

Evaluación de la inocuidad en los alimentos biotecnológicos

Iván Marín Argüello¹

Recibido: Abril 2004 / Aceptado: Octubre 2004

COMO CONSECUENCIA DEL AVANCE CIENTIFICO TECNICO de la biotecnología agrícola, en la última década se ha incrementado el área de siembra de plantas modificadas genéticamente, más conocidas como plantas transgénicas. Actualmente, a partir de estas plantas, se preparan alimentos enriquecidos con proteínas, vitaminas o minerales y más recientemente, fármacos y vacunas. Paralelamente, se manifiesta una preocupación social en torno a los efectos inesperados de estas tecnologías sobre la salud humana, específicamente su capacidad alergénica, y las posibles repercusiones de secuencias de ADN viral o de plásmidos con genes de antibióticos, usados en la generación de plantas transgénicas. En este artículo, los autores presentan una revisión sobre aspectos relativos a la evaluación del impacto de los alimentos transgénicos en la salud humana. Centrándose en el criterio de equivalencia sustancial, se argumenta que los nuevos alimentos de origen biotecnológico son seguros y que no representan más riesgos para la salud humana que sus equivalentes obtenidos por la agricultura convencional.

Palabras claves: Biotecnología agrícola, alimentos, inocuidad.

69

Encuentro

Introducción

Actualmente, es casi imposible encontrar en estado nativo a los parientes ancestrales de los principales cultivos que cubren las necesidades de la Humanidad. En comparación con las versiones ancestrales, muchos de los cultivos cosechados actualmente y mejorados por los métodos tradicionales, tienen mejor productividad; presentan un mejor nivel nutricional: sabor, aroma, textura, nivel proteínico, etc.; y además, aprendieron a defenderse de los agentes patógenos que los acechaban. De esta manera, se puede argumentar que la intervención genética humana sobre las plantas no es producto exclusivo de la era moderna. Esta intervención surgió desde el origen de la agricultura, hace unos 10 000 años, con la domesticación de las plantas, creando combinaciones genéticas

¹ Profesor e investigador FCTYA-UCA.

que dieron como resultado nuevas especies con versátiles propiedades agrícolas, adaptadas a condiciones particulares. La ingeniería genética, mediante el desarrollo de plantas mejoradas genéticamente, ha dado continuidad a esta línea del mejoramiento vegetal, permitiendo un desarrollo acelerado y selectivo de las propiedades de cada cultivo.

El más reciente reporte de la Sociedad Real del Reino Unido (equivalente a la Academia de Ciencia en USA) concluyó que las plantas genéticamente modificadas ofrecen una amplia variedad de beneficios en la práctica agrícola, calidad alimentaria, nutrición y salud humana. Igualmente, se señalan varios aspectos de esta tecnología que deben de ser tratados con consideración y precaución, principalmente para evitar transferir genes que puedan tener efectos alérgicos.

70

El mejoramiento de las plantas por medio de las técnicas tradicionales y convencionales implica la selección de algunas con características particulares que, posteriormente, mediante la intervención humana, son cruzadas sexualmente (polinización cruzada, hibridación, retrocruzamiento, etc.) o asexualmente (cruce entre plantas de diferentes especies) y otras técnicas como la radiación, mutagénesis química o la técnica de rescate de embriones: dos especies de plantas que, al cruzarse naturalmente, resulta en la formación de un embrión no viable que es removido de la planta y, posteriormente, cultivado in vitro, originando una planta con características nuevas.

La biotecnología agrícola está fundamentada en la utilización de una amplia variedad de métodos y herramientas para la identificación, selección y utilización de genes de interés agrícola. Un gen de cualquier recurso (microorganismo, plantas o animales), que confiere una característica específica, puede ser seleccionado e introducido en el genoma de otro organismo, en este caso una planta, donde la expresión del gen transferido conferirá la característica seleccionada al organismo hospedero.

Las plantas genéticamente modificadas (GMO) difieren de las convencionales en que, a éstas, se le ha insertado material genético, comúnmente uno o dos genes, provenientes de otras especies, utilizando las tecnologías del ADN Recombinante: clonación, secuenciación, etc. Esta tecnología permite desarrollar plantas con la característica seleccionada de una manera más rápida que el mejoramiento tradicional vegetal, además de facilitar la combinación de genes de especies, familias e incluso reinos diferentes, lo cual, en muchos casos, no es posible mediante la tecnología tradicional. Concretamente, se trata de la introducción controlada de un único gen mientras que con las técnicas convencionales, se incorpora aleatoriamente un paquete de genes para desarrollar un cultivo con una característica agrícola deseada y sin conocer inmediatamente si el cruce fue exitoso o si se expresa fenotípicamente la característica seleccionada.

La técnica del ADN recombinante presenta un potencial prometedor en el control de los principales factores bióticos (insectos, hongos, bacterias, virus) y abióticos (humedad, acidez del suelo, cantidad de luz diaria, dióxido de carbono, entre otros) que afectan los

cultivos. Al inicio de la era de la biotecnológica, se diseñaron cultivos con resistencia a patógenos y tolerancia a ciertos herbicidas, conocidos como transgénicos de “Primera Generación”, desarrollados principalmente en Estados Unidos, Canadá, Argentina y China. Uno de los principales beneficios obtenidos con este tipo de plantas es la reducción de los herbicidas e insecticidas utilizados por área de siembra. Posteriormente, se desarrollaron los transgénicos de “Segunda Generación”, incorporando valor nutricional agregado a los cultivos (ejemplo: proyecto del Arroz Dorado enriquecido con la Vitamina A, papas que producen más proteínas). Actualmente se desarrollan los transgénicos de “Tercera Generación” que brindan un mayor nivel de bioseguridad: un gen es dividido en dos mitades e incorporado en dos organelos diferentes de la misma célula vegetal (Ching, 2003).

Con el surgimiento de esta nueva tecnología, también se ha incrementado la preocupación de los consumidores respecto a los efectos que el consumo de productos alimenticios elaborados a partir de cultivos transgénicos podría ocasionar en la salud humana. Pero el problema de los alérgenos no es un problema exclusivo de los alimentos biotecnológicos: las manifestaciones alérgicas datan posiblemente desde los inicios de la Humanidad, en la medida que el hombre fue expandiendo y diversificando sus fuentes alimenticias.

En este artículo, se revisan datos e investigaciones científicas que permitan enriquecer su percepción sobre el uso y consumo de Organismos Genéticamente Modificados (OGM), asociados a la salud humana; asimismo, se abordan los efectos de los alérgenos y metabolitos tóxicos que pudiesen estar presentes en los cultivos convencionales y los modificados genéticamente, sobre determinado grupo de personas; y la implicancia sobre la salud de la utilización de marcadores genéticos (antibióticos) y secuencias víricas en la elaboración de los cultivos transgénicos.

El principio de la equivalencia substancial

En 1993, la Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), anticipándose a la comercialización y desarrollo de los alimentos transgénicos, introdujo el concepto de “equivalencia substancial”, principio posteriormente asumido por la OMS y la FAO.

