

Slide 1- ALIMENTOS GENETICAMENTE MODIFICADOS NA NUTRIÇÃO E SAÚDE – Dra. Neuza Maria Brunoro Costa, é nutricionista, mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ph.D. em Nutrição Humana e pós-doutora em Biodisponibilidade de Minerais. É professora no Departamento de Nutrição e Saúde, da Universidade Federal de Viçosa, MG. Endereço: Departamento de Nutrição e Saúde, Campus da UFV, Viçosa, MG, 36571-000. E.mail: nmbc@ufv.br.

Slide 2- Biotecnologia: A biotecnologia baseia-se na habilidade de introduzir, com precisão, construções gênicas em um organismo, usando a tecnologia do DNA recombinante ou técnicas de engenharia genética para alterar os seus processos metabólicos favoravelmente. Em 1953, Watson e Crick descobriram a estrutura tridimensional do DNA. Desde então, o homem vem obtendo um magnífico progresso no entendimento do material genético dos seres vivos. Resultado desse avanço é o mercado derivado da biotecnologia, que ,em 2000, movimentou mais de US\$ 200 bi nos Estados Unidos, e o seqüenciamento do genoma humano, em 2001, publicado nas revistas Nature e Science.

Slide 3- Melhoramento Genético Convencional: Com o melhoramento genético convencional tem sido possível a obtenção de maior produtividade, como o milho híbrido, e o desenvolvimento de variedades mais adaptadas às condições climáticas de certas regiões do Brasil, como a soja e a maçã. Tem sido possível ainda aumentar a resistência a pragas, como o feijão resistente a carunchos, e aumentar o valor nutricional de alimentos, como o milho QPM (milho de alta qualidade protéica). Esses avanços, entretanto, demandam um longo tempo para serem alcançados, ao contrário dos obtidos pelo uso da tecnologia do DNA recombinante.

Slide 4- Fases dos OGMs: Primeira Fase: O desenvolvimento da biotecnologia pode ser dividido em três fases. A primeira fase consiste na introdução de características agronômicas. Desde 1995, alguns produtos com melhores aspectos culturais têm sido lançados no mercado, com a soja *Roundup Ready*, tolerante ao glifosato, um ingrediente ativo do herbicida Roundup. Outro exemplo de produto com melhores aspectos culturais é o milho *YieldGard*. Este milho possui um gene que codifica para uma proteína inseticida que ocorre naturalmente na bactéria *Bacillus thuringiensis* e confere resistência à broca no milho, inseto que infesta a cultura e reduz sua produção em 6% a 20%.

Slide 5- Segunda Fase: A segunda fase da biotecnologia visa à produção de culturas de melhor qualidade. O melhoramento genético clássico tem produzido alimentos diferenciados, como a canola com alto teor de ácido erúico e glicosinolato, milho ceroso com alto teor de amilose, arroz com grão longo e trigo *durrun*. Vários produtos para ração animal estão sendo desenvolvidos, dentre os quais aqueles com grãos com alta densidade calórica, devido ao elevado conteúdo de óleo; e os de grãos com alta densidade de nutrientes, principalmente teor de proteína, aminoácidos essenciais ou micronutrientes. O milho com alto teor

de óleo (6% ou mais) e/ou alto teor de proteína é resultado do melhoramento molecular. Outro exemplo da biotecnologia, introduzindo genes que alteram vias metabólicas, é a produção de gordura sólida ou semi-sólida sem ácidos graxos *trans* nas sementes oleaginosas. Isso é possível inibindo-se a conversão de ácido esteárico para oléico em soja e canola. A melhoria de atributos como flatulência, *flavor* do feijão, propriedades de textura e emulsificação da soja também são exemplos de novos produtos da biotecnologia da segunda fase.

Slide 6- Terceira Fase: A terceira fase da biotecnologia objetiva o uso de plantas como "biofábricas", produzindo alimentos nutricionalmente fortificados e substituindo a adição de constituintes sintéticos aos alimentos. Um exemplo é o óleo de canola rico em caroteno. Desse modo, a biotecnologia pode ser utilizada para suprir as deficiências nutricionais, como a vitamina A. A biotecnologia também pode ser usada para reduzir o conteúdo de fatores antinutricionais, assim como para fornecer novos nutrientes nos grãos, como os fitoesteróis, os quais têm o potencial de reduzir de 10% a 15% os níveis de colesterol em humanos. Outras aplicações da biotecnologia para um futuro próximo incluem a modulação de doenças pela manipulação de compostos antioxidantes, antiinflamatórios e estimulantes do sistema imune nos alimentos.

