

28. april 2004

## OPPDATERING – NYE PUBLIKASJONER SIDEN 2002

Vedlegg til rapporten "Forskning på helseeffekter av genmodifiserte organismer" som først ble utarbeidet av Nasjonalt folkehelseinstitutt i 2002, revidert utgave 28.04.04.

Faggruppen for GMO i Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM) har funnet 6 nye artikler som omhandler studier av helseeffekter etter fôring av dyr med genmodifiserte planter, og en rekke andre studier som kan karakteriseres som fôringsforsøk for å undersøke om fôr kvaliteten til GM-planter har samme fôr kvalitet som tilsvarende umodifisert plante. Vi har her bare tatt med de studiene som omhandler mulige helseeffekter.

### Sammendrag

Med unntak av ett forsøk, viser disse fôringsstudiene ingen statistisk signifikante forskjeller mellom dyrene som er fôret med genmodifisert plantemateriale, og de som er fôret med tilsvarende umodifisert plantemateriale. Ett av studiene viser små men statistisk signifikante endringer på de immunologiske parametrene IgG1 og IgG hos de dyrene som er fôret med GM-mais (Cry9C-toksinet).

De 6 nye studiene som er gjennomgått endrer ikke konklusjonene i rapporten "Forskning på helseeffekter av genmodifiserte organismer" fra 2002.

## Hele matvarer

### Søtpepper og tomat

Søtpepper og tomat er modifisert med kappeproteingenet (CMV-cp) til agurkmosaikkviruset (cucumber mosaic virus (CMV)). Det klonete genet inneholder også promotoren 35s CaMV. Både genmodifisert søtpepper og tomat viser resistens mot CMV.

Det ble utført fire studier på rotter eller mus og en på bakterier. Studien måler akutt toksisitet (LD50) (rotte), mikrokjerne- og spermieaberrasjoner (mus), mutasjonsfrekvens på bakterier (Ames test) og dessuten ble et 30-dagers fôringsstudie gjennomført på rotte. Søtpepper og tomat ble frysetørket for at dyrene skal få i seg tilstrekkelige store doser. I et 3 ukers studium med søtpepper og tomat tilsvarer høyeste dose søtpepper (6,8 g/kg kroppsvekt(kv)) og tomat (5,9 g/kg kv), henholdsvis ca. 12600 og 7100 ganger det daglige humane inntak (WHO GEMS/Food Regional Diets 1998).

I LD50 studien, høyeste dose 10 g/kg kv med magesonde, ble det benyttet 40 dyr som ble delt i 4 grupper (20 hanner og 20 hunner), med 10 i hver gruppe av samme kjønn. Dyrene ble observert i en uke etter doseringen. Det ble ikke påvist noen statistisk signifikante forskjeller mellom gruppene.

Mikrokjerne-, spermieaberrasjons- og Ames test er alle tester for mutasjoner eller gentoksiske effekter. Ames test ble utført ved fire forskjellige konsentrasjoner (høyest mengde var 5 mg/plate) og på de fire forskjellige salmonellastammene som ble benyttet. Det ble også

tatt med både positive og negative kontroller. Det ble ikke påvist mutagene effekter i de fire stammene. Mikrokjerne- og spermieaberesasjonstestene ble hver utført på 8 uker gamle mus, delt inn i fire grupper med 10 hann- og 10 hunndyr. Det ble benyttet fire dosenivåer der laveste dose er 0 og høyest dose var 5 g/kg kv. Dosering av dyrene er utført med magesonde. Positive og negative kontrollgrupper ble utført i begge studiene. Det ble ikke påvist statistisk signifikante forskjeller mellom eksponert og normal gruppe.

Et tretti dagers føringsstudie ble utført på 3 uker gamle hann- og hunnmus i søtpepper- og 3 uker gamle hann- og hunnmus i tomatgruppen med 10 hann- og 10 hunnmus i fire dosegrupper. Det ble benyttet fire dosenivåer, der høyeste dose er 6,8 g/kg kv for søtpepper og 5,9 g/kg kv tomat og laveste dose er 0. Drikkevann og fôr ad lib. Dyrene ble observert daglig og veid en gang per uke. Blod, hjerte, lever, mage, nyre, lunge, milt, testis og ovarier ble undersøkt makroskopisk, dissekert og undersøkt mikroskopisk. Det ble ikke funnet statistisk signifikante forskjeller mellom gruppene.