Principio de la equivalencia substancial

Si los alimentos obtenidos por la ingeniería genética muestran ser esencialmente equivalentes en comparación a su composición con los alimentos ya existentes, entonces éstos pueden ser considerados tan seguros como los convencionales

Los productos alimenticios representan una mixtura compleja de diferentes compuestos. El detalle de la composición (tipo de proteínas, péptidos, metabolitos primarios y secun-

darios) y valores nutricionales de muchos cultivos, dependerá de las condiciones de crecimiento, clima, tipo de cultivo, tiempo de cosecha, manejo del cultivo, entre otras cosas y son aspectos que deben ser considerados en cualquier evaluación de bioseguridad. La implementación de tests analíticos para determinar la presencia en el sistema digestivo y en el torrente sanguíneo de sustancias tóxicas, alérgenos y elementos nutricionales presentes en los alimentos, tiene limitaciones debidas a la poca cantidad que estos representan cuando se ingieren como parte de la dieta diaria, por lo que para el análisis, se requiere de tests muy sensitivos. Además, estas cantidades pueden variar dependiendo del manejo agrícola del cultivo.

En la actualidad, se desarrollan tests y evaluaciones de bioseguridad que incluyen detalles del proceso utilizado en la inserción, secuencia y sitio de incorporación del gen en el genoma de la planta por medio de la biotecnología. Otros parámetros usualmente determinados son la expresión fenotípica del gen, composición química de los compuestos, valores nutricionales y medición del riesgo potencial de los alérgenos.

72

El principio de equivalencia substancial requiere que las plantas modificadas genéticamente sean examinadas y comparadas con relación a su contra parte; es decir, la versión no modificada genéticamente. En otras palabras, los cultivos convencionales son tomados como muestras control. En el caso de que se presenten diferencias substanciales entre los productos modificados y su contraparte, los tradicionales, deben de realizarse análisis más detallados que incluyen evaluaciones toxicológicas sobre la proteína introducida y la alimentación en animales de laboratorio, test in vivo.

Con el accionar de las nuevas tecnologías y la bioinformática, se están incorporando novedosos métodos que permitirán realizar un riguroso análisis en la determinación de la composición nutricional, tanto de los alimentos cultivados por técnicas tradicionales, como los derivados de la ingeniería genética, lo que permite obtener un patrón de comparación exacto. Entre estas técnicas se encuentran: 1) la técnica del microarray, que permite el análisis simultaneo de la expresión de miles de genes de un mismo organismo bajo determinadas condiciones en un micro procesador; 2) análisis metabolómico: estudio del inventario de metabolitos presentes en una misma célula; y 3) espectrometría de masas: identificación de proteínas en base a su espectro de absorción relacionado a su peso molecular. Inicialmente, estas técnicas deberían ser implementadas en las plantas control (no transgénicas) para conocer el inventario real de los compuestos existentes en ellas para, posteriormente, comparar los resultados obtenidos con los resultados vertidos en las plantas obtenidas por la ingeniería genética. Esta comparación es necesaria, ya que nos encontramos con ciertas variedades de cultivos orgánicos y convencionales, donde la concentración y presencia de determinados metabolitos son consideradas como tóxicas (enzimas proteolíticas en la soya, solanina en la papa, tomate, micotoxinas en el maíz).

El principio aquí ponderado nunca ha sido sometido a la discusión o revisión, por lo que algunos científicos lo consideran como muy subjetivo y con un nivel de pseudociencia. Por el contrario, otros investigadores lo consideran como un principio que brinda las

excusas necesarias para no implementar los adecuados análisis toxicológicos. Sin embargo, para los representantes de la OMS/FAO, este principio es sólo el punto de partida en la medición de los riesgos a la salud humana.

Por otro lado, las modificaciones genéticas obtenidas por medio de las técnicas del fitomejoramiento tradicional (mutaciones inducidas por químicos o radiaciones, hibridación entre especies, etc.), provocan de hecho un reordenamiento del material genético que induce la formación o activación de uno o varios genes con la intención de expresar en la planta nuevas propiedades que brinden al cultivo un mayor éxito agrícola. Pero hay las mismas probabilidades de que dicho reordenamiento induzca mutaciones negativas en el genoma en la planta, bloqueando la expresión de algunos genes o introduciendo cambios significativos en otros. Esto conllevará al surgimiento de metabolitos nuevos, anti-nutrientes o alérgenos no reportados en la planta. En otras palabras, con la utilización de las técnicas convencionales no hay ningún control sobre los cambios deseados que puedan manifestarse en el cultivo, lo que constituye una especie de ruleta rusa génica.

Las reacciones alérgicas en respuesta a productos alimenticios

Aunque se ha avanzado en el estudio de las reacciones alérgicas, aún estamos lejos de obtener un cuadro realmente completo. No tenemos claro por qué afectan notoriamente a determinados individuos y por qué este problema se acentúa en la infancia. El tema se complica cuando confundimos la intolerancia alimenticia con las manifestaciones clínicas de las alergias. Todos estos factores asociados entre sí contribuyen al mal entendimiento de lo que realmente es una reacción alérgica a ciertos productos alimenticios. Además, es necesario destacar que el problema de las alergias a determinado alimento no es un problema de hoy y, mucho menos, de la biotecnología.

Por mucho tiempo, el tema de las alergias no fue destacado como noticia. Se podría decir que pasó casi desapercibido. Pero con el surgimiento de la biotecnología, la situación ha cambiado dramáticamente. ¿Por qué de repente tanto interés? ¿Por qué esta preocupación no surgió durante la Segunda Guerra Mundial, cuando los programas de mejoramiento tradicional transformaron ciertos cultivos no alérgenos en potenciales alérgenos?

Se supone que este temor inusitado surgió debido a la combinación de tres factores: preocupación razonada, ignorancia y motivos políticos-económicos. Donde éste último se ha nutrido y acaparado al segundo factor.

Actualmente, hay 70 millones de hectáreas de cultivos biotecnológicos diseminado por el globo terrestre y cada año crece el área de siembra (James, 2003. Ilustración 1). Pero, simétricamente, se han incrementado las preocupaciones por parte de la población acerca de sus efectos sobre la salud humana. Estas preocupaciones se han enfocado en la potencialidad de estos cultivos en desencadenar reacciones alérgicas cuando se utilizan para elaborar alimentos.

