



Ministério do
Desenvolvimento Agrário



Consultor: Gilles FERMENT

Levantamento e análise de estudos e dados técnicos
referentes ao consumo de plantas transgênicas: o caso do
NK603

Julho/2013



FOLHA DE ROSTO PARA PRODUTOS DE COOPERAÇÃO TÉCNICA

Identificação

Consultor / Autor: Gilles FERMENT

Número do Contrato: 100465

Nome do Projeto: FAO/UTF/BRA/083/BRA - “Nova Organização produtiva e social da agricultura familiar brasileira – uma necessidade”,

Oficial/Coordenador Técnico Responsável: Cristina Moreira

Data /Local: 20/07/2013 – Alto Paraíso de Goiás (GO)

Classificação

Temas Prioritários

Agroenergia e Biocombustíveis		Sanidade Agropecuária	x
Biotecnologia e Biosegurança	x	Tecnologia e Inovação	
Comércio e Agronegócio		Agroindústria Rural	
Desenvolvimento Rural		Recursos Naturais	
Políticas e Comércio		Comunicação e Gestão do Conhecimento	
Agricultura Orgânica		Outros:	
Modernização Institucional			

Palavras-Chave: plantas transgênicas, riscos para a saúde, milho NK603

Resumo

Título do Produto: Levantamento e análise de estudos e dados técnicos referentes ao consumo de plantas transgênicas: o caso do NK603

Subtítulo do Produto:

Resumo do Produto: Esse Produto busca fazer uma síntese da literatura científica publicada sobre os riscos associados ao consumo de plantas transgênicas, com foco no milho NK603. A primeira parte do relatório apresenta os principais riscos para a saúde envolvidos com o consumo de plantas que sintetizam uma toxina Bt e/ou toleram altas doses de herbicidas (TH). Riscos gerais ligados ao próprio processo de transgênia são também abordados. A segunda parte focaliza os riscos associados ao consumo do milho NK603, tolerante aos herbicidas a base de

Roundup. Como será detalhado nesse documento, o NK603 beneficiou recentemente de uma reavaliação toxicológica realizada por uma equipe de pesquisadores independente que apontou riscos sanitários graves relacionados ao consumo no longo prazo desse milho.

Qual Objetivo Primário do Produto?

O objetivo primário do Produto é realizar uma revisão do conjunto de estudos científicos que dizem respeito à avaliação do risco toxicológico associado ao consumo de plantas transgênicas comerciais e contrapor estes com as decisões das agências reguladoras encarregadas da análise do risco das plantas geneticamente modificada respeitando o princípio da precaução.

Que Problemas o Produto deve Resolver?

Há muitos lobbies envolvidos nas questões relativas à liberação comercial de OGM que tendem a minimizar a polêmica científica – que não diminui ao longo desses 15 anos de uso de plantas transgênicas comerciais – no que diz respeito aos riscos para a saúde humana associados ao consumo dessas plantas.

Como se Logrou Resolver os Problemas e Atingir os Objetivos?

Uma busca aprofundada na literatura científica e uma análise crítica dos principais argumentos e estudos avançados pelas agências reguladoras e a indústria ligada às biotecnologias agrícolas permitem destacar riscos toxicológicos sérios ao consumir determinados eventos transgênicos, especialmente no longo prazo.

Quais Resultados mais Relevantes?

A luz dessa análise, acompanhada de argumentos e ampla revisão bibliográfica, fica evidente a quantidade limitada de informações que a comunidade científica realmente possui para acessar, interpretar e se posicionar sobre os efeitos em longo prazo do consumo de plantas transgênicas.

Entretanto, o conjunto de estudos disponível sobre o assunto tende a apontar convergência de elementos científicos que associam o consumo de determinadas plantas transgênicas a sinais de intoxicações crônicas em órgãos chaves e a perturbações endócrinas, principalmente osteogênicas. A participação dos herbicidas Roundup nos processos toxicológicos associados ao consumo de plantas transgênicas tolerante ao glifosato representa um elemento central na avaliação do risco para a saúde dessas plantas GM, o que deve continuar tendo a atenção das comunidades científica e regulatória.

O Que se Deve Fazer com o Produto para Potencializar o seu Uso?

Divulgar esse relatório técnico nas instituições públicas que lidam com saúde pública, direitos dos consumidores e biossegurança.

Sumário

Introdução (p.4)

Primeira Parte: Riscos para a saúde das plantas transgênicas (p.7)

- 1) Riscos de ordem geral associados ao consumo de Plantas Geneticamente Modificadas (p.7)
- 2) Riscos específicos associados ao consumo de Plantas Geneticamente Modificadas para produzirem uma toxina inseticida Bt (p.11)
 - a) As proteínas Bt são biologicamente ativas em humanos (p.11)
 - b) A maioria dos estudos toxicológicos aponta para perturbações metabólicas e/ou fisiológicas (p.13)
 - c) Outras incertezas relativas ao consumo de alimentos transgênicos no longo prazo (p.14)
- 3) Riscos específicos associados ao consumo de Plantas Geneticamente Modificadas para sobreviverem a altas doses de herbicidas (Tolerantes à Herbicidas - TH) (p.15)
 - a) Aumento do consumo de resíduos de herbicidas (p.15)
 - b) Subestimação regulamentar da classificação toxicológica dos herbicidas a base de Glifosato (tipo Roundup) (p.17)
 - c) Perturbações metabólicas e endócrinas em estudos de toxicidade com animais (p.20)

Segunda Parte: Riscos associados ao consumo do milho NK603 (p.24)

- 1) Foco nos trabalhos do Professor Séralini com o milho NK603 (p.24)
 - a) Quadro experimental do estudo de Séralini et al. (2012a) e principais resultados (p.24)
 1. *Caractere único do estudo*
 2. *Desenho experimental*
 3. *Principais resultados obtidos*
 - b) Principais elementos de polêmica em relação ao estudo (p.28)
 1. *Análise crítica diferenciada para os estudos que apontam para riscos associados ao uso de biotecnologias*
 2. *Protocolo experimental conforme ao padrão internacional*
- 2) Análise do risco do milho NK603 no caso Brasil (p.39)
 - a) Um processo de liberação comercial contestado (p.39)
 - b) Rejeição dos pedidos de reavaliação do milho NK603 pela CTNBio (p.41)

Conclusão (p.48)

Referências bibliográficas (p.51)

Introdução

Apesar das plantas transgênicas já estarem cultivadas sobre 160 e 35 milhões de hectares, no mundo e no Brasil respectivamente, estudos científicos, matérias de imprensa e posicionamentos políticos críticos ao uso de plantas transgênicas mantêm a polêmica aberta no que diz respeito aos possíveis impactos negativos dos produtos geneticamente modificados sobre a saúde humana e animal.

Em primeiro lugar, cabe lembrar que a legislação norte-americana, que influenciou parte significativa da regulamentação internacional relativa à análise do risco das plantas transgênicas a partir do início dos anos 90, considera os produtos geneticamente modificados como seguros a partir do momento que a sua equivalência substancial com seu controle convencional esteja comprovada. Ora, o conceito de equivalência substancial, elaborado pela indústria de biotecnologia, foi rapidamente descartado pela comunidade científica como único critério de biossegurança (Milstone et al., 1999; Zdunczyk, 2001). Apesar disto, o Governo dos EUA manteve sua posição, permitindo a liberação comercial de dezenas de eventos de plantas transgênicas sem exigir qualquer estudo de toxicidade com animais.

De fato, o cultivo e o consumo em massa de plantas transgênicas na América do norte ocorrem desde cerca de quinze anos agora, sem que fossem detectados casos de intoxicações pelos serviços de saúde. Na base dessa ausência de crise sanitária, criou-se a ideia de um “histórico de uso seguro dos transgênicos”, fornecendo um argumento de peso nas decisões políticas relativas à autorização comercial de plantas transgênicas ao redor do mundo. Entretanto, cabe ressaltar que de um ponto de vista científico esse argumento não se sustenta já que não está baseado em resultados de estudos epidemiológicos, onde seriam comparados sinais de intoxicação crônica em pessoas que se alimentam frequentemente de produtos transgênicos com outro grupo controle que nunca se alimenta com tais produtos.

Nesse sentido, pode aparecer certo consenso relativo à ausência de riscos para a saúde humana associados ao consumo das plantas transgênicas comerciais, em especial quando consideram-se exclusivamente as opiniões das comissões de avaliação do risco dos países maiores produtores de transgênicos. Mas uma análise detalhada dos registros desses órgãos reguladores deixa aparecer vozes contrárias, que apontam para riscos para a saúde, solicitam mais estudos e revelam a falta de rigor científico nas avaliações do risco tais que conduzidas por essas agências.

No caso do Brasil, por exemplo, são vários os eventos transgênicos liberados comercialmente sem as empresas requerentes terem informadas “as conclusões de análises imunológicas e histológicas de tecidos relevantes, especialmente do trato digestivo”, como solicita a Resolução Normativa nº5 relativa à avaliação do risco para a saúde de PGM (Anexo III, Item 7). O Item 6 desse mesmo Anexo, que solicita a empresa requerente informar “os possíveis efeitos deletérios do OGM em animais prenhes e seu potencial teratogênico” nunca foi atendido desde a entrada em vigor dessa Resolução, em 2008.

Por outro lado, a análise da literatura científica publicada sobre o tema dos riscos para a saúde associados ao consumo de plantas transgênicas impõe constatar uma intensa polêmica, cercada por muitas incertezas.

Quando se considera a importância do tema em relação à saúde pública, cabe observar que a literatura científica focada nos riscos para a saúde associados ao consumo de plantas transgênicas sempre foi relativamente escassa (Domingo, 2000 e 2007). De fato, antes de 2006 – ou seja, 10 anos após a primeira liberação comercial de PGM - apenas algumas dezenas de estudos de toxicidade com animais que consomem alimentos transgênicos eram disponíveis para a avaliação do risco. Frente à polêmica crescente em relação a esses possíveis riscos, mais pesquisas foram realizadas, alcançando hoje mais de cem estudos de toxicidade focados no consumo de ração a base de determinada planta transgênica, independentemente do período considerado.

Esse aumento de referências nas bases de dados da literatura científica está detalhado no último *review* de Domingo & Bordonaba (2011) que observaram também um equilíbrio entre os estudos que apontam para riscos para a saúde e aqueles que concluem na ausência de riscos. Entretanto, os autores anotam que a maioria dos estudos que consideram as plantas transgênicas avaliadas tão seguras do que as plantas convencionais foram realizadas pelas empresas de biotecnologia, que comercializam esses produtos. Essa constatação é preocupante, já que um estudo epidemiológico recente intitulado “Associação de conflitos de interesse financeiros ou profissionais com as conclusões das pesquisas sobre avaliação de risco nutricional e para a saúde dos produtos geneticamente modificados” conclui que existe “uma forte associação entre a afiliação do autor à indústria (conflito de interesse profissional) e os resultados do estudo [...]” (Diels et al., 2011). Frente a esse conjunto de estudos disponíveis, Domingo & Bordonaba (2011) concluíram que o debate relativo à segurança das plantas transgênicas para a saúde humana “ainda fica totalmente aberto, a todos os níveis”.

O último trabalho sobre o assunto, onde pesquisadores alimentaram porcos com uma ração a base de mistura de plantas transgênicas comerciais durante aproximadamente 23 semanas, observou o aumento de peso nos úteros das cobaias, além de uma maior taxa de inflamações severas do estômago no conjunto dos animais testes, ao compará-los com os porcos controles alimentados com ração não geneticamente modificada (Carman et al., 2013). Já, outros autores que realizaram *reviews* sobre o conjunto ou parte da literatura científica referente aos estudos de toxicidade em animais alimentados com produtos transgênicos apontam para várias correlações entre o consumo do material teste e perturbações metabólicas e fisiológicas diversas (Dona & Arvanitoyannis, 2009; Séralini et al., 2011). Intoxicações hepáticas e renais – sendo os rins e o fígado os dois principais órgãos de desintoxicação do organismo - são especificamente destacadas nessas análises.

Esse Produto, intitulado “Levantamento e análise de estudos e dados técnicos referentes ao consumo de plantas transgênicas: o caso do NK603”,

busca fazer uma síntese da literatura científica publicada sobre os riscos associados ao consumo de plantas transgênicas, com foco no milho NK603. A primeira parte do relatório apresenta os principais riscos para a saúde envolvidos com o consumo de plantas que sintetizam uma toxina Bt e/ou toleram altas doses de herbicidas (TH). Riscos gerais ligados ao próprio processo de transgênia são também abordados. A segunda parte focaliza os riscos associados ao consumo do milho NK603, tolerante aos herbicidas a base de Roundup. Como será detalhado nesse documento, o NK603 beneficiou recentemente de uma reavaliação toxicológica realizada por uma equipe de pesquisadores independente que apontou riscos sanitários graves relacionados ao consumo no longo prazo desse milho.

Primeira Parte:

Riscos para a saúde das plantas transgênicas

Nas questões relativas ao tema dos riscos para a saúde das plantas transgênicas, dois principais tipos de riscos devem ser diferenciados.

Grande parte desses riscos é diretamente ligada à função específica do transgênico, sendo de sintetizar uma toxina inseticida (tipo Bt) e/ou tolerar altas doses de herbicidas.

Por outro lado, as plantas geneticamente modificadas apresentam também riscos ligados ao próprio processo de transgenia, que são considerados riscos de ordem geral.

Cabe destacar que esses riscos teóricos já tornaram-se riscos concretos para os consumidores porque ainda existe uma forte polêmica científica a respeito dos impactos de longo prazo para a saúde de diversos eventos transgênicos liberados comercialmente em vários países do mundo, inclusive no Brasil.

1) Riscos de ordem geral associados ao consumo de Plantas Geneticamente Modificadas

O desenvolvimento dessa parte relativa aos riscos de ordem geral associados ao consumo de plantas transgênicas apenas visa qualificar a incerteza que ainda existe frente ao processo de transgenia, já que tratar o tema na sua íntegra necessitaria lhe dedicar um documento inteiro.

