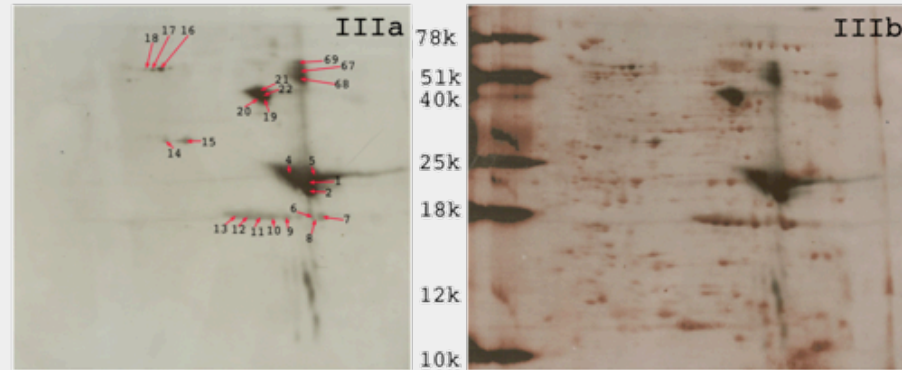
Resultados - Detecção ligação IgE-alergénios

Coomassie

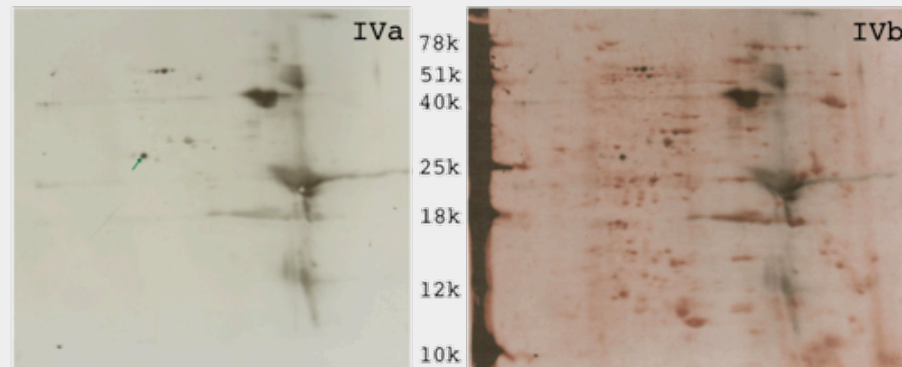
Prata



Amostra Controlo



Amostra transgênica



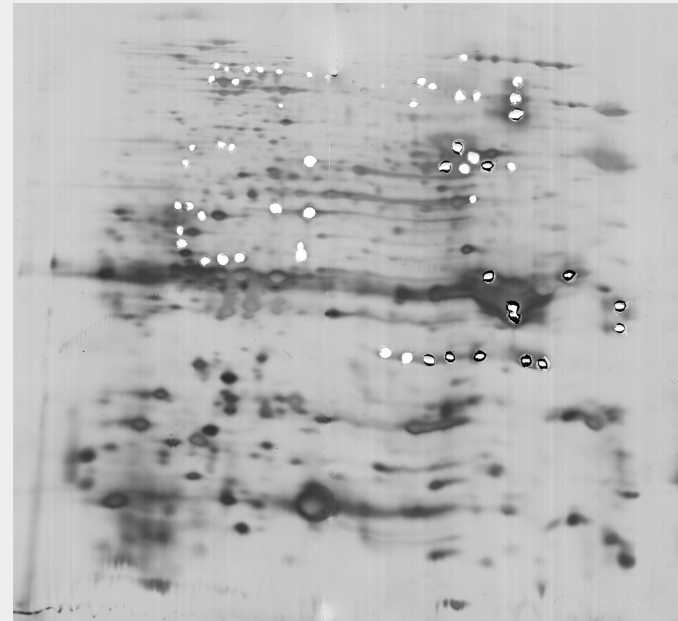
Resultados gerais e conclusões



MS de 52 spots



Identificados 44



Identificados 14 novos potenciais alergénios

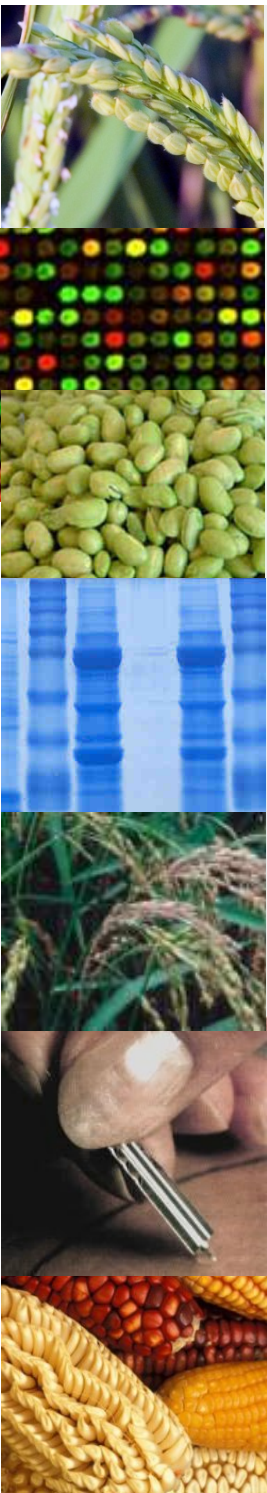
Alergénios endógenos do milho MON810 não alterados pela modificação genética

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





Fim...