

**Estudos de Toxicidade de Plantas Transgênicas:
Uma Revisão da Literatura Publicada
José L. Domingo**

Laboratório de Toxicologia e Saúde Ambiental, Escola de Medicina, Universidade "Rovira I Virgili", na Lorenzo 21, 43201 Reus, Espanha

Publicado originalmente em *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47:721-733 (2007) Copyright © Taylor and Francis Group, LLC ISSN: 1040-8398
DOI: 10.1080/10408390601177670

Tradução : Sandra Galeotti

Abstract

Segundo informação da Organização Mundial de Saúde (OMS), todos os produtos geneticamente modificados (GM/transgênicos), existentes atualmente no mercado internacional, foram submetidos a avaliações de risco conduzidas por autoridades nacionais. Essas avaliações não indicaram nenhum risco para a saúde humana. Apesar dessa clara afirmação, é bastante curioso notar-se que a revisão de artigos publicados em periódicos científicos internacionais, durante a presente década, não encontrou – ou o número era particularmente pequeno – referências sobre estudos toxicológicos sobre o risco para a saúde humana e animal de alimentos transgênicos. Neste trabalho é revista, a informação científica sobre toxicidade potencial de plantas transgênicas, utilizando-se o banco de dados Medline. Estudos sobre segurança da utilização potencial de batatas, milho, soja, arroz, pepino, tomate, pimentão, ervilha e canola transgênicas em alimentos humanos e ração animal foram incluídos. O número de referências é surpreendentemente limitado. Além disso, a maioria dos estudos publicados não foi realizada pelas empresas de biotecnologia que produzem esses produtos. Esta revisão pode ser concluída com a seguinte questão: *Onde está a evidência científica demonstrando que plantas/alimentos transgênicos são toxicologicamente seguros?*

Unitermos: plantas geneticamente modificadas, toxicidade, segurança, riscos à saúde, DNA.

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define organismos geneticamente modificados (OGMs) como aqueles organismos nos quais o material genético foi alterado de uma forma que não ocorre naturalmente (OMS,2002). A tecnologia utilizada permite que genes selecionados individualmente sejam transferidos de um organismo para outro, bem como entre espécies não relacionadas. Tais métodos são usados para criar plantas transgênicas, que então são utilizadas para plantio de cultivares transgênicos. Os cultivares transgênicos atualmente comercializados foram geneticamente modificados visando, principalmente, a proteção das culturas por meio da introdução de resistência contra doenças causadas por insetos e vírus ou através do aumento de tolerância a herbicidas. Levando-se em consideração que diferentes transgênicos incluem diferentes

genes, inseridos por meio de diferentes métodos, a OMS recomenda que cada alimento transgênico seja individualmente avaliado quanto à sua segurança, caso a caso, visto não ser possível afirmar-se de forma generalizada a segurança para consumo de todos os alimentos transgênicos. Em termos gerais, as avaliações de segurança de alimentos transgênicos deveriam investigar:

- a) Toxicidade
- b) Alergenicidade
- c) Componentes específicos por suas propriedades nutricionais ou tóxicas
- d) Estabilidade do gene inserido
- e) Efeitos nutricionais associados à modificação genética
- f) Quaisquer efeitos indesejáveis que pudessem resultar da inserção do gene (OMS, 2002).

Embora a OMS afirme que todos os alimentos transgênicos existentes no mercado internacional tenham sido aprovados por avaliações de risco conduzidas por autoridades nacionais, em uma revisão da literatura que realizada em 2000, não pudemos encontrar informação suficiente a essas avaliações na literatura científica (Domingo and Gomez, 2000). Em particular, a falta de publicações de estudos de toxicologia sobre efeitos adversos à saúde ficou evidente. Embora um número considerável de comentário, notícias gerais e cartas a editores tenham sido publicadas em periódicos internacionais de reputação, os artigos sobre pesquisas experimentais de segurança de alimentos transgênicos são espantosamente raros. Concluímos que se dados de avaliação toxicológica de alimentos transgênicos foram obtidos, os mesmos não foram relatados nas publicações científicas e submetidos ao julgamento da comunidade científica (Domingo and Gomez, 2000).

Um problema importante parece estar relacionado com a avaliação de segurança de novos transgênicos, o qual diz respeito ao conceito de "equivalência composicional". Este conceito é baseado no seguinte princípio: *se um novo alimento é substancialmente equivalente em composição e características nutricionais a um alimento existente, ele pode ser considerado tão seguro quanto o alimento convencional* (SOT, 2003). Embora a aplicação desse conceito não seja uma avaliação de segurança por si mesma, ele permite a identificação de diferenças potenciais entre o alimento existente e o novo produto, as quais deveriam ser a seguir investigadas quanto ao seu impacto toxicológico. Esse conceito é um ponto de partida e não um marco final (Kuiper ET AL., 2002).

Qual é a situação atual referente a riscos à saúde de alimentos transgênicos, seis anos após nossa revisão anterior da literatura (Domingo and Gomez, 2000)? A literatura científica foi novamente revista quanto aos potenciais efeitos tóxicos/ adversos à saúde de alimentos transgênicos utilizando o banco de dados Medline ([HTTP://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed)).

A busca cobriu o período de Janeiro 1980 a Outubro 2006. Os seguintes "unitermos" (número das referências entre parênteses) foram utilizados: *genetically modified foods* (686), *GM foods* (3498), *transgenic foods* (4127), *toxicity of transgenic foods* (136), *health*

risks of transgenic foods (23), *adverse effects of genetically modified foods* (170), *toxicity of genetically modified foods* (38), *health risks of GM foods* (38), *health risks of genetically modified foods* (72), *toxicity of GM foods* (120), *adverse effects of GM foods* (276) e *adverse effects of transgenic foods* (199). Pode-se constatar que "unitermos" gerais, tais como "genetically modified foods", "GM foods" e "transgenic foods" são muito importantes do ponto de vista de quantidade de referências. No entanto, referências relacionadas a avaliações específicas de risco são muito mais limitadas. Além disso, a maioria das referências associadas aos termos "adverse effects," "toxicity" e "health risks," não correspondiam ao principal tópico da busca.

