



## Studie: Biological effects of transgenic maize NK603 x MON810 fed in long term reproduction studies in mice

Die im Auftrag des BMLFUW und des BMGFJ erstellte Studie mit dem Titel "Biological effects of transgenic maize NK603 x MON810 fed in long term reproduction studies in mice" ist unter der Projektleitung von Herrn Univ. Prof. Dr. Jürgen Zentek (Vet. Med. Wien) von den Autorinnen Frau Dr. Alberta Velimirov (FiBL) und Frau Dr. Claudia Binter (Vet. med. Wien) verfasst worden.

### Ziel der Untersuchung

Das Ziel der Untersuchung war die Überprüfung von möglichen Effekten der gentechnisch veränderten Maissorte NK603 x MON810 auf Reproduktionsparameter in Fütterungsversuchen bei Mäusen. Ein Kurzzeitfütterungsversuch mit Hühnern zeigte keine nachteiligen Effekte. Fütterungsstudien mit Nagern sind nicht durchgeführt worden. Beide Elternlinien des untersuchten stacked event Produkts sind als sicher eingestuft worden.

Toxikologische Risiken gentechnisch veränderter Pflanzen werden derzeit mittels 90-Tage Fütterungsversuchen mit Nagern bewertet. Eine 90-Tage Studie wird als ausreichend eingestuft, um nachteilige Effekte zu erfassen. Es stellt sich aber die Frage, inwieweit länger dauernde Multigenerationenversuche in diesem Zusammenhang sinnvoll sein können. Reproduktion und Laktation sowie Wachstum und Überlebensrate der Nachkommen stellen sensible Parameter dar. Weiters werden fast alle derzeit vermarkteten gentechnisch veränderten Pflanzen für landwirtschaftliche Nutztiere eingesetzt, die Reproduktionsleistungen erbringen müssen. Daher erschien es notwendig, den Einfluss der Futtermittel auf die Zucht detailliert zu untersuchen.

Die vorliegende Studie untersucht einen stacked event in einem Multigenerationenversuch mit den Schwerpunkten Reproduktion und Jungtierentwicklung bei Mäusen. Zusätzlich wurden mikroskopische Untersuchungen von Darm und Organen (Histologie, Elektronenmikroskopie und Immunhistochemie) und in Darmgewebe Microarrayanalysen durchgeführt, um mögliche Effekte des transgenen Mais weitergehend zu untersuchen.

### Methoden

In diesem Projekt wurden für die Evaluierung des stacked events NK603 x MON810 zwei Versuchsdesigns angewendet, um die Eignung verschiedener Ansätze für die Risikoforschung zu beleuchten und zu vergleichen. Das erste Versuchsdesign war eine Multigenerationenstudie (MGS) mit vier Mäusegenerationen. Das zweite Versuchsdesign war die Methode der fortlaufenden Zucht (Reproductive Assessment by Continuous Breeding; RACB) mit vier Würfen. Untersuchte phänotypische Parameter waren die Gewichtsentwicklung der Eltern und Nachkommen sowie Wurfgröße und Überlebensrate bis zum Absetztermin.

In der Multigenerationenstudie wurden neben der phänotypischen Erfassung der Leistungen ergänzende Untersuchungen durchgeführt. Diese umfassten die Erhebung der Organgewichte sowie histologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen. Der Fokus lag dabei auf dem Darm im Sinne eines Grenzflächenorgans zwischen Nahrung und Tier. Immunhistochemische Methoden wurden für die Untersuchung von Lymphozytenpopulationen im Dünndarm angewendet und Genexpressionsprofile des Jejunums wurden mittels Microarrayanalysen und anschließender q-RT-PCR erstellt. Eine Lebensdauerstudie stellte den dritten Versuchsansatz dar, um mögliche Einflüsse der untersuchten Maisvarianten zu erfassen.