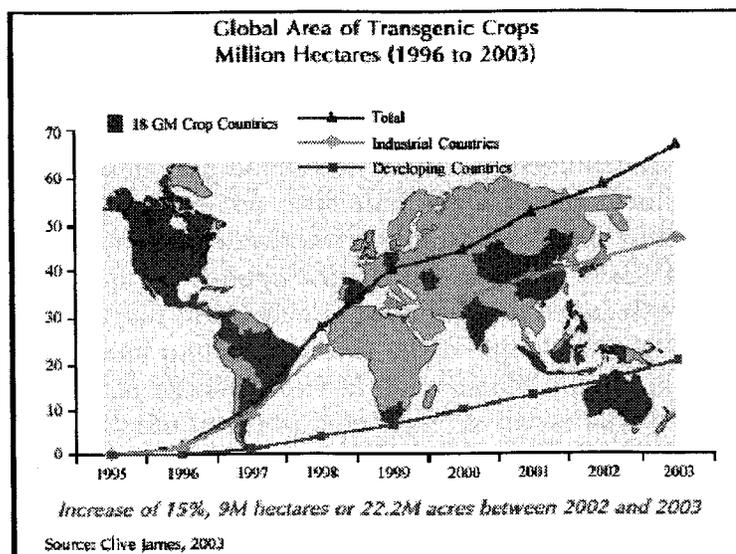


Ilustración 1. Representación del incremento anual de las áreas cultivadas con transgénicos en el mundo.

Según estudios realizados, las reacciones alérgicas a determinado grupo de productos tradicionales ocurre en el 1-2% en adultos y entre un 6-8% en niños (Metcalf, 1996; Sampson, 1997), aunque las reacciones alérgicas severas (anafilaxis) son raras. Estas ocurren aproximadamente 3.2 individuos por cada 100,000 personas por año (Burk y Sampson, 1997). Para los fines de este trabajo, se entiende la alergia alimenticia como una reacción inmunológica adversa mediada por la interacción de un antígeno presente en los alimentos. Más del 90% de las reacciones alérgicas observadas en niños y adultos pueden ser atribuidas a la exposición de las persona a los siguientes grupos de alimentos: huevos, pescados, leche, maní, soya, trigo, mariscos y piña. Aunque en estos alimentos hay una gran cantidad y clases de proteínas, solamente unas pocas y en cierto tipo de personas desencadenan en una reacción alérgica.

Es necesario destacar que, previo a la expresión de la nueva proteína en la planta, ésta debe ser muy bien caracterizada físico-químicamente, al igual que es necesario conocer el historial de bioseguridad que presenta la planta receptora y el gen incorporado (Cuadro No. 1).

Cuadro No. 1
Alergenos identificados y caracterizados encontrados en alimentos no transgénicos

Fuente del alérgeno	Alérgeno	Peso molecular(kDa)
<i>Gadus callaria</i> (Bacalao)	alérgeno M	12
<i>Gallus domesticus</i> (Gallo)	Ovomucoid	28
	Ovalbumin	44
	Lysozima	14
<i>Penaeus indicus</i> (Camarón)	Tropomiosin	34
<i>Arachis hypogaea</i> (Maní)	Ara H1	63.5
<i>Apium graveolens</i> (Apio)	Api g1	16.2

Simbología: kDa: kilo daltones (Lehrer y Reese, 1997).

Pero, ¿cuál es la causa para que un cultivo convencional o biotecnológico, bajo determinadas condiciones, genere alérgenos?

Una de las variantes es por medio de la adquisición del genoma de la planta de un nuevo gen que anteriormente no existía, y que resulta tener propiedades alérgicas. Esta situación se puede dar también por medio de las prácticas convencionales, como la hibridación asistida: cruce entre dos variedades del mismo cultivo con la finalidad de obtener una nueva variedad que exprese las mejores propiedades de ambas plantas. En este caso, el reordenamiento genético del genoma se desarrolla aleatoriamente, incrementando las probabilidades de que el genoma resultante presente severas mutaciones que puedan afectar la salud humana y la biodiversidad vegetal.

Alternativamente, los cultivos pueden adquirir un nuevo gen por medio de la biotecnología, en donde la incorporación de un nuevo gen en el genoma, probablemente desencadene la producción de un nuevo alérgeno que, previo a la transformación, no estaba presente en el cultivo. Así sucedió con una soya biotecnológica desarrollada en Brasil en 1992. Se trataba de un cultivo con deficiencia del aminoácido metionina al que se introdujo el gen de la nuez encargado de la síntesis de metionina. Sin embargo, al aplicarle el Método del Árbol de Decisiones (ver ilustración 3) para determinar el potencial alérgeno del cultivo, manifestó resultados positivos, por lo que se decidió discontinuar el proceso investigativo e impedir llegase a la comercialización.

No se puede descartar la influencia del medio ambiente sobre la expresión de las características agrícolas de los cultivos. El nivel de influencia del entorno sobre los genes estará determinado por su susceptibilidad a los factores bióticos (bacterias, hongos, virus) y abióticos (pH, temperatura, presión, salinidad del suelo, oxígeno, dióxido de

carbono, macro y micros nutrientes, entre otros). No todos los genes responden de la misma manera a los factores climáticos. Determinar el grado de influencia del medio ambiente sobre el cultivo se vuelve más complejo cuando es conocido que las características propias de la planta, están controladas por paquetes de genes y no por la regulación ordinaria de un solo gen. Cambios en la expresión de un gen previamente existente, ocasionados por la influencia de los factores bióticos y abióticos del entorno. En resumen, la variación de los parámetros del medio ambiente, también contribuye a que los cultivos, en determinada etapa de su desarrollo, generen potenciales alérgenos.

En ambos casos, la reacción alérgica es disparada por la circulación en el torrente sanguíneo de una proteína o fragmento de la misma (antígeno) que estimula la proliferación de diferentes tipos de linfocitos que, paralelamente, incrementan la producción de inmunoglobulina del tipo E (IgE). Posteriormente, el anticuerpo reconoce al antígeno desencadenando la reacción alérgica (ilustración 2).

