

Inocuidad y aptitud nutricional de los alimentos derivados de OGM

En 1993 la OECD resumió los conceptos que se mencionaron en la primera parte de este capítulo de la siguiente forma: “La seguridad de los alimentos para consumo humano se basa en que debe existir una certeza razonable de que no resultará daño alguno del uso debido bajo las condiciones de consumo anticipadas. Históricamente, los alimentos preparados y utilizados bajo las condiciones tradicionales han sido considerados seguros, por su historia de uso y experiencia, aún cuando pudieran contener tóxicos naturales o anti-nutrientes. En principio, los alimentos se han considerado seguros, a menos que un peligro significativo se haya podido identificar”.

Estos conceptos, referidos a los alimentos en general, se aplican a los derivados de OGM a través del enfoque comparativo para el establecimiento de la inocuidad y aptitud nutricional.

La forma en que los países han reglamentado los alimentos GM es variada. En algunos países los alimentos GM no están reglamentados todavía. Los países que llevan a cabo la evaluación de inocuidad y bioseguridad de OGM utilizan los criterios internacionalmente aceptados que se han explicado y que son de aplicación general.

Los datos e informaciones deben estar basados en sólidos principios científicos, obtenidos usando métodos apropiados y analizados mediante adecuadas técnicas estadísticas, debiendo ser de calidad y cantidad suficientes para que permitan realizar una evaluación científica.

La finalidad de la evaluación de inocuidad es determinar si el nuevo alimento es igualmente seguro y no menos nutritivo que el producto homólogo convencional.

Las evaluaciones de inocuidad y aptitud nutricional de OGM se enfocan, en gran medida, en la detección de efectos no intencionales de la modificación. Como se explicó en las secciones anteriores, estos efectos pueden darse como producto de las técnicas de mejoramiento tradicionalmente aplicadas o por transgénesis, y en este caso, como consecuencia de la inserción aleatoria de secuencias de ADN en el genoma de la planta. Estos efectos, que pueden afectar la expresión de genes endógenos, podrían ser perjudiciales, benéficos o neutrales en relación con la salud de la planta o la inocuidad de los alimentos que deriven de la misma.

Las evaluaciones de inocuidad se concentran en dos aspectos del OGM: **la característica introducida y el cultivo o alimento completo.**

a) Evaluación de la inocuidad de la característica introducida

Para evaluar la inocuidad del rasgo introducido se caracteriza completamente el gen insertado en el cultivo GM y se evalúa la seguridad de la/s proteína/s resultantes. Es importante notar que esta evaluación se realiza en forma temprana, previamente a la introducción del gen en la planta, ya que obviamente no podrá ser aprobado un cultivo que pueda presentar algún problema toxicológico o de alergenidad. La inocuidad de la/s proteína/s producidas por el inserto es lo primero que se evalúa, basándose en información relativa a su fuente de origen, su estructura (secuencia de aminoácidos, cambios post-traduccionales, e incluso su estructura tridimensional si es pertinente), su función biológica, especificidad y modo de acción, el patrón de expresión, la toxicología y el potencial de alergenidad.

Toxicología

Generalmente se estudia la **toxicidad aguda** de la proteína en ensayos estándar en ratones por vía oral, ya que la gran mayoría de las proteínas ejercen sus efectos tóxicos por esta vía, fundamentalmente debido a su naturaleza (que hace que se degraden rápidamente en el tracto intestinal). A diferencia de otras moléculas, las proteínas presentan características que hacen que su evaluación de inocuidad sea particular:

- Las proteínas, en general, no presentan problemas de inocuidad. Hay más de 2 millones de proteínas descritas y muy pocas tienen actividad tóxica.
- Son componentes esenciales de las células y tejidos.
- Hay un alto componente proteico en la dieta humana. Se consumen entre 50 y 100 gramos de proteínas/día, de fuentes vegetales y animales (la dosis diaria recomendada es 0,75 g/kg de proteína de alta calidad).
- La estructura terciaria puede predecir la función biológica.

Las proteínas tóxicas son en su mayoría de origen microbiano (cólera, botulismo, ántrax, enterotoxinas) o bien toxinas y antinutrientes de plantas (ricino, inhibidores de proteasas, lectinas, etc.). Actúan a bajas dosis (micro o nanogramos) y de manera aguda (en una exposición). Por ejemplo, la toxina tetánica provoca la muerte en ratones a una dosis oral de 0,2-1,2 mg/kg, mientras que la botulínica, lo hace a 0,00003 mg/kg en ratones y a 0,00001 mg/kg en humanos.