Für alle Versuchsdesigns wurden Mäuse eines Auszuchtstamms (OF 1) verwendet. Die Verwendung eines Auszuchtstamms bedingt eine tierexperimentelle Basis mit relativ heterogenen Mausgenotypen. Als Alternative hätte ein Inzuchtstamm verwendet werden können, der möglicherweise den Vorteil einheitlicherer Ergebnisse gehabt hätte. Nachteil dieses Ansatzes sind nicht vorhersehbare unterschiedliche Sensitivitäten des jeweiligen Testkollektivs, die das Risiko einer gerichteten, positiven

oder negativen Beeinflussung der Ergebnisse erhöht hätte.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen einige Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen an, die zum Teil statistisch abzusichern waren. Das Methodenspektrum war so gewählt, dass eine Erfassung potentieller Interaktionen zwischen den verfütterten Maisvarianten und dem Organismus möglich war. Die gewählten Methoden sollten in zukünftigen Studien weiter evaluiert werden, um deren Sensitivität und die Variabilität in Abhängigkeit von Fütterungsbedingungen, Mausstämmen oder anderen Tierarten zu überprüfen. Die Einbeziehung anderer Ernährungstypen (omnivor, herbivor, karnivor) wäre sinnvoll. Maisvarianten der Fütterungsstudien

Für die MGS wurden drei Fütterungsgruppen verwendet. Die drei entsprechenden Diäten enthielten entweder 33% NK603 x MON810 (GM Gruppe), eine isogene Maislinie (ISO Gruppe) - beide angebaut unter kontrollierten Bedingungen in Kanada - und Mais aus Österreich (A REF Gruppe). Die Diät mit österreichischem Mais wurde auf Grund einer leichten Verunreinigung der aus Kanada bezogenen isogenen Maisvariante eingeführt. Der Mais für die MGS und den Lebensdauerversuch wurde 2005 geerntet. Für den RACB Versuch wurden nur die beiden kanadischen Testsorten (GM und ISO) aus einer Ernte von 2007 verwendet. Alle Maissorten waren weitgehend substanziiell äquivalent. Die Diäten wurden in Schrotform, nicht pelletiert und nicht thermisch behandelt angeboten, um mögliche Veränderungen der Futterkomponenten durch die Einwirkung von Druck und Hitze, wie es beim Pelletieren der Fall ist, zu vermeiden. Eine Temperatursensitivität der Deltaendotoxine ist nach Literaturangaben vorhanden.

#### Reproduktion und Leistung - MGS

Die MGS zeigte über 4 Generationen keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen GM und ISO. Die Anzahl abgesetzter Junge, die durchschnittliche Wurfgröße und das durchschnittliche Wurfgewicht waren im Vergleich zur ISO Gruppe in der GM Gruppe geringfügig niedriger, während der Verlust an Jungen in dieser Gruppe etwas höher war. Diese Unterschiede waren konsistent in den Generationen, aber nicht auf einem signifikanten Niveau.

Tierindividuelle Reaktionen sind nicht auszuschließen, da nicht alle Mäuse durch die GM Diät beeinträchtigt waren und vermutlich eine hohe genetische Variation zwischen den Mäusen bestand. Die Einflüsse auf Wurfgröße und -masse wurden in der vierten Generation deutlicher. Im Hinblick auf die Produktion erbrachte die ISO Gruppe eine 20% höhere Gesamtleistung als die GM Gruppe, was auf das Zusammentreffen mehrerer Faktoren zurückzuführen war. Die ISO Gruppe hatte mehr abgesetzte Junge, 9% mehr Weibchen mit Würfen und ein geringfügig höheres Durchschnittsgewicht bei den abgesetzten Würfen.

Die zusätzliche A REF Gruppe übertraf die beiden anderen Gruppen sowohl bezüglich der Weibchen mit Würfen und dementsprechend höheren Anzahl angesetzter Junge als auch einer 35% höheren Gesamtproduktionsleistung verglichen mit der GM Gruppe.

Während der vier Generationen wurde kein Einfluss auf die Gesundheit beobachtet. Die Futteraufnahme, die Fruchtbarkeitsrate sowie die Anzahl an Jungen und deren Gewichtszunahme zeigten keine statistisch signifikanten Unterschiede.