76

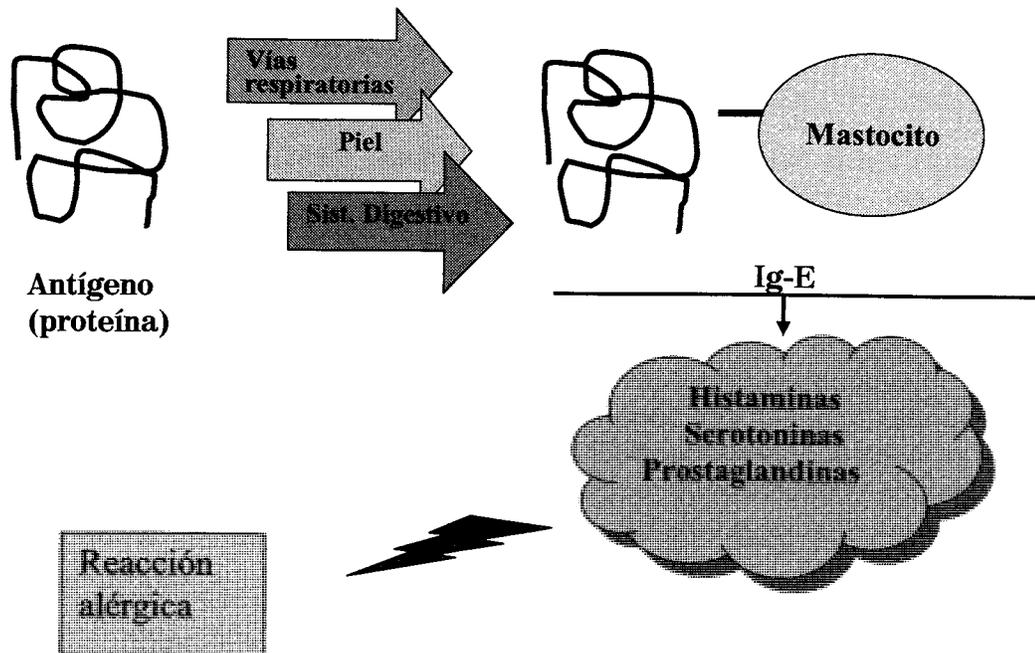


Ilustración 2. La IgE unida a los mastocitos (células del tejido conectivo: glándula mamaria, pulmones, piel, sistema digestivo, membranas serosas) reconoce al antígeno (proteína). Una vez formado el complejo, dentro del mastocito se desencadenan una serie de reacciones bioquímicas que culminan con la liberación de mediadores químicos (serotonina, histamina, prostaglandina) que causan contracciones musculares, vasodilatación, constricción bronquial o infiltración celular, desencadenando la manifestación clínica de la alergia.

Los alérgenos alimenticios comparten ciertas características comunes. Aparentemente, todos son considerados compuestos proteínicos o glucoproteínas (proteínas unidas a carbohidratos), con punto isoeléctrico ácido $pI < 6$; usualmente, su peso molecular oscila entre 10,000 y 80,000 daltones (Cuadro No. 1); y son resistentes a los procesos industriales de manufactura en los alimentos. Sin embargo, aunque estas propiedades son comunes a los alérgenos alimenticios, pueden presentarse también en otras proteínas que no presentan propiedades alérgicas.

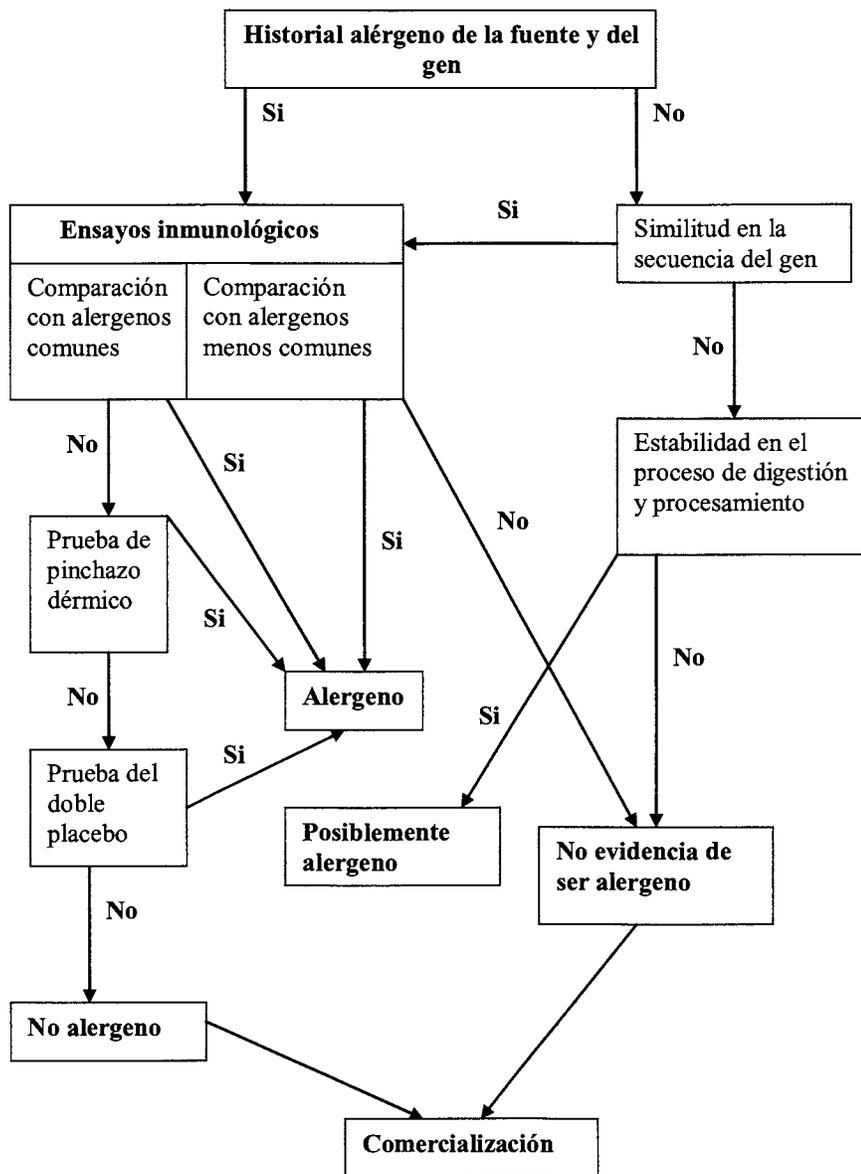


Ilustración 3. Secuencia del “Método de decisiones” para determinar el nivel de bioseguridad de los alimentos derivados de cultivos genéticamente modificados (Metcalf, 1996)

En la ilustración 3, se presenta el “Método de Decisiones” para cuantificar el potencial alergeno que pudiese existir en los alimentos derivados de cultivos biotecnológicos. Dicho diagrama también es aplicable a los alimentos derivados de la agricultura orgánica y convencional, ya que se considera que ambos cultivos poseen el mismo potencial de riesgo. Como se observa en la ilustración 3, la estrategia a seguir para determinar si el producto presenta proteínas con riesgo de desencadenar reacciones alérgicas se concentra en los siguientes aspectos:

1. La fuente del gen insertado. El análisis se inicia con la caracterización del gen introducido y de la fuente de donde provino. Es necesario tener información sobre el historial alérgico de la fuente (donador) de donde se obtuvo el gen, de la secuencia del gen incorporado y del organismo receptor del gen.
2. Similitud en la secuencia de aminoácidos entre la proteína introducida y la estructura de los alérgenos conocidos. Para establecer la comparación y determinar el grado de similitud entre ambos, es necesario apoyarse en la información que puedan brindar las bases de datos de dominio público donde están registrados más de 180 conocidos alérgenos (Gen Bank, SwissProt, CSL, WHO/ IUIS). Software que tienen la capacidad de evaluar la homología y similitud estructural de, al menos, ocho aminoácidos, que es la secuencia mínima de reconocimiento (epítipo) de un alérgeno por parte del anticuerpo.
3. Comparación entre las propiedades físico-químicas de la proteína introducida, para establecer el grado de estabilidad al proceso de digestión y procesamiento. Las proteínas que son sensibles a la digestión son consideradas como no alérgicas, ya que la mayoría de los alérgenos en los alimentos son resistentes al proceso industrial de manufactura del alimento, al calentamiento, a la cocción y la actividad de las enzimas digestivas del tracto digestivo.
4. Evaluación serológica. Si la proteína analizada proviene de una fuente sospechosa de ser alérgica, y además hay similitud en la secuencia de aminoácidos con alérgenos conocidos, ésta debe de ser sometida a pruebas inmunológicas (placebo, inyección subcutánea, reacciones inmunoquímicas con anticuerpos, etc.), para establecer el grado de riesgo de desencadenar alergia.