Uma revisão dos trabalhos publicados diretamente relacionados com risco à saúde (inclusive toxicidade) de plantas transgênicas para consumo humano e animal é aqui apresentada. Informações e detalhes são especificamente dados para cada planta. Um sumário dos resultados dos estudos mais relevantes encontra-se na Tabela 1. Com poucas exceções, estudos sobre alergenicidade de plantas transgênicas não foram aqui incluídos. No entanto, um sistema de vigilância de alergias alimentares abrangendo a gama total de alimentos consumidos seja claramente essencial (Moneret-Vautrin et AL., 2004). Aqueles cultivares transgênicos que se relacionam de forma específica com alergias alimentares (trigo, amendoim) são objeto de especial preocupação.

PLANTAS TRANSGÊNICAS:

Batatas

Em meados de 1970, a OMS e outras instituições internacionais iniciaram estudos sobre o desenvolvimento de agentes existentes e novos agentes biológicos para controle de pragas. O mais popular desses agentes são as linhagens do *Bacillus thuringiensis*. Destas, a cepa *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* demonstrou produzir uma toxina eficaz contra insetos lepidópteros. Em anos recentes, batatas transgênicas foram produzidas, nas quais o gene CryI da bactéria *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* foi inserido. O gene foi transfetado às células da planta usando-se como vetor um plasmídeo (i.e., DNA circular de bactérias. N.T.) clonado de *Escherichia coli*.

Fares e El-Sayed (1998) investigaram o efeito da alimentação de camundongos com batatas transgênicas contendo o gene CryI do *Bacillus thuringiensis var. kurstaki*, cepa HD1, examinando ao microscópio ótico e eletrônico as estruturas do íleo, em comparação a outro grupo de camundongos alimentados com batatas tratadas com a "endotoxina delta" isolada da mesma cepa bacteriana. A arquitetura das células enterais do íleo de ambos os grupos revelou certas características comuns, tais como sinais de degeneração de mitocôndrias e ruptura de micro-vilosidades na superfície luminal do órgão (i.e., na mucosa que reveste internamente o íleo, um segmento do intestino. N.T.). No entanto, no grupo de camundongos alimentados com batatas tratadas com "endotoxina delta", diversas vilosidades mostravam um número anormalmente grande de células enterais (enterócitos, N.T.). Cinquenta por cento dessas células estavam hipertrofiadas e multinucleadas. A lâmina basal ao longo da base de enterócitos estava

danificada em vários locais. Diversas micro-vilosidades rompidas apareciam associadas a fragmentos citoplasmáticos de formatos variados. Alguns desses fragmentos continham retículo endoplasmático, bem como lamelas anelares em forma de anéis. Além disso, as células de Paneth estavam altamente ativadas e continham um grande número de grânulos secretórios. Essas alterações poderiam sugerir que as batatas tratadas com "endotoxina delta" resultaram no desenvolvimento de células hiperplásicas no íleo de camundongos. Os autores concluíram que o aparecimento de diversas células multinucleadas e enterócitos hipertrofiados, bem como de fragmentos citoplasmáticos com lamelas anelares altamente reconhecíveis indicava a possível participação das batatas tratadas com "endotoxina delta" no desenvolvimento da hiperplasia íliaca nos camundongos. **Eles recomendaram que, para evitar riscos potenciais para os consumidores, novos tipos de estruturas hereditárias e genéticas fossem analisadas, antes da liberação para comercialização de novos alimentos transgênicos.**

Devido à ampla controvérsia e repercussão internacional dos resultados, é especialmente relevante o estudo de Ewen e Putszalai (1999), que investigou os efeitos de dietas contendo batatas transgênicas que expressas o gene para lectina da *Galanthus nivalis* no intestino delgado de ratos. Descobriu-se que essas dietas têm diferentes efeitos em diferentes partes do trato gastrointestinal de ratos. Alguns desses efeitos, como a proliferação da mucosa, foram atribuídos, principalmente, ao transgene aglutina do *Galanthus nivalis* AGN. No entanto os autores sugeriram que outras partes do construto ou da transformação genética (ou ambos) poderiam ter também contribuído para os efeitos biológicos globais das batatas transgênicas contendo AGN, particularmente no intestino delgado e no ceco. Concluiu-se que existe a possibilidade de que um vetor vegetal muito usado em algumas plantas transgênicas poderia afetar a mucosa do trato gastrointestinal e exercer poderosos efeitos biológicos. Isto também se aplica a plantas transgênicas contendo construtos transgênicos similares, particularmente aquelas contendo lectinas, como o feijão de soja ou qualquer outra planta expressando genes ou transgenes de lectina. **A principal preocupação em relação a este estudo foi o curto período de duração, 10 dias. Seria esse período suficiente para detectar-se alterações toxicológicas relevantes no intestino delgado dos ratos?**

Hashimoto ET AL. (1999^a) confirmaram que as batatas transgênicas contendo glicinas nativas e com glicinas transgênicas derivadas da soja eram seguras, com base em sua equivalência composicional à não transgênica, prontamente digerível como as nativas. No entanto, estes autores indicaram que essa segurança se baseava somente no conceito de "equivalência composicional". Consequentemente, em uma investigação posterior, animais de laboratório foram incluídos em experimentos dietéticos (Hashimoto ET AL., 1999^b). Quatro grupos de ratos foram alimentados:

- (I) Somente com uma dieta comercial;
- (II) A dieta mais batatas não transgênicas;
- (III) A dieta mais batatas contendo glicina nativa,
- (IV) A dieta mais batatas transgênicas com glicina transgênica.