#### Reproduktion und Leistung - RACB

Die ersten Würfe in dem RACB Versuch zeigten keine Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen. Während des zweiten Wurfes konnte eine geringfügige Veränderung zu kleineren Würfen und niedrigeren durchschnittlichen Wurfgewichten in der GM Gruppe beobachtet werden. Die Ergebnisse des dritten und vierten Wurfes ergaben deutlichere Unterschiede ( $p < 0,05$ ). Neben der Abnahme an Würfen pro Gruppe (im vierten Wurf nahe der Signifikanzgrenze,  $p = 0,055$ ), wurden in der GM Gruppe bei den dritten und vierten Würfen weniger Welpen geboren und bei den vierten Würfen auch weniger Jungtiere abgesetzt. Die durchschnittlichen Wurfgewichte waren in der ISO Gruppe in den dritten Würfen bei Geburt und Absetzen abgesichert höher, bei den vierten Würfen bei der Geburt. Im Unterschied zu der MGS war der Verlust an Jungtieren in der ISO Gruppe gegenüber der GM Gruppe höher.

Diese Ergebnisse unterstützen die Annahme, dass Langzeitfütterungsversuche für die Erfassung von ernährungsbedingten Effekten geeignet sind. Entsprechend unserer Ergebnisse war das RACB Versuchsdesign offenbar sensitiver als das MGS Design und zeigte abzusichernde Unterschiede. Die unterschiedlichen Reproduktionsdaten im RACB Versuch können nicht plausibel durch unterschiedliche Nährstoffaufnahmen erklärt werden, da beide Diäten den Energie- und Nährstoffbedarf der Tiere abdeckten und den Anforderungen an Äquivalenz sehr weitgehend entsprachen.

Eine geringere Reproduktionsleistung kann als Indikator für diätetische Effekte angesehen werden. Es ist

nicht auszuschließen, dass diese Effekte auf Einflussfaktoren außerhalb der Nährstoffversorgung beruhen. Ob diese Beobachtung auf die genetische Modifikation oder auf einen unbeabsichtigten Effekt des geprüften Produkts zurückzuführen ist, sollte in künftigen Arbeiten untersucht werden. Die genomischen Untersuchungen des Darmgewebes der Mäuse beider Gruppen können die Ursache der Veränderungen in den Reproduktionsparametern nicht erklären. Aber die große Zahl an deregulierten Genen, die als Unterschied zwischen den beiden Gruppen identifiziert wurden, könnte auf eine komplexe Interaktion von Nahrungsfaktoren mit dem Organismus hindeuten. Diese Analysen wären zu erweitern und sollten auf andere Körpersysteme, besonders solche mit Relevanz für die Reproduktion, ausgedehnt werden. Bis heute gibt es nach unserem Wissen keine solchen Untersuchungen im Zusammenhang mit gentechnisch verändertem Mais.

Der direkte Vergleich der Ergebnisse des RACB Versuches mit denen des MGS legt die Hypothese nahe, dass die physiologische Stressbelastung in der MGS im Vergleich zum RACB erheblich geringer war. Das Versuchsdesign, bei welchem für jede Generation „neue“ Eltern aus den Nachkommen der vorherigen Generation herangezogen werden anstatt dieselben Eltern in mehreren konsekutiven Phasen zu verwenden, ist offensichtlich für den Organismus weniger fordernd und belastend. Diese Tatsache könnte den Futtereinfluss auf die Reproduktion in der MGS maskiert haben. Das MGS Design stellt trotzdem einen wichtigen Beitrag in der Diskussion um die Bewertung von genetisch modifizierten Futtermitteln dar, da es die Notwendigkeit der vergleichenden Prüfung verschiedener Versuchsdesigns bei der Beurteilung von unbekanntem Diätfaktoren verdeutlicht.