En principio, los riesgos de desarrollar reacciones alérgicas que pudiesen tener las plantas producto de la biotecnología, no son mayores que los riesgos que pudiesen presentar las plantas mejoradas por los métodos tradicionales o la agricultura orgánica. Hay muchos ejemplos de tales riesgos. Tal es el caso de cultivos de cereales que presentan altas concentraciones de alérgenos (micotoxinas), producidos por esporas de hongos (*Fusarium*) o moho en parcelas que no han sido tratadas con el adecuado fungicida, por lo que estos cultivos presentan un alto grado de infección. En este caso, la reacción alérgica se desencadenará como consecuencia de las proteínas (alérgeno) provenientes del hongo, y no como resultado de alguna transformación genética. La consecuencia es un tipo de

asma muy frecuente entre los agricultores o las personas encargadas de efectuar las aplicaciones en las plantaciones, que se desencadena por las siguientes rutas de contaminación: los pulmones, al inhalar el polen; el polvo generado en los molinos; a través del contacto con la piel durante la recolección; y por las vías gastrointestinales, en la ingestión de alimentos, pudiendo presentarse la reacción de hipersensitividad inmediata o retardada.

Un factor a tomar en cuenta en el consumo de los productos biotecnológicos y en su influencia en la salud (alergias) es la percepción que el público tiene de ellos. En países industrializados (EU, Canadá, Australia, Europa), donde se presentan altos índices en la cobertura y atención de la salud sobre la población, el desarrollo de reacciones alérgicas como resultado del consumo de alimentos transgénicos acapara más la atención que en países con economías emergentes (India, Argentina, China, México), donde aún hay problemas de salud básica pendientes de solución. Lo cual no implica que en ambos casos no se deban implementar las medidas de bioseguridad con el mismo rigor. Esto demuestra la particularidad que debe seguir cada país al normar el proceso de evaluación de riesgo y beneficio al momento de liberar los alimentos biotecnológicos al mercado. Pero partiendo de que normar no implica automáticamente un sí a la introducción de cualquier producto derivado de la biotecnología.

Otra preocupación asociada al consumo de alimentos provenientes de plantas modificadas es la ruta que siguen en el proceso de la digestión. Un aspecto que inquieta a un sector de los consumidores es la posibilidad que los genes introducidos en las plantas se incorporen al genoma humano. Sin embargo, hasta ahora no hay evidencia de dicha transferencia. La mayor parte del ADN consumido en nuestros alimentos es inmediatamente digerido en el tracto digestivo, aunque puede persistir por corto tiempo en la saliva (Schubbert, *et al.*, 1994). Y la porción del ADN que es absorbida intacta, es desactivada por células especializadas del tracto digestivo conocidas como M-células, que detectan las secuencias del ADN neutralizándolo, de la misma forma como atacan a los agentes patógenos que tratan de invadir nuestro cuerpo (Nicoletti, 2000). La incorporación por esta vía de cualquier ADN extraño a partir de plantas modificadas es realmente remota, y más remota es que pueda ejercer alguna influencia biológica.

El uso de genes marcadores resistentes a los antibióticos es otro tópico que ha promovido la discusión sobre las medidas de bioseguridad en torno al consumo de los alimentos biotecnológicos. La utilización de estos genes en la selección de plantas ha preocupado sobre la posible integración en nuestra flora bacteriana de los genes marcadores, desarrollando cepas bacterianas resistentes al uso de antibióticos, lo que dificultaría su control en el caso de posibles infecciones.

Uno de los genes marcadores ampliamente usado en la transformación de plantas es el gen que codifica para Kanamicina, aún utilizado en el tratamiento de enfermedades infecciosas en el tracto respiratorio y urinario, piel y huesos en humanos. En Nicaragua, está sumamente popularizado por parte de la población y de entidades médicas, el uso

desmedido de los antibióticos. Con este comportamiento, se contribuye a desarrollar y fortalecer la resistencia bacteriana a los antibióticos.

Actualmente, se proponen mecanismos muy ingeniosos para remover los genes marcadores con resistencia a antibióticos de las plantas transgénicas, entre los que se propone el Cre/lox P, FRT/Flp, Rs/R sistemas de recombinasas, homología recombinante, transposición y co-transformación entre otros (Ow, D. 2001). Además, se está sustituyendo la implementación de los genes marcadores en la construcción de transgénicos por genes más amigables, como el gen gfp que codifica para la Green Flourescent Proteín, que emite una coloración verde cuando se expone a la luz ultravioleta (UV).

Sobre las partículas virales y bacterianas presentes en los organismos transgénicos

80

El promotor CaMV 35S del virus del mosaico de la coliflor, y el termiador Nos de la bacteria *Agrobacterium thumefasiens* son dos de las partículas más utilizadas en la construcción molecular de los transgénicos. El Promotor (P) y Terminador (T) son, normalmente, secuencias cortas de nucleótidos que delimitan la extensión del gen y son necesarias para la expresión en proteínas de todos los genes (ilustración 4). Un segundo tipo de secuencia viral utilizada en la construcción de las plantas modificadas está constituido por los genes que codifican para las proteínas externas de la cubierta de ciertos virus. Cuando estos se expresan abundantemente en la planta hospedera, producen la suficiente cantidad de proteínas de la capside viral, que mantiene permanentemente encapsulado el material genético viral, -conviene recordar que es condición necesaria para la sobrevivencia del virus que el material genético (ARN o ADN) se encuentre desnudo-, interfiriendo de esta manera en la replicación del virus y confiriendo a la planta resistencia a infecciones virales. Este tipo de resistencia mediada por la proteína capsular ha sido extremadamente eficiente en el desarrollo de cultivos transgénicos de papa resistentes a los virus X y Y (Hackland, et. al, 1994). Hay estudios que confirman que cerca del 10% del repollo y del 50% de la coliflor se encontraban infectados por el virus de la coliflor y no se demostró que se recombinara con el material genético humano, desarrollando algún tipo de enfermedad o alergia (Hull, 2000).



Ilustración 4. Un gen está delimitado por dos secuencias de nucleótidos que regulan su expresión. La región promotor (P) controla el inicio y el terminador (T) la suspensión de la expresión, dando como resultado la conformación de su respectivo ARNm y éste, a su vez, es traducido en proteína..