De fato, a indústria dos agroquímicos e transgênicos propaga a ideia que é tecnicamente possível inserir um determinado gene com alta precisão num

organismo hospedeiro, e que esse gene terá determinados efeitos, perfeitamente previsíveis nesse novo organismo transgênico. Ora, uma única pequena mudança na escala do DNA pode gerar um conjunto de alterações metabólicas e fisiológicas nesse organismo (Latham et al., 2006).

A maior parte das incertezas relativas às consequências de uma transgenia provém da complexidade das inter-relações existentes entre as sequências genômicas consideradas codantes (os chamados genes), as sequências genômicas consideradas “DNA lixo” (que representam cerca de 98% do genoma humano, por exemplo) e o conjunto de processos epigenéticos¹ existentes em qualquer célula viva.

A visão simplificada sobre a qual é fundamentada a transgenia – a transferência, ao acaso no DNA de outro organismo, de determinadas sequências genômicas consideradas íntegras (genes) resulta na única expressão destas no organismo transformado - exclui de fato um grande número de processos biológicos que naturalmente acompanham a expressão gênica.

Tecnicamente, o processo de transgenia - tal como foi realizada para a elaboração das plantas transgênicas hoje disponíveis comercialmente – representa uma ferramenta de biologia molecular bastante aleatória e imprecisa. De fato, até alguns anos atrás, não podia se prever aonde os transgenes iam se inserir no novo organismo transformado. Além disto, a experiência mostra que a integralidade do transgene após processo de inserção na célula hospedeira é raramente preservada.

Alterações indesejadas de sequências genômicas transferidas em eventos comerciais são amplamente documentadas na literatura científica. Collonnier et al. (2003 e 2005), por exemplo, reuniram num só artigo as diferenças existentes entre o transgene esperado e aquele realmente inserido em cinco eventos comerciais. No total foram mais de dez diferenças

¹ Epigenética é um termo usado para se referir a características de organismos que são estáveis ao longo de diversas divisões celulares mas que não envolvem mudanças na sequência de DNA do organismo.

significativas, que dizem respeito à presença de um segundo promotor (no caso do milho T-25), à perda de uma sequência terminadora (no caso do milho Mon810), à presença de sequências diversas conhecidas e desconhecidas (no caso do milho Bt176 e da soja RR) ou ainda à deleção de alguns nucleotídeos do transgene (no caso do milho GA21).

Mesmo se melhorias técnicas foram realizadas no direcionamento da inserção de transgenes no DNA de células vegetais (Shukla et al., 2009, por exemplo), a falta de conhecimento científico relativo ao funcionamento global do genoma impede os pesquisadores determinarem um local de inserção isento de desdobramentos biológicos não desejados. No final do ano de 2012, o Consorcio para o projeto ENCODE² publicou nova parte dos resultados obtidos, em quase 10 anos de pesquisa, onde destacou que grande parte do DNA não codante (ou “DNA lixo”) “seria na verdade uma ampla mesa de controle com milhões de interruptores que regulam a atividade de nossos genes. Sem esses interruptores os genes não funcionariam e mutações nessas regiões poderiam induzir doenças” (ENCODE Project Consortium, 2012). Essas descobertas deixam entender que não existe local no genoma do organismo a ser transformado onde a transgenia não irá alterar a expressão gênica de um ou vários processos biológicos.

Exemplos de alterações da expressão gênica em plantas transgênicas comerciais, que não foram detectadas durante o processo de avaliação do risco, são frequentes na literatura científica. Zolla et al. (2008), por exemplo, compararam o conjunto de proteínas produzidas pelo milho Mon810 e seu isogênico não transgênico. Segundo a visão reducionista que fundamenta a previsibilidade de um processo de transgenia, apenas uma determinada proteína Bt deveria ter sido identificada como diferente entre as duas plantas. Ora, os autores observaram alterações na regulação de 43 proteínas na planta geneticamente modificada, sendo que 14 dessas proteínas viram sua produção

² Desde 2003, 442 cientistas (biólogos, geneticistas, matemáticos e informáticos) originários de 32 laboratórios da Inglaterra, dos EUA, da Espanha, da Suécia, de Singapura e do Japão participam de um projeto de pesquisa intitulado ENCODE, que tem como objetivo principal elaborar uma gigantesca enciclopédia do DNA no genoma humano.

diminuída, 13 foram produzidas em maior quantidade, 9 não foram detectadas e 7 dessas proteínas eram novas, ou seja não eram produzidas no milho convencional. Cabe salientar, de passagem, que uma dessas novas proteínas apresentou alta similaridade com parte de uma proteína alergênica conhecida.

Outro exemplo de perturbação do genoma após transgenia pode ser ilustrado com um estudo de Saxena & Stotzky (2001) que visou comparar as taxas de lignina entre milho Bt e milho não transgênicos. Os autores observaram diferenças na taxa de lignina do milho Bt176 superiores de 33 até 97% em comparação ao seu isogênico não transgênico. Fortes alterações na composição em aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas e proteínas de uma variedade de arroz transgênico, em comparação ao seu isogênico convencional também foram relatadas e apontadas como consequências do processo de transgenia (Jiao et al., 2010).

Independentemente do local e do sucesso da inserção transgênica, efeitos não esperados podem ocorrer no organismo transformado, principalmente por causa de diferenças existentes entre os processos epigenéticos dos organismos doador e hospedeiro. De fato, após a tradução do RNA em sequências de aminoácidos, as proteínas se dobram no espaço para adquirir suas conformações tridimensionais e interagem com elementos do ambiente celular que modificam sua estrutura, e conseqüentemente, suas propriedades físico-químicas. Ora, se os ambientes celulares possuem uma composição em elementos bioquímicos diferentes – o que se acentua no caso de sequências genômicas oriundas de espécies filogeneticamente distantes – essas modificações pós-traducionais podem ocorrer de forma equivocada, conferindo propriedades indesejadas à proteína.

Tal cenário pode ser ilustrado pelo estudo realizado por Prescott et al. (2005), que buscaram avaliar o potencial alergênico de uma ervilha geneticamente modificada para resistir a determinado inseto. Essa propriedade se deu pela introdução de uma sequência genética correspondente à proteína inibidora da alfa-amilase, um anti-nutriente que confere naturalmente ao feijão a capacidade de resistir a determinados insetos. O teste de alergenicidade

conduzido pelos pesquisadores usou três grupos de ratos, sendo um alimentado com a ervilha transgênica, um com ervilha não geneticamente modificada e um com feijão, que sintetiza naturalmente a proteína. Apenas o grupo alimentado com a ervilha transgênica apresentou reações alergênicas. Ao pesquisar os motivos responsáveis por essa observação, os autores do artigo concluíram que a reação alergênica foi desencadeada por um processo de glicosilação diferente que ocorreu na ervilha, quando comparado ao processo que naturalmente ocorre no feijão.

Um caso extremo de fenômeno epigenético pode ser observado no caso do príon (Halfmann & Lindquist, 2010), cujo desenvolvimento é altamente sensível aos estresses do ambiente celular. De fato, não há diferenças na sequência de aminoácidos do príon "normal" (PrPc) e do príon "infeccioso" (PrPsc), responsável pela doença da vaca louca na sua forma humana. A diferença está na organização espacial destes aminoácidos. Esta nova estrutura permite que o PrPsc resista à ação de certas enzimas, como as proteases, e o PrPc não.

2) Riscos específicos associados ao consumo de Plantas Geneticamente Modificadas para produzirem uma toxina inseticida Bt

a) As proteínas Bt são biologicamente ativas em humanos

No caso das plantas Bt, que sintetizam seu próprio inseticida em todas suas células e de modo contínuo, a indústria geralmente descarta qualquer risco para a saúde argumentando que a proteína Bt:

- tem um histórico de uso seguro, considerando sua forma natural (esporos);

- é totalmente destruída durante a digestão;
- não apresenta atividade biológica em animais.

Na verdade, alguns cientistas já observaram reações imunológicas em trabalhadores rurais que manipulam esporos de *Bacillus thuringiensis* (Bernstein et al., 1999). Além disto, estudos de laboratórios com proteínas Bt nativas observaram que essas proteínas podem desencadear uma reação imune ou favorecer respostas imunológicas a outras substâncias (Vázquez et al., 1999; Vázquez-Padrón et al., 1999 e 2000).

No que diz respeito à suposta total degradação das proteínas Bt durante o processo de digestão em mamíferos, vários trabalhos mostraram uma realidade diferente, onde partes significativas da proteína³ sobrevivem à digestão em animais alimentados com milho GM (Chowdury et al., 2003; Lutz et al., 2005; Paul et al., 2010). Em laboratório, um estudo recente que buscou reproduzir as condições reais de acidez gástrica observou uma alta resistência em quebrar a proteína recombinante Cry1Ab (Guimaraes et al., 2010). Mesmo após a simulação de digestão, parte da proteína era capaz de induzir uma resposta imune.

Enfim, um estudo recente mostrou uma atividade citotóxica de determinadas proteínas Cry sobre células humanas (Mesnage et al., 2012a), confirmando atividade biológica das toxinas, mesmo se em doses superiores a aqueles normalmente produzidas em milho GM. Além disto, cabe ressaltar que são várias as pesquisas com camundongos e outras cobaias que apontam para danos hepático-renais relacionados ao consumo de plantas Bt nesses animais, apesar dos mecanismos subjacentes não estarem totalmente entendidos.

b) A maioria dos estudos toxicológicos aponta para perturbações metabólicas e/ou fisiológicas

³ Os fragmentos de proteína que sobrevivem à digestão possuem a capacidade de desencadear uma resposta imune.

De fato, Séralini et al. (2011) publicaram uma meta-análise do conjunto de estudos toxicológicos crônicos e sub-crônicos disponíveis na literatura científica referentes ao consumo de plantas transgênicas por cobaias animais. No caso dos eventos Bt, os autores observaram haver mais estudos que apontam para perturbações fisiológicas e bioquímicas em animais alimentados com dieta a base de planta Bt em relação ao número de estudos que não observam reações biológicas, considerando uma amostragem total de 11 pesquisas.

No caso do Mon810 (que sintetiza a proteína Cry1Ab), Spiroux de Vendômois et al. (2009) reiteraram a análise estatística dos resultados publicados referentes ao estudo que embasou a liberação comercial desse milho (Hammond et al., 2006a). Concluíram que várias das diferenças observadas nas variáveis bioquímicas de alguns órgãos dos ratos (rins, fígado, medula óssea, baço, glândulas suprarrenais) que aparecem entre os grupos controles e testes podem ser interpretadas como sinais de intoxicação e/ou de perturbação desses órgãos. Por outro lado, Hammond et al. (2006a) interpretaram essas diferenças como não biologicamente significativas, atribuindo as diferenças observadas e suas repartições não lineares ao acaso. Nesse sentido, esses autores concluíram na ausência de riscos associados ao consumo desse milho transgênico Bt.

Do mesmo modo, no caso do milho Mon863 (que sintetiza a proteína Cry3Bb1), Séralini et al. (2007a), Spiroux de Vendômois et al. (2009) e Séralini et al. (2009) apontaram várias falhas na interpretação dos resultados do estudo de toxicidade que embasou a liberação comercial desse milho na UE (Hammond et al., 2006b).

Esses dois exemplos ilustram o quanto a polêmica científica em relação aos riscos de toxicidade ligados ao consumo de milho Bt se mantém aberta, apesar destes dois eventos estarem liberados comercialmente desde mais de 10 anos e ainda hoje cultivados sobre vários milhões de hectares.

c) Outras incertezas relativas ao consumo de alimentos transgênicos no longo prazo

A eficiência do processo de avaliação do risco de alergenicidade também é questionada de modo recorrente por cientistas independentes (Bernstein et al., 2003). Ainda hoje, nenhum país do mundo exigiu testes aprofundados em humanos e nem realizou estudos epidemiológicos em populações específicas (crianças ou pessoas sujeitas a alergias cruzadas, por exemplo).

Em paralelo, existem estudos com ratos que mostram reações imunológicas associadas ao consumo de plantas transgênicas que sintetizam proteínas Cry, notadamente nos tecidos do sistema intestinal e esofágico (Vazquez-Padron et al., 2000 e Finamore et al., 2008, entre outros).

Entretanto, há certo consenso na comunidade científica em considerar que os riscos de alergenicidade estejam mais associados à produção de novas proteínas inesperadas nas plantas transgênicas⁴ do que ao contacto com a proteína Bt em si. Nesse sentido, esforços devem ser concentrados no fortalecimento da avaliação do risco alergênico em populações humanas submetidas diariamente ao conjunto de alérgenos potencialmente presentes na alimentação transgênica, e não se restringir à análise do potencial alergênico da proteína Cry recombinante.

Outras incertezas referentes aos riscos para a saúde associados ao consumo de plantas Bt dizem respeito ao destino metabólico das proteínas Cry ingeridas e suas interações potenciais com as células e bactérias do aparelho digestivo.

Dados preocupantes foram obtidos num dos raros estudos epidemiológicos que buscou a presença de proteínas Cry no sangue de consumidores norte-americanos, no Canadá (Aris & Leblanc, 2011). Ao

⁴ Confere item 1) dessa Parte.

analisarem sangue de 30 mulheres grávidas e 39 mulheres não grávidas, os pesquisadores encontraram a toxina Cry1Ab em 93% das mulheres grávidas, 80% dos seus fetos e em 69% das mulheres não grávidas. Cabe salientar, de passagem, que esse estudo comprova *in vivo* a absorção de proteínas Cry pelas células intestinais obtidas a través do consumo diário de alimentos transgênicos. Entretanto, os autores não discutem a fundo das potenciais consequências biológicas da presença da toxina inseticida no âmbito da saúde humana, e não existem outros estudos para comparar os resultados obtidos.

Enfim, cabe frisar a possibilidade de integração de um transgene *cry* funcional em bactérias simbióticas do aparelho digestivo, e suas consequências desastrosas para a função digestiva. De fato, as bactérias são naturalmente competentes para a transferência horizontal de genes, ou mais exatamente de sequências genômicas. Cabe destacar que o corpo humano é “composto” por mais bactérias do que células⁵, e que só as bactérias do aparelho intestino pertencem a cerca de 500 espécies diferentes. Além disto, o cassete de expressão usado nas construções genéticas transgênicas contém em geral sequências genômicas bacterianas e virais, o que favorece esse tipo de troca. Ora, foram poucas as pesquisas que buscaram avaliar a probabilidade de transferência de um transgene *cry* funcional em bactérias simbióticas, e menos ainda em estudar as possíveis consequências disto.