Os ratos receberam 2.000 mg/kg de peso corporal de batatas diariamente, por administração oral. Durante o período testado, os ratos em cada grupo cresceram bem (grupos II, III e IV), sem diferenças marcantes em aparência e ingestão alimentar, peso corporal ou em ganho cumulativo de peso. Nenhuma diferença significativa foi encontrada em hemograma, composição do sangue e peso de órgãos internos entre os ratos desses três grupos por 4 semanas. Necrópsia, ao final do experimento não indicou nenhum sintoma patológico em todos os ratos testados nem anormalidades histopatológicas no fígado e rins, exceto por um pequeno aumento nos níveis de sódio no plasma de ratos do grupo III. Em termos gerais, não houve diferenças significativas entre os ratos alimentados com batatas não-transgênicas e os alimentados com batatas transgênicas. Em conclusão, confirmou-se que as batatas transgênicas contendo glicinas possuíam praticamente as mesmas características nutricionais e bioquímicas das batatas não transgênicas. Apesar dessa conclusão, os autores ressaltaram:

- 1) Que a segurança na avaliação com animais de laboratório é com frequência influenciada por muitos fatores indefinidos;
- 2) Que também é difícil estabelecer uma dose relevante de ingestão de transgênicos;
- 3) Que antes de extrapolar-se a segurança de plantas transgênicas para humanos, experimentos de longa duração com animais (incluindo a capacidade de indução de malformações na prole, alterações na função reprodutiva, mutagenicidade e carcinogenicidade), bem como o uso de culturas celulares humanas de vários tecidos são claramente necessárias (Hashimoto et al., 1999b; Momma et al., 2002).

Os efeitos da alimentação com batatas transgênicas sobre índices não específicos de resistência foi investigado em ratos (Winnicka et al., 2001). As modificações genéticas em batatas consistem da repressão do gene que codifica o fator de ribozilação de Adenosina-difosfato da proteína e intensificação da síntese da proteína 14-3-3 (Wilczynski et al., 1997). Foram utilizadas duas dietas semi-sintéticas contendo batatas, uma não transgênica (dieta controle) e outras submetida a modificação genética (dieta experimental transgênicas). O peso médio inicial dos ratos era de 150 g e os animais foram alimentados por cinco semanas. **O grupo alimentado com batatas transgênicas teve um aumento de fagocitose de bactérias por monócitos e de neutrófilos produzindo espécies reativas de oxigênio (radicais livres) e de atividade bactericida de neutrófilos mediada por oxigênio. Os autores concluíram que era necessária uma determinação precisa do mecanismo que induzia a atividade fagocítica observada. Nós acrescentaríamos a necessidade de prolongar-se o período de alimentação dos animais, que nesse estudo foi muito curto.**

El-Sanhoty et al. (2004) avaliou em ratos a composição nutricional e segurança toxicológica da batata Spunta transgênica com a batata Spunta convencional. O estudo dietético foi realizado por 30 dias. Quatro grupos de ratos foram utilizados:

- Grupo (I) alimentado com dieta basal de controle;
- Grupo (II) alimentado com dieta controle mais 30% de batatas Não-GM Spunta desidratadas a frio;
- Grupo (III) alimentado com dieta controle mais 30% de batatas GM Spunta desidratadas a frio;
- Grupo (IV) alimentado com dieta controle mais 30% de batatas GM Spunta GMO G3 desidratadas

a frio;

Durante o período testado, os ratos de CAD grupo cresceram bem e sem diferenças marcantes na aparência. Nenhuma diferença significativa foi observada na ingestão, ganho diário de peso e eficiência alimentar. No entanto, houve uma ligeira diferença no peso corporal final entre o grupo controle e os grupos experimentais. Não houve diferença nos valores bioquímicos séricos entre os grupos, bem como entre os pesos dos mesmos órgãos (fígado, baço, coração, rim, testículos). Embora os resultados dessa avaliação de segurança não tenham mostrado diferenças significativas entre os grupos, nossa maior preocupação quanto à extrapolação para humanos desses resultados é a curta duração do estudo. Além disso, como os sistemas de desintoxicação de roedores e humanos são muito diferentes tanto em atividade como em quantidade, bem como em espécies enzimáticas, haveria dificuldades adicionais na extrapolação de resultados em experimentos com animais para humanos (Momma et al., 2002). Este comentário seria apropriado também para os demais estudos com roedores supra citados.

Um estudo reprodutivo com múltiplas gerações e de toxicidade embrionária do gene do peixe mediterrâneo bar, inserido em batatas transgênicas foi recentemente realizado em ratos (Rhee et al., 2005). Em cada geração, os animais foram alimentados com ração sólida contendo 5% de batata transgênica e Não-transgênica por 10 semanas, antes do acasalamento. Não houve nenhuma alteração associada à batata transgênica em peso corporal, consumo de alimento, desempenho reprodutivo e peso de órgãos. A cada geração o índice de prole não demonstrou nenhuma alteração relacionada a OGM.

Milho

As primeiras plantações em escala comercial de híbridos de milho geneticamente protegidos contra insetos, conhecido como milho "Bt", aconteceram em 1996, após revisão regulatória por autoridades americanas e canadenses. Esses primeiros cultivares híbridos eram derivados de uma modificação genética denominada "Evento 176", que expressa um gene que permite que a planta produza um inseticida proteico, Cry1 Ab, similar ao produzido pela bactéria *Bacillus thuringiensis*. Para determinar se o milho transgênico Event 176 possuía algum efeito adverso no desempenho do frango de corte, Brake e Vlakos (1998) realizaram um experimento alimentar de 38 dias em machos e fêmeas. Nenhuma diferença estatisticamente significativa de sobrevivência e peso corporal foi observada entre os animais alimentados com farinha ou ração granulada preparada com milho transgênico e dietas controle semelhantes, preparadas com milho convencional. Os frangos alimentados com transgênico apresentaram conversão alimentar significativamente melhor e maior massa de musculatura peitoral. Embora não esteja claro se essa melhor performance foi atribuída ao milho transgênico ou a pequenas variações na composição geral das dietas formuladas, nenhum efeito deletério foi relatado nesse estudo.