#### Reproduktion und Leistung in anderen Untersuchungen

Es ist festzustellen, dass trotz der langjährigen Anwendung von Bt Mais seit 1996 und vieler kontroversieller Sicherheitsdiskussionen, die teilweise ohne wissenschaftlich belegte Aussagen geführt werden, bisher kaum Multigenerationenstudien zu möglichen Effekten von Deltaendotoxinen bei Nagern durchgeführt wurden. Brake et al. (2004) verwendeten Hoden von Mäusen für die Evaluierung potenziell Ernährungseffekte von Bt Mais. Weder die Art des Endotoxins noch die Futterzubereitung wurden explizit dargestellt. Diese Informationen sind für den Vergleich verschiedener Studien von grundlegender Bedeutung. Bei Hitzeanwendung, z. B. beim Pelletieren, besteht die Gefahr der Denaturierung von Proteinen. Es ist daher nicht auszuschließen, dass Ergebnisse anders ausfallen als bei Rohprodukten. In der zitierten Studie wurden verschiedene Mauszüchtlinien verwendet und gekreuzt. Für einen Kurzzeitversuch wurden fünf Wochen alte Mäuse über einen Zeitraum von drei Wochen mit kommerziellem Mischfutter ernährt. Erst zur Paarungszeit wurde die Testdiät verabreicht. Für die Langzeitstudie mit vier Generationen wurden nach dem Zufallsprinzip 16 Weibchen und Männchen (jeweils zwei Tiere je Geschlechts und Zuchtlinie / Testdiät) ausgewählt und bereits vor der Paarung mit der Testdiät gefüttert. Für die Produktion der zweiten und dritten Generation wurden für jede Zuchtlinie und Diät jeweils sechs Weibchen mit drei Männchen gepaart. In dieser Studie wurden keine Unterschiede in der Spermatogenese gefunden. Signifikante Unterschiede, die während der Spermatogenese auftraten, wurden auf das differierende Alter der Tiere zurückgeführt. Die innerhalb von 24 Stunden geborenen Nachkommen waren als gleichaltrig eingestuft worden. Die Autoren erwähnen auch Wurfgrößen und -gewichte. In der vierten Generation am 26. Tag waren die Tiere der GM Gruppe signifikant schwerer ( $p = 0,001$ ), während am 63. Tag das Ergebnis umgekehrt war ( $p = 0,005$ ). Allerdings wurden jeweils nur drei Tiere für die Gewichtsbestimmung herangezogen. Die Wurfgrößen waren ähnlich, so dass die Bt Diät keine negativen Einflüsse auf die Reproduktion hatte. Diese Ergebnisse können mit der hier präsentierten Untersuchung nicht direkt verglichen werden, da sich Inzuchtlinien durch kleinere Würfe und geringere Körpermassezunahmen auszeichnen und auch die Futtervarianten unterschiedlich waren.

Eine weitere Studie mit Laborratten und Bt Mais wurde über drei Generationen durchgeführt. Abgesehen von histopathologischen Unterschieden in Leber und Niere wurden keine Effekte gefunden, auch nicht in der Reproduktionsleistung (Kilic und Akay 2008). Die Anzahl an Nachkommen war in dieser Generationenstudie sehr niedrig, 3-4 Junge pro Weibchen, während 10-12 Junge pro Weibchen bei dieser Zuchtlinie (Wistar Albino Ratten) normalerweise hätten erwartet werden können.

Publizierte Kurzzeitfütterungsversuche mit genetisch modifiziertem Mais an Nutztieren zeigten keine negativen Einflüsse der Bt Produkte (z.B. Aumaitre 2002; Flachowsky et al. 2005). Die Anzahl der Fütterungsversuche mit Nagern ist zu gering und inkonsistente Ergebnisse erschweren eine allgemeine Schlussfolgerung über mögliche Effekte der Testfutter (Hammond et al. 2006).

Die Sicherheitsbewertung von NK603 x MON810 beruht auf den Ergebnissen einer Fütterungsstudie mit

Hühnern und einer 90-Tagesstudie mit Laborratten mit den Elternlinien der stacked event Maissorte sowie einer Untersuchung mit dem kombinierten Mais an Hühnern, die von den Antragsstellern durchgeführt wurden. Das GMO Panel der EFSA betrachtet es daher als unwahrscheinlich, dass NK603 x MON810 negative Effekte auf die Gesundheit von Mensch und Tier haben wird (Opinion of GMO Panel 2005). In der hier präsentierten Studie können die Ergebnisse der Kurzzeitversuche bestätigt werden, so weit es die Gewichtsentwicklung der Elterntiere betrifft, da die Gewichtsunterschiede sehr gering und inkonsistent waren. Mögliche chronische Effekte sind schwerer erfassbar, vermutlich erlauben reproduzierende Tiere eine genauere Erfassung. Langfristige Gesundheitseffekte erscheinen unter dem Aspekt einer Belastung des homöostatischen Systems von Interesse, da Gesundheit auch durch die Fähigkeit, mit Herausforderungen wie z.B. Infektionen oder Stress erfolgreich umzugehen und diese zu bewältigen, definiert wird. In der vorliegenden Studie wurde diesem Aspekt in Langzeitversuchen zur Reproduktion Rechnung getragen, wobei mehrere reproduzierende Generationen (MGS) bzw. mehrere Würfe einer Elterngeneration (RACB) eingeschlossen waren.