Vi kan ikke finne opplysninger om studiene er utført i henhold til GLP eller OECDs retningslinjer for akutt oraltoksisitet- (nr. 401) og subakutt oraltoksisitet- (nr. 407) studier. (Chen, Z-L. et al 2003).

### Mais

Mais i denne studien er modifisert med Cry-gen, men det er ikke angitt hvilke gen og hvilke promotorer som er blitt benyttet.

Dyrestudiene som er utført på mus er henholdsvis kortids- og multigenerasjons-studier (4 generasjoner). Det er undersøkt for effekter på føtal-, postnatal- og voksne dyrs testikkelutvikling samt de forskjellige cellepopulasjonene i testis. De eksperimentelle betingelsene er rimelig godt beskrevet. Dyrene ble undersøkt etter 6 utvalgte tidspunkt, henholdsvis 8, 16, 26, 32, 63 og 87 dager, for å inkludere de forskjellige stadiene i celleproliferasjonen og celledifferensieringen under utviklingen av testis. Tre dyr ble tilfeldig utvalgt for hvert tidspunkt. Negative og positive kontroller er tatt med i undersøkelsen. Det er også undersøkt på eventuelle endringer i kroppsvekt hos dyrene. Innenfor de forskjellige tidspunktene er det ikke funnet endringer i antall haploide-, diploide- og tetraploide celler. Vi kan ikke finne opplysninger om studiene på mus er utført i henhold til GLP og OECDs retningslinjer for en-generasjon- (nr. 415) og to-generasjons- (nr. 416) reproduksjons-toksisitetsstudier (Brake, D.G. et al 2004).

Mais som uttrykker Cry9C toksinet er undersøkt for effekter på immunsystemet hos rotter og mus. Innhold av Cry9C i GM-mais ble målt til  $12,3 \pm 0,9$  µg/g. Varmebehandlet maismel ble tilsatt fôret i mengder på henholdsvis 5 % (kun rotter) og 50 % (både rotter og mus). Det ble kun benyttet hunndyr i studiet som varte i 13 uker. Det ble benyttet 10 dyr per gruppe som ble fôret med henholdsvis 50 % GM- og 50 % normal mais samt en gruppe som ble fôret med vanlig kontrollfôr (AIN-93M). I gruppen fôret med 5 % mais ble det benyttet 8 dyr i hver gruppe. Dyrene ble undersøkt daglig og veid en gang i uken. Blod fra alle dyrene ble samlet etter 4, 8 og 13 uker. Undersøkelser som er foretatt er: Alle dyrene ble tappet for blod, tymus, milt og lever ble veid, og i tillegg ble immunrelaterte organ som tymus, milt, mesenterisk lymfeknuter, tynntarm, benmarg, lever og nyrer fiksert i formalin. Organene ble snittet. Snittene ble farget og undersøkt mikroskopisk. Det ble ikke funnet vektforskjeller i de organene/vevstyper som ble veid. Hematologiske og kjemiske undersøkelser av serum viste heller ingen signifikante forskjeller. Det ble ikke påvist histopatologiske endringer i de organene som ble undersøkt mikroskopisk. Cry9C spesifikk IgE, IgG og IgA målinger viste liten men statistisk signifikant økning for IgG1 og IgG ved innblanding av 50 % GM-mais. Innblanding av 5% GM-mais viste ingen slik økning. (Teshima, R. et al. 2002).

## Potet

Frysetørket potet som uttrykker Cry V toksinet ble føret til hannrotter. Uttrykket av Cry V genet er regulert av 35S CaMV promoteren og klonen (GM-poteten) inneholder også kanamycin-resistensgenet. Rottene ble delt i 4 grupper med 10 i hver gruppe. GM-potetene var fra tre forskjellige potetlinjer. Rottene i tre av gruppen ble føret i 30 dager med 30% GM-potet innblandet i føret fra de tre forskjellige linjene. Undersøkelser som er foretatt på dyrene er analyser av blod- og serumenzymmer, kroppsvekt. Vekt av lever, nyre, milt, hjerte og testis ble også målt. Det ble ikke funnet noen statistisk signifikante forskjeller mellom gruppene. Vi kan ikke finne opplysninger om studiene på rotter er utført i henhold til GLP og OECDs retningslinjer for subakutt toksisitet (Nr. 407). El Sanhoty, R. et al. 2004.