Activistas opuestos al uso de la biotecnología en la agricultura sugieren que las secuencias virales, incorporadas con las transformaciones genéticas, podrían originar nuevas cepas de virus como resultado de una posible recombinación entre éstas y los remanentes virales presentes naturalmente en el genoma de todos los organismos. Sin embargo, es necesario recapitular que hay barreras naturales que evitan que ese proceso sea exitoso. Las secuencias virales incorporadas naturalmente en el genoma de las plantas presentan múltiples y severas mutaciones, lo que evita que éstas se combinen o expresen en el hospedero. En los humanos, cerca del 1% del genoma total corresponde a ADN viral acumulado a lo largo de las diferentes y diversas infecciones virales que han atacado al hombre a lo largo de su proceso evolutivo (Turner, 2001). Además, la secuencia de los genes virales que infectan a las plantas y los animales son tan disímiles, que hace imposible que estos puedan recombinarse entre sí generando nuevas versiones virales.

Conviene pensar, por un momento, en la realidad del agro de Nicaragua, donde los controles y el manejo de plagas de los principales cultivos (arroz, frijoles, maíz) son tan débiles, que no se puede dudar de que en algún momento, llegará hasta nuestra mesa más de un cultivo contaminado con cierta partícula viral. Es necesario recordar que los virus, por lo general, son muy selectivos y específicos para un determinado tipo de hospedero. Es decir: los virus que atacan a las plantas son únicos para células vegetales.

Evaluación de carcinogénicos

En general, no se considera necesaria la evaluación de efectos carcinogénicos para analizar nuevos alimentos de origen transgénico, a no ser que existiese algún precedente en la planta convencional o en el método de procesamiento relativo a la inducción de proliferación o transformación celular. En esos casos, se debe implementar una metodología de evaluación que consista en determinar la capacidad de los alimentos de estimular la producción de ciertas moléculas receptoras en células normales o tumorales. De encontrarse evidencias en estudios *in vitro*, sobre la capacidad transformante de alguna molécula, se procede a una evaluación posterior en animales de laboratorio, determinando parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos.

La utilización del promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor (CaMV 35S), uno de los principales promotores empleados en los transgénicos, se ha señalado como una posibilidad de inducción de proliferación celular si es transferido a microorganismos de la flora intestinal. Estas posibilidades se enmarcan dentro del análisis de recombinación bacteriana, por lo que no se aborda aquí. Como se explicó más arriba, no hay evidencias de que el promotor CaMV signifique riesgo alguno para la salud humana. Los humanos han estado consumiendo cantidades de vegetales infectados con el virus CaMV por mucho tiempo, sin que se haya documentado ningún efecto negativo. Finalmente, otra posibilidad que se ha considerado es si la utilización del glifosato en plantas transgénicas pudiera causar capacidad teratogénica a largo plazo. Investigaciones a largo plazo tendrían que responder a estas inquietudes.

Eliminación de alérgenos en plantas convencionales

La ingeniería genética brinda la oportunidad de eliminar proteínas alérgenas que estén presentes en las plantas y alimentos de uso convencional (no biotecnológicos). En dos ejemplos recientes, se comprueba el desarrollo de variedades modificadas mediante el ADN recombinante y que reducen significativamente las concentraciones de sustancias alérgenas: casos de alérgenos del arroz (Nakamura y Matsuda, 1996) y de la soya (Herman *et al.*, 2003).

82

Puesto que el arroz es un alimento muy importante en la dieta diaria de millones de personas, es imprescindible reducir su alergenicidad. En el estudio de Nakamura y Matsuda, primeramente se identificaron y purificaron las proteínas capaces de producir la mayor reactividad de anticuerpos IgE. La principal resultó ser una proteína de masa molecular de 16 kDa. La secuencia peptídica identificada resultó ser similar a otras proteínas de la familia de inhibidores de Trypsina, conocida por su alergenicidad. Este tipo de proteínas contienen 10 residuos conservados de cisteínas. Mediante una estrategia de ARN antisense, se logró bloquear el sitio de iniciación, reprimiendo la traducción de la proteína alérgena y reduciendo drásticamente su presencia en el arroz.

Por sus propiedades nutricionales, junto a mejores métodos de purificación de sus componentes proteicos, la soya se utiliza cada vez más en la elaboración de bebidas y alimentos. Sin embargo, una problemática para los individuos sensibles, ha sido evitar las tres principales proteínas con propiedades alergénicas de la soya: Gly m Bd 60K, Gly m Bd 30K y Gly m Bd 28K. Se ha demostrado que la gran mayoría (70%) de los pacientes sensibles a la soya reaccionan principalmente a la proteína Gly m Bd 30K, considerada como el principal alérgeno inmunodominante (Helm *et al.*, 2000). En el trabajo de Herman y colaboradores (2003), se utilizó la metodología de silenciación génica para prevenir la acumulación de Gly m Bd 30K en los granos de soya. A través de análisis proteómico, se comparó la soya modificada por silenciación con la soya original, encontrándose que la única diferencia era precisamente la falta de la proteína inmunogénica Gly m Bd 30K, reflejando la eliminación de la proteína alérgena. Estos trabajos demostraron que mediante la biotecnología se pueden obtener nuevas plantas libres de proteínas alergénicas y garantizar la inocuidad de los alimentos.

Nutrición humana

Hoy en día, aún no se han liberado al mercado alimentos transgénicos diseñados para mejorar el valor nutricional de los alimentos, muy a pesar de los variados proyectos investigativos en marcha (arroz dorado enriquecido con vitamina A, maíz con Vit E, papas ricas en fructuosa y proteínas, algodón libre de colesterol, lentejas y frijoles con valor proteínico agregado), varios de los cuales, actualmente se están desarrollando en países como la India, China, y México.

Aunque la biotecnología ofrece la posibilidad de mejorar nutricionalmente los alimentos, estos cambios deben de considerarse dentro del contexto general de una dieta. Un buen estado de salud requiere de una dieta balanceada, con todos los nutrientes necesarios en proporciones óptimas. Cualquier variación en la cantidad de cierto grupo de nutrientes, por muy pequeño que sea, influye en la absorción de otro compuesto, activándose una serie de reacciones en cascada que incidirían negativamente en el estado nutricional.

Para obtener un panorama general y particularizado de la respuesta de la población sobre la incidencia de los productos biotecnológicos en la salud humana, es necesario llevar a cabo estudios que determinen el índice nutricional y la susceptibilidad que pudiesen presentar determinados sub-grupos poblacionales (etnias, grupos religiosos, hispanos, negros, etc.). Especial atención se le brinda a los productos elaborados a partir de alimentos modificados genéticamente en relación a la incidencia que puedan presentar sobre grupos poblacionales de riesgo: niñez, mujeres embarazadas, ancianos y personas predispuestas a enfermedades crónicas, y considerar las características fisiológicas particulares y requerimientos metabólicos de estos grupos. Por otra parte, los valores nutricionales y energéticos de determinado compuesto pueden variar dependiendo de las condiciones y tiempo de almacenamiento (humedad, temperatura), proceso mecánico de elaboración y cocinado.

Los productos que están diseñados para ser consumidos como un sólo alimento durante períodos prolongados de tiempo deben de ser investigados más rigurosamente. Aquí se incluyen a las formulas lácteas infantiles, aunque hasta ahora, no se han aprobado ningún producto alimenticio para la niñez elaborado a partir de la biotecnología.