Das RACB Versuchsdesign wird bei der Sicherheitsbewertung von xenobiotischen Substanzen wie Pestiziden angewendet und wurde nach unserem Wissen nie zur Überprüfung von GM Produkten benützt. Da toxikologische Untersuchungen zur Bestimmung des LD50 Wertes für Cry1Ab bis zu einer Menge von 4000mg/kg keine dosisabhängigen Effekte (Todesfälle) ergaben, wurden in den USA von der zuständigen Behörde (Environmental Protection Agency) die Deltaendotoxine sowie alle Pflanzen, die solche exprimieren, von der Notwendigkeit einer Grenzwertbestimmung ausgenommen (EPA 2001). Mit den Toxinen wurden allerdings keine Mehrgenerationstudien durchgeführt, um mögliche chronische Effekte auszuschließen. In dem vorliegenden RACB Versuch wurden Maiskörner und nicht das isolierte Endotoxin als Testprodukt gewählt. Die Interpretation solcher Versuche ist naturgemäß schwierig, da nicht ein Einzelstoff in verschiedenen Konzentrationen untersucht werden kann, sondern die Effekte des Testprodukts insgesamt erfasst werden. Im Sinne der Verwendung als Futtermittel werden dadurch aber realistische Bedingungen reflektiert. Weitere Studien mit genetisch modifiziertem und mit isogenem Mais, der mit einer äquivalenten Menge an Deltaendotoxin versetzt wurde, könnten für die Differenzierung von möglichen Effekten der genetischen Modifikation bzw. der Toxine hilfreich sein.

Organgewichte sowie mikroskopische Untersuchungen (Histologie, Immunhistochemie und ultrastrukturelle Untersuchungen)

Als mögliche Indikatoren für diätetische Effekte wurden die Organgewichte erhoben. Leber und Niere werden als mögliche Indikatoren angesehen, da sie für die Metabolisierung und Ausscheidung zahlreicher Substanzen verantwortlich sind. Daher werden Unterschiede im Leber- und Nierengewicht als empfindliche Risikoparameter gewertet. Kilic und Akay (2008) erwähnten signifikante Unterschiede bei diesen Organen zwischen den Fütterungsgruppen.

In der vorliegenden Studie wurden bei den Weibchen (F2, F3, F4) und Männchen (F3) der GM Gruppe signifikant niedrigere relative Nierengewichte nachgewiesen.

Hammond et al. (2006) erwähnten ebenfalls niedrigere relative Nierengewichte bei Männchen, die mit einer MON863 Diät (Cry3Bb1) gefüttert wurden, aber nicht auf signifikantem Niveau. Auch histopathologische Veränderungen in Nieren von Laborratten in einem 90-Tage Fütterungsversuch wurden beschrieben, aber als biologisch bedeutungslos eingestuft. Eine Evaluierung dieser Daten indizierte die Möglichkeit einer nierentoxischen Wirkung der GV Fütterung in männlichen Laborratten (Séralini et al., 2007), diese Interpretation wurde allerdings von anderen Autoren einschließlich der EFSA kritisch hinterfragt. Auch erhöhte Lebergewichte bei Rattenweibchen wurden als mögliche Indikatoren für toxische Wirkungen diskutiert (Séralini et al. 2007). In der vorliegenden Studie waren die Lebergewichte bei den Weibchen unterschiedlich zwischen den Fütterungsgruppen, diese Unterschiede waren jedoch nicht gleich gerichtet und sind daher nicht interpretierbar. In den Lebergewichten der Männchen wurden keine Unterschiede gefunden.

Die Milz hat neben anderen auch immunologische Funktionen und könnte daher ebenfalls Diäteneinflüsse reflektieren. In der vorliegenden Studie war das relative Milzgewicht bei den Männchen der F2 Generation der GM Gruppe signifikant höher, in den anderen Generationen wurde das wiederum nicht bestätigt.