Um milho híbrido transgênico, homozigoto para o alelo 1pa1, contendo baixo nível de fitato (LP) e quase isogênico ao híbrido não transgênico (normal) foi comparado em dois experimentos com suínos em fase final de crescimento (Spencer et al., 2000a.). No primeiro experimento, 210 leitões (27 kg) foram divididos em seis grupos de regimes dietéticos com milho híbrido (LP e normal) e três regimes com fósforo (P). Os leitões alimentados com dieta contendo milho LP, sem adição de fósforo, apresentaram maior taxa de ganho de peso corporal, eficiência alimentar e peso final e maior conteúdo de cinza no quarto metacarpo do que os leitões alimentados com milho normal e sem adição de fósforo. O desempenho foi similar entre os grupos alimentados com LP e milho normal e adição de fósforo. Em um segundo experimento com dietas diferentes, nenhuma diferença significativa nos aspectos mencionados foi observada. No entanto, os leitões alimentados com milho LP possuíam carcaças com menos gordura costal e maior percentual de

musculatura magra. Esses resultados confirmaram que o fósforo estava disponível no milho LP e sugeriu que porcos alimentados com milho LP teriam carcaças mais desejáveis. Também confirmou resultados anteriores do mesmo grupo que mostraram que milho com baixo teor de fitato continha 5 vezes mais fósforo do que o milho normal (Spencer et al., 2000b). **Nenhum experimento de toxicidade foi incluído nesses dois estudos de curto prazo.**

Estudos com milho Bt na nutrição de porcos foram feitos também por Reuter et al., (2002^{a,b}). No primeiro estudo, investigou-se a composição, valor nutricional e digeribilidade dos grãos nativos e sua contraparte transgênica (bt) (Reuter et al., 2002a). Concluíram que do ponto de vista nutricional, o milho transgênico podia ser considerado como substancialmente equivalente ao milho nativo. No segundo estudo, o desempenho de crescimento final de leitões foi avaliado com dietas de milho transgênico Bt (NX6262) ou seu equivalente nativo (Prelude). Durante um período de 91 dias de crescimento, os dois grupos registraram desempenho igual em termos de ganho diário de peso para quantias iguais de ingesta (transgênico VS. Nativo). Estes resultados confirmaram desempenho igual para os dois tipos de milho. Concluíram que dietas contendo alta proporção de milho transgênico Bt ou sua contraparte não transgênica poderiam servir de alimento a porcos sem diferenças significantes no consumo diário, ganho de peso e eficiência energética. Efeitos indesejáveis ou adversos não foram observados (Reuter et al., 2002b). **No entanto, é importante notar que não apresentaram nenhuma informação sobre desempenho de testes toxicológicos nesses estudos.**

Estudos de alimentação sub-crônica de animais para exame do efeito sobre o sistema imunológico, do milho geneticamente modificado CBH351, que contém a proteína Cry9C derivada da sub-espécie *tolworthi* do *Bacillus thuringiensis*, foram conduzidos em fêmeas de ratos BN e camundongos B10A por Teshia et al. (2002). Os estudos foram desenhados para comparar os efeitos de uma linhagem geneticamente modificada de milho CBH351 (milho transgênico) ao seu equivalente não transgênico (milho Não-transgênico). A duração do estudo foi 13 semanas e os resultados obtidos foram os seguintes:

- (1) Nenhuma diferença composicional marcante em teores de ácidos graxos, aminoácidos ou filato entre os dois tipos de grãos;
- (2) Nenhuma diferença em crescimento, ingesta alimentar ou peso do timo, baço e fígado entre os animais dos dois grupos (alimentados com transgênicos e Não-transgênicos);
- (3) Os achados histológicos no do timo, baço, rins, fígado e medula óssea foram similares nos dois grupos;
- (4) Nenhuma evidência de produção de IgLE (marcador específico de alergenicidade) para Cry9C ou anticorpos IgA foram detectados no soro de ambos os grupos, embora um aumento pequeno de IgC específico para Cry9C (marcador de exposição a uma nova proteína) tenha sido encontrado no soro de ratos alimentados com 50% de milho transgênico, mas não nos alimentados com 5% de milho transgênico.

Em conclusão, nenhuma atividade imunotóxica foi detectada nos ratos e camundongos alimentados com milho transgênico nesse estudo. **Embora este tenha sido um estudo extensivo sobre a alergenicidade de milho transgênico, novamente, nenhum teste específico de toxicologia foi incluído.**

Uma das poucas investigações publicadas, realizadas por companhias de biotecnologia envolvidas em comercialização de alimentos transgênicos é áqüea realizada PR Hammond et al. (2004). Esses autores realizaram um estudo alimentar de 13 semanas em ratos com o grão de milho Roundup Ready® (Monsanto, USA), que é tolerante ao herbicida glifosato. As respostas dos ratos alimentados com esse transgênico foram comparadas a de ratos alimentados com grãos não-

transgênicos (controles). Todas as dietas foram nutricionalmente balanceadas e conformadas à Purina Mills e às especificações para Certified LabDiet 5002. O estudo dividiu 400 ratos em 10 grupos de 20 ratos/sexo/grupo. Saúde geral, peso corporal, consumo alimentar, parâmetros de patologia clínica (hematologia, química do sangue, urina), peso de órgãos, e aparência visual e microscópica de tecidos mostraram-se comparáveis entre os grupos alimentados com Roundup Ready e os com dieta controle. O nível de efeito-não-observado (NOEL) foi igual para os ratos alimentados com os níveis dietéticos mais altos (33%) de Roundup Ready. De acordo com os autores, esse estudo complementa estudos extensivos de agronomia, composição, e alimentação de animais rurais com o milho Roundup Ready, confirmando sua segurança e valor nutricional como encontrado em outros híbridos comercializados. **Embora o estudo seja extenso e pareça bem elaborado, a sua limitação potencial é o curto período de administração, 13 semanas.**