Slides 7 e 8- Proteínas: A introdução dos genes que codificam as enzimas aspartato quinase e dihidrodipicolinato sintase de bactérias menos sensíveis à inibição por lisina dentro da batata resultou em aumentos de 6, 8 e 2 vezes nos teores de lisina, treonina e metionina, respectivamente. O nível de lisina chegou a 15% do aminoácido total, enquanto nas plantas não transformadas esse nível foi de 1%. A metionina é o aminoácido limitante da soja e, devido à sua hidrofobicidade, sua inserção resulta na melhoria do valor nutricional e funcional dessa oleaginosa. O aumento da hidrofobicidade aumenta a formação de gel induzido pelo calor e a capacidade emulsificante da soja.

O gene que codifica uma proteína específica da semente, rica em aminoácidos essenciais e não-alérgica, *AmA1*, albumina do amarantos (*Amaranthus hypochondriacus*), foi introduzido na batata, resultando na melhoria de seu valor nutricional, com aumento do conteúdo total de proteínas e, principalmente, de aminoácidos essenciais. Um aumento de 2,5 a 4 vezes no teor de lisina, metionina, cisteína e tirosina foi observado em batatas contendo o gene *AmA1*. As plantas transgênicas podem ser uma fonte alternativa viável de hemoglobina, uma vez que elas constituem uma fonte de biomassa barata, e as produções de culturas transgênicas têm sido disponíveis comercialmente em alguns países. As proteínas α e β -globinas da hemoglobina humana foram expressas em tabaco transgênico (*Nicotiana tabacum* var. Xanthi), transformadas usando *Agrobacterium tumefaciens*. As plantas transgênicas oferecem consideráveis vantagens para produção em larga escala de hemoglobina recombinante e poderiam aliviar a dependência de limitados suprimentos de resíduos de sangue humano, assim como eliminando a contaminação de origens bacteriana e animal. Plantas transgênicas podem expressar várias proteínas do leite humano. Por exemplo, tem sido demonstrado que o gene que codifica a β -

caseína pode ser introduzido na batata, da mesma forma, α -lactoalbumina e lactoferrina podem ser expressas em tabaco.

Slides 9 e 10- Lipídios: A manipulação do perfil de ácidos graxos por meio da biotecnologia pode trazer benefícios nutricionais. O melhoramento convencional tem produzido óleos de girassol e amendoim ricos em ácido oléico, os quais são normalmente ricos em ácido linoléico. Por meio de mutações, em girassol, o conteúdo de ácido oléico aumentou de 29% para 84%. Mutantes da soja com menores teores de ácido palmítico e maiores teores de ácido esteárico têm sido obtidos. Essas alterações no perfil de ácidos graxos, aumentando o teor de ácidos graxos monoinsaturados e reduzindo o teor de ácido palmítico, têm implicações na redução do risco de doenças cardiovasculares.

Por meio da biotecnologia foi desenvolvida canola com elevado teor de ácido esteárico (18:0), pela supressão da enzima $\Delta 9$ dessaturase. O ácido esteárico, embora seja saturado, tem menos implicações no perfil lipídico, uma vez que pode ser convertido em ácido oléico no organismo. O óleo requer menor ou nenhuma hidrogenação e, portanto, não são produzidos ácidos graxos *trans*.

Outra forma de evitar a hidrogenação e a geração de ácidos graxos *trans* é aumentando a expressão do ácido oléico (18:1 n-9) no lugar do ácido linoléico (18:2 n-6) e α -linolênico (18:3 n-3), pela supressão da enzima $\Delta 12$ dessaturase. O óleo com mais ácido oléico é menos suscetível à oxidação.

Com o uso da biotecnologia, o DNA que expressa a enzima $\Delta 6$ -dessaturase foi introduzido no tabaco a partir de *Borago officinalis* L., cujas sementes contêm cerca de 20% a 25% de ácido γ -linolênico (GLA). Com isso, outras culturas com maior produtividade podem se tornar fontes de GLA, que são importantes na manutenção da estrutura e função da membrana, na regulação da síntese e transporte de colesterol e na prevenção da perda de água pela pele e como precursores de eicosanóides, incluindo prostaglandinas e leucotrienos.

Slide 11- Minerais (Zinco e Ferro): As estratégias do melhoramento de plantas para controlar deficiências de zinco incluem o aumento da concentração de zinco nas plantas, redução da quantidade de ácido fítico e aumento da concentração de aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína), os quais aumentam a absorção de zinco pelas plantas.