3) Riscos específicos associados ao consumo de Plantas Geneticamente Modificadas para sobreviverem a altas doses de herbicidas (Tolerantes à Herbicidas - TH)

a) Aumento do consumo de resíduos de herbicidas

⁵ O corpo humano contém cerca de 10×10^{13} células contra 10×10^{14} bactérias, repartidas principalmente no sistema digestivo.

No caso das plantas TH, a modificação genética tem como objetivo permitir à planta acumular altas doses de herbicidas nas suas células sem isto desencadear os processos metabólicos que normalmente geram efeitos letais nas plantas convencionais.

Com essa nova capacidade da planta, o manejo das ervas ruderais nas lavouras mudou, e herbicidas normalmente restringidos a um uso de pré-emergência ou de secante passaram a ser usados em vários períodos do ciclo produtivo da lavoura. Isto resultou num aumento da quantidade global de resíduos de pesticidas acumulados nos tecidos das plantas TH, inclusive nos tecidos comestíveis.

De fato, pouco tempo após a liberação comercial da soja RR, tolerante aos herbicidas a base de glifosato, o Limite Máximo de Resíduo (LMR) de glifosato na soja passou de 0,2 mg/kg para 10 mg/kg no Brasil, sendo um aumento de 50 vezes. Essa medida foi necessária já que sem essa mudança a quase totalidade dos grãos de soja iam ficar com quantidades de resíduos de glifosato superiores ao LMR, tornando o produto impróprio ao consumo.

Essa hipótese se sustenta quando consideram-se os relatos de engenheiros agrônomos da Secretaria Estadual de Agricultura do Estado do Paraná (SEAB-PR), que efetuaram pesquisas sobre as taxas de resíduos de glifosato realmente presentes na soja comercial (Riesemberg & Silva, 2010). De fato, foram realizadas 276 análises no ano de 2008, e a média das amostras ficou em 1,46 mg/kg, mais de sete vezes superior ao antigo LMR. No mesmo ano, 4,60% das amostras ultrapassaram o limite atual tolerado com valores variando entre 10,42 e 33,24 mg/kg. Caso o LMR não fosse elevado em cinquenta vezes, 58% da soja transgênica analisada estaria imprópria ao consumo humano.

Do mesmo modo, em 2009, dois anos após a liberação comercial de milho transgênico TH, a Anvisa lançou uma consulta pública para aumentar o LMR de glifosato no milho de 0,1mg/kg para 1mg/kg. Apesar de várias

manifestações contrárias (NEAD/MDA, 2009, por exemplo), o novo valor do indicio foi adotado em novembro de 2010.

Cabe alertar da probabilidade de pedido similar por parte do setor industrial em relação ao aumento do LMR do 2,4-D (herbicida a base de auxinas e altamente perigoso para a saúde humana e ambiental⁶) em cultivos geneticamente modificados para tolerar esse produto. De fato, soja e milho transgênicos tolerantes aos herbicidas a base de 2,4-D, principalmente desenvolvidos pela Dow Agrosience, estão em processo de discussão na CTNBio há mais de um ano.

b) Subestimação regulamentar da classificação toxicológica dos herbicidas a base de Glifosato (tipo Roundup)

No contexto mundial atual das áreas cultivadas com plantas TH, a tecnologia RR – associada ao uso de herbicidas a base de glifosato - predomina significativamente. Como o aumento das áreas plantadas com essa tecnologia se acompanha sistematicamente do uso do herbicida associado, assistimos hoje a uma explosão da quantidade de resíduos de glifosato no meio ambiente e na alimentação.

Nesses herbicidas a base de glifosato, cabe destacar o Roundup, comercializado sob diversas formulações e aplicado em dezenas de milhões de hectares ao redor do mundo, principalmente em lavouras de soja, milho e algodão RR.

⁶ Conferir Produto nº1 referente a essa Consultoria, intitulado “Documento contendo avaliação do risco relativo à saúde do trabalhador rural, ao meio ambiente e às práticas agrônômicas das plantas transgênicas tolerantes aos herbicidas a base de 2,4 D no âmbito da Agricultura Familiar”.

Para perceber plenamente a gravidade da situação sanitária gerada pelos cultivos transgênicos RR, é importante entender que esses herbicidas a base de glifosato beneficiam de uma classificação toxicológica subestimada. Várias pesquisas mostraram maior toxicidade do Roundup em relação ao glifosato testado só, já que a fórmula comercial possui “ingredientes inertes” (tais como surfactantes que ajudam o princípio ativo a penetrar nas células da planta), suscetíveis de alterar a toxicidade efetiva do produto. Na verdade, nem sempre esses ingredientes considerados inertes são biologicamente inativos, o que significa que podem interagir com vias metabólicas envolvidas nos processos de intoxicação.

No caso dos herbicidas a base de glifosato, o POEA (polyethoxylated tallowamine) aparece como o principal surfactante. Além de não ser toxicologicamente inerte (Tsui & Chu, 2003; Sawada *et al.*, 1988), várias pesquisas recentes com esses herbicidas o apontam como responsável em parte pelos efeitos reprotóxicos e mutagênicos das fórmulas comerciais em células de mamíferos, via mecanismos sinérgicos e/ou potencializadores (Benachour *et al.* 2007; Richard *et al.*, 2005; Marc *et al.*, 2002; Benachour & Séralini, 2009; Mesnage *et al.*, 2012b). Nesse sentido, cientista chefe do Departamento de Proteção Ambiental do estado de Nova Iorque (EUA) tomou posicionamento público para denunciar os defeitos na classificação toxicológica desses pesticidas, baseada apenas sobre a toxicidade de um suposto único princípio ativo (Cox & Sorgan, 2006). Pesquisadores que apoiam essa abordagem argumentam que a avaliação do conjunto de componentes químicos presentes no produto comercial seria mais representativa das condições reais de exposição do que a avaliação do princípio ativo isoladamente (Mesnage *et al.*, 2010; Monosson, 2005).

Essa subestimação toxicológica dos herbicidas a base de glifosato nos marcos legais e regulatórios da maioria dos países do mundo permitem ao lobby dos agrotóxicos e transgênicos exprimirem retoricamente informações erradas sobre esses produtos, minimizando seus riscos para a saúde pública e o meio ambiente. Nesse sentido, o ex-presidente da CTNBio declarou na mídia

que “A vantagem da soja transgênica para a segurança alimentar é que os humanos poderiam até beber [o agrotóxico que é nela aplicado] e não morrer, porque não temos a via metabólica das plantas”⁷. Cabe lembrar, de passagem, que a empresa responsável pela comercialização dos produtos Roundup, a Monsanto, foi condenada pela justiça nos EUA (1997) e na França (2006) para propaganda enganosa, em relação às supostas biodegradabilidade e ausência de toxicidade do herbicida.

Ora, existem hoje na literatura científica dezenas de estudos - se não são centenas – que observam danos toxicológicos em animais ou em células humanas associados ao contacto com o glifosato e suas formulações comerciais tipo Roundup (para uma revisão recente da literatura sobre os efeitos teratogênicos desses produtos, por exemplo, confere Antoniou et al., 2012).

Nesse conjunto de pesquisas cabe destacar o estudo de Benachour et al. (2007), intitulado “Efeitos Tempo-Dosagem- Dependentes do Roundup em células humanas embrionárias e placentárias”, onde os autores concluíram que “[...] esses dados sugerem que a exposição ao Roundup pode afetar a reprodução humana e o desenvolvimento fetal [...]”. Num outro estudo, intitulado “Herbicidas a base de glifosato são tóxicos e perturbadores endócrinos em linhas de células humanas”, Gasnier et al. (2009) observaram efeitos citotóxicos a partir de 10 ppm de glifosato, bem como danos ao DNA com 5 ppm. Já, os primeiros sinais de perturbação endócrinas apareceram com apenas 0,5 ppm⁸. Os autores concluíram então que “O impacto real nas células dos resíduos de herbicidas a base de glifosato em alimentos ou no meio ambiente tem que ser considerado, e suas classificações como cancerígenos, mutagênicos e reprotóxicos devem ser discutidas”.

De fato, o Roundup já foi descrito como um perturbador endócrino *in vivo* (Dallegrave et al., 2007; Oliveira et al., 2007; Romano et al., 2012, 2010) com o mecanismo subjacente *in vitro*. Vários estudos mostraram efeitos de

⁷ Edílson Paiva, “Avanço da soja transgênica amplia o uso de glifosato”. Valor Econômico, 23 abr. 2007.

⁸ Esse valor é 20 vezes inferior ao LMR de glifosato na soja no Brasil.

perturbações endócrinas do Roundup, tais como uma diminuição significativa da produção de progesterona hCG e uma diminuição dos níveis de produção dos RNAm ligados ao StAR em células de Leydig de camundongos MA-10 (Walsh et al., 2000), uma diminuição significativa na atividade da aromatase e dos níveis de RNAm em células JEG3 e em microsomos placentários e testiculares equinos com Roundup (Richard et al., 2005; Benachour et al., 2007), inibições da atividade transcripcional dos receptores de andrógeno e ambos os estrógenos alfa e beta em células (Gasnier et al., 2009; Thongprakaisang et al., 2013) e diminuição da produção de testosterona em células de Leydig de ratos (Clair et al., 2012).

Preocupada com os efeitos neurológicos de vários agrotóxicos, inclusive aqueles a base de glifosato, Colborn (2006), uma das autoras do livro “O Futuro Roubado”, propôs alterações nas normas ou princípios utilizados para a aprovação de agrotóxicos nos Estados Unidos. Uma nova abordagem para proteger a saúde humana é necessária por causa da incerteza que continuará a existir sobre a segurança dos agrotóxicos. Posteriormente, a Environmental Protection Agency (EPA) incluiu em 2009 o glifosato na reavaliação, em razão das evidências de provocar perturbações endocrinológicas (Federal Register, Vol. 74, No. 71 / Wednesday, April 15, 2009 / Notices).

c) Perturbações metabólicas e endócrinas em estudos de toxicidade com animais

Além dos estudos *in vitro* mencionados acima, existem vários estudos *in vivo* (usando principalmente camundongos e ratos) subcrônicos com plantas tolerantes ao Roundup que mostram efeitos de toxicidade hepato-renal e de perturbação endócrina.

No caso da soja RR, pesquisas de longo prazo observaram uma diminuição das enzimas digestivas (pâncreas), alterações da estrutura celular e da expressão gênica em vários tecidos/órgãos (rins e fígado principalmente) e o aumento da atividade metabólica do fígado (Malatesta et al., 2003, 2002^a e

2002b). Outro estudo observou alteração na estrutura e função dos testículos em ratos que consumiram a soja (Vecchio et al., 2004).

Existem também alguns trabalhos com milho GM tolerante ao glifosato que levantam questões graves em relação a efeitos de perturbação endócrina provavelmente gerados pelo consumo da planta transgênica. Os resultados obtidos nos estudos que focalizam o milho NK603, e em especial aquele de Séralini et al. (2012a), serão analisados em detalhe na Segunda Parte desse documento.

Entretanto, ainda existem dúvidas em relação à interpretação biológica da causa dessas alterações. Com o número reduzido de pesquisas sobre o assunto, aparece complexo ligar os efeitos observados a determinada causa, tais como o Roundup ou o OGM em sim, por exemplo, já que a intoxicação crônica geralmente envolve um conjunto de vias metabólicas e fisiológicas, com potenciais efeitos sinérgicos.

Os diferentes modos de ação dos processos de intoxicação e de perturbação endócrina observados ao consumir plantas transgênicas tolerantes ao Roundup com ou sem resíduos podem ser sintetizados nas hipóteses seguintes:

- Componentes do Roundup, mesmo em concentrações residuais, apresentam atividade citotóxica contra tecidos chaves do organismo, como os rins, o fígado e o baço;

- Componentes do Roundup, mesmo em concentrações residuais, alteram a via metabólica da aromatase, envolvida na síntese dos estrógenos, e interferem com os receptores celulares a estrógenos e andrógenos;

- No caso do NK603, baixo teor de ácidos ferúlico e cafeico na planta GM, devido à alteração de uma via metabólica após transgenia, diminui seus papéis protetores anticancerígenos em mamíferos.

O *review* realizado por Séralini et al. (2011), já mencionado nesse Produto, inclui também os estudos de toxicidade realizados com plantas transgênicas tolerantes aos herbicidas. Num conjunto de 11 estudos analisados (incluindo apenas os eventos estritamente TH), todos relatam diferenças estatisticamente significativas em variáveis bioquímicas e clínicas, entre os ratos controles e os testes. Mais da metade dos autores interpretam essas diferenças como sendo biologicamente significativas, e por isto apontam para riscos e incertezas associados ao consumo das plantas TH comerciais.

