



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 Futtereffekten der gentechnisch veränderten Maissorte NK603 x MON810 nach Langzeitexposition in Mäusen. Ein Kurzzeitfütterungsversuch mit Hühnern zeigte keinen nachteiligen Effekte über mehrere Generationen mit diesem Event, aber Fütterungsstudie mit Nagern über längere Zeit sind noch nicht durchgeführt worden, da beide Elternlinien als sicher eingestuft worden waren.

Toxikologische Risiken gentechnisch veränderter Pflanzen werden derzeit mittels 90-Tage Fütterungsversuchen mit Nagern bewertet. Eine 90-Tage Studie wird von dem GMO Panel der EFSA als ausreichend eingestuft, um nachteilige Effekte zu erfassen. Es stellt sich aber die Frage, ob Effekte in einem länger dauernden Multigenerationenversuch sichtbar werden könnten. Reproduktion und Laktation sowie Wachstum und Überlebensrate der Nachkommen stellen sehr sensible Parameter dar. Weiters werden fast alle derzeit vermarkteten gentechnisch veränderten Pflanzen für landwirtschaftliche Nutztiere eingesetzt, die vorwiegend Reproduktionsleistung z.B. Sauensysteme zur Ferkelproduktion erbringen. Daher ist es dringend notwendig, den Einfluss der Futtermittel auf die Zucht detailliert zu untersuchen. Diese Studie untersucht einen stacked Event in einem Multigenerationenversuch mit den Schwerpunkten Reproduktion und Entwicklung bei Mäusen. Zusätzlich wurden mikroskopische Untersuchungen (Histologie, Elektronenmikroskopie und Immunhistochemie) und Microarray Analysen durchgeführt, um mögliche Effekte des transgenen Mais auf Zellebene und Genomebene 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 4 Mäusegenerationen. Das zweite Versuchsdesign war die Methode der fortlaufenden Zucht (RACB) mit 4 Würfen. Untersuchte Parameter waren die Gewichtsentwicklung der Eltern und Nachkommen sowie Wurfgröße und Überlebensrate bis zum Absetztermin.

Ausschließlich in der Multigenerationenstudie wurden ergänzende Untersuchungen durchgeführt. Die Erhebung der Organgewichte sowie histologische und elektronenmikroskopische ultrastrukturelle Untersuchungen wurden angewendet, um Unterschiede auf der Organ- und Zellenebene zu überprüfen. Der Fokus lag dabei auf dem Darm als erste Schnittstelle zwischen Nahrung und Tier.

Immunhistochemische Methoden wurden für die Untersuchung von Immunzellen im Dünndarm angewendet und Genexpressionsprofile des Jejunums wurden mittels Mikroarrayanalysen und q-RT-PCR erstellt.

Schließlich wurde noch eine Lebensdauerstudie durchgeführt, um mögliche akkumulierte Effekte, die sich erst im fortgeschrittenen Lebensalter zeigen, nachzuweisen.

Für alle Versuchsdesigns wurden Tiere aus einem Auszuchtstamm verwendet. Die Ergebnisse von Auszuchtstämmen bilden eine breite Basis für verschiedene Mausgenotypen. Als Alternative hätte ein Inzuchtstamm verwendet werden können, der den Vorteil hätte zu einheitlicheren Ergebnissen führen zu können. Aber die Nachteile dieses Ansatzes sind auch offensichtlich, da verschiedene Inzuchtlinien unterschiedliche Sensitivität aufweisen und in einer polarisierten Einsicht in die Tier-Futter-Beziehung resultieren.

Die Ergebnisse dieser Studie geben eine Spanne von Unterschieden zwischen den Fütterungsgruppen an, die breiter ist als die normal erwartete natürliche Variation. Das Methodenspektrum war so gewählt, eine breite Abdeckung zu gewährleisten und eine gesamtheitliche Schlussfolgerung über den potenziellen Einfluss der verschiedenen Maissorten zu ermöglichen. Im Allgemeinen sollten andere Methoden in zukünftigen Studien grundlegend hinterfragt werden, um den Sensitivität und die Variabilität verschiedener Futterbedingungen und verschiedener Mausstämmen oder Tierarten zu evaluieren, im Idealfall unter Einbeziehung aller Ernährungstypen (omnivor, herbivor, karnivor).