Gracias a que las secuencias de aminoácidos de las toxinas conocidas están hoy disponibles en diferentes bases de datos, es posible hacer un **análisis bioinformático** de las proteínas nuevas expresadas en cultivos GM. Estos análisis consisten en la comparación de la secuencia a insertar, contra miles de secuencias depositadas en bases de datos especiales. El análisis bioinformático permite establecer la homología de secuencia con toxinas conocidas y brinda información sobre otras características (familia, dominios, función biológica, etc.). Hay varias bases de datos disponibles: (FASTA, BLASTP, entre otras), que permiten hacer estas comparaciones en forma muy completa.

Una homología mayor del 35% puede indicar similitudes con proteínas tóxicas que justifiquen otros estudios adicionales, sin embargo, es importante recordar que la bioinformática es una de las tantas evidencias que se usan en esta evaluación.

La toxicología oral aguda de las proteínas presentes en los cultivos GM disponibles en el mercado indica la ausencia de toxicidad. Entre éstas, la proteína Cry1Ab presente en maíces con protección contra el barrenador del tallo (maíces Bt), presenta un NOAEL (Not Observed Adverse Effect Level)¹ de 1.198 mg/kg de peso, mientras que para la Cry1Ac expresada en algodón, es de 4.300 mg/kg, y para la enzima CP4 EPSPS presente en soja, algodón y maíces tolerantes a glifosato, es de 572 mg/kg. Estos son los niveles de dosis más altos que fue posible administrar en las condiciones experimentales de los ensayos e indican ausencia de efectos adversos por vía oral en una administración a altas dosis (aguda).

Estudios de digestibilidad in vitro

Las proteínas forman parte de la dieta normal y los sistemas digestivos animales están preparados para degradarlas y utilizarlas como fuente de aminoácidos para la síntesis proteica de novo. Las proteínas de nueva expresión tienen un destino metabólico idéntico al de cualquier otra proteína ingerida, sin embargo, se someten a estudios de digestión en sistemas simulados, con el objeto de verificar su degradabilidad. Del mismo modo, se puede saber si una proteína será estable al calor o a otros tipos de procesamiento. Estos ensayos tienen por objeto conocer si hay resistencia a la degradación a nivel estomacal o intestinal, ya que esto puede aumentar el grado de exposición a la proteína. Si bien la resistencia a la digestión no es por sí misma indicador de toxicidad o alergenicidad, es un elemento más a tener en cuenta, que se suma al “peso de la evidencia” para evaluar inocuidad.

Potencial alergénico

Hay tres cosas que deben evitarse cuando se desarrolla un OGM con fines alimentarios (en este caso plantas, pero podría tratarse de otro organismo o microorganismo):

- Introducir un alérgeno conocido
- Modificar la proporción de alérgenos endógenos
- Introducir un alérgeno nuevo

Este es uno de los focos de la evaluación de cualquier OGM, y también se realiza en forma muy temprana en el desarrollo del mismo. En la estimación del **potencial alergénico**, la aproximación que se utiliza también es la del “**peso de la evidencia**”. En el caso de los alérgenos especialmente, no existe un único parámetro que defina a un alérgeno, y dado que aún no es posible contar con modelos animales validados o simulaciones que predigan adecuadamente la alergenicidad en humanos, es más importante aún, utilizar este criterio.

Dado que existe una serie de características fisicoquímicas que son comunes a los alérgenos proteicos conocidos (un grupo reducido de proteínas de origen animal y vegetal), éstas pueden ser utilizadas para estimar la posible alergenicidad de la proteína expresada. Por ejemplo, **la resistencia a la digestión, la prevalencia en el alimento** (normalmente, los alérgenos proteicos son mayoritarios en la composición final) **y la similitud con otras proteínas alergénicas**, son algunos de estos parámetros.