O enriquecimento com ferro, através do melhoramento genético ou da biotecnologia (biofortificação), tem sido uma alternativa com perspectivas sustentáveis para alimentos que fazem parte da dieta básica de populações. Essa forma de enriquecimento pode ser usada em substituição ou em conjunto com a suplementação medicamentosa, que tem efeitos colaterais, ou a fortificação de alimentos, que pode ter baixa abrangência, uma vez que somente os produtos industrializados são fortificados.

Slide 12- Ferro: O conteúdo de ferro nos tecidos da planta pode ser aumentado pela maior captação de ferro do solo. Na deficiência de ferro, a enzima Fe^{3+} quelato redutase, que reduz o Fe^{3+} para a forma Fe^{2+} mais solúvel, é induzida e, finalmente, o Fe^{2+} é captado por transportadores. Gene que induz a

superexpressão da redutase-oxidase 2 férrica (FRO2) de levedura tem sido expressa em tabaco, aumentando a atividade da Fe^{3+} quelato redutase.

Proteínas transportadoras de ferro, como a Nramp (*natural resistance-associated macrophage protein*) e IRT1 (*iron regulated transporter 1*), podem ser superexpressas, aumentando a concentração de ferro nas plantas, como milho, trigo e arroz.

Com o objetivo de elevar o teor de ferro do arroz branco ou polido, foi realizada a inserção de genes que expressam três proteínas no endosperma central: fitoferrina de *Phaseolus*, proteína semelhante à metalotioneína, rica em cisteína endógena, e uma fitase de *Aspergillus fumigatus* termorresistente. A proteína semelhante à metalotioneína, rica em cisteína, superexpressa em arroz aumentou o conteúdo de resíduos de cisteína sete vezes e o nível de fitase 130 vezes. O consumo extra de ferro no arroz transgênico parece ser de significância nutricional, considerando-se um consumo diário de 300 g de arroz por um adulto, o que representaria elevar de 3mg para 6 mg de ferro provenientes do arroz, o equivalente a 20% das recomendações diárias de ferro.

Os peptídios ricos em cisteína melhoram a absorção de ferro no intestino, pois são considerados os principais contribuidores na absorção de ferro. Outra opção para aumentar o conteúdo de ferro em plantas é a introdução de ácido ascórbico, hemoglobina e peptídeos contendo cisteína no tecido vegetal.

Slide 13- Vitaminas (E e C): A vitamina E tem ação antioxidante e tem maior atividade de vitamina na forma de α -tocoferol. A introdução do gene tocoferol metiltransferase na planta converte γ -tocoferol em α -tocoferol, aumentando a atividade da vitamina. A vitamina C também tem ação antioxidante, além de aumentar a absorção de ferro da dieta. O nível de vitamina C pode ser aumentado, expressando-se o gene que codifica a enzima L-galactona- α -lactona desidrogenase. Em plantas e alguns animais, mas não no homem, o ácido ascórbico é sintetizado a partir da glicose.

Slide 14- Vitaminas (β -caroteno): Duzentos e cinquenta milhões de crianças são deficientes de vitamina A, e a cada ano três milhões de crianças desenvolvem xerofthalmia. A vitamina A é requerida para visão, crescimento, reprodução, proliferação e diferenciação celular e integridade do sistema imune. É fornecida na dieta como retinol pré-formado, principalmente como éster de retinol, pelos alimentos de origem animal e pelos carotenóides, pró-vitamina A, presentes em alimentos de origem vegetal. A engenharia genética foi usada para produzir grãos de arroz ricos em β -caroteno. O endosperma de arroz imaturo pode sintetizar o composto intermediário geranylgeranyl difosfato, uma molécula isoprenóide de 20 carbonos. A condensação de duas moléculas de geranylgeranyl difosfato produz o fitoeno, uma molécula com 40 carbonos. O fitoeno é o primeiro carotenóide precursor na via biossintética para a produção de β -caroteno, pela expressão da enzima fitoeno sintase. O *Golden rice*, ou arroz-dourado, foi geneticamente modificado para expressar alto conteúdo de carotenóide, tem recebido atenção da mídia pelo seu potencial em suprir provitamina A para milhões de indivíduos. Foi desenvolvido em 1990 por pesquisadores alemães e suíços com financiamento da

Fundação Rockefeller e tende a ser cruzado com variedades locais de arroz. Três genes tirados do narciso-silvestre e da bactéria *Erwinia* sp foram introduzidos no arroz para produzir um grão amarelo, com altos níveis de β -caroteno, que é convertido em vitamina A no organismo. A introdução simultânea desses genes foi um dos maiores avanços tecnológicos, e 1,6 a 2 μ g de β -caroteno/g de arroz fresco foram expressos. Esforços iniciais com o *Golden rice* têm-se concentrado na Índia, mas a tecnologia deverá se estender a outros países da Ásia, África e América do Sul.