A tabela a seguir, adaptada de Séralini et al. (2011), recapitula os estudos crônicos e subcrônicos que visam avaliar o perfil toxicológico das plantas transgênicas TH e que foram publicadas na literatura científica :

Fonte	Planta	Herbicida	Evento	Duração	Observação principal
Malatesta et al, 2002a; 2002b; 2003; 2005; Vecchio et al., 2004	soja	Roundup	RR	240 d	perturbação estrutura histológica
Zhu et al., 2004	soja	Roundup	RR	91 d	problemas de peso
Appenzeller et al., 2008	soja	Roundup	GAT	93 d	diferenças significativas em variáveis fisiológicas e/ou clínicas
Sakamoto et al., 2008	soja	Roundup	?	104 d	diferenças significativas em variáveis fisiológicas e/ou clínicas
Appenzeller et al., 2009	milho	Roundup	GAT	91 d	diferenças significativas em variáveis fisiológicas e/ou clínicas

Hammond et al., 2004; Spiroux et al., 2009	milho	Roundup	NK603	90 d	resultados contraditórios
Séralini et al., 2012	milho	Roundup	NK603	730 d	diferenças significativas em variáveis fisiológicas e clínicas

Segunda Parte:

Riscos associados ao consumo do milho NK603

1) Foco nos trabalhos do Professor Séralini com o milho NK603

a) Quadro experimental do estudo de Séralini et al. (2012a) e principais resultados

1. Caractere único do estudo

Em primeiro lugar, cabe esclarecer que a publicação de Séralini et al. (2012a) se trata do único estudo de toxicologia que analisa os efeitos do consumo de um milho GM tolerante a um herbicida durante período correspondente à vida inteira de um animal modelo (neste caso, o rato). Existem outras pesquisas de longo prazo mas estas usaram animais modelos com tempo de vida bem superiores à dois anos (ex suínos e aves). Portanto, não são comparáveis ao estudo de Seralini et al. (2012a), já que os dados obtidos não podem ser considerados representativos de efeitos crônicos de vida inteira nesses animais. Além disto, os demais estudos disponíveis na literatura científica onde animais foram alimentados com OGM no longo prazo correspondem a avaliações de nutrição, e conseqüentemente não oferecem dados toxicológicos baseados em análises bioquímicas e anatomopatológicas.

A referência sistemática ao artigo de Snell et al. (2012) como “prova” da ausência de impactos para a saúde humana e animal do consumo de plantas transgênicas merece uma análise detalhada. De fato, o artigo menciona que “Seis dos 24 estudos examinados aqui usam um número de animais experimentais apropriado: três estudos de longo prazo (Daleprane et al., 2009a, 2010; Sissener et al., 2009) e três estudos multigeracionais (Brake et

al., 2003; Flachowsky et al., 2007; Haryu et al., 2009)”. Em relação a esses seis estudos, os autores criticam o não uso de linha isogênica como controle em dois deles. Dois outros estudos são assimilados a estudos de nutrição e não de toxicidade, pois consideraram apenas variáveis tais como o ganho de peso e a produção de carne. Nesse contexto, nos 24 estudos selecionados por Snell et al. (2012) em sua revisão de artigos que fornecem informações sobre riscos potenciais do consumo de plantas transgênicas, apenas dois apresentam o conjunto de critérios metodológicos considerado como o mais apropriado para conduzir tais pesquisas. Desses dois estudos, um diz respeito à experimentação usando como animal modelo o salmão, cujos resultados indicam pouco sobre o consumo humano. Nesse sentido, cabe perguntar para os autores de Snell et al. (2012) se é razoável concluir na ausência total de riscos para a saúde humana associados ao consumo de plantas transgênicas no longo prazo quando apenas um estudo publicado no mundo (Haryu et al., 2009) - que testou o milho Bt11 sobre três gerações em ratos - se enquadra nos critérios metodológicos considerados cientificamente apropriados para realizar tais estudos.

Por outro lado, é razoável, como propôs Heinemann (2013), do ponto de vista científico, admitir que nenhum estudo de alimentação de animais com 90 dias pode refutar os resultados encontrados no estudo de longa duração em razão de que os principais efeitos são aqueles que apareceram após 90 dias de ensaio.

Nesse contexto, nenhum estudo científico publicado até hoje pode ser usado como referência pertinente em demonstrar a ausência de riscos do consumo do milho NK603, ou outras plantas transgênicas tolerantes aos herbicidas a base de glifosato.

2. Desenho experimental

O estudo de Séralini et al. (2012a) teve como objetivos principais avaliar o potencial tóxico de um milho geneticamente modificado para tolerar altas

doses de herbicidas a base de glifosato (com e sem a aplicação do herbicida) e do herbicida isoladamente sobre ratos durante um período de tempo correspondente a vida inteira do animal.

Para tanto, os autores usaram 200 ratos de laboratório da raça Sprague-Dawley (100 machos e 100 fêmeas), nos quais foram avaliados mais de 100 parâmetros. 180 animais foram subdivididos em nove grupos testes, onde 1/3 destes foram alimentados com ração que contem milho NK603 em três dosagens (11%, 22% e 33%), 1/3 foram alimentados com milho NK603 tratado com Roundup em três dosagens (11%, 22% e 33%) e 1/3 foram alimentados com milho não modificado geneticamente e água contaminada com Roundup, em três concentrações diferentes (1,1.10E-8%, 0,09% e 0,5%). Além disto, um último grupo, controle composto pelos 20 ratos sobrando, foi alimentado com ração contendo 33% de milho não transgênico, geneticamente próximo ao milho do evento NK603 testado. Em total, foram então monitorados 10 grupos de 20 ratos, cada um com 10 machos e 10 fêmeas, e suas análises bioquímicas, clínicas e anatomopatológicas foram comparadas entre si.

Cabe destacar que o estudo da Monsanto, que embasou a liberação comercial do evento NK603, usou grupos de 40 ratos (20 fêmeas e 20 machos por grupo testado) nas suas análises (Hammond et al., 2004). Entretanto, o estudo do Professor Séralini considerou muito mais variáveis nas suas análises já que testou três dosagens (no lugar de dois), analisou mais órgãos (34 no lugar de 17) e multiplicou por oito o tempo do experimento (2 anos no lugar de 90 dias). É interessante destacar também que as doses mínimas de milho transgênico (a partir de 11%) e de glifosato (0,1 ppb na água) utilizadas na dieta dos animais apresentam um certa representatividade com àquelas a que está exposta a população norte-americana em sua alimentação cotidiana.

3. Principais resultados obtidos

Os principais resultados do estudo dizem respeito à identificação clara de perturbações metabólicas e fisiológicas envolvendo mecanismos hormonais, sexo-dependentes, nos grupos testes onde os animais consumiram o milho GM, com e sem resíduos de Roundup. Nas fêmeas, onde os efeitos de perturbação endócrina foram mais pronunciados, a hipófise foi o segundo órgão mais afetado, após as glândulas mamárias, que desenvolveram a maioria dos tumores observados.

Como já mencionado, tais perturbações sexo-dependentes não são inusitadas e já haviam sido relatadas em artigos anteriores publicados pela equipe do Professor Séralini (Séralini et al., 2007, Séralini et al., 2007b, Spiroux de Vendomois et al., 2009 e 2010). Na ocasião, baseavam-se apenas nos resultados estatísticos obtidos em estudos de toxicidade sub-crônica com ratos (testes de 90 dias) e que apoiaram decisões favoráveis às liberações comerciais de OGMs.

Em paralelo, efeitos citotóxicos foram também observados, onde os processos de necrose e de congestão do fígado foram 2,5 - 5,5 vezes maiores nos machos de determinados grupos testes. Anormalidades ultraestruturais do fígado já foram observadas anteriormente em camundongos alimentados com soja RR (Malatesta et al., 2002b). Essas perturbações foram também observadas em hepatócitos de ratos usando diretamente o herbicida RR (Malatesta et al., 2008) e são, segundo os autores, altamente comparáveis às anomalias observadas em Séralini et al. (2012a), como confirmado por microscopia ótica e eletrônica.

Enfim, as análises bioquímicas revelaram graves perturbações nas funções renais, em ambos os sexos, totalizando 76% dos parâmetros alterados monitorados no estudo.

De fato, a equipe do Professor Séralini introduziu de maneira pertinente os conceitos de perturbações endocrinológicas no campo da avaliação do risco de OGM. No caso de intoxicação por veneno, os efeitos variam linearmente

com a dose (“a dose faz o veneno”). Entretanto, no caso de resposta endócrina, observam-se curvas em U, U invertido ou perfis em J.

Como relatado na recente publicação “*Answers to critics: Why there is a long term toxicity due to NK603 Roundup-tolerant genetically modified maize and to a Roundup herbicide*”, elaborada pela equipe do Professor Séralini (Séralini et al., 2012b) e publicada na mesma revista *Food and Chemical Toxicology*: “A perturbação endócrina é apoiada pela bibliografia científica em células humanas (Gasnier et al., 2009) e em células testiculares de ratos, no que diz respeito aos resíduos de Roundup (Clair et al., 2012), e nesse trabalho está demonstrado pelos desequilíbrios estatísticos dos hormônios sexuais e as deficiências nas glândulas pituitárias. Os rins e o fígado são também sensíveis aos perturbadores endócrinos, sendo os dois principais órgãos de desintoxicação, contendo os citocromos P450 e outras enzimas envolvidas no metabolismo esteroídiano sexo-dependente ou xenobiótico, eles reagem frequentemente aos hormônios sexuais esteroídianos e outros elementos aparentados (Pascussi et al., 2008)”. Os autores observam ainda que “Novos princípios ativos, não esperados, que dizem respeito à toxicidade em células humanas nos herbicidas a base de glifosato, questionam a relevância de testar o Glifosato como principal princípio ativo no Roundup (Mesnage et al., 2012)”⁹.

Desta forma, o artigo de Séralini et al. (2012a) comprova cientificamente o envolvimento de perturbações endocrinológicas nos processos toxicológicos responsáveis pelas anormalidades hepato-renais observadas em ratos alimentados com o milho NK603, com e sem Roundup, provavelmente indutores de cânceres hormônio-dependentes nesses mesmos animais.

b) Principais elementos de polêmica em relação ao estudo

⁹ Confere item 3)b) da Primeira Parte para mais detalhes sobre a toxicidade do glifosato e de outros componente do Roundup.

Como se poderia prever, o estudo científico conduzido pela equipe do Professor Gilles-Eric Seralini, publicado em setembro de 2012, começou rapidamente a sofrer ataques não só da empresa Monsanto, produtora do milho transgênico testado e do Roundup, mas também de cientistas defensores da transgenia.

Críticas fortes e imediatas buscaram desqualificar a pesquisa por completo, com alegações do tipo “o estudo carece de qualquer base científica”, “o estudo não atende as normas mínimas aceitáveis para esse tipo de pesquisa científica”, ou ainda “os dados apresentados não suportam as interpretações do autor”.

Alguns artigos críticos à pesquisa chegaram a ser publicados em revistas científicas (Arjó et al., 2013, por exemplo). Parte significativa desses trabalhos diz respeito à suposta forma “anti-ciência” de midiatização do artigo e falta de ética no tratamento dos animais. O posicionamento imparcial de Arjó et al. (2013), negacionista em relação a potenciais riscos para a saúde dos alimentos transgênicos comerciais, é facilmente percebido a leitura dos questionamentos da própria finalidade do experimento, avançando resultados contraditórios de estudos de 90 dias como prova suficiente da ausência de riscos. Os mesmos questionamentos são feitos em relação ao uso de grupos testes alimentados com resíduos de Roundup, onde os efeitos de citotoxicidade e de perturbação endócrina observados são “totalmente em desacordo com o conjunto de literatura já disponível sobre o glifosato”.

Recorrendo a argumentos pouco relevantes do ponto de vista da biossegurança, focalizados sobre a falta de alguns dados secundários, cabe salientar que artigos como aquele de Arjó et al. (2013) não contribuem ao debate científico relativo aos riscos para a saúde dos transgênicos comerciais. De fato, percebe-se uma tentativa de desqualificação global do estudo, atribuindo as diferenças bioquímicas, clínicas e anatomopatológicas observadas entre os grupos a uma repartição aleatória, biologicamente não significativa. O artigo crítico vai até ignorar todo o raciocínio apresentado por Seralini et al. (2012a) relativo aos mecanismos de perturbação endócrina

subjacentes aos efeitos observados; raciocínio sustentado também por uma ampla literatura científica.

Nesse contexto, vale retomar em detalhes os principais elementos de polêmica que dizem respeito ao estudo de Séralini et al. (2012a) em relação à metodologia seguida, análise estatística e interpretação das observações.

1. Análise crítica diferenciada para os estudos que apontam para riscos associados ao uso de biotecnologias

As plantas transgênicas, patenteadas e dependentes de agrotóxicos, estão cada dia mais presentes na nossa alimentação e no meio ambiente. Entretanto, ainda há numerosas questões de biossegurança sendo debatidas pela comunidade científica e, a sociedade em geral, notadamente em relação aos riscos de consumo de tais plantas, com resíduos ou não de agrotóxicos, no longo prazo e nas suas interações com a biodiversidade, bem como o impacto socioeconômico das Plantas Geneticamente Modificadas-PGM nos sistemas agrários e agrícolas e os direitos dos consumidores e dos agricultores, entre outras (Zanoni & Ferment, 2010). Na realidade, a publicação de estudos que apontam para determinados riscos ou impactos adversos das plantas transgênicas para a saúde ou o meio ambiente sempre resultam em verdadeiras campanhas de descrédito (dos autores e dos referidos estudos).

Basicamente estas campanhas versam sobre aspectos metodológicos secundários e interpretações estatísticas truncadas/orientadas, apontando aspectos ignorados em estudos que apresentam conclusões opostas. Tais reações contra os lançadores de alertas são ilustradas em detalhes no documento intitulado “Séralini e a Ciência: uma carta aberta” publicado pela rede *Independent Science News* em outubro de 2012¹⁰. Essa carta foi assinada por cerca de 100 doutores e professores altamente qualificados, em escala

¹⁰ <http://independentsciencenews.org/health/seralini-and-science-nk603-rat-study-roundup/>

internacional. As pressões e dificuldades de pesquisas sofridas por pesquisadores críticos às plantas transgênicas foram também relatadas em duas revistas científicas de referência (*Nature* e *Nature Biotechnologies*), por Waltz (2009a e 2009b).

No caso da polêmica desencadeada pela publicação do artigo em foco, Séralini et al. (2012b) informam que “75% dos primeiros 27 críticos que se manifestaram numa semana, dentro os quais autores que publicam, são da área da biologia vegetal, alguns desenvolvendo patentes com OGMs, e da empresa Monsanto que possui esses produtos”. Por outro lado, foram raros os especialistas nos campos toxicológicos, endocrinológicos ou ainda estatísticos, a publicar críticas sobre o referido estudo. Frente às tentativas de descrédito ao autor e sua qualificação no campo da toxicologia, vale evidenciar que Séralini et al. (2012b) lembram que a equipe que realizou o estudo publicou “mais de 26 artigos em revistas científicas internacionais revisadas por pares [...] nesses 5 últimos anos, e 11 em jornais toxicológicos no mesmo período, apenas no PubMed”.