Maisvarianten der Fütterungsstudien

Für die MGS wurden drei Fütterungsgruppen erstellt. Die drei entsprechenden Diäten enthielten entweder 33% NK603 x MON810 (GM Gruppe), eine isogene Linie (ISO Gruppe) - beide aus Kanada - oder österreichischen Mais (A REF Gruppe). Die Diät mit österreichischem Mais wurde auf Grund einer leichten Verunreinigung des isogenen Mais eingeführt. Alle drei Maissorten wurden 2006 geerntet. Für den RACB Versuch wurden nur die beiden kanadischen Testsorten (GM und ISO) aus einer Ernte von 2007 verwendet. Alle Maissorten waren substanzuell äquivalent. Die Diäten wurden in Mehlform, nicht pelletiert, angeboten, um mögliche Veränderungen der Futterkomponenten durch die Einwirkung von Druck und Hitze wie es beim Pelletieren der Fall ist zu vermeiden. Es wurde bereits beschrieben, dass Deltaendotoxine hitzeempfindlich sind.

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 geringfügig niedriger in der GM Gruppe, während der Verlust an Jungen in dieser Gruppe etwas höher war. Diese Unterschiede waren konsistent in den Generationen, aber nicht auf einem signifikanten Niveau.

Es könnte angenommen werden, dass nicht alle Mäuse durch die GM Diät beeinträchtigt waren, da eine hohe genetische Variation zwischen den Mäusen bestand. Die Einflüsse auf die Wurfgröße und -gewicht wurden in der 4. Generation deutlicher. Im Hinblick auf die Produktion erbrachte die ISO Gruppe eine 20% höhere Leistung 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 an abgesetzten Jungen als auch einer 35% höheren Produktionsleistung 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. Aber erst die Ergebnisse des dritten und vierten Wurfes ergaben statistisch signifikante ($p < 0.05$) Unterschiede. Neben der Abnahme an Würfen pro Gruppe (im 4. Wurf $p = 0.055$), wurden in der GM Gruppe bei den dritten und vierten Würfen signifikant weniger Junge geboren und bei den vierten Würfen wurden auch signifikant weniger Junge abgesetzt. Die durchschnittlichen Wurfgewichte waren höher in der ISO Gruppe mit signifikanten Ergebnissen bei den dritten Würfen bei Geburt und Absetzen und bei den vierten Würfen bei der Geburt. Aber im Unterschied zu der MGS war der Verlust an Jungen in der ISO Gruppe höher.

Diese Ergebnisse unterstreichen die Annahme, dass Langzeitfütterungsversuche für die Erfassung von ernährungsbedingten chronischen Effekten geeignet sind. Entsprechend unserer Ergebnisse war das RACB Versuchsdesign besser dazu geeignet als das MGS design, da hier die Unterschiede auf signifikantem Niveau erkennbar wurden. Das biologische Phänomen, das im RACB Versuch beobachtet wurde, kann nicht durch unterschiedliche Nährstoffaufnahme erklärt werden, da beide Diäten den Energie und Nährstoffbedarf der Tiere abdeckten und den Anforderungen an Ernährungsäquivalenz entsprachen. Geringere Reproduktionsleistung kann als Indikator für Diäteeffekte angesehen werden. Man kann annehmen, dass dieser Effekt auf Einflussfaktoren außerhalb der Nährstoffversorgung beruht. Ob diese Beobachtung auf die genetische Modifikation oder auf einen unbeabsichtigten Effekt des Genstackings

zurückzuführen ist, muss in Zukunft 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, könnten auf eine komplexe Nahrung-Organismus-Interaktion hindeuten. Diese Analysen könnten weiter ausgebaut werden und Genexpressionsunterschiede von weiteren Organen, besonders der Reproduktionsorgane, könnten überlegt werden. Bis heute gibt es nach unserem Wissen keine solchen Untersuchungen im Zusammenhang mit gentechnisch veränderten Mais.