Los cambios de concentraciones de nutrientes u otros compuestos en una especie vegetal dada podrían repercutir en la alimentación general. Para garantizar mejor la inocuidad de los alimentos, se recomienda empezar a implementar métodos que evalúen los constituyentes de los alimentos (proteína total, grasas, fibra y micro nutrientes) para prevenir efectos fortuitos y alteración de perfiles de nutrientes y de biodisponibilidad, que podrían repercutir en la alimentación diaria y la salud. Sin embargo, la evaluación de los efectos de los alimentos transgénicos se complica por la utilización de dietas que combinan alimentos trasgénicos y no transgénicos.

Vacunas comestibles

Una de las aplicaciones más fascinantes de la biotecnología agrícola es la transformación de vegetales o frutas comestibles como medio para aplicar vacunas, dando origen a las llamadas “vacunas comestibles”. En este tipo de transformación, se introduce la mínima secuencia de nucleótidos necesaria que codifican para la expresión del antígeno, desencadenando la producción y memoria de células especializadas, encargadas de patrullar el torrente sanguíneo, cumpliendo así su función preventiva de generar una respuesta rápida ante la presencia del virus.

Actualmente, hay muchos proyectos que intentan perfeccionar esta tecnología con el objetivo de desarrollar campañas de inmunización a gran escala. Entre ellos, rota virus, *Vibrio cólera*, *Escherichia coli* y Hepatitis B. Las campañas de vacunación son costosas porque requieren de la movilización de personal capacitado, inyecciones descartables, medios refrigerados y la adquisición de la vacuna. Con la producción de vacunas en plantas, se produce una mayor cantidad, pues las plantas funcionan como “industrias farmacéuticas” que elaboran sus productos a bajos costos. La biotecnología moderna esta basada en el uso apropiado de la semilla, aspecto que manejan muy bien los granjeros y campesinos, por lo que la vacuna podría ser producida de cosecha en cosecha localmente, facilitando así la inmunización a las generaciones venideras, requiriendo únicamente del conocimiento tradicional para el manejo de cada cultivo. Localmente, cada comunidad podría organizar sus campañas de vacunación con costo reducido. Otra de las ventajas de esta opción, se manifiesta en el manejo y transporte de las vacunas, que no requerirían de cuartos fríos especializados, su aplicación no necesita de inyecciones con lo que se evita cualquier tipo de contaminación, y no causa daños emocionales a los infantes por la facilidad de suministrar la dosis requerida.

A pesar de las muchas ventajas que pueden presentar la producción de vacunas comestibles en plantas, hay muchas interrogantes por resolver: ¿Podrá la planta producir la cantidad necesaria de antígeno para motivar una respuesta inmunológica? ¿Sobrevivirá el antígeno a la degradación durante el paso del alimento por el sistema digestivo? Y si sobrevive a la acción de las enzimas proteolíticas del sistema digestivo, ¿su concentración será suficiente para llamar la atención del sistema inmunológico? ¿De qué manera los factores ambientales podrían incidir en la calidad de la vacuna?

Debido a que las vacunas comestibles son aplicadas oralmente con los alimentos que son degradados en el tracto digestivo, se pretende establecer la interacción y estabilidad del antígeno de las vacunas comestibles con la reacción defensiva de la membrana mucosa que recubre el sistema digestivo. Esta funciona como una barrera inmunológica que neutraliza los patógenos que intentan cruzarla. Recientes investigaciones en voluntarios alimentados con lechuga que llevaba el antígeno para Hepatitis B, han demostrado que los antígenos de las vacunas comestibles soportan el paso a través del sistema digestivo, pues la pared celular típica de las células vegetales funciona como una cubierta temporal, manteniendo el antígeno alejado de los jugos gástricos o enzimas proteolíticas, lo que permitió mantener su integridad y, por lo tanto, su capacidad de generar la respuesta inmunológica deseada (Kong, *et al.*, 2002).

Estos son algunos ejemplos que ilustran la utilización de las plantas en la elaboración de vacunas comestibles: manzanas contra la caries: producen la proteína p1025, que actúa “engañando” al *Streptococos mutans*, causante de las caries; arroz-vacuna contra la Hepatitis B; plantas de tabaco asociadas a diferentes tipo de cáncer en las vías respiratorias, están siendo utilizadas para generar vacunas contra el virus que produce el cáncer genital en humanos y contra el sarampión.

En el abanico de aplicaciones que brinda la biotecnología vegetal, nos encontramos con la capacidad que tienen las plantas de ser utilizadas como fábrica para producir proteínas terapéuticas. Desde 1990, la industria farmacéutica mundial ha destinado recursos en investigaciones exploratorias para sondear las posibilidades de las plantas transgénicas como bioreactores en la producción de fármacos a gran escala. Actualmente se cosechan los primeros logros al haber desarrollado plantas que producen la hormona humana del crecimiento somatotropina, usada en el tratamiento del enanismo en niños (Staub, 2000). Una ventaja adicional en la utilización de plantas para la producción farmacéutica es disminuir el riesgo de contaminación por virus que afectan a los humanos (HIV, hepatitis), cuando los fármacos son reproducidos en células animales o microorganismos.

Discusión

La biotecnología de plantas, relativa al uso de la ingeniería genética y las tecnologías de fusión celular para introducir determinadas características en ciertas especies vegetales de interés alimentario, viene siendo empleada intensivamente en el incremento de la productividad agrícola (Nestle, M., 1996). Según datos de James (2003), se espera que para 2005 se cultiven más de 100 millones de hectáreas de plantas transgénicas en todo el mundo.

La gran esperanza que se ha puesto en estos cultivos se centra principalmente en la posibilidad de que ayuden a resolver el problema alimentario mundial proveyendo, por una parte, alimentos más baratos y en abundancia y, por otra parte, más nutritivos y más saludables. Sin embargo, a pesar de este potencial de la biotecnología agrícola, hay una creciente preocupación pública en torno al impacto ecológico y las repercusiones sociales de estas plantaciones, y sobre la seguridad de estos alimentos. Estas preocupaciones han conllevado al diseño de políticas gubernamentales que garanticen a los consumidores la seguridad y los beneficios de la salud de estos nuevos tipos de alimentos.

Dentro de las principales recomendaciones vertidas en importantes foros internacionales, en los cuales se aborda el aspecto metodológico para la evaluación de la bioseguridad, se incluyen:

- Profundización de la investigación clínica y básica sobre las alergias causadas por los alimentos en general, y en particular para los derivados de la biotecnología agrícola
- Armonización de la metodología y principios del análisis de riesgo
- Estandarización de métodos y sistemas de evaluación de microorganismos y alimentos transgénicos
- Desarrollo de análisis y control de calidad de alimento transgénico marino y animal

- Validación internacional de nuevos métodos de evaluación de la inocuidad de los alimentos

En su reporte *Plantas modificadas genéticamente: Ciencia y regulación* (Abril 2000), la Academia de Ciencias de los Estados Unidos llama a las autoridades regulatorias a revisar constantemente el proceso de regulación de plantas transgénicas. Allí se señala que no existe evidencia de que los alimentos producidos a partir de la biotecnología, comercializados actualmente, sean inseguros debido a los genes introducidos. Por otra parte, se recomiendan estudios para evaluar su impacto a largo plazo.