Bem no início dessa polêmica, um documento intitulado “Opinião das Academias nacionais de Agricultura, de Medicina, de Farmácia, das Ciências, das Tecnologias, e Veterinária relativa à recente publicação de G.E. Séralini et al. sobre a toxicidade de um OGM” foi rapidamente avançado por parte significativa da mídia como sendo um parecer científico de peso que desqualificava os resultados apresentados no trabalho de Séralini et al. (2012a). Entretanto, vale questionar a validade desse documento, pelo menos de um ponto de vista institucional. Como denunciado na petição “Ciência e Consciência”¹¹, assinada por 140 cientistas franceses, “O fato de um grupo de uma dúzia de pessoas pretendendo representar seis academias científicas tenha decidido redigir um comunicado comum sem debate, é contrário ao funcionamento normal dessas instituições”. É de se perguntar, também, como seis academias, agregando centenas de cientistas acumulando numerosas funções em diversas instituições científicas, conseguem elaborar uma crítica

¹¹ http://www.lemonde.fr/idees/article/2012/11/14/science-et-conscience_1790174_3232.html

consensual a um estudo em apenas um mês. Já, o Professor Paul Deheuvels, único estatístico da Academia de Ciências francesa, manifestou publicamente seu apoio à metodologia estatística utilizada e à confiabilidade dos resultados obtidos em Séralini et al. (2012a).

Por outro lado, a Rede Europeia dos Cientistas para uma Responsabilidade Social e Ambiental, interpelada pelas exigências dos críticos ao trabalho da equipe do Séralini escreveu no seu manifesto: “Se o estudo de Séralini et al. chega a ser considerado como insuficiente para comprovar danos por causa de falhas metodológicas, então todos os estudos previamente submetidos para apoiar aprovações comerciais para o consumo humano e animal na UE devem ser reconsiderados, focalizando suas evidências para a segurança da saúde humana e animal, e devem ser analisados conforme o mesmo nível de rigor do que aplicado para tais estudos que mostram efeitos adversos. Do mesmo modo, um pedido para disponibilizar todos os dados brutos de Séralini et al. deve obviamente ser associado à liberação geral de todos os dados - e crucialmente também os materiais biológicos necessários – de todas as empresas requerentes. Avaliações do risco assimétricas são claramente inaceitáveis e não combinam com os padrões elementares do processo científico nem tampouco com os padrões básicos de interesse público e nem com o princípio da precaução” (ENSSER, 2012).

Enfim, vale salientar que o estudo de Séralini et al. (2012a) vem sendo apoiado por mais de 350 cartas de cientistas internacionais¹², dentro dos quais alguns se pronunciam a respeito da validade da metodologia usada na pesquisa.

2. Protocolo experimental conforme ao padrão internacional

¹² Cartas de apoio disponíveis no site do CRIIGEN, em http://www.criigen.org/SiteFr/index.php?option=com_content&task=view&id=403&Itemid=129.

Frente às críticas emitidas sobre aspectos metodológicos, tendo como objetivo desqualificar o estudo de Séralini et al. (2012a) e seus principais resultados, é relevante detalhar os itens seguintes:

Escolha da raça de ratos Sprague-Dawley

Aparentemente a maior crítica apresentada à pesquisa do Professor Séralini diz respeito a uma suposta escolha errada da raça dos animais experimentais. Obviamente que os autores do estudo em foco estavam cientes desta característica envolvendo aqueles animais, já apontada na literatura científica, embora os autores não a tenham considerado determinante para o estudo de toxicidade que se propunham a realizar.

O uso de tal raça em estudos de longo prazo é comum, tal como lembrado pelo European Network of Scientists for Social and Environmental Responsibility, em carta de apoio ao estudo de Séralini et al. (2012a) (ENSSER, 2012):

“1. O Programa Nacional de Toxicologia, conduzido pelo Departamento de Saúde e dos Serviços Humanos dos EUA usa essa raça nos seus estudos de dois anos, de forma corriqueira, e até aqui sem gerar contestações;

2. Uma busca preliminar da literatura publicada em jornais revisados por pares mostra que os ratos Sprague-Dawley foram usados em estudos:

- de 36 meses por Voss et al. (2005);

- de 24 meses por Hack et al. (1995), Klimisch et al. (1997), Minardi et al. (2002), Soffritti et al. (2006) e Gaméz et al. (2007);

- de 18 meses por Lee et al. (2010); e

- de 12 meses por Perry et al. (1981), Conti et al. (1988), Morcos & Camilo (2001), Flamm et al. (2003) e Gutiérrez et al. (2011).”

Como ressaltado pelo ENSSER, quatro desses estudos foram publicados na revista *Food and Chemical Toxicology*.

Heinemann (2013) encontrou sete estudos entre 2004 e 2012, todos publicados na revista *Food and Chemical Toxicology*, nos quais ratos da raça Sprague–Dawley foram alimentados com materiais de plantas GM. Segundo este autor, todos estes artigos foram publicados pelas empresas que desenvolveram plantas GM usadas no estudo de Séralini et al. (2012a). Um dos artigos foi da Monsanto e, os outros, da DuPont/Pioneer. Nenhum dos estudos se estendeu além de aproximadamente 90 dias.

Séralini et al. (2012a) informam ainda que “Todos os tratamentos em ambos os sexos aumentaram a incidência de tumores 2-3 vezes superior em comparação aos nossos controles, mas também um maior número de tumores de mama em comparação à mesma raça Harlan Sprague Dawley (Brix et al., 2005), e cerca de 3 vezes mais tumores do que observado no maior estudo com 1329 animais fêmeas da raça Sprague Dawley (Chandra et al., 1992)”.

Cabe ressaltar que o fato da raça Sprague Dawley ter hipersensibilidade ao desenvolvimento de tumores a coloca como modelo pertinente para alguns tipos de estudos biológicos.

Obviamente, maior cuidado deve ser dado à interpretação dos dados obtidos a partir dos 500 dias de vida dos animais, período de entrada em estados fisiológicos instáveis ou degenerativos, tais como a menopausa ou a senilidade. Entretanto, como destacado pelos autores do estudo em foco, “Os primeiros grandes tumores ocorreram nos 4º e 7º meses do estudo¹³, respectivamente nos machos e nas fêmeas”, o que não representa um período propício ao desenvolvimento de tumores “naturais” nessa raça.

Número de animais usados

Séralini et al. (2012a) usaram 10 indivíduos por grupo e por sexo, em conformidade com o protocolo OCDE 408 referente aos estudos de toxicidade em ratos. Cabe lembrar que esse número de animais por grupo foi aceito pelas autoridades mundiais de avaliação do risco, embora de forma não unânime entre cientistas, em estudo apresentado pela empresa requerente referente ao

¹³ Ou seja, aproximativamente 120-210 dias de vida.

pedido de liberação comercial do milho Mon863 (Hammond et al., 2006b), por exemplo. É também o número de animais mais usado na avaliação toxicológica do consumo de OGMs em geral.

De fato, um protocolo experimental desenhado com esse número de animais conduz a limitações estatísticas, em especial em relação à potência estatística do experimento. Essa constatação é plenamente conhecida pela equipe do Professor Séralini, que até publicou um artigo científico criticando as limitações desta amostragem já que praticamente impedem a identificação de efeitos estatisticamente significativos (Spiroux de Vendômois et al., 2009). Entretanto, Séralini et al. (2012a) justificam a adoção dessa potência estatística baixa no âmbito de obter maior aceitação do estudo, seguindo uma metodologia que já se mostrou aceita pelos proponentes da tecnologia e pelas agências de avaliação do risco de OGM.

Por outro lado, é importante ressaltar que os autores comparam grupos de 10 ratos testes com grupos de 10 ratos controles, o que valida o uso dos termos “fold” e “times” na análise comparativa da frequência de ocorrência de tumores entre os grupos.

Metodologia estatística

O Professor Séralini e os membros da sua equipe não usaram metodologias estatísticas convencionais já que as consideravam inadequadas para análise biológica de riscos associados ao consumo de plantas transgênicas. De fato, publicaram vários artigos em revistas científicas alertando para os limites - em termo de segurança biológica - de tais análises (Séralini et al., 2009; Spiroux de Vendômois et al., 2010 e Spiroux de Vendômois et al., 2009) sem, entretanto, receber críticas ou contestações por parte da comunidade de estatísticos.

Heinemann (2013) constatou ainda que não há outra evidência revisada pelos pares (*peer-reviewed*) que estes procedimentos estatísticos usados nestes estudos são tanto unicamente apropriados ou validados para ser usado

neste tipo de estudo. Neste sentido, o autor considera que a análise estatística usada no estudo de Seralini et al. (2012a) é igualmente válida.

No caso do Mon863, por exemplo, percebe-se que a liberação comercial na Europa e em outros locais se apoiou em testes de 90 dias para toxicidade crônica em ratos, seguindo também o protocolo OCDE 408. No conjunto dos 58 parâmetros medidos pela empresa requerente (Hammond et al., 2006b), todos que apresentaram alterações dizem respeito ao funcionamento dos rins ou do fígado, os dois principais órgãos de desintoxicação do corpo. Os autores do estudo consideram que a variação desses parâmetros não seria biologicamente significativa, já que apresentava graus distintos, para animais de sexos distintos.

De fato, os machos e fêmeas do grupo teste (em comparação aos do grupo controle) tiveram reações diferentes ao alimentarem-se da ração contendo o milho transgênico: as fêmeas apresentam aumentos dos triglicerídios no sangue (podendo chegar até 40%), do tamanho do fígado e da glicemia, contrariamente aos machos. Por outro lado, os machos apresentam diminuição do tamanho dos rins e das excreções urinárias de fósforo e de sódio (em cerca de 30% em alguns casos), contrariamente às fêmeas.

Tais resultados apresentados apenas na forma de médias em cada grupo, sem diferenciar machos de fêmeas (como é comum nos estudos apresentados pelas empresas requerentes), mascaram sinais de perturbações endócrinas (que por definição seriam distintas entre cada sexo), potencialmente relacionadas a outros sinais de toxicidade. Complementando a análise estatística de Hammond et al. (2006b) com o uso de ferramentas estatísticas convencionais (teste t de Student, corrigido por Welch ou teste de Mann-Whitney), Seralini et al. (2007a) constataram além das perturbações metabólicas sexo-dependentes do fígado e dos rins nos animais testes, diferenças estatísticas nos pesos dos animais. De fato, houve um ganho de peso de 3,7% nas fêmeas e uma perda de peso de 3,3% nos machos. Esse dado, de relevante significância metabólica, foi ignorado na análise estatística

de Hammond et al (2006b), único estudo de toxicidade subcrônica realizado com o milho Mon863.

Destaque-se que a liberação comercial do milho NK603 se embasou no artigo de Hammond et al. (2004) – estudo de toxicidade de 13 semanas com ratos – onde cerca de 70 diferenças estatísticas significativas foram observadas e relatadas pela empresa requerente: 12 relativas aos parâmetros hematólogicos (hematócrito, plaquetas, neutrófilos, linfócitos, monócitos, volume corpuscular médio, concentração corpuscular média de hemoglobina), 18 relativas aos parâmetros químicos clínicos (albumina, nitrogênio ureico do sangue, creatinina, fósforo, sódio, cloreto, fosfatase alcalina, cálcio, potássio), 9 relativas aos parâmetros químicos urinários (creatinina, fósforo, potássio, creatinina, pH, cálcio), 6 relativas ao peso dos órgãos (coração, cérebro, fígado), 14 nos pesos corporais e modificação de peso e 8 relativas ao consumo alimentar dos animais.

Surpreendentemente, aqueles autores concluíram que “...ratos alimentados com milho contendo o evento NK603 responderam de modo similar aos ratos alimentados com o milho parental e o controle”, e que “... o milho Roundup Ready NK603 é equivalente às variedades de milhos comerciais da linha parental controle e não transgênica...”.

Os autores do estudo, Hammond et al. (2004), realizam estas afirmações com base no fato de que o número observado de diferenças estatisticamente significativas é da mesma ordem que poderia ser atribuída ao acaso. Com base nisto, concluíram que diferenças estatisticamente significativas, observadas, ocorreram aleatoriamente e por isso, não são relevantes e não podem ser consideradas como biologicamente significativas. Cientificamente esta interpretação não está baseada em prova sólida da ausência de relações biológicas. Consequentemente, não permite desprezar diferenças significativas, particularmente tendo em vista a relevância biológica de tais diferenças para a saúde de mamíferos.

De fato, Séralini et al. (2007b) e Spiroux de Vendômois et al. (2009), já haviam ressaltado fragilidades da metodologia estatística adotada no estudo de alimentação de Hammond et al. (2004) (uso de ANOVA com um só fator ao

invés de ANOVA com dois ou mais fatores ou ainda análise multivariada (exemplo: Análise de Componentes Principais -PCA, Data Mining ou Manova). Argumentavam, nestes dois artigos, pela necessidade de uma interpretação biológica distinta para aqueles mesmos resultados estatísticos. Referiam para tanto a necessidade de utilização de conhecimentos científicos atualizados, principalmente endocrinológicos, e solicitavam reavaliação por histopatologistas das diferenças estatísticas observadas. Paralelamente, também recomendavam a recondução dos mesmos estudos por um período maior, com uso de grupos selecionados objetivando avaliar os dois principais fatores de risco ligados ao consumo do milho NK603, quais sejam: as modificações no genoma da planta e o acúmulo de herbicidas a base de glifosato, nas partes comestíveis do milho.

Nesse contexto, é pertinente avocar que Séralini et al. (2012a) usaram ferramentas estatísticas mais adequadas às análises dos dados bioquímicos de sangue e de urina obtidos nos grupos controle e testes ao longo da experimentação, comparativamente aos demais estudos. O método usado por Séralini et al. (2012a), OPLS-DA, é de fato adaptado ao tratamento de um grande número de variáveis, como é o caso de estudos em genômica e proteômica. Essas estatísticas permitem determinar variáveis discriminantes entre cada grupo tratado e o grupo controle. Cabe ressaltar que o uso de tal metodologia estatística é justificado quando se utiliza centenas de variáveis, como no caso no estudo de Séralini et al. (2012a) (50 parâmetros medidos 11 vezes em 200 ratos).