Como primera medida, se realizan **análisis bioinformáticos** que comparan la secuencia de los productos de expresión presentes en los OGM, contra bases de datos de todos los alérgenos conocidos. En el caso de cultivos convencionales que tienen actividad alergénica conocida (como la soja o el maní) es posible comparar (en el convencional y el GM) los patrones de proteínas que se unen a IgE o inmunoglobulina E (la responsable de las reacciones alérgicas severas) en análisis de Western blot sobre geles bidimensionales con sueros de pacientes sensibles para determinar si hay nuevas proteínas o si el patrón endógeno se ha visto alterado por la modificación.

Características de los alérgenos alimentarios

- Las alergias afectan al 6-8% de los niños y 1-2% de los adultos.
- Hay 26 alérgenos identificados en 17 alimentos.
- Son un grupo reducido de proteínas de origen animal y vegetal.
- No existe un solo parámetro que defina a un alérgeno.
- Existe una serie de parámetros fisicoquímicos que son comparados por los alérgenos conocidos.

Para ayudar en la evaluación del potencial alergénico se han desarrollado **árboles de decisión** (ILSI, FAO-OMS) que siguen una secuencia de evidencias y guían en la estimación del potencial alergénico de una nueva proteína.

Como punto de partida, se considera la **fuerza del gen** que se introdujo en la nueva variedad o alimento. Si esta fuente es alergénica (por ejemplo, maní), se continuará evaluando la proteína como si se tratara de un alérgeno potencial.

¹ Nivel de No Efecto Adverso Observado, es la dosis máxima a la cual la proteína administrada no presenta efectos adversos en los animales sometidos al ensayo toxicológico.

En ciertos casos, se recomienda estudiar la proteína con sueros de pacientes alérgicos a la fuente (llamados “**específicos**” en el esquema del árbol de decisión) o con **sueros “direccionados”** (pacientes alérgicos a materiales relacionados con la fuente, es decir, aquellos que podrían dar reacciones cruzadas). Con el objeto de maximizar la probabilidad estadística de detectar alérgenos minoritarios que sean reactivos para el 20% de la población, se recomienda el uso de 24 sueros específicos.

Los ensayos de digestibilidad in vitro aportan evidencia adicional. La presencia de fragmentos intactos o mayores a 3,5 kDa de la nueva proteína podría sugerir un potencial alergénico.

Si bien no existen modelos animales validados para estimar alergenicidad, existen estudios en ratas que muestran respuestas de anticuerpos análogas a las encontradas en pacientes alérgicos luego de repetidas sensibilizaciones. Sin embargo, estos modelos no están aún en condiciones de ser utilizados por sí solos como indicadores de alergias alimentarias mediadas por IgE. En la Figura se muestra el árbol de decisión propuesto por FAO y OMS en 2001.

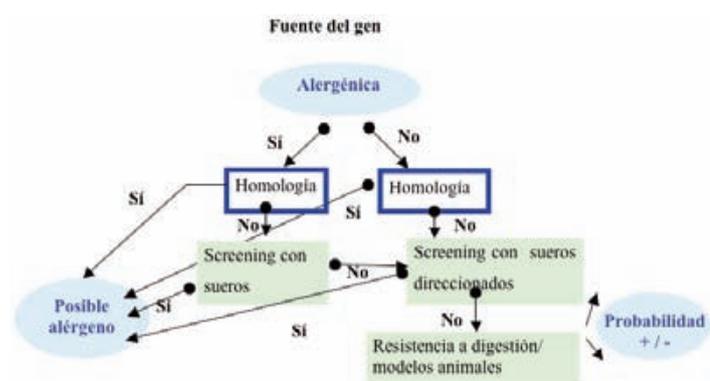


Figura: árbol de decisión para potencial alergénico, FAO/OMS, 2001

- Un resultado de homología positivo en las comparaciones con alérgenos conocidos o en los estudios con sueros, indican la posibilidad de que la proteína sea alergénica.
- El grado de confianza en los resultados negativos obtenidos en los ensayos con sueros específicos se puede aumentar efectuando ensayos con sueros de una mayor cantidad de individuos. Si existe acceso a un gran número de sueros debería evitarse el estudio con sueros específicos.
- Cuando se obtienen resultados positivos de digestión in vitro y de modelos animales, se presume potencial alergénico. Del mismo modo, cuando se obtienen resultados negativos, se interpreta que la probabilidad es baja. En caso de obtener resultados diferentes de digestión in vitro y con modelos animales, la probabilidad puede ser estimada como intermedia, en ausencia de una explicación racional de las diferencias observadas.

b) Evaluación de la inocuidad del cultivo o alimento completo

Es más complejo que en el caso de las proteínas extrapolar los métodos de la toxicología tradicional al alimento completo, o a la fuente de estos alimentos. Esto es así porque se trata de mezclas complejas, con miles de compuestos que hay que evaluar.