Por outro lado, Mendonza et al. (1998) avaliaram o teor de minerais e de ácido fítico do milho "flint" com baixos teores de ácido fítico (LPM) e no milho não transgênico (WTH). Também mediram a absorção de ferro de tortillas preparadas com cada tipo de milho e também mediram a dose referência de ascorbato ferroso. Descobriram que o consumo dessa linhagem transgênica poderia aumentar a absorção de ferro em populações humanas que consomem dietas à base de milho, incluindo aquelas que são primariamente dependentes de dietas derivadas da planta.

Feijão de Soja

Em 1996, Padgett e colaboradores relataram os resultados de extensiva análise composicional que demonstrava que o feijão de soja tolerante a glifosato (GTS) era substancialmente equivalente ao da soja comercial não transgênica. Em outro estudo do mesmo grupo, a segurança da expressão da proteína do gene clonado, 5-enolpiruvylshikimate-3-fosfato sintase da *Agrobacterium SP*. A cepa CP4 (CP4 EPSPS), que é altamente resistente à inibição por glifosato, foi determinada em camundongos (Harrison et al., 1996). Não houve nenhum efeito adverso em animais que receberam CP4 EPSPS por gavagem em doses de até 572 g/kg de peso corporal. Essa dose representa uma significativa margem de segurança (maior que 1.000 vezes) ao mais elevado consumo humano potencial de consumo da proteína CP4 EPSPS e presume que a proteína seja expressa em múltiplas safras. No entanto, esses resultados mostraram que a proteína CP4 EPSPS não é tóxica para mamíferos somente após exposição crítica.

Embora estudos composicionais confirmem a equivalência de GTS com as variedades comerciais de soja, experimentos de alimentação animal foram feitos para fornecer mais apoio a essa nova variedade de soja. Estudos de alimentação animal foram conduzidos em ratos, frango de corte, peixe bagre e vacas leiteiras como parte de programas de avaliação de segurança. Duas linhagens de GTS e suas variedades não transgênicas foram utilizadas em todos os estudos com animais. O desempenho de crescimento e conversão alimentar de animais alimentados com rações GTS foi comparável a de animais alimentados com as variedades não transgênicas. Nenhuma diferença significativa foi notada entre as duas linhagens em concentrações de nutrientes e anti-nutrientes. (Hammond et al., 1996). **No entanto, embora os autores concluíssem que a proteína era segura, o período de administração foi provavelmente muito curto para que se tire conclusões convincentes, visto que varia de 4 semanas para ratos e vacas leiteiras a 10 semanas para peixes bagres.** Além disso, parâmetros toxicológicos típicos não foram avaliados. Por outro lado, Shirai et al (1998) relataram que GTS representavam 1,1% quando plantações comerciais se tornaram disponíveis e o número de sojas resistentes ao glifosato foram descobertas. Esse nível foi um pouco inferior ao valor estimado anunciado oficialmente com base nas áreas cultivadas de GTS.

Tutel'ian et al. (1999) alimentaram ratos com concentrado albuminoso da soja geneticamente modificada 40-3-2 (Monsanto Co., USA), 1,25 g/rato/dia por 5 meses. Sangue, urina e fígado foram investigados para medir os níveis totais de proteína e glicose, aminoácido transferase e fosfatase alcalina no sangue, pH, densidade relativa e nível de creatinina na urina, atividade de enzimas hepáticas de fases I e II para metabolismo de xenobióticos, bem como atividade de enzima lisossomal não sedimentada. **Constataram que a adição de soja transgênica na dieta dos ratos modificara a função da membrana dos hepatócitos e a atividade enzimática dentro dos padrões fisiológicos, o que não é prejudicial para a adaptação dos sistemas.**

O efeito de sojas transgênicas e não-transgênicas sobre o sistema imunitário de ratos BN e camundongos B10A foi investigada por Teshima et al. (2000). Os estudos foram desenhados para comparar o valor alimentar de uma linhagem de GM GTS a uma outra variedade relacionada e uma parental (sojas Não-transgênicas). A duração do estudo foi 15 semanas. Crescimento, valor nutricional e histopatologia de órgãos relacionados à imunidade não mostraram diferenças significantes entre os dois grupos de animais (com transgênicos e sem transgênicos). A produção de IgE específica para soja não foi detectada no soro de nenhum grupo e o aumento de gC específico foi idêntico nos grupos transgênicos e Não-transgênicos. Nenhuma atividade alérgica foi encontrada em ratos ou camundongos. **Algumas limitações deste estudo foram o reduzido número de animais por grupo, cinco, bem como o tempo relativamente curto de estudo, 15 semanas.**

Phipps et al. (2002) alimentaram vacas lactantes com plantas transgênicas para determinar se DNA transgênico poderia ser detectado no leite. Nas 4-12 semanas do estudo, a mistura total de forragem (capim não-transgênico e milho) foi substituída por feijão de soja em 26,1% do total da dieta em 4-5 semanas e 13,9% em 6-12 semanas. Amostras semanais de leite foram coletadas de todas as vacas. Os resultados mostraram que o DNA transgênico não era detectado no leite das vacas que recebiam na dieta até 26,1% de soja tolerante ao herbicida glifosato. O limite de detecção para o teste foi estabelecido em 7,5 microgramas/L de leite. Foi sugerido que o DNA era extensivamente degradado, o que poderia ser atribuído à digestão agressiva e prolongada das vacas, o que foi revisto por Beever e Kemp (2000). Os autores ressaltaram que mesmo que fragmentos de DNA transgênicos fossem detectados no estudo, dever-se-ia levar em consideração que a OMS (1993) concluíra que não existia nenhum risco inerente no consumo de DNA, inclusive os de plantas transgênicas.