É importante destacar também o uso de três dosagens por grupo testado, contra duas apenas no estudo de Hammond et al. (2004) que avaliou o mesmo evento transgênico, o que melhora a fiabilidade do estudo em relação a possíveis correlações entre a dose e o efeito observado. Além de ser exigido pelo protocolo OCDE 408, é razoável considerar, de um ponto de vista científico, que o uso de duas dosagens por grupo testado não permite caracterizar com segurança as potenciais relações doses-efeito que ocorrem num experimento. De fato, é impossível obter uma curva (relacionando

observações bioquímicas e dose do xenobiótico avaliado, por exemplo) com apenas duas medidas. Observa-se, de passagem, que o estudo que embasou a liberação comercial do milho NK603 não respeitou esse item do protocolo internacional.

Enfim, cabe esclarecer que como o estudo de Séralini et al. (2012a) não objetivava (como foco principal) avaliar propriedades cancerígenas e de perturbadores endócrinos contidos no milho testado, não necessitaria desenvolver uma metodologia estatística para atender estas finalidades. Entretanto, a observação de alta quantidade de tumores nos grupos testes, com indícios de relações causais com as alterações bioquímicas e falhas fisiológicas observadas nesses mesmos animais, não poderia ser ignorada e justifica a inclusão da taxa de mortalidade por tumores na interpretação global do estudo. A ausência de metodologia estatística que permitiria verificar se as diferenças nas taxas de mortalidade dos animais são estatisticamente significativas não representa um motivo científico para desconsiderar os resultados qualitativos do estudo, considerando suas relevâncias no domínio da saúde pública. Neste sentido, Heinemann (2013) sugere que as comunidades científica e regulatória se engajem na validação das análises estatísticas, se ainda restam questões contenciosas.

2) Análise do risco do milho NK603 no caso Brasil

a) Um processo de liberação comercial contestado

O milho NK603 - geneticamente modificado para tolerar altas doses de glifosato - foi liberado comercialmente no Brasil no ano de 2008 apesar de vários pareceres contrários e críticas de membros da própria CTNBio. A maioria dos pontos críticos apontava para deficiências relacionadas à ausência

de provas científicas sustentando a hipótese de inocuidade para o meio ambiente e a saúde pública. O teor do dossiê apresentado também não cumpriu vários itens estabelecidos na legislação em vigor referente à avaliação do risco de plantas transgênicas (RN5). De maneira geral, no dossiê apresentado pela empresa requerente à CTNBio:

- não haviam dados científicos sólidos que permitissem comprovar a equivalência entre a proteína usada nos testes de toxicidade/alergenicidade (produzida em *E. coli*) e a proteína realmente produzida pelo milho NK603;
- o perfil proteômico do milho NK603, além da síntese da proteína recombinante CP4EPSPS, apresentou também a síntese de uma nova proteína EPSPS L214P que não foi avaliada corretamente (do ponto de vista da biossegurança);
- boa parte dos estudos apresentados no dossiê se apoia em proteínas sintetizadas em micro-organismos, que não carregam a totalidade das informações relativas ao conjunto de interações associadas às proteínas incorporadas no milho NK603 (portanto, não permitem sustentar as conclusões pretendidas pelo proponente da tecnologia, que são relativas às proteínas sintetizadas pelo milho);
- não houve comprovação estatística da “equivalência substancial” entre esse evento e seu isogênico não transgênico.

Além disto, no que diz respeito aos riscos para a saúde humana e animal, é necessário considerar que:

- o potencial alergênico em mamíferos do milho NK603 (cultivado com uso de produto formulado a base de glifosato nas doses recomendadas) não foi suficientemente qualificado nem quantificado;
- não constam no dossiê enviado pela empresa proponente à CTNBio as informações que dizem respeito aos possíveis efeitos deletérios deste OGM sobre animais em fase de gestação ou prenhes, e seu potencial

teratogênico¹⁴;

- os estudos de toxicidade realizados em ratos alimentados com milho NK603 (inclusive Hammond et al., 2004) mostraram diferenças estatisticamente significativas em relação a parâmetros de bioquímica clínica do sistema renal, e também em relação ao peso do fígado.

Por esses motivos, a que se somam outras fragilidades associadas à biossegurança ambiental (exemplo: a escassa - quase nula - informação sobre a reação das diferentes comunidades faunísticas e florísticas à cultura do milho NK603, nos diferentes ecossistemas contidos nos vários biomas nacionais), o milho NK603 recebeu dois pareceres contrários à sua liberação comercial. Além disto, sofreu votos contrários dos representantes do Ministério do Desenvolvimento Agrário, do Ministério da Saúde e dos representantes do meio ambiente e da saúde para a sociedade civil.

b) Rejeição dos pedidos de reavaliação do milho NK603 pela CTNBio

Após a publicação do artigo de Seralini et al. (2012a), várias entidades da sociedade civil solicitaram aos poderes públicos a reavaliação do milho NK603, para qual novas evidências científicas apontavam riscos para a saúde associados a seu consumo.

No Brasil, o Fórum Nacional de Entidades Cíveis de Defesa do Consumidor emitiu o requerimento que, baseado nesse estudo que demonstrou forte incidência de tumores causados pelo consumo do milho NK603, demandou da comissão a reavaliação da decisão que liberou o cultivo comercial dessa varie-

¹⁴ Os itens 4 e 6 do Anexo III da RN5 foram simplesmente desconsiderados pela maioria do colegiado, que aprovou a liberação comercial do milho NK603, contrariando as próprias regras estabelecidas pela CTNBio nessa resolução, podendo-se assim assinalar que essa autorização não observou os parâmetros mínimos dos estudos requeridos para a liberação comercial de OGM.

dade no país e também a suspensão do plantio de todas as sementes contendo esse evento de modificação genética¹⁵. Pelos votos de 14 contra 4 a CTNBio rejeitou tanto a reavaliação, quanto a suspensão do cultivo comercial dessa variedade.

Em paralelo, a Presidência da CTNBio encaminhou ao Ministério das Relações Exteriores (MRE) em outubro de 2012 um documento contendo uma análise crítica do estudo de Séralini et al. (2012a), respondendo a um pedido desse Ministério em busca de informações relativas aos riscos para a saúde associados ao consumo do milho NK603. Essa análise, elaborada por quatro cientistas (dos quais dois são membros da CTNBio), desqualifica a pesquisa em relação à escolha da raça de animais modelos, ao número de ratos usados e à metodologia estatística utilizada. Na contramão dos argumentos avançados na nova pesquisa, esse documento conclui pela ausência de riscos associados ao consumo do milho NK603, reforçando o posicionamento da CTNBio que diz respeito a aprovação do pedido de liberação comercial desse evento no ano de 2008. Quatro integrantes da Comissão votaram contra esse documento, registrando que, desde a escolha dos relatores, o documento deixou de contemplar as visões contraditórias existentes no órgão.

Cabe salientar que cenários idênticos aconteceram em vários países do mundo, onde agências regulatórias que haviam liberadas comercialmente o evento NK603 alguns anos atrás tiveram que opinar sobre o referido estudo. De fato, nenhuma dessas agências aceitou as interpretações do autor referentes às diferenças observadas entre os grupos testes e controles, minimizando o conhecimento recentemente adquirido sobre o conceito de perturbações endócrinas.

Frente à polêmica crescente e às ataques públicos feitos por uma minoria da comunidade científica, o Professor Séralini e sua equipe elaboraram

¹⁵ Requerimento de reavaliação do milho modificado geneticamente NK603 e de suspensão da liberação comercial deste evento, e demais pirâmidos que possuam esta tecnologia em sua formulação, até que resultados de pesquisas independentes confirmem sua segurança alimentar e nutricional. Curitiba, 17 de outubro de 2012. Disponível em http://aspta.org.br/wp-content/uploads/2012/10/OficioNK603_envio.pdf.

um novo artigo intitulado “*Answers to critics: Why there is a long term toxicity due to NK603 Roundup-tolerant genetically modified maize and to a Roundup herbicide*”, também publicado na revista *Food and Chemical Toxicology*, em novembro de 2012. Nesse texto, todas as críticas relevantes encaminhadas pela Presidência da CTNBio ao MRE, que casualmente reproduziam opiniões da Monsanto, entre outras, foram devidamente rebatidas (Séralini et al., 2012b).

Em paralelo, 15 membros e ex-membros da CTNBio elaboraram um documento que compila estudos em apoio à interpretação das observações realizadas no estudo de Séralini et al. (2012a), validando ao mesmo tempo a metodologia usada e contestando as críticas a ele apresentadas. Ali estão também pontuados níveis distintos de exigência de rigor científico em função das conclusões dos artigos, o que falsa todo o processo de avaliação do risco. Nesse sentido, os autores fornecem uma fundamentação científica que sustenta a necessidade de reavaliação do milho NK603, baseando-se notadamente sobre as novas informações obtidas por Séralini et al. (2012a). Concluíram que “a análise estatística dos dados bioquímicos e biológicos é suficiente para dar suporte ao que se denomina de situação de risco. Mais do que isso, dá suporte às conclusões e ao título do artigo, corroborando as observações realizadas em clínica, anatomopatológica e microscopia ótica e eletrônica”.

Segundo os autores da carta, o estudo de Séralini et al. (2012a) levanta questões científicas pertinentes sobre a toxicidade crônica de um determinado milho transgênico, o NK603, testado *in vivo* durante dois anos, de forma isolada ou associado ao herbicida a que é tolerante, o Roundup.

Além dos dados toxicológicos fornecidos sobre o consumo de milho NK603 no longo prazo, com e sem o herbicida associado, o artigo de Séralini et al. (2012a) pauta questionamentos que dizem respeito à biossegurança e avaliação do risco das plantas transgênicas, tais como:

- reações diferentes foram observadas nos ratos alimentados com milho transgênico associado ou não ao uso do herbicida, o que mostra a necessidade de incluir obrigatoriamente o uso do herbicida, ou outros produtos casados ao

OGM, nos grupos testes alimentados com a planta transgênica a ser avaliada. Cabe lembrar que estudos científicos demonstraram que o metabolismo de degradação dos herbicidas é diferente nas plantas tolerantes ao herbicida-TH comparado às plantas convencionais (Muller et al., 2001, por exemplo), representando então riscos específicos. Por outro lado, a necessidade de aumentar o limite máximo de resíduo (LMR) para a liberação de novo evento tolerante à herbicida (já existem os casos da soja RR e do milho RR) representa também um argumento a favor da inclusão de critérios e exigências adicionais na RN5 referentes à quantificação desse aumento antes da liberação comercial do evento, de forma a incluir esse dado na avaliação do risco;

- o estudo em tela inclui pela primeira vez no campo da avaliação do risco de transgênicos a ciência da endocrinologia, análise de efeitos no sistema hormonal, que apresenta várias peculiaridades que desafiam o conhecimento conservacionista da ciência. Ora, todos os estudos de toxicidade realizados têm uma abordagem do risco baseada numa relação linear entre a dose e a toxicidade;

- constatação de que os tumores aparecem aos 4 meses em ratos machos e aos 7 em fêmeas reforça a necessidade de se aplicar estudos de longo prazo, caso a caso. Neste contexto o estudo de Séralini et al. (2012a), atende de fato os itens 4 e 6 do Anexo III da RN5, que não foram atendidos pelos proponentes da tecnologia NK603. A propósito, no Brasil estes itens jamais foram atendidos pelos proponentes de diferentes tecnologias, nem exigidos pela maioria dos membros da CTNBio, desde a publicação da normativa, em 2008. Nesse sentido, é válido lembrar que a Agência nacional francesa de segurança sanitária da alimentação, do meio ambiente e do trabalho (Anses), na sua carta de 19 de outubro de 2012, referente ao trabalho de Séralini et al. (2012a), conclui pela necessidade de “elaborar pesquisas com o objetivo de descrever os efeitos potenciais sobre a saúde associados ao consumo de longo prazo de OGM ou à exposição às formulações fitofarmacêuticas”. Recomenda ainda que “Essas pesquisas deverão focalizar notadamente a questão de exposição aos OGM e aos resíduos

fitofarmacêuticos associados”, e que “Esses estudos deveriam ser conduzidos no âmbito de financiamentos públicos e na base de protocolos experimentais detalhados que permitem responder às questões colocadas (efeitos pesquisados, parâmetros monitorados, metodologia de investigação, número e natureza dos animais monitorados, complexidade do OGM, natureza das exposições...)” (Anses, 2012).

- observação do fato da alimentação com o milho NK603 (sem Roundup) provocar alterações bioquímicas e falhas fisiológicas nos ratos testes demonstra mais uma vez que a Equivalência Substancial não possui base e robustez científicas capazes de sustentar tomadas de decisão neste campo.

Nesse sentido, os autores da carta solicitaram à plenária da CTNBio a reavaliação do evento NK603 no âmbito da sua segurança para a saúde humana e animal nos termos seguintes:

“O avanço no conhecimento científico obtido pelo estudo de Séralini et al. (2012a) merece atenção e respeito das comunidades científica e regulatória, no âmbito doméstico e internacional e, no caso brasileiro, a implementação do princípio da precaução, que emerge do texto constitucional de 1988 – já que incumbe ao Poder Público “controlar a produção, a comercialização e o emprego de técnicas, métodos e substâncias que comportem risco para a vida, a qualidade de vida e o meio ambiente” (art. 225, § 1º, V) – e é consagrado como diretriz da Lei de Biossegurança (art. 1º da Lei 11.105/2005). A relevância dos problemas e da negação dos riscos envolvidos exige, ao contrário da postura tomada, de forma sistemática e reiterada, testes adicionais do milho NK603 e de outras plantas transgênicas com tecnologia similar, sendo recomendável desde reavaliações até acompanhamento do uso de produtos na alimentação humana e para animais”.