Slide 15- Fatores Antinutricionais: Fatores antinutricionais reduzem a utilização de nutrientes dos alimentos. Dentre eles, os inibidores de proteases, como os inibidores Kunitz (KTI) e Boman-Birk (BBI) presentes na soja, que reduzem a digestibilidade das proteínas. As lipoxigenases também presentes na soja contribuem para o sabor indesejável e para a oxidação dos lipídios. Pela biotecnologia é possível eliminar a produção desses fatores antinutricionais, porém, isso pode implicar na redução de aminoácidos sulfurados, como a metionina e cisteína, que já são limitantes na soja.

A adição de fitase de *Aspergillus niger* em soja e canola, via transgênese, levou a uma menor excreção de fósforo nas fezes de frangos e de suínos, indicando maior biodisponibilidade de fósforo e de outros minerais normalmente quelados ao fitato, como ferro e zinco. Além disso, a menor liberação de fósforo no ambiente reduz seu arraste pela água, reduzindo o impacto ambiental. O uso de fitase em vez da remoção do fitato do alimento tem a vantagem de não reduzir o teor de fósforo do alimento, além de aumentar a sua biodisponibilidade.

Slide 16- Biotecnologia e o Valor Funcional dos Alimentos: Ácidos Graxos: A biotecnologia tem possibilitado melhorar a qualidade do óleo pela mudança em sua composição. Os ácidos graxos saturados mirístico e palmítico aumentam os níveis de LDL-colesterol, enquanto o esteárico é neutro. Os ácidos graxos monoinsaturados (oléico) e os polinsaturados linoléico e α -linolênico reduzem os níveis de LDL-colesterol e, conseqüentemente, o risco de doenças cardiovasculares. Cientistas do Departamento de Agricultura norte-americano (USDA) desenvolveram um germoplasma que pode levar à produção de óleo de soja com maiores níveis de gordura monoinsaturada, o que poderá melhorar seus benefícios à saúde, pela proteção cardiovascular desses ácidos graxos, além de reduzir a produção de ácidos graxos *trans* com o processo de hidrogenação do óleo de soja, na produção de margarina e gordura hidrogenada. O gene que codifica a dessaturase, responsável pela conversão de ácido linoléico a GLA, proveniente de borragem (*Borago officinalis* L.), foi inserido em tabaco, e houve acúmulo de 13,2% de GLA.

Frutanas: Frutanas são polímeros de frutose com ligações β -2,1 ou β -2,6, também chamadas de frutoligossacarídeos (FOS) ou inulina. Não são digeridas no trato gastrointestinal, porém são amplamente fermentadas pela microbiota intestinal, resultando em ácidos graxos de cadeia curta, que são aparentemente os responsáveis pelos efeitos benéficos das frutanas na promoção da saúde. O

consumo de cerca de 5 g de inulina por dia favorece o crescimento de bifidobactéria (efeito bifidogênico) e, por isso, a inulina e FOS são chamados de prebiótico. As bactérias bífidas estão associadas a uma série de efeitos benéficos, como inibição do crescimento de bactérias patogênicas, produção de vitaminas do complexo B, redução da concentração sanguínea de amônia e redução dos níveis de colesterol. O consumo de inulina tem sido associado ainda a um aumento na absorção de minerais e redução do risco de câncer de cólon. As enzimas que sintetizam frutanas nas plantas, sacarose:frutosiltransferase (SST) e frutana:frutana frutosil transferase (FFT), usam sacarose como substrato, o que faz da beterraba e da cana-de-açúcar fortes candidatas a serem "biofábrica" de frutanas.

Slide 17- Antioxidantes: Carotenóides: Os carotenóides são antioxidantes, e alguns têm propriedade provitamina A. A introdução da biossíntese do β -caroteno em alimentos básicos como o arroz pela superexpressão da fitoene sintase, fitoene desaturase e licopeno β -ciclase é, portanto, uma importante conquista da biotecnologia. Níveis de 2 mg/kg de β -caroteno no arroz-dourado (*Golden rice*) e aumentos de 50 vezes no teor de β -caroteno na canola e de três vezes no tomate são alguns benefícios que a biotecnologia tem proporcionado. O licopeno, carotenóide que confere coloração vermelha ao tomate, também tem ação antioxidante. Os genes crt de *Erwinia* spp. têm sido usados para produzir licopeno, β -caroteno e zeaxantina em *E. coli* e outras bactérias.