## Soya

GM-soyaen i dette studiet er modifisert med EPSPS-genet som uttrykker glyfosat-resistens. Det er ikke angitt hvilken promoter som er benyttet.

Dyrestudiene som er utført på mus er henholdsvis kortids- og multigenerasjonsstudier (4 generasjoner). Effekter på føtal-, postnatal- og voksne dyrs testikkelutvikling samt de forskjellige cellepopulasjonene i testis er studert. De eksperimentelle betingelsene er rimelig godt beskrevet. Dyrene ble undersøkt etter 6 utvalgte tidspunkt, henholdsvis 8, 16, 26, 32, 63 og 87 dager, for å vise forskjellige stadier i celleproliferasjon og celledifferensiering under utviklingen av testis. Tre dyr ble tilfeldig utvalgt ved hvert tidspunkt. Negative og positive kontroller er tatt med i undersøkelsen. Det er også undersøkt på eventuelle endringer i kroppsvekt hos dyrene. Innenfor de forskjellige tidspunktene er det ikke funnet endringer i antall haploide-, diploide- og tetraploide celler. Vi kan ikke finne opplysninger om studiene på mus er utført i henhold til GLP og OECDs retningslinjer for en-generasjon- (nr. 415) og to-generasjons (nr. 416) reproduksjonstoksisitetsstudier (Brake, D.G. og Evenson, D.P. 2004).

Homogenat fra GM-soyabønner og normale soyabønner ble benyttet i de to allergenitetstestene på rotter (5 grupper med 4 dyr i hver gruppe). Genkonstruksjonen som er benyttet er beskrevet i artikkelen, og den inneholder promoteren 35S CaMV og terminatoren NOS. Det ikke nevnt om det er satt inn andre gener i den genmodifiserte soyaplanten. Allergenitetstestene er beskrevet og består av en passiv hudanafylaktisk- og en mastcellestest (histaminutløsning).

Dyrene ble sensibilisert subkuttant 3 ganger per uke i 3 uker med henholdsvis 2 mg/kg og 20mg/kg GM- og umodifisert homogenat. Saltvann ble benyttet som kontroll. Dyrene ble avlivet uke 4. Serum fra disse rottene ble injisert intradermalt på ikke-sensibiliserte rotter. Mastceller fra ikke-sensibiliserte rotter ble benyttet i histaminutløsningstesten. Fem prosent serum ble benyttet i denne testen. Det ble ikke funnet noen statistisk signifikante forskjeller mellom gruppene ved de to testene. Det ble heller ikke registrert statistisk signifikante endringer i kroppsvekt mellom gruppene. (Chang, HS. et al 2001).

## Referanser:

Brake DG, Evenson DP. (2004) A generational study of glyphosate-tolerant soybeans on mouse fetal, postnatal, pubertal and adult testicular development. *Food Chem Toxicol.* 42(1):29-36.

Brake DG, Thaler R, Evenson DP. (2004). Evaluation of Bt (*Bacillus thuringiensis*) corn on mouse testicular development by dual parameter flow cytometry. *J Agric Food Chem.* 52(7):2097-2102.

Chang HS, Bae YK, Lim SK, Jeong TC, Kim HS, Chung ST, Kim DS, Nam DH. (2001) Allergenicity test of genetically modified soybean in Sprague Dawley rats. *Arch Pharm Res.* 2001 24(3):256-261.

Chen, Z-L., Hongya Gu, Yi Li, Yilan Su, Ping Wu, Zhicheng Jiang, Xiaotian Ming, Jinhua Tian, Naisui Pan and Li-Jia Qu. (2003) Safety assessment for genetically modified sweet pepper and tomato. *Toxicology*, 188, 2-3, 297-307.

El Sanhoty R, El-Rahman AA, Bogl KW. (2004) Quality and safety evaluation of genetically modified potatoes spunta with Cry V gene: compositional analysis, determination of some toxins, antinutrients compounds and feeding study in rats. *Nahrung.* 2004 Feb;48(1):13-18.

Teshima R, Watanabe T, Okunuki H, Isuzugawa K, Akiyama H, Onodera H, Imai T, Toyoda M, Sawada J. (2002) Effect of subchronic feeding of genetically modified corn (CBH351) on immune system in BN rats and B10A mice. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi.* 43(5):273-279.