Recentemente, um estudo de segurança à saúde de soja transgênica (soja Roundup Ready tolerante a glifosato) utilizou testículo de mamíferos (camundongo) como um biomonitor de efeitos tóxicos potenciais (Brake e Evenson, 2004). Camundongas prenhes foram alimentadas com soja transgênica e não transgênica (convencional) durante a gestação e lactação. Após a desmama, os machos jovens foram mantidos em suas respectivas dietas. Aos dias 8, 16, 26, 32, 63 e 87 após o nascimento, três desses camundongos e um adulto controle eram mortos, os testículos removidos e as populações de células contadas através de citometria de fluxo. Estudos de múltiplas gerações foram conduzidos da mesma maneira. Em comparação com os animais em dieta convencional, nenhum efeito adverso na síntese macromolecular ou no crescimento e diferenciação celular foi observado nos animais alimentados com soja transgênica. Também nenhuma diferença foi notada quanto ao tamanho das ninhadas e peso corporal. Os autores concluíram que a soja transgênica não causa nenhum efeito negativo no desenvolvimento testicular fetal, pós-natal, puberal ou no adulto, nem no crescimento corporal dos camundongos. Zhu et al (2002) não encontraram efeitos adversos de soja tolerante a glifosato em ratos, mesmo com dietas tão altas quanto 90%.

Nenhum dos estudos acima relatou resultados a respeito da ação endócrina potencial das sojas transgênicas. Informação sobre isso é tão importante quanto a da composição das

sojas transgênicas, levando-se em consideração que estas plantas são utilizadas na preparação de leite de soja e de outros produtos considerados "Health Foods". Com respeito à composição de sojas transgênicas, Cromwell et al. (2002) demonstraram que soja Roundup Ready era essencialmente equivalente em composição e valor nutricional à soja convencional em leitões em crescimento final. Por sua vez, Mccann et al. (2005) concluíram que a composição da soja comercial tolerante ao glifosato após 3 anos de cultivo em múltiplas variedades permanecera equivalente à soja convencional. Por outro lado, de acordo com Kim et al. (2006) e alergenicidade dos extratos do tipo convencional e das sojas transgênicas eram idênticas em adultos. No entanto, outros autores concluíram que para avaliar-se a alergenicidade das sojas transgênicas e de outros alimentos transgênicos, é necessária uma seleção de amostras de materiais controlados e de imunoenaios de soros qualificados. (Yum et al., 2005; Catani, 2006).

Arroz

Wang et al. (2000) investigou a segurança do gene anti-herbicida (BAR) no arroz transgênico. Estudos de toxicidade aguda, testes de mutação e um estudo de alimentação de 30 dias foram conduzidos em ratos e camundongos. A dose oral LD₅₀ nas duas espécies de mamíferos foi >21,5g/kg de peso corporal; embora nenhuma mutação tenha sido encontrada. Ratos consumindo 16,3 e 63g/kg de peso corporal tiveram um crescimento e desenvolvimento normal nos 30 dias de teste. Nenhum efeito adverso ou anormalidade histopatológica foi notada.

Momma et al. (1999) mostrou que acompanhando o nível maior de proteína no arroz transgênico com o gene da glicina da soja, os teores de quase todos os aminoácidos, inclusive da lisina, eram maiores no arroz transgênico (20% a mais). O alto nível de expressão de proteínas desejadas possuem a possibilidade de provocar não apenas alterações nutricionais, mas também distúrbios metabólicos nas plantas transgênicas. Portanto, os autores destacaram, que a avaliação de segurança baseada da "equivalência composicional" não poderia ser sempre suficiente para a avaliação da segurança de plantas transgênicas. Assim, para avaliar-se os efeitos dessas flutuações metabólicas, esse grupo de pesquisadores conduziu estudos em ratos com arroz geneticamente modificados com glicina de soja por 4 semanas. As quantidades administradas foram 10g/kg-rato/dia, o que é 10 vezes maior do que a dose prescrita para avaliação de segurança com aditivos alimentares. Nenhuma diferença foi registrada na aparência, ingestão, peso corporal e ganho cumulativo de peso. Não houve também diferenças significantes na contagem de hemácias, ou nos parâmetros bioquímicos determinados no plasma. Nenhuma anormalidade foi observada nos órgãos quanto a peso, formato e função. (Momma et al., 2001). **A despeito desses resultados, os autores concluíram existir o risco potencial para toxinas desconhecidas no arroz transgênico e a capacidade para induzir malformação, desordens reprodutivas, mutagenicidade e carcinogenicidade no arroz transgênicos que não poderiam ser confirmadas por experimentos de curto prazo. Em uma investigação subsequente, do mesmo grupo, nenhuma anormalidade bioquímica, nutricional ou morfológica foi detectada em um experimento de longa duração para identificação de toxicidades crônicas (Momma et al., 2002). No entanto, dados atuais sobre a habilidade de arroz transgênico induzir mutagenicidade, teratogenicidade e carcinogenicidade não estão disponíveis na literatura científica.**