86

La polémica sobre las plantas y alimentos transgénicos es sumamente compleja. No solamente por la comprensión de procesos tecnológicos tan complicados que entenderlos requiere de un alto nivel técnico, sino porque se abarcan aspectos que van mas allá de la ciencia misma, incluyéndose elementos políticos, ideológicos, de intercambio comercial, y normas sociales y culturales. En todo este debate, se hace necesario que prevalezca un abordaje científico en la elaboración de políticas productivas y socioeconómicas. Por lo tanto, conviene garantizar que la información sobre estos asuntos de enorme importancia en la sociedad globalizada, llegue al mayor número de ciudadanos, para que puedan decidir de manera informada.

Cuando se realiza el análisis de riesgo de los alimentos derivados de la biotecnología y se logra establecer que la fuente del alimento no tiene un historial alérgico; que no se logró establecer similitud en la secuencia de aminoácidos con conocidos alérgicos; que las proteínas presentes son rápidamente digeribles; y que no muestran resultados positivos en los inmunoensayos, todos estos datos sugieren que no hay por qué preocuparse por la seguridad del producto biotecnológico. Actualmente, a nivel mundial, no hay evidencia científica alguna que demuestre el deterioro o perjuicio para la salud humana por el consumo de alimentos o cultivos de Organismos Genéticamente Modificados. De este modo, se puede ver cómo en Nicaragua, donde aún no hay registro oficial de la introducción de cultivos biotecnológicos, hay un sector de la población infantil y adulta que padece de reacciones alérgicas desencadenadas por alérgicos presentes en los cultivos y alimentos obtenidos por la actividad agrícola convencional.

En el futuro, los esfuerzos tecnológicos deben enfocarse en continuar con la identificación de alérgicos caracterizando la secuencia de sus aminoácidos para incrementar la información disponible en las bases de datos; además de identificar las propiedades físico-químicas de los aminoácidos que conforman el epítotope (región de la proteína reconocida por el anticuerpo) para desarrollar criterios mas rigurosos de selección.

Investigadores, compañías biotecnológicas y entes reguladores deberían abocarse a la nada sencilla tarea de desarrollar técnicas y métodos que determinen y definan la "composición normal" de los cultivos convencionales, para validar las muestras de control como verdaderos parámetros de comparación y discriminación en las evaluaciones de bioseguridad.

No se ha comprobado que las secuencias víricas en la construcción de los organismos modificados genéticamente sean motivo de alarma por sus efectos sobre la salud humana. Al contrario, son muchos los ejemplos desarrollados por la biotecnología donde las partículas víricas han sido utilizadas para desarrollar resistencia a patógenos en plantas.

La implementación de esta tecnología en nuestro país despierta un amplio panorama de posible aplicación. Muy particularmente, en el mejoramiento del estado de salud de la población. En las áreas donde los sectores más desposeídos presentan serias deficiencias nutricionales al consumir alimentos de muy bajos niveles de proteínas, pobres en vitaminas y minerales, además de cultivos con alto contenido de anti-nutrientes y granos básicos con altos niveles de contaminación química por el uso desmedido de pesticidas e insecticidas, no se puede descartar la ventaja que brinda la biotecnología vegetal en la utilización de las plantas como bioreactores. Al producir a gran escala las vacunas necesarias para las jornadas de vacunación, se posibilita destinar los recursos ahorrados hacia inversiones hospitalarias. Las compañías farmacéuticas nacionales se convertirán en otro sector altamente beneficiado al producir sus insumos químicos a bajos costos, además de que le brindará cierto margen de independencia en relación a las grandes transnacionales de la industria química. En resumen, la implementación de la biotecnología agrícola en un país agrícola no es un asunto del mañana, es del ayer. Estamos atrasados.

Referencias bibliográficas

- BURK, A.W., y SAMPSON, H.A., (1997). Anaphylaxis and Food Allergy. In *Food Allergy: Adverse reactions to food and food additives* (eds. Metcafel, D.D., Sampson, H.A. and Simon, R.) 245-257. Blackwell Science: Cambridge, MA.
- CHING, H. G., et al., (2003). "Protein Trans-splicing in transgenic plant chloroplast: Reconstruction of herbicide resistance from split genes". *PNAS Vol. 100 No.8* 44510-4515. USA.
- HACKLAND, A.; RYBICKI, E.P. y THOMSON, J.A. (1994). "Coat protein-mediated resistance in transgenic plant". *Archives of Virology*. Vol. 139, pp 1-22. USA
- HERMAN, E.M., et. al., (2003). "Genetic Modification Removes an Immunodominant Allergen from Soybean". *Plant Physiology* 132:36-43. USA
- HULL, R.; COVEY, S y DALE, P., (2000). "Genetically modified plants and the 35S promoter: assessing the risk and enhancing the debate". *Microbial Ecology in Health and Disease* 12, 1-5. USA
- JAMES, C. (2003). "Global status of Commercialised Transgenic Crops:2003". Executive summary of International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications ISAAA No. 30. www.isaaa.org
- KONG, Q., et al., (2002). "Oral immunization with hepatitis B surface antigen expressed in transgenic plant". *Proceedings of the National Academy of Sciences*,

98, 11539 – 11544.

-METCALFE, D., et al., (1996). Assessment of the allergenic potential of foods from genetically engineered crop plant. *Critical reviews in food Science and Nutrition* 36(s), S165-186. USA

-NAKAMURA, R y MATSUDA, T. (1996). "Rice allergenic protein and molecular-genetic approach for hypoallergenic rice". *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 60, 1215-1221. USA

-NICOLETTI, C. (2000). Unsolved mysteries of intestinal M-cells. *Gut* 47, 735-739.

-NESTLE, M. (1996). "Allergies to Transgenic Foods-Question of Policy". *NEJM* 334:726-728. USA

-OW, D. (2001). "The right chemistry for marker gene removal?" *Nature Biotechnology*, Vol. 19, 115-116. USA

-SAMPSON, H.A. (1997). *Immediate reactions to foods in infants and children. In Food Allergy: Adverse reactions to food and food additives* (eds. Metcalfe, D.D., Sampson, H.A. and Simon, R.A.) 169-182. Blackwell Science: Cambridge, MA.

-SCHUBBERT, R., LETTMANN, C y DOERFLER, W., (1994). Ingested foreign phage M13 DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice. *Molecular and General Genetics* 242, 495-504. USA

-STAUB, J.M., (2000). "Metabolic engineering of Arabidopsis and Brassica for poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) copolymer production". *Nature Biotechnology*. Vol. 18, pp. 333-338. USA

-TURNER, G., et al., (2001). "Insertional polymorphisms of full-length endogenous retroviruses in humans". *Current Biology* 11, 1531-1535. USA