En el caso de los OGM disponibles hoy en el mercado la evaluación se enfoca en el grano, ya que o bien se consume completo, o es la fuente de ingredientes (hidratos de carbono, proteínas o aceites y sus derivados) que se utilizan en la industria alimentaria.

Como punto de partida, sobre el cultivo GM se analizan los rasgos fenotípicos/agronómicos y la composición, y se los compara con los de sus contrapartes no-GM o convencionales. Las diferencias encontradas, ya sean intencionales o no, se convierten en el centro de ulteriores evaluaciones de seguridad.

Parámetros fenotípicos

Este análisis se realiza durante la evaluación agronómica del nuevo cultivo. La caracterización fenotípica/agronómica del cultivo GM se hace tempranamente durante el proceso de selección.

Los puntos evaluados (morfología, rendimiento, reproducción) son muy sensibles a los cambios genéticos y a las perturbaciones desfavorables en el metabolismo y, por lo tanto, son buenos indicadores de equivalencias entre el cultivo modificado y su contraparte tradicional.

Composición Química

En este estudio se fundamenta gran parte del análisis comparativo. La determinación analítica de la composición se lleva a cabo en diferentes tejidos de la planta, sobre muestras de ensayos a campo controlados que se realizan en ambientes representativos de aquellos agroecosistemas en los que se sembrará ese cultivo y a lo largo de varias campañas de producción (años).

Se determina la composición de **macro y micronutrientes** (proteínas, grasas, hidratos de carbono, aminoácidos y ácidos grasos, vitaminas, etc.), **minerales, tóxicos naturales y compuestos bioactivos y/o metabolitos secundarios**, dependiendo del cultivo. Por ejemplo, se miden niveles de fitoestrógenos y antinutrientes (inhibidores de tripsina, lectinas) en soja, glucosinolatos en colza, cumarinas en apio y solaninas en papa. También se pueden medir alérgenos en soja (glicinina), beta carotenos en zapallo, y gossypol en algodón.

La OECD ha publicado recientemente recomendaciones que especifican qué componentes es más apropiado analizar para cada cultivo en sus Documentos de Consenso, que se ocupan de varias especies alimentarias.

Los métodos y protocolos utilizados en el análisis de la composición son los aceptados y validados generalmente por organismos de referencia como OAC (Organization of Analytical Communities) y AACC (American Association of Cereal Chemists). Estos deben ser realizados por laboratorios acreditados y con materiales de referencia certificados o estándares verificados.

La interpretación de las diferencias estadísticamente significativas identificadas para ciertos componentes se realiza a la luz de la variabilidad natural de los componentes en cuestión. Para ello, es importante contar con datos previos de la especie, que generalmente se obtienen de la literatura. Sin embargo, lo ideal es poder contar con una base de datos lo más amplia posible y normalizada en cuanto a métodos analíticos utilizados, muestreo, germoplasmas, campañas, geografías, etc., para minimizar los errores y acotar los rangos de variación encontrados.

Respondiendo a esta necesidad, el Internacional Food Biotechnology Committee de ILSI (IFBiC) ha desarrollado una base de datos composicionales para los principales cultivos agroalimentarios en sus versiones convencionales, que permite establecer rangos de variación para una gran cantidad de componentes (analitos) que pueden ser utilizados como referencias para contribuir a la correcta interpretación de diferencias surgidas del análisis composicional comparativo. Esta información es de suma importancia para caracterizar y determinar los rangos de variabilidad natural para macro y micronutrientes, compuestos bioactivos y tóxicos naturales en los cultivos más importantes desde el punto de vista nutricional.

En su versión 3.0 publicada en 2006, esta base de datos cuenta con más de 100.000 datos individuales que pueden ser consultados libremente en www.cropcomposition.org.

Toxicología/alergenicidad

En caso de que el cultivo convencional presente componentes alergénicos o anti-nutricionales, se verificará que el nuevo cultivo (la versión GM) presente niveles similares (y no mayores) como producto de la modificación. Un caso conocido es el de la soja, que tiene potencial alergénico para personas sensibles, y que mantiene el mismo perfil en su versión GM tolerante a glifosato.