Vergleicht man die Ergebnisse des RACB Versuches mit denen des MGS kann man annehmen, dass die physiologische Stressbelastung in der MGS erheblich geringer ist. Das Versuchsdesign, bei welchem für jede Generation „neue“ Eltern aus den Nachkommen der vorherigen Generation herangezogen werden anstatt immer dieselben Eltern werfen zu lassen, ist offensichtlich weniger fordernd und belastend. Diese Tatsache könnte den Futtereinfluss auf die Reproduktion in der MGS verschleiert oder hintan gehalten haben. Aber das MGS Design ist ebenfalls ein wichtiger Beitrag, da es die Notwendigkeit für verschiedene Versuchsdesigns bei der Beurteilung von unbekanntem Diäteinflüssen verdeutlicht.

Reproduktion und Leistung in anderen Untersuchungen

Es ist überraschend, dass trotz der Anwendung von Bt Mais bereits seit 1996 und der vielen kontroversiellen Sicherheitsdiskussionen, teilweise angeheizt durch nicht wissenschaftlich belegte Aussagen bisher kaum peer-reviewed Multigenerationenstudien über mögliche Effekte von Deltaendotoxinen auf Nager durchgeführt wurden. Brake et al. (2004) verwendeten Maustestes als sensible Indikatoren für potenziell negative Ernährungseffekte von Bt Mais. Aber weder die Art von Endotoxin noch die Futterzubereitung wurden erwähnt. Diese Informationen sind grundlegend, wenn man verschiedene Studien vergleichen will. Bei Hitzeanwendung, z. B. beim Pelletieren, besteht die Gefahr der Denaturierung von Proteinen und das Ergebnis könnte anders ausfallen als bei Rohprodukten. In dieser Studie wurden verschiedene Mauszüchtlinien verwendet und gekreuzt. Für einen Kurzzeitversuch wurden 5 Wochen alte Mäuse 3 Wochen lang mit Handelsfutter ernährt. Erst zur Paarungszeit wurde die Testdiät verabreicht. Für die Langzeitstudie mit vier Generationen wurden nach dem Zufallsprinzip 16 Weibchen und Männchen (jeweils 2 / Geschlecht 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 6 Weibchen mit 3 Männchen gepaart. In dieser Studie wurden keine ernährungsbedingten Unterschiede in der Spermatogenese gefunden. Signifikante Unterschiede, die während der Spermatogenese auftraten, wurden auf das unterschiedliche Alter der Tiere zurückgeführt. Die innerhalb von 24 Stunden geborenen Nachkommen waren nämlich 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 3 Tiere für die Gewichtsbestimmung herangezogen. Es wurde auch festgestellt, dass die Wurfgrößen ähnlich waren, was zeigte, dass die Bt Diät keine negativen Einflüsse auf die Reproduktion hatte. Diese Ergebnisse können durch die hier präsentierte Untersuchung nicht bestätigt werden. Aber die Daten können nicht direkt verglichen werden, da Inzuchtlinien kleinere Würfe und geringeres Körpergewicht haben.

Eine 3-Generationenstudie mit Laborratten und Bt Mais wurde ebenfalls durchgeführt. Abgesehen von signifikanten histopathologischen Unterschieden in Leber und Niere wurden keine Unterschiede gefunden, auch nicht in der Reproduktionsleistung (Kilic und Akay, 2008). Aber die Anzahl an Nachkommen war in dieser 3-Generationenstudie generell sehr niedrig, 3-4 Junge pro Weibchen, während 10-12 Junge pro Weibchen bei dieser Zuchtlinie (Wistar Albino Ratten) normalerweise hätte erwartet werden können. Viele Kurzzeitfütterungsversuche mit Mais, der Deltaendotoxine exprimiert, mit Nutztieren zeigten keine negativen Einflüsse der Bt Produkte (Aumaitre 2002; Flachowsky et al 2005). Die Anzahl der Fütterungsversuche mit Nagern ist klein und inkonsistente Ergebnisse erschweren eine allgemeine Schlussfolgerung über das GM Testfutter (Hammond et al. 2006).