Apesar disto, a CTNBio manteve sua posição oficial e rejeitou por 14 votos contra 4 o pedido de reavaliação dos integrantes da Comissão autores da carta acima detalhada. O argumento da existência de um “histórico de uso seguro” foi evocado no debate como forma de demonstrar a segurança dos

transgênicos que há mais de uma década estão no mercado. A recusa a se repetir um estudo corrigindo suas falhas metodológicas indica a prevalência de um sentimento de crença que suplanta o próprio método científico, bem como um desejo de apoio à tecnologia que acaba por dispensar a oportunidade trazida pelos novos dados para se entender melhor o assunto.

Por fim, é interessante anotar que, durante o debate relativo aos trabalhos de Séralini et al. (2012a e 2012b), o presidente do CNPq e representante do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação na CTNBio anunciou que está sendo preparado um edital para financiamento de pesquisas em biossegurança, destacando a importância de se realizar tais estudos, mas ele próprio votou contra os pedidos de reavaliação do milho NK603.

Conclusão

No conjunto dos estudos de toxicidade de longo prazo realizados com mamíferos e disponíveis na literatura científica (19 no total em 2010), um terço apresenta diferenças estatísticas significativas entre os grupos controles e testes (os autores desses estudos, embora sem base científica evidente, consideram essas diferenças como biologicamente não significativas), um terço tem seus resultados sujeitos a controvérsia na literatura publicada e um terço aponta problemas metabólicos e/ou fisiológicos nos grupos testes (Séralini et al., 2011).

Além disto, o recente artigo de Séralini et al. (2012a) aponta riscos *a priori* descartados pela maioria das agências de avaliação de risco do mundo (alguns eventos transgênicos foram liberados comercialmente sem nenhum estudo sub-crônico *in vivo*), e mantém o debate aberto no que diz respeito a falta de consenso científico referente à segurança alimentar das plantas transgênicas, que perdura desde mais de duas décadas.

No que diz respeito especificamente ao milho NK603, que também não passou por testes de segurança alimentar tão profundos como aqueles realizados pela equipe do Professor Séralini, pode-se afirmar que o referido estudo proporcionou avanços no conhecimento científico, que são novos e relevantes para a biossegurança de OGMs, que devem ser incluídos no campo da avaliação de risco deste e de outros eventos, além de contribuir em termos de metodologia a serem empregadas pelos proponentes de plantas transgênicas no atendimento as normas de biossegurança.

Desconsiderando a nova opinião da EFSA a respeito da suposta ausência de riscos para a saúde humana associados ao consumo do evento NK603, que minimizou os resultados encontrados por Séralini et al. (2012a), a UE publicou um edital de valor de 3 milhões de euros que tem como objetivo conduzir uma pesquisa sobre efeitos carcinogênicos desse milho transgênico.

No caso do Brasil, o conjunto de críticas a aspectos metodológicos do estudo de Séralini et al. (2012a) ressalta as lacunas e fraquezas científicas com as quais foram liberadas as plantas transgênicas no País, já que nenhuma delas passou por experimentos tão rigorosos quanto aqueles exigidos hoje por estes críticos que, em boa parte, fazem ou fizeram parte da CTNBio.

De fato, cabe reconhecer que todos os estudos que embasaram as liberações comerciais das plantas transgênicas, no Brasil e no mundo¹⁶, apresentam deficiências científicas (notadamente referentes à duração do experimento, à representatividade do material testado, à escolha das hipóteses a serem testadas, às variáveis analisadas, aos procedimentos estatísticos e ao poder dos testes, à consideração de um coeficiente de variação aceitável, entre outras) que trazem alterações nas possibilidades de interpretações, limitando consideravelmente seus graus de confiabilidade. Numa revisão recente da produção científica brasileira no campo da saúde pública sobre os organismos geneticamente modificados, Camara et al. (2009) apontaram também o escasso número de estudos realizados, no Brasil, relacionados as possíveis situações de risco dos OGMs à saúde humana.

A luz dessa análise, acompanhada de argumentos e ampla revisão bibliográfica, fica evidente a quantidade limitada de informações que a comunidade científica realmente possui para acessar, interpretar e se posicionar sobre os efeitos em longo prazo do consumo de plantas transgênicas.

Entretanto, o conjunto de estudos disponível sobre o assunto tende a apontar convergência de elementos científicos que associam o consumo de

16

Como vimos ao longo desse relatório, três dos milhos transgênicos mais plantados no planeta (Mon810, Mon863 e NK603) foram decretados como seguro para a saúde humana e animal pelos órgãos reguladores na base de estudos financiados pelas empresas de biotecnologia bem menos rigorosos e profundos (Hammond et al., 2006; 2006b e 2004 por exemplo) do que o estudo de Séralini et al (2012a).

determinadas plantas transgênicas a sinais de intoxicações crônicas em órgãos-chaves e a perturbações endócrinas, principalmente estrogênicas. A participação dos herbicidas Roundup nos processos toxicológicos associados ao consumo de plantas transgênicas tolerantes ao glifosato representa um elemento central na avaliação do risco para a saúde dessas plantas GM, o que deve continuar tendo a atenção das comunidades científica e regulatória.

Referências bibliográficas

Anses, 2012. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'analyse de l'étude de Séralini *et al.* (2012) « Long term toxicity of a ROUNDUP herbicide and a ROUNDUP-tolerant genetically modified maize », Maison-Alfort, 19 octobre 2012. Saisine n° 2012-SA-0227.

Antoniou, M., Habib, M.E.M., Howard, C.V., Jennings, R.C., Leifert, C., Nodari, R.O., Robinson, C.J., Fagan, J., 2012. Teratogenic effects of glyphosate-based herbicides: divergence of regulatory decisions from scientific evidence. *J. Environ. Anal. Toxicol.* S4:006.

Appenzeller LM, Munley SM, Hoban D, Sykes GP, Malley LA, Delaney B: Subchronic feeding study of grain from herbicide-tolerant maize DPO98140- 6 in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 2009, 47:2269-2280.

Appenzeller LM, Munley SM, Hoban D, Sykes GP, Malley LA, Delaney B: Subchronic feeding study of herbicide-tolerant soybean DP-356043-5 in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 2008, 46:2201-2213.

Arjó, G., M. Portero, C. Piñol, J. Viñas, X. Matias-Guiu, T. Capell, A. Bartholomaeus, W. Parrott and P. Christou, 2013. Plurality of opinion, scientific discourse and pseudoscience: an in depth analysis of the Séralini *et al.* study claiming that Roundup™ Ready corn or the herbicide Roundup™ cause cancer in rats *Transgenic Research, Journ. Transgenic Research*, pp.1-13 (9).

Aris A & Leblanc S, 2011. Maternal and fetal exposure to pesticides associated to genetically modified foods in Eastern Townships of Quebec, Canada. *Reprod. Toxicol.*

Benachour, N., Sipahutar, H., Moslemi, S., Gasnier, C., Travert, C., Seralini, G.E., 2007. Time- and dose-dependent effects of roundup on human embryonic and placental cells. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 53, 126–133.

Benachour, N. & Séralini, G.E., 2009. Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells. *Chem. Res. Toxicol.* 22, 97–105.

Bernstein JA, Bernstein IL, Bucchini L, *et al.* Clinical and laboratory investigation of allergy to genetically modified foods. *Environ Health Perspect.* Jun 2003; 111(8): 1114-1121.

Bernstein IL, Bernstein, J.A. , Miller, M., Tierzieva, S., Bernstein, D.I., Lummus, Z. Selgrade, M.K., Doerfler, D.L., and Seligy, V.L. Immune responses in farm workers after exposure to *Bacillus thuringiensis* pesticides. *Environmental Health Perspectives*. July 1999; 107(7): 575–582.

Brix, A.E., Nyska, A., Haseman, J.K., Sells, D.M., Jokinen, M.P., Walker, N.J., 2005. Incidences of selected lesions in control female Harlan Sprague-Dawley rats from two-year studies performed by the National Toxicology Program. *Toxicol. Pathol.* 33, 477–483.

Camara, M.C. et al., 2009. Transgênicos: avaliação da possível (in)segurança alimentar através da produção científica. *História, Ciências, Saúde – Manguinhos*, Rio de Janeiro, v.16, n.3, jul.-set. 2009, p.669-681.

Carman, J.A., Vlieger, H.R., Ver Steeg, L.J., Sneller, V.E., Robinson, G.W., Clinch-Jones, C.A., Haynes, J.I., Edwards, J.W. 2013. A long-term toxicology study on pigs fed a combined genetically modified (GM) soy and GM maize diet. *Journal of Organic Systems* 8 (1): 38-54.

Chandra, M., Riley, M.G., Johnson, D.E., 1992. Spontaneous neoplasms in aged Sprague-Dawley rats. *Arch. Toxicol.* 66, 496–502.

Chowdhury, E.H., Kuribara, H., Hino, A., Sultana, P., Mikami, O., Shimada, N., Guruge, K.S., Saito, M. & Nakajima, Y. (2003). Detection of corn intrinsic and recombinant DNA fragments and Cry1Ab protein in the gastrointestinal contents of pigs fed genetically modified corn Bt11. *Journal of Animal Science*, 81:2546-2551.

Clair, E., Mesnage, R., Travert, C., Seralini, G.E., 2012. A glyphosate-based herbicide induces necrosis and apoptosis in mature rat testicular cells in vitro, and testosterone decrease at lower levels. *Toxicol. In Vitro* 26 (2), 269–279.

Colborn, T. A case for revisiting the safety of pesticides: a closer look at Neurodevelopment. *Environ Health Perspect* 114(1): doi:10.1289/ehp.7940. 2006.

Collonnier et al., 2003. Characterization of commercial GMO inserts: a source of useful material to study genome fluidity. Poster apresentado no 7a symposium do ICPMB (International Congress of Plant Molecular Biology), junho 2003.

Collonnier, C., Schattner, A., Berthier, G., Boyer, F., Coue-Philippe, G., Diolez, A., Duplan, M.N., Fernandez, S., Kebdani, N., Kobilinsky, A., Romantiuk, M., De Beuckeleer, M., De Loose, M., Windels, P. & Bertheau, Y. 2005. Characterization and event specific-detection by quantitative real-time PCR of T25 maize insert. *Journal AOAC International*, vol. 88, no. 2, p. 536-546.

Conti B, C Maltoni, G Perino, A Ciliberti (1988) Long-term carcinogenicity bioassays on styrene administered by inhalation, ingestion and injection and styrene oxide administered by ingestion in Sprague-Dawley rats, and para-methylstyrene administered by ingestion in Sprague-Dawley rats and Swiss mice. *Annals of the New York Academy of Sciences* 534: 203-34.

Cox, C., Surgan, M., 2006. Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health. *Environ. Health Perspect.* 114, 1803–1806.

Dallegrave, E., Mantese, F.D., Oliveira, R.T., Andrade, A.J., Dalsenter, P.R., Langeloh, A., 2007. Pre- and postnatal toxicity of the commercial glyphosate formulation in Wistar rats. *Arch. Toxicol.* 81, 665–673.

Diels, J., M. Cunha, C. Manaia, B. Sabugosa-Madeira, M. Silva. 2011. Association of financial or professional conflict of interest to research outcomes on health risks or nutritional assessment studies of genetically modified products. *Food Policy* 36:197–203.

Domingo JL. Health risks of GM foods: many opinions but few data. *Science* 2000;288:1748–9.

Domingo JL. Toxicity studies of genetically modified plants: a review of the published literature. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2007;47:721–33.

Domingo JL, Bordonaba JG. A literature review on the safety assessment of genetically modified plants. *Environ Int.* Feb 4 2011; 37: 734–742.

Dona A, Arvanitoyannis IS. Health risks of genetically modified foods. *Crit Rev Food Sci. Nutr.* 2009; 49 : 164–75.

ENCODE Project Consortium, 2012. An integrated encyclopedia of DNA elements in the humane genome. *Nature*, Vol 489, 57-74.

ENSSER, 2012. ENSSER Statement on Séralini et al. (2012) publication and reactions evoked: Questionable Biosafety of GMOs, Double Standards and, Once Again, a "Shooting-the-Messenger" Style Debate. *European Network of Scientists for Social and Environmental Responsibility*, 8p. 2012.

Flamm W G, G L Blackburn, C P Comer, D A Mayhew, W W Stargel (2003) Long-term food consumption and body weight changes in neotame safety studies are consistent with the allometric relationship observed for other sweeteners and during dietary restrictions. *Regulatory and Toxicological Pharmacology* 38(2): 144-56.

Finamore, A et al. 2008. Intestinal and Peripheral Immune Response to MON810 Maize Ingestion in Weaning and Old Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

Gámez, R, M Noa, R Mas, N Mendoza, B Pardo, R Menéndez, Y Pérez, R M González, A Gutiérrez, G Marrero, E Goicochea, H García, D Curveco (2007) Long-term carcinogenicity of D-003, a mixture of high molecular weight acids from sugarcane wax, in Sprague Dawley rats: A 24 months study. *Food and Chemical Toxicology* 45 (12): 2352-58.

Gasnier, C., Dumont, C., Benachour, N., Clair, E., Chagnon, M.C., Seralini, G.E., 2009. Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. *Toxicology* 262, 184–191.

Guimaraes V, Drumare MF, Lereclus D, et al. In vitro digestion of Cry1Ab proteins and analysis of the impact on their immunoreactivity. *J Agric Food Chem*. Mar 10 2010; 58(5): 3222-3231.

Gutiérrez A, R Gámez, M Noa, R Mas, D Arencibia, B Pardo, M Valle, A Oyarzábal, D Curveco, H García, E Goicochea, N Mendoza, S Jiménez S (2011) One year oral Toxicity of D-004, a lipid extract from *Roystonea regia* fruits, in Sprague Dawley rats. *Food and Chemical Toxicology* 49 (11): 2855-61.

Hack R, E Ebert, K H Leist (1995) Chronic toxicity and carcinogenicity studies with the insecticide endosulfan in rats and mice. *Food and Chemical Toxicology* 33 (11): 941-50.

Halfmann, R. & Lindquist, S. 2010. Epigenetics in the extreme: prions and the inheritance of environmentally acquired traits. *Science*. 2010 Oct 29; 330(6004): 629-32.

