

FORSKNING PÅ HELSEEFFEKTER AV GENMODIFISERTE ORGANISMER

Sammendrag

Studier på helseeffekter av genmodifiserte organismer (GMO) omfatter først og fremst analyser av en innsatt genkonstruksjon og om de nye genproduktene (proteinene eller metabolske produktene) som dannes kan gi uønskede virkninger på forbrukeren. Det er spesielt viktig å undersøke om proteinene fra de klonede genene har likheter til proteiner med toksiske og allergene egenskaper. Det undersøkes om innsetting og plassering av genkonstruksjonen kan gi utilsiktede genomiske endringer (stabilitet), pleiotrope effekter (endre flere egenskaper), og om disse endringene kan ha betydning for helsen. Nedbrytningshastigheten av de ”nye” proteinene studeres i et simulert mage-tarm *in vitro* system, og det undersøkes om nedbrytningsproduktene fra disse proteinene kan danne produkter som kan gi uønsket effekt. Utover sekvensstudier/analyser av innsatte gener og deres produkter, undersøkes den kjemiske sammensetningen av den rekombinante organismen, og det gjennomføres *in vivo* risikostudier (i det vesentlige dyrestudier) på bruk av den rekombinante organismen (hele eller deler av GMO) i fôr og mat.

Resultater - helseeffekter

- A) Resultatene fra de fleste subkroniske matvarestudiene som vi har hatt tilgang til viser ingen toksikologiske eller histopatologiske abnormiteter som kan tilskrives genmodifiseringen.
- B) Fôringsforsøk med opptil 5 g/kg kroppsvekt av genproduktet (proteiner) fra genmodifiserte organismer viser ingen akutt toksisitet.
- C) For Cry1Ac (insekt-toksin) proteinet er det påvist adjuvanseffekter (stimulert dannelse av antistoffer). Hvilken betydning dette har for mennesker er usikkert og en kan forestille seg både positive og negative effekter.

Usikkerhet rundt studiene

- D) I de studier hvor det er observert effekter av fôret er resultatene blitt kritisert fordi de kan være beheftet med feil som skyldes mangelfull ernæringsmessig sammensetning eller tilstand (f.eks rå potet).
- E) Flere av studiene på pattedyr og fugl er utført som subakutte studier (10-28 dagers varighet). Slike studier er lite egnet til å påvise toksikologiske og histopatologiske endringer hos dyrene.

Fôringsforsøk med enkeltkomponenter fra GMO, f.eks. GMO-proteiner, er enklere å designe enn forsøk hvor hele GMO benyttes i fôret, men standard retningslinjer for toksikologisk testing vil vanligvis kunne benyttes i begge tilfeller. Det er viktig at GMO-produktet som skal testes toksikologisk i dyreforsøk må være i en sammensetning som mennesker spiser. For å unngå en ernæringsmessig mangelfull diett ved studier av GMO-basert fôr/mat er det særlig viktig at en kvalifisert vurdering av innholdet av næringskomponenter legges til grunn i den GMO-baserte dietten før et langtidsforsøk startes opp. En ernæringsmessig ufullstendig diett vil føre til uønskede effekter hos forsøksdyrene som ikke er forankret i tilsetningen av GMO. Dette kompliserer tolkningen av resultatene og kan medføre at det trekkes feil konklusjoner fra forsøket.

Faggruppen for GMO i Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM) er også av den oppfatning at dersom fôringsstudier på dyr av hele matvarer er nødvendig, vil subakutte studier (av 10-28 dagers varighet) på pattedyr være lite egnet til å påvise toksikologiske eller histopatologiske endringer hos dyrene. Slike studier bør bare brukes som en innledning til langtidsstudier for å sikre at fôret er av en slik beskaffenhet at dyrene aksepterer det og at kontrolldietten inneholder like mengder av det tradisjonelle motstykket.

Det er oftest ikke mulig å generalisere konklusjoner/funn fra en undersøkelse av en genmodifisert organisme til en annen. Hver enkel genmodifisert organisme må