Die ultrastrukturellen Untersuchungen zeigten einige Unterschiede zwischen den Gruppen. Die Fibrillarzentren (FC) und die dichten Fibrillarkomponenten (DFC) sowie die Porendichte werden mit der metabolischen Aktivität der Zelle in Zusammenhang gebracht, wobei eine zunehmende Aktivität zu höheren Werten dieser Parameter führen soll (Schwarzacher und Wachtler, 1993; Dzidziguri et al., 1994).

Eine Unregelmäßigkeit der Kernform mit vergrößerter Oberfläche wurde ebenfalls mit einer Aktivitätszunahme in Zusammenhang gebracht (Malatesta et al., 1998). Zwischen den Haupttestgruppen GM und ISO wurden einige Unterschiede gefunden. Die niedrigere Porendichte und geringere Ausprägung der FC und DFC in den Leberzellen bei Männchen und Weibchen deutet auf eine geringere Stoffwechselaktivität in der GM Gruppe hin. Ähnliche Ergebnisse wurden auch in einer früheren Studie berichtet (Malatesta, 2002). Da Leberzellen in viele metabolische Aktivitäten involviert sind, ist der Grund für diese Veränderungen allerdings nicht klar.

Die Milzlymphozyten der männlichen Mäuse zeigten hohe DFC Werte in der GM Gruppe, was demnach eine erhöhte Aktivität andeuten könnte. Die Weibchen zeigten keine Unterschiede. Die DFC Werte in den Pankreaszellen waren bei den Männchen der GM Gruppe niedriger, während die FC Werte leicht erhöht waren. Daher kann eine Schlussfolgerung über Zellaktivitäten im Zusammenhang mit GM Futter auf Basis der Ergebnisse nicht erfolgen.

Der Vergleich zwischen der ISO und AREF Gruppe zeigte geringere Unterschiede. Nur FC und DFC Werte in den Leberzellen der Männchen der A REF Gruppe im Vergleich zur ISO Gruppe ergaben signifikante Daten. Obwohl die ISO und AREF Diäten verschiedene Maissorten enthielten, waren die ultrastrukturellen Daten dieser beiden Gruppen ähnlicher zueinander verglichen mit den Daten der GM Gruppe.

Molekularbiologische Analysen - Microarray und q-RT-PCR

In den Genexpressionsuntersuchungen am Darmgewebe ergaben sich in Abhängigkeit von den Gruppen Unterschiede. Die substantielle Äquivalenz konnte in den Nährstoffuntersuchungen bestätigt werden, trotzdem scheint die Maislinie als extrinsischer Faktor in die Daten einzufließen. Auch intrinsische Faktoren wie die interindividuelle Variabilität in dem Auszuchtstamm führen zu biologischem Rauschen. Die Summe dieser Faktoren erhöht die Variabilität in derartigen Experimenten und kann zu Schwierigkeiten in der Datenanalyse führen (Raser and O'Shea 2005). Wenn die beiden nicht transgenen Maislinien (ISO und A REF) zusammengefasst und gegen die transgene Linie verglichen wurden, konnten Unterschiede zur GM Gruppe im Rahmen der biologischen Prozesse ebenfalls und sogar deutlicher bestätigt werden. Die Daten zeigen eine Erhöhung der Anzahl an deregulierten Genen im Rahmen von Prozessen der Proteinbiosynthese sowie des Proteinmetabolismus bzw. der -modifikation. Eine Schwierigkeit stellen die geringen Expressionsunterschiede dar. Nur wenige Gene über wurden oberhalb des Faktors zwei differentiell exprimiert. Für die Detektion von geringen Expressionsunterschieden sind Arrays auf Grund einer geringeren Sensitivität und eines geringeren dynamischen Bereichs eingeschränkt geeignet (Lord et al. 2006). In dieser Studie wurden die Microarrayanalysen durchgeführt, um eine Vorauswahl an Genen zu treffen, die in weiterer Folge durch Clusteranalysen und q-RT-PCR untersucht wurden.

Unterschiede in der Genexpression im Dünndarmgewebe konnten der Maissorte und der gentechnischen Veränderung zugeordnet werden. An Darmzellen von Mäusen wurden solche Untersuchungen nicht durchgeführt bzw. es wurden keine Effekte von Cry1Ab beobachtet (Bondzio et al. 2006). In der vorliegenden Studie ergaben sich zwischen den Fütterungsgruppen Hinweise auf Unterschiede in verschiedenen biologischen Prozessen.