Estudios en animales

Aún después de haber efectuado el primer nivel de estudios para estimar la inocuidad de la nueva variedad GM, generalmente se realizan estudios de alimentación en animales y en algunos casos estudios toxicológicos sub-crónicos (en general, estudios de 90 días en rata) cuando se considera justificado por las demás evidencias experimentales. Para estos ensayos se utilizan protocolos estandarizados por la OECD.

La agencia europea de alimentos (EFSA) recomienda el estudio de 90 días si la planta GM se ha modificado sustancialmente o si existe indicación de efectos no intencionales (“Nuevas guías para la evaluación de inocuidad de OGM”, 2004). Las dietas son especialmente preparadas para que sean nutricionalmente balanceadas y comparables a las dietas comerciales. El grano para estos estudios se analiza previamente: composición, presencia de micotoxinas, nutrientes y antinutrientes, y pureza.

Es crítico poder ensayar la dosis más alta posible sin alterar el balance nutricional (maíz, hasta 33%, soja hasta 15%), ya que esto provoca efectos adversos que interfieren con los resultados del estudio. Esto es particularmente delicado cuando se estudian cultivos que no son nutricionalmente adecuados para esa especie, o que no forman parte de las dietas normalmente utilizadas. Estos factores hacen que en algunos casos sea muy difícil la interpretación de los resultados de los estudios y cuestiona la utilidad de los mismos para estos casos.

En resumen, estos estudios presentan la dificultad de tener que manejarse con mezclas complejas (el alimento completo), caracterizadas por la variabilidad natural tanto de composición como de aporte nutricional y que pueden administrarse a los animales en una cantidad limitada, que es baja en términos de la exposición máxima que se quiere estimar.

Aptitud nutricional

Además de la comparación en la composición, se realizan generalmente ensayos de alimentación con el alimento completo en modelos animales, para estimar la aptitud nutricional, aplicando también en este caso, el enfoque comparativo. Estos ensayos apuntan a detectar efectos no intencionales de la modificación que pudieran haber afectado el valor nutricional del alimento, la biodisponibilidad de nutrientes o su inocuidad.

Estos estudios son de duración variable (entre 42 y 120 días) dependiendo del modelo elegido. Uno de los más utilizados por su sensibilidad es el estudio de alimentación de pollos parrilleros, ya que pasan de pesar 35 gramos a más de 2 kg en 42 días. Este crecimiento rápido hace que se puedan detectar pequeñas deficiencias nutricionales del alimento.

En el caso de animales grandes se utiliza grano o forraje (maíz), harinas de soja tostadas, o semillas de algodón como suplementación de la dieta. También se formulan dietas balanceadas especiales, como en el caso de pollos o roedores.

Otros aspectos

En algunos casos también se han efectuado estudios sobre las características organolépticas de los ingredientes derivados del OGM,

como aceite, y otros alimentos procesados. Si bien esto no sería necesario en base a los estudios composicionales que determinaron la equivalencia entre OGM y convencional, se han hecho por motivos de aceptabilidad del producto.

Por último, un tema que se ha discutido ampliamente por las preocupaciones que ha generado, es el uso de genes selectores para resistencia a antibióticos durante la etapa de transformación genética, también conocidos como “marcadores de resistencia a antibióticos” (ARM o Antibiotic Resistance Markers). La preocupación planteada por algunos grupos reside en la posibilidad de transferencia de estos genes a bacterias del ambiente o del intestino de los animales o humanos que consumieran los OGM en cuestión, que eventualmente se volverían insensibles a esos antibióticos.

Si bien este es un punto que se evalúa caso a caso, el consenso de los expertos a nivel internacional acepta que la posibilidad de generar microorganismos resistentes a antibióticos por esta vía es remota, en particular cuando se la compara con el aumento de resistencia provocado por el uso de los antibióticos. Por lo tanto, los expertos coinciden en que los marcadores generalmente utilizados en la transformación de plantas (en particular, el de la neomicina fosfo-transferasa o nptII, presente en algunos OGM aprobados) son seguros. Aun así, la tendencia es a reemplazar el uso de este tipo de selectores por otros, basados en la resistencia a otros principios.