Um grupo de pesquisa no Instituto de Nutrição de Segurança Alimentar de Beijing, China, relatou recentemente uma série de estudos com roedores para avaliação de potenciais efeitos adversos do arroz transgênico, que expressa uma proteína inseticida CpTI. Apesar do evidente interesse científico dessas pesquisas, os resultados foram publicados apenas em Chinês. Um desses estudos é sobre o potencial teratogênico do arroz transgênico em ratos em desmama. Os animais foram divididos em 4 grupos: grupo arroz transgênico, grupo arroz convencional, grupo controle positivo, grupo controle negativo. A dieta do grupo não transgênico continha 74,7% de arroz

convencional da mesma variedade do transgênico, Quando o período de maturidade sexual dos animais chegou, testes de teratogenicidade foram realizados. O peso corporal das ratas prenhes e o peso, comprimento do corpo e da cauda dos fetos era significativamente maior no grupo de arroz transgênico do que no grupo de controle positivo, enquanto taxa de malformação de feto foi significativamente menor no grupo de arroz transgênico. (Zhuo et al., 2004a). Li et al (2004a.) avaliaram os efeitos de arroz transgênico contendo Xa21 no desenvolvimento de embriões de ratos. Ratos em desmama foram divididos em 4 grupos: arroz transgênico, não transgênico, controle negativo AIN93G e controle positivo MATDA. Os ratos foram alimentados com as respectivas dietas por 90 dias e acasalados. O desenvolvimento maternal das ratas e dos embriões foi observado. O ganho de peso corporal das ratas prenhes e o peso, comprimento do corpo e da cauda dos fetos era significativamente aumentado no grupo de arroz transgênico do que no grupo de controle positivo. O número de mortes e embriões reabsorvidos e as taxas de malformação (externa, visceral e do esqueleto) foram inferiores do grupo de arroz transgênico do que no grupo de controle positivo. As taxas de gravidez e desenvolvimento embrionário foram semelhantes para o grupo com arroz com o transgene Xa21 e o com arroz convencional.

Os efeitos nutricionais entre o arroz transgênico e o arroz convencional foram também comparados em ratos. Após 28 dias de exposição, com excessão da razão peso do fígado/peso corporal, que nos machos era maior do grupo de arroz transgênico, todos os outros indicadores não mostraram diferenças significantes. Nas fêmeas a razão peso do fígado/peso corporal, cálcio circulante e densidade óssea era maior no grupo de arroz transgênico do que no de controle. Concluiu-se que o arroz transgênico possui um bom efeito nutricional no desenvolvimento de ratos enquanto nenhum efeito adverso foi observado. (Li et al., 2004b). **É importante notar que a diferença observada (peso do fígado/peso corporal) não deve ser subestimada, principalmente por tratar-se de um estudo de apenas 28 dias.**

Um estudo sub-crônico foi também realizado por Zhuo et al., (2004b). Animais foram divididos em três grupos: T, N e C. A dieta do grupo T continha 78,3% de arroz transgênico, enquanto que a do grupo N continha 74,7% de arroz convencional. A dieta do grupo C era a dieta padrão AIN93G. Os ratos foram alimentados por 90 dias. No geral não houve diferenças nutricionais entre os 3 grupos e nenhum dano histopatológico foi notado. **Ao final do primeiro mês, o comprimento do corpo dos ratos machos do grupo T era maior do que o dos outros grupos, enquanto ao final do teste, a glicose do sangue dos machos e a ALT eram menores do que a dos outros grupos. Na metade do período de teste, o número de hemoglobinas e hemáceas no sangue das fêmeas do grupo T era maior do que nos outros grupos, mas ao final do teste, o número de monócitos também era maior. No entanto, essas alterações estavam dentro dos parâmetros normais.** Portanto, os autores concluíram que o teste com arroz transgênico não revelara nenhum sinal de efeitos tóxicos ou adversos. **No entanto, este não foi um estudo toxicológico e, portanto, os dados são irrelevantes do ponto de vista da toxicologia.**

Recentemente, Schooder et al. (2006) publicaram os resultados de estudo de 90 dias com o arroz transgênico (KMID1), expressando a proteína Cry1Ab (toxina do *Bacillus thuringiensis*) em ratos Wistar. O arroz KMID1 contém 15 mg de toxina Bt/kg. Nenhum efeito adverso foi notado no comportamento dos ratos, nem no ganho e peso durante o estudo. **Uns poucos parâmetros hematológicos e bioquímicos eram diferentes dos considerados padrão para ratos Wistar. Após o sacrifício dos animais, apenas alterações pequenas foram encontradas em uma grande quantidade de órgãos, quanto a peso de órgãos, exame histopatológico e macroscópico. Apesar desses resultados, Schroder et al. consideraram que mais testes de grupos seriam necessários antes de se poder avaliar a segurança do arroz transgênico estudado.**

Para avaliar o potencial alergênico do arroz transgênico, um estudo de curta duração foi feito com camundongos (Chen et al., 2004). Os animais foram alimentados com ração composta de arroz transgênico (contendo transgene inibidor de tripsina) ou arroz convencional (com a mesma composição do transgênico, exceto pelo transgene citado) por 30 dias. Ao final desse período, os índices imuno-toxicológicos de cada grupo foram comparados (peso corporal, vísceras, testes hematológicos de rotina, linfócitos, titulação de anticorpos séricos, células de formação plaquetária, resposta de hipersensibilidade tardia e teste de função de macrófagos). Não se constatou nenhuma diferença significativa e concluiu-se que o arroz transgênico era equivalente ao convencional em relação aos efeitos imuno-toxicológicos.