In einem folgenden Schritt wurden 45 vorselektierte Gene aus mehreren Stoffwechselwegen mittels q-RT-PCR als „Referenzmethode“ für Expressionsanalysen untersucht. Von diesen selektierten Genen konnten 9 ( $p < 0.05$ ) als unterschiedlich zwischen ISO und GM in Abhängigkeit von Versuchsdesign, Geschlecht und anatomischer Lokalisation bestätigt werden. Angesichts fehlender Vergleichsstudien zu diätetischen Einflüssen von GMOs auf die Genexpression ist eine breitere Datenbasis in diesem Bereich erforderlich. Methodisch konnten die geringen Unterschiede in der Genexpression dargestellt werden, in weiteren Schritten sollte die Methode noch dahingehend optimiert werden, bessere Normalisierungsstrategien zu finden und somit potentielle Kandidatengene mit höherer Wahrscheinlichkeit auffinden und bestätigen zu können.

Die Variabilität von extrinsischen Faktoren, z.B. der Maissorte, und intrinsischen Faktoren, z.B. dem verwendeten Auszuchtstamm, erschwert die Datenanalyse. Weitere Arbeiten scheinen notwendig um die betroffene biologische Prozesse und Gene mit höherer Sicherheit zu identifizieren, auch unter Einbeziehung der Proteinebene. Im Moment können die aufgezeigten Unterschiede zeigen, dass die Interaktionen zwischen Futter und Darm zwischen GM und ISO unterschiedlich sind, die Bedeutung ist jedoch weiter abzuklären.

Auf Grund der hohen technischen Ansprüche und damit verbundenen Kosten wird die Anwendung der Methode auf die zahlreichen GMO Produkte mit Vorbehalt gesehen. Anhand dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Etablierung neuer Methoden sinnvoll wäre, zumindest bei ausgewählten GM Produkten, um den Verbraucherschutz zu erhöhen.

#### Schlussfolgerung

Die Fütterung von Labormäusen mit dem GV Mais NK603 x MON810 in zwei Mehrgenerationenstudien mit unterschiedlichen Ansätzen, MGS und RACB, zeigte, dass der RACB Versuch die sensiblere Methode darstellt und daher besser geeignet erscheint, potenzielle Effekte von genetisch modifizierten Produkten zu überprüfen. Die Reproduktionsparameter waren nicht signifikant unterschiedlich in vier Generationen im Rahmen der MGS, zeigten aber signifikant negative Effekte der GV Diät im dritten und vierten Wurf des RACB.

Die Genexpressionsanalyse und q-RT-PCR deuten ebenfalls Unterschiede zwischen den Gruppen an. Die Differenzen bedürfen der weiteren Bestätigung, Effekte der GV Diät können nicht ausgeschlossen werden. Die hohe interindividuelle Variabilität könnte auf unterschiedlich sensitive Genotypen bei den Versuchsmäusen des Auszuchtstamms OF1 hinweisen. Weitere Untersuchungen mit Inzuchtstämmen könnten hier Aufschluss geben. Einige Ergebnisse der elektronenmikroskopischen Untersuchungen geben Hinweise auf eine Interaktion der Futterzusammensetzung mit dem Organismus.

Zusammenfassend weisen die Ergebnisse dieser Studie darauf hin, dass Interaktionen zwischen den Testtieren und den verwendeten Maissorten bestehen, bei Verwendung des stacked event NK603 x MON810 zeigten sich geringere Reproduktionsleistungen im Verlaufe des RACB. Ob ähnliche Befunde für andere Stämme oder auch Spezies reproduzierbar sind, muss in entsprechenden Ansätzen untersucht werden. Diese sollten Reproduktionsparameter und eine weitergehende Untersuchung der möglichen Wirkmechanismen umfassen.

Die gesamte Studie (in englischer Sprache) ist nunmehr nach einer kleinen redaktionellen Korrektur in der Fassung vom 11. November 2008 nachstehend zum Download offiziell verfügbar und kann auch in Kürze im Bestellservice des BMGFJ gratis bestellt werden.

- **Studie: "Biological effects of transgenic maize NK603 x MON810 fed in long term reproduction studies in mice"** (PDF 966 KB)