Die Sicherheit von NK603 x MON810 beruht auf den Ergebnissen einer Hühnerfütterungsstudie und einer 90-Tagesstudie mit Laborratten mit den Elternlinien sowie einer Hühnerfütterungsstudie mit dem stacked Event, die alle von den Antragstellern selbst 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, was die Gewichtsentwicklung der Elterntiere betrifft, da die Gewichtsunterschiede sehr gering und inkonsistent waren. So ist es offensichtlich, dass chronische Effekte schwer zu messen sind und durch Fütterungsversuche mit adulten Tieren nicht bewertet werden können. Zur Sicherstellung, dass keine chronischen Gesundheitseffekte durch die Fütterung mit GM Produkten vorliegen, muss das homöostatische System der Tiere belastet werden, da Gesundheit durch die Fähigkeit, mit Herausforderungen wie z.B. Infektionen oder Stress erfolgreich umzugehen und zu bewältigen, definiert wird. In der vorliegenden Studie wurde in Langzeitversuchen die Reproduktion als Hochleistung gewählt, wobei mehrere Generationen (MGS) bzw. mehrere Würfe (RACB) eingeschlossen waren. Das RACB Versuchsdesign wird routinemäßig bei der Sicherheitsbewertung von xenobiotischen Substanzen wie Pestiziden angewendet und wurde nach unserem Wissen nie zur Überprüfung von GM Produkten benutzt. Da die oraltoxikologischen Untersuchungen zur Bestimmung des LD50 Wertes für Cry1Ab bis zu einer Menge von 4000mg/kg keine dosisabhängigen Todesfälle ergaben, wurden von der zuständigen Behörde, der EPA (Environmental Protection Agency USA) die Deltaendotoxine sowie alle Pflanzen, die solche exprimieren, von der Notwendigkeit einer Grenzwertbestimmung ausgenommen (EPA 2001). Aber mit den Toxinen wurden keine Mehrgenerationenstudien durchgeführt, um chronische Effekte auszuschließen.

In dem vorliegenden RACB Versuch wurde der Mais, nicht das isolierte Endotoxin, als Testprodukt gewählt. Die Interpretation solcher Versuche ist schwierig, da nicht ein Einzelstoff in verschiedenen Konzentrationen untersucht wird, sondern die Effekte des ganzen Testproduktes. Andererseits werden hier realistische Bedingungen hergestellt und reflektiert. Weitere Studien sind notwendig, in welchen eine Diät mit Bt Mais und eine Diät mit isogenem Mais, der nachträglich derselben Deltaendotoxinmenge zugesetzt wurde, verglichen werden, um zu überprüfen, ob die molekularbiologischen Methoden oder aber die Toxine für die Ergebnisse verantwortlich sind.

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

Als mögliche Anzeiger für Diäteneffekte wurden die Organgewichte erhoben. Leber und Niere werden oft als gute Indikatoren angesehen, da sie für Stoffwechselprozesse und Ausscheidung verantwortlich sind. Daher werden Unterschiede im Leber- und Nierengewicht als empfindliche Risikoparameter gewertet. Kilic und Akay (2008) erwähnten auch signifikante Unterschiede bei diesen Organen.

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 Revision dieser Daten indizierte die Möglichkeit einer nierentoxischen Wirkung der GV Fütterung in männlichen Laborratten (Séralini et al. 2007), aber diese Ergebnisse wurden von anderen Autoren, einschließlich der EFSA kritisch hinterfragt. Auch erhöhte Lebergewichte bei den 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, aber diese Unterschiede waren nicht gleichgerichtet und daher nicht interpretierbar. In den Lebergewichten der Männchen wurden keine Unterschiede gefunden.

Die Milz ist ein wichtiges Organ im Immunsystem 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 nicht bestätigt.

Keine Unterschiede waren in der Anzahl an T- und B- Lymphozyten sowie Makrophagen in den Immunhistochemischen Untersuchungen zu sehen.