Pepino

Kosieradzka et al (2001) examinaram em ratos os efeitos de dietas com uma porção considerável de pepino transgênico sobre o crescimento, peso relativo de órgão e absorção de nutrientes. Esses efeitos foram comparados com os de animais alimentados com dieta equilibrada de frutas. As transformações no pepino transgênico consistem da introdução de um transgene que codifica uma proteína doce (thaumatococina) e de um gene marcador de resistência à kanamicina. O experimento durou 5 semanas em 3 grupos de ratos machos com peso inicial de 150 g. As dietas de isoproteínas contendo 0 ou 15% de liofilizado de pepino transgênico ou não transgênico não afetaram o ganho de peso, status aparente de saúde ou peso relativo de órgãos. Digeribilidade de proteínas foi um pouco inferior no grupo com transgênico na dieta (89,2 vs. 90%), enquanto a digestão de fibras cruas foi maior no grupo de pepino convencional (22% vs. 15%). Por sua vez, a digestão de gorduras e extratos livres de nitrogênio não diferiu. Desta forma, o consumo por 28 dias de pepino transgênico não afeta o crescimento e saúde de ratos, embora afete ligeiramente a capacidade digestiva de proteínas. **Concordamos com as conclusões dos autores comentando que mais estudos duração (e mais completos) sobre a influência da alimentação com transgênicos sobre organismos animais são necessários.**

Tomates e Pimentões

Noteborn et al. (1995) estudaram a segurança de tomates transgênicos expressando a proteína Bt Crystal Protein Cry1(b) em ratos por 90 dias, com uma ingestão média diária de 20 g de tomates frescos. Percentuais de sobrevivência, peso corporal final e peso de órgãos não revelaram nenhuma anormalidade, assim como os exames macro e microscópicos de tecidos e órgãos não revelaram nenhuma diferença entre animais dos dois grupos.

No início dos anos 90, um gene (cp) do vírus do mosaico do pepino (CMV) foi isolado e clonado (Hu et al., 1990) e um sistema de transformação genética foi estabelecido para tomate e pimentão. A segurança do tomate transgênico com o gene CMV-cp, foi estudada por Chen et al. (2003) e testes com ratos para toxicidade aguda, teste de micronúcleos, aberrações no esperma, teste de Ames e trinta dias de alimentação. O LD₅₀ para os dois produtos transgênicos foi considerado maior que 10g/kg para ratos e camundongos, indicando que pós liofilizados de transgênicos eram tão inócuos como suas contrapartes convencionais. Nenhuma genotoxicidade foi encontrada in vivo ou in vivo pelo teste de micronúcleo, e demais testes. Também não houve diferenças em crescimento, ganho de peso, ingestão, hematologia, bioquímica, órgãos e histopatologia entre ratos ou camundongos alimentados com tomates ou pimentões transgênicos. Segundo os autores, os resultados demonstraram que pimentões e tomates transgênicos/resistentes a CMV eram comparáveis aos convencionais para quanto à segurança alimentar.

Ervilhas

... lacta-albumina, com ou sem 0,9 ou 0,3 g de alfa-AI, níveis esses equivalentes ao das dietas com ervilha transgênica. O ganho de peso e o peso de órgãos não foi significativamente diferente entre os dois primeiros grupos, nem com o grupo com lacta-albumina, mesmo quando suplementado com 0,9 g alfa-AI/kg. A digestão de proteínas e matéria seca foi ligeiramente inferior, mas estatisticamente significante que a do grupo lacta-albumina. O valor nutricional das dietas contendo 650g de ervilha foi menor do que o da lacta-albumina. No entanto, as diferenças entre as linhagens transgênica e convencional de ervilhas foram pequenas, provavelmente porque nem a recombinante alfa-AI purificada, nem a transgênica, inibiram a digestão do amido no intestino delgado dos ratos in vivo na mesma extensão que a contendo o gene alfa-AI do feijão. Em conclusão, este estudo de curto prazo indicou que ervilhas expressando o gene alfa-AI do feijão poderiam ser usadas em dietas de ratos na razão de 300 g/kg, nível sem maiores danos para o crescimento, metabolismo e saúde, levantando a possibilidade que ervilhas transgênicas sejam também utilizadas em dietas de animais rurais. **Por outro lado, os autores também fizeram notar que naquele estágio, tais resultados não poderiam ser tomados como prova de que ervilhas transgênicas sejam apropriadas para o consumo humano. Seria evidente que mais testes específicos de risco, que deveriam ser desenvolvidos tendo em mente o consumidor humano, eram claramente necessários. DE acordo com a literatura, até os dias de hoje, tais testes não foram feitos.**

Canola

Para avaliar a toxicidade potencial da proteína verde fluorescente (GFP), Richards et al. (2003) alimentaram com pura GFP e dietas contendo canola transgênica expressando GFP ratos desmamados por 26 dias. GFP tornou-se uma ferramenta valiosa em biotecnologia porque é incomparavelmente eficaz como um marcador em tempo real da atividade de sítios promotores e da expressão gênica in vivo. Os animais foram alimentados ou com AI-93G (controle), ou com dieta controle mais 1,0 MG de GFP pura, ou com a dieta controle modificada com 200 g/kg de canola (*Brassica rapa* cv Westar), ou dieta controle com 200 g/kg de canola transgênica. Nenhuma alteração foi induzida pela ingestão de GFP, como crescimento, ingesta, peso relativo de intestino e outros órgãos, ou atividade de enzimas hepáticas no soro. Uma comparação da sequência de aminoácidos da GFP com alergênicos alimentares conhecidos, mostrou que o maior segmento de sequência de aminoácidos consecutivos na GFP que combina com alergênico era de 4, indicando a ausência de epítopes alergênicos. Além disso, GFP foi rapidamente degradada durante uma simulação de digestão gástrica. Os dados mostraram pouco risco de alergenicidade e indicaram que GFP representaria um risco mínimo para o suprimento de alimentos. **No entanto, alertam em suas conclusões que se tratava de um estudo de curta duração, que não apresentava garantia suficiente da ausência de risco potenciais à saúde e, portanto, estudos de longo prazo precisariam ser realizados.**