Vitamina E: Os tocoferóis são antioxidantes lipossolúveis. Níveis de vitamina E foram aumentados em 10 vezes em óleo da semente de *Arabidopsis* pela superexpressão da enzima γ -tocoferol metiltransferase. Nas sementes naturais, há predominância de γ -tocoferol e, nas transgênicas, 85 a 95% estão na forma de α -tocoferol, o que representa um aumento na atividade de vitamina E.

Flavonóides: A biossíntese de flavonóides e antocianinas foi um dos primeiros alvos para a engenharia genética, uma vez que suas vias biossintéticas são bem conhecidas. Em razão da atividade antioxidante, altos níveis de antocianinas e flavonóides têm sido conseguidos em muitos estudos.

Isoflavonas: Isoflavonas podem agir como fitoestrógenos, o que tem gerado grande interesse no uso desses compostos no tratamento e prevenção de certas desordens hormonais em humanos. A ocorrência de isoflavonas é limitada primariamente às leguminosas, nas quais a primeira etapa da biossíntese é catalisada pela IFS (isoflavona sintase). Recentes clonagens dos genes que codificam IFS têm aberto caminhos para a engenharia de isoflavonas em plantas que normalmente não apresentam esses compostos.

Slide 18- Sistema Imune: Proteínas do leite humano podem ser expressas em plantas, microrganismos, como *Saccharomyces* e *Aspergillus*, ou em leite de animais transgênicos. Lactoferrina, α -lactoalbumina e β -caseína podem ser expressas em tabaco transgênico e em batata.

Vacinas Alimentares: Uma vacina comestível contra a *E. coli* enterotoxigênica foi desenvolvida, na qual o gene LT-B (enterotoxina B termolábil

de *E. coli*) foi introduzido nas folhas e no bulbo da batata. Camundongos alimentados com essa batata apresentaram níveis mais elevados de anti LT-B no soro e na mucosa.

Probióticos: um probiótico recombinante derivado do *Lactobacillus johnsonii* La1 possibilitou o desvio da rota do piruvato para produção de L-lactato em vez do D-lactato. Com isso, o uso dessa bactéria probiótica pode manter seus efeitos benéficos e, pela ausência do D-lactato, reduzir o risco de acidose e encefalopatia em pacientes com síndrome do intestino curto ou com disfunções intestinais. Probióticos podem ser geneticamente modificados para sintetizar determinados imunogenes que estimulariam o hospedeiro a responder mais eficientemente a certos microrganismos patogênicos. Os avanços recentes na engenharia genética prometem a geração de probióticos modificados com benefícios específicos à saúde. Por exemplo, organismos probióticos produzindo determinadas enzimas podem facilitar a digestão de uma diversidade de fibras vegetais ou de digerir suas dietas de maneira mais eficiente. Estirpes de probióticos mais resistentes ao calor poderiam facilitar o processo de peletização usado na produção de ração animal.

Slides 20 e 21- Considerações Finais: Biotecnologia é um novo instrumento e tecnologias não são por si só boas ou más. A maneira como a tecnologia é empregada que pode ser ou não apropriada, boa ou má, trazer riscos ou benefícios. A biotecnologia apresenta grande potencial para a produção de alimentos com melhores propriedades nutricionais e funcionais, entretanto, o seu desconhecimento e de suas possíveis aplicações têm gerado insegurança e resistência na aceitação dos seus produtos. Não será possível determinar se um produto desenvolvido via biotecnologia ou outra tecnologia é 100% seguro, porque é impossível provar que não ocorreu qualquer alteração não intencional por menor que seja em algum de seus componentes. Afinal, não existe risco zero. O conhecimento do genoma e as possíveis modificações na composição nutricional e funcional dos alimentos podem ser uma perspectiva futura para a manipulação de doenças como fenilcetonúria, enteropatias induzidas pelo glúten e intolerância à lactose. Ainda, doenças crônico-degenerativas não-transmissíveis, como doenças cardiovasculares, câncer, obesidade, diabetes mellitus, doença de Parkinson e de Alzheimer poderão ser melhor conhecidas, diagnosticadas, prevenidas e tratadas.

Embora as evidências do uso de transgênicos por mais de 20 anos apontem para a segurança do seu uso para o homem e para o meio ambiente, ainda é grande o desconhecimento e o medo dos “frankenfoods”. São diversas as possibilidades de aplicação dos transgênicos para a nutrição e saúde, e, para isso, é necessária precaução e não preconceito. A sociedade precisa de fatos; aos cientistas, cabe fornecê-los e explicá-los.