Die ultrastrukturellen Untersuchungen zeigten einige signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Die Fibrillarzentren (FC) und die dichten Fibrillarkomponenten (DFC) sowie die Porendichte stehen mit der metabolischen Aktivität der Zelle in Zusammenhang. Zunehmende metabolische Aktivität führt zu höheren Werten dieser Parameter (Schwarzacher und Wachtler, 1993; Dzidziguri et al., 1994). Die Unregelmäßigkeit der Kernform mit vergrößerter Oberfläche kann ebenfalls mit rascher Aktivitätszunahme einhergehen (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). Aber da Leberzellen in viele metabolische Aktivitäten involviert sind, ist der Grund für diese Veränderungen nicht klar.

Die Milzlymphozyten der männlichen Mäuse zeigten hohe FC und DFC Werte in der GM Gruppe, was eine erhöhte Aktivität andeutet. Die Weibchen zeigten keine Unterschiede. Die DFC Werte in den Pankreaszellen waren bei den Weibchen und Männchen der GM Gruppe niedriger, während die FC Werte leicht erhöht waren. Daher kann eine generelle Schlussfolgerung über Zellaktivitäten im Zusammenhang mit GM Futter 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.

Molekularanalysen - Mikroarray und q-RT-PCR

In den Genexpressionsuntersuchungen am Darmgewebe ergaben sich in Abhängigkeit von den Sorten und 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 inter-individuelle Variabilität in dem Mäuseauszuchtstamm führt 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). Aber wenn die beiden nicht transgenen Maislinien (ISO und A REF) zusammengefasst und gegen die transgene Linie verglichen wurden, konnten die Signifikanzwerte verbessert und die betroffenen biologischen Prozesse bestätigt werden. Dies führte insbesondere zu einer Erhöhung der Anzahl an deregulierten Genen im Prozess Proteinbiosynthese sowie Proteinmetabolismus und -modifikation. Eine weitere Schwierigkeit bestand in der Tatsache, dass die Expressionsunterschiede teilweise sehr gering waren und nur wenige Gene über den Faktor zwei differentiell expremiert wurden. Für die Detektion von geringen Expressionsunterschieden sind Arrays auf Grund einer geringeren Sensitivität und eines geringeren dynamischen Bereichs weniger 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 interpretiert und validiert werden konnten.

Unterschiede in der Genexpression in Dünndarmgewebe konnten der Maissorte und der gentechnischen Veränderung zugeordnet werden. Bis dato wurden an Säugetierdarmzellen solche Untersuchungen nicht durchgeführt oder es wurden keine Effekte von Cry1Ab beobachtet (Bondzio et al. 2006). In unserer Studie konnten wir Effekte in Abhängigkeit des Futters auf verschiedene biologische Prozesse sehen.

In einem ersten Schritt wurden 45 Gene aus mehreren Stoffwechselwegen mittels q-RT-PCR, dem gold standard für Expressionsanalysen, durchgeführt. Von diesen selektierten Genen konnten 11 ($p < 0.05$) und 3 ($p < 0.1$) als unterschiedlich zwischen ISO und GM in Abhängigkeit des Versuchsdesigns, Geschlechts und anatomischen Lokalisation bestätigt werden. Angesichts mangelnder Studien, die sich mit Genexpressionsunterschieden in Zusammenhang mit diätetischen Einflüssen von GMOs beschäftigten, ist weitere Forschungstätigkeit notwendig. Methodisch konnten die geringen Genexpressionsunterschiede ausgearbeitet werden, in weiteren Schritten kann 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 z.B. Maissorte und intrinsischen Faktoren, z.B. Auszuchtstamm erschwert die Datenanalyse. Weitere Forschungsarbeit ist notwendig um die betroffenen biologische Prozesse und Gene zu bestätigen und weiter auszubauen. Vor allem auch die Bestätigung von Genexpressionsänderungen auf Proteinebene. Im Moment können die aufgezeigten Unterschiede als Beweis dafür gesehen werden, dass die Interaktionen zwischen Futter und Darm zwischen GM und ISO unterschiedlich sind, die Bedeutung ist jedoch unklar.

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 GVOs zu überprüfen. Die Reproduktionsparameter waren nicht signifikant unterschiedlich in 4 Generationen der MGS, zeigten aber signifikant negative Effekte der GV Diät im 3. und 4. 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 Tiere zu erwarten 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 nachstehend zum Download 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 1023 KB)