Hammond, B., Lemen, J., Dudek, R., Ward, D., Jiang, C., Nemeth, M., Burns, J., 2006b. Results of a 90 day safety assurance study with rats fed grain from corn rootworm-protected corn. *Food Chem. Toxicol.* 44, 147–160.

Hammond BG, Dudek R, Lemen JK, Nemeth MA, 2006a. Results of a 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn borer-protected corn. *Food Chem Toxicol* 2006, 44:1092-1099.

Hammond, B., Dudek, R., Lemen, J., Nemeth, M., 2004. Results of a 13 week safety assurance study with rats fed grain from glyphosate tolerant corn. *Food Chem. Toxicol.* 42, 1003–1014.

Haryu, Y., Y. Taguchi, E. Itakura, O. Mikami, K. Miura, T. Saeki, Y. Nakajima, Y. 2009. Longterm biosafety assessment of a genetically modified (GM) plant: the genetically modified (GM) insect-resistant Bt11 corn does not affect the

performance of multi-generations or life span of mice. *Open Plant Sci. J.* 3:49–53.

Heinemann, J. 2013. Food and chemical toxicology. *Food and Chemical Toxicology* 53 (2013) 442.

Jiao Z, Si XX, Li GK, Zhang ZM, Xu XP. 2010. Unintended compositional changes in transgenic rice seeds (*Oryza sativa* L.) studied by spectral and chromatographic analysis coupled with chemometrics methods. *J Agric Food Chem.* 2010 Feb 10;58(3):1746-54.

Klimisch H J, K Deckardt, C Gemhardt, B Hildebrand, K Küttler, F J Roe (1997) Long-term inhalation toxicity of N-vinylpyrrolidone-2 vapours. *Studies in rats. Food and Chemical Toxicology* 35 (10-11): 1041-60.

Latham, J.R., Allison, W.K., Steinbrecher, R.A. 2006. The Mutational Consequences of Plant Transformation. *Journal of Biomedicine and Biotechnology.* Volume 2006 (2006), Article ID 25376, 7 pages. doi:10.1155/JBB/2006/25376.

Lee H J, Y M Gimm, H D Choi, N Kim, S H Kim, Y S Lee (2010) Chronic exposure of Sprague-Dawley rats to 20 kHz triangular magnetic fields. *International Journal of Radiation Biology* 86 (5): 384 – 9.

Lutz B, Wiedemann S, Einspanier R, Mayer J, Albrecht C. 2005. Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize in the bovine gastrointestinal tract. *J Agric Food Chem.* 2005 ; 53:1453–1456.

Malatesta, M., Perdoni, F., Santin, G., Battistelli, S., Muller, S., Biggiogera, M., 2008. Hepatoma tissue culture (HTC) cells as a model for investigating the effects of low concentrations of herbicide on cell structure and function. *Toxicol. In Vitro* 22, 1853–1860.

Malatesta M, Tiberi C, Baldelli B, Battistelli S, Manuali E, Biggiogera M: Reversibility of hepatocyte nuclear modifications in mice fed on genetically modified soybean. *Eur J Histochem* 2005, 49:237-242.

Malatesta M, Biggiogera M, Manuali E, Rocchi MB, Baldelli B, Gazzanelli G: Fine structural analyses of pancreatic acinar cell nuclei from mice fed on genetically modified soybean. *Eur J Histochem* 2003, 47:385-388.

Malatesta M, Caporaloni C, Rossi L, Battistelli S, Rocchi MB, Tonucci F, Gazzanelli G, 2002a. Ultrastructural analysis of pancreatic acinar cells from mice fed on genetically modified soybean. *J Anat* 2002, 201:409-415.

- Malatesta, M., Caporaloni, C., Gavaudan, S., Rocchi, M.B., Serafini, S., Tiberi, C., Gazzanelli, G., 2002b. Ultrastructural morphometrical and immunocytochemical analyses of hepatocyte nuclei from mice fed on genetically modified soybean. *Cell Struct. Funct.* 27, 173–180.
- Marc, J., Mulner-Lorillon, O., Boulben, S., Hureau, D., Durand, G., Bellé, R., 2002. Pesticide roundup provokes cell division dysfunction at the level of CDK1/Cyclin B activation. *Chem. Res. Toxicol.* 15, 326–331.
- Mesnage, R., Clair, E., Séralini, G.-E., 2010. Roundup in Genetically modified crops: Regulation and toxicity in mammals. *Theorie in der Ökologie* 16, 31–33.
- Mesnage R, Clair E, Gress S, Then C, Székács A, Séralini G-E. 2012a. Cytotoxicity on human cells of Cry1Ab and Cry1Ac Bt insecticidal toxins alone or with a glyphosate-based herbicide. *Journal of Applied Toxicology*. 15 Feb 2012.
- Mesnage, R., Bernay, B., Seralini, G.E., 2012b. Ethoxylated adjuvants of glyphosate-based herbicides are active principles of human cell toxicity. *Toxicology* 21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2012.09.006>.
- Millstone E, Brunner E, Mayer S. 1999. Beyond “substantial equivalence”. *Nature*. 1999; 401(6753): 525–526.
- Minardi F, F Belpoggi, M Soffritti, A Ciliberti, M Lauriola, E Cattin, C Maltoni (2002) Results of longterm carcinogenicity bioassay on vinyl acetate monomer in Sprague-Dawley rats. *Annals of the New York Academy of Sciences* 982: 106-22.
- Monosson, E., 2005. Chemical mixtures: considering the evolution of toxicology and chemical assessment. *Environ. Health Perspect.* 113, 383–390.
- Morcos NC, K Camilo (2001) Acute and chronic toxicity study of fish oil and garlic combination. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research* 71(5): 306-12.
- Muller, B.P. et al. 2001. Metabolism of the herbicide glufosinate-ammonium in plant cell cultures of transgenic (rhizomania-resistant) and non-transgenic sugarbeet (*Beta vulgaris*), carrot (*Daucus carota*), Purple foxglove (*Digitalis purpurea*) and thorn apple (*Datura stramonium*). *Pest. Manag. Sci.*, 57, 46-56.
- NEAD/MDA, 2009. Posicionamento do NEAD em relação à Consulta Pública nº 56, de 28 de julho de 2009. Brasília, 29 de setembro de 2009. 8p.

Oliveira, A.G., Telles, L.F., Hess, R.A., Mahecha, G.A., Oliveira, C.A., 2007. Effects of the herbicide Roundup on the epididymal region of drakes *Anas platyrhynchos*. *Reprod. Toxicol.* 23, 182–191.

Pascussi, J.M., Gerbal-Chaloin, S., Duret, C., Daujat-Chavanieu, M., Vilarem, M.J., Maurel, P., 2008. The tangle of nuclear receptors that controls xenobiotic metabolism and transport: crosstalk and consequences. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 48, 1–32.

Paul V, Guertler P, Wiedemann S, Meyer HH. Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize (MON810) in relation to total dietary feed proteins in dairy cow digestion. *Transgenic Res.* Aug 2010; 19(4): 683-689.

Perri G C, A Nunziata, A Argentino-Storino, R O Salerno, P Mercatelli (1981) Long term toxicity and carcinogenicity of a new protein source in rats. *Toxicological European Research* 3(6): 305-10.

Richard, S., Moslemi, S., Sipahutar, H., Benachour, N., Seralini, G.E., 2005. Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase. *Environ. Health Perspect.* 113, 716–720.

Riesemberg, A. & Silva, M. 2010. Crônica de uma contaminação anunciada. In: Fernandes et al. (2010). Op. Cit.

Romano, M.A., Romano, R.M., Santos, L.D., Wisniewski, P., Campos, D.A., de Souza, P.B., Viau, P., Bernardi, M.M., Nunes, M.T., de Oliveira, C.A., 2012. Glyphosate impairs male offspring reproductive development by disrupting gonadotropin expression. *Arch. Toxicol.* 86 (4), 663–673.

Romano, R.M., Romano, M.A., Bernardi, M.M., Furtado, P.V., Oliveira, C.A., 2010. Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology. *Arch. Toxicol.* 84 (4), 309–317.

Sakamoto Y, Tada Y, Fukumori N, Tayama K, Ando H, Takahashi H, Kubo Y, Nagasawa A, Yano N, Yuzawa K, Ogata A: A 104-week feeding study of genetically modified soybeans in f344 rats. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 2008, 49:272-282.

Sawada, Y., Nagai, Y., Ueyama, M. and Yamamoto, I. 1988. Probable toxicity of surface active agent in commercial herbicide containing glyphosate. *Lancet* 1 (8580):229.

Saxena, D. & Stotzky, G. 2001. Bt corn has a higher lignin content than non-Bt corn. *Am J Bot.* 2001 Sep; 88(9):1704-6.

Séralini GE, Cellier D, Spiroux J, 2007a. New analysis of a rat feeding study with a genetically modified maize reveals signs of hepatorenal toxicity. *Arch Environ Contam Toxicol* 2007, 52:596-602.

Séralini, G.E., Cellier, D. & Spiroux de Vandomois, J. 2007b. Report on NK603 GM maize produced by Monsanto company. Controversial effects on health reported after subchronic toxicity test: 90-day study feeding rats. Committee for Independent Research and Information on Genetic Engineering. June 2007.

Séralini, G.E., Spiroux de Vandomois, J., Cellier, D., Sultan, C., Buiatti, M., Gallagher, L., Antoniou, M., Dronamraju, K.R., 2009. How subchronic and chronic health effects can be neglected for GMOs, pesticides or chemicals. *Int. J. Biol. Sci.* 5, 438–443.

Séralini et al. 2011. Genetically modified crops safety assessments: present limits and possible improvements. *Environmental Sciences Europe* 2011 23:10.

Séralini, G.E., Clair, E., Mesnage, R., Gress, S., Defarge, N., Malatesta, M., Hennequin, D., de Vandomois, J.S., 2012. Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Food Chem. Toxicol.* 50, 4221– 4231.

Séralini et al. 2012b. Answers to critics: Why there is a long term toxicity due to NK603 Roundup-tolerant genetically modified maize and to a Roundup herbicide. *Food and Chemical Toxicology*. On line.

Shukla VK, Doyon Y, Miller JC, et al. 2009. Precise genome modification in the crop species *Zea mays* using zinc-finger nucleases. *NATURE*. 21 May 2009; 459(7245): 437-441.

Snell, C., Bernheim, A., Bergé, J.-B., Kuntz, M., Pascal, G., Paris, A., Ricroch, A.E., 2011. Assessment of the health impact of GM plant diets in long-term and multigenerational animal feeding trials: a literature review. *Food Chem. Toxicol.* 50, 1134–1148.

Soffritti M, F Belpoggi, D Degli Esposti, L Lambertini (2006) Results of a long-term carcinogenicity bioassay on Sprague-Dawley rats exposed to sodium arsenite administered in drinking water. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1076: 578-91

Spiroux de Vendômois, J., Cellier, D., Velot, C., Clair, E., Mesnage, R., Seralini, G.E., 2010. Debate on GMOs health risks after statistical findings in regulatory tests. *Int. J. Biol. Sci.* 6, 590–598.

Spiroux de Vendômois, J., Roullier, F., Cellier, D., Seralini, G.E., 2009. A comparison of the effects of three GM corn varieties on mammalian health. *Int. J. Biol. Sci.* 5, 706–726.

Thongprakaisang, S., Thiantanawat, A., Rangkadilok, N., Suriyo, T., Satayavivad, J., 2013. Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors, *Food and Chemical Toxicology* (2013), doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.05.057>.

Tsui, M. & Chu, L. 2003. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere* 52(7):1189-97.

Vázquez RI, Moreno-Fierros L, Neri-Bazan L, De La Riva GA, Lopez-Revilla R. *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protoxin is a potent systemic and mucosal adjuvant. *Scand J Immunol.* Jun 1999; 49(6): 578-584.

Vázquez-Padrón RI, Moreno-Fierros L, Neri-Bazan L, de la Riva GA, Lopez-Revilla R. Intra-gastric and intraperitoneal administration of Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* induces systemic and mucosal antibody responses in mice. *Life Sci.* 1999; 64(21): 1897-1912.

Vázquez-Padrón RI, Moreno-Fierros L, Neri-Bazan L, Martínez-Gil AF, de-la-Riva GA, Lopez-Revilla R. Characterization of the mucosal and systemic immune response induced by Cry1Ac protein from *Bacillus thuringiensis* HD 73 in mice. *Braz J Med Biol Res.* Feb 2000; 33(2): 147-155.

Vecchio L, Cisterna B, Malatesta M, Martin TE, Biggiogera M: Ultrastructural analysis of testes from mice fed on genetically modified soybean. *Eur J Histochem* 2004, 48:448-454.

Voss C, H Zerban, P Bannasch, M R Berger (2005) Lifelong exposure to di-(2-ethylhexyl)-phthalate induces tumors in liver and testes of Sprague-Dawley rats. *Toxicology* 206(3): 359-71.

Walsh, L.P., McCormick, C., Martin, C., Stocco, D.M., 2000. Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environ. Health Perspect.* 108, 769–776.

Waltz, E. 2009a. Battlefield. *Nature* 461: 27-32.

Waltz, E. 2009b. Under Wraps. *Nature Biotechnology* 27(10): 880-882.

Zanoni, M. & Ferment, G. Transgênicos para quem? *Agricultura, Ciência e Sociedade*. Brasília: MDA. 538 p., Série NEAD Debate 24. 2011.

Zdunczyk Z. 2001. In vivo experiments on the safety evaluation of GM components of feeds and foods. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 2001; 10(Supplement 1): 195-210.

Zhu Y, Li D, Wang F, Yin J, Jin H: Nutritional assessment and fate of DNA of soybean meal from roundup ready or conventional soybeans using rats. *Arch Anim Nutr* 2004, 58:295-310.

Zolla, L., Rinalducci, S., Antonioli, P. & Righetti, P.G. 2008. Proteomics as a Complementary Tool for Identifying Unintended Side Effects Occurring in Transgenic Maize Seeds As a Result of Genetic Modifications. *Journal of Proteome Research*, 7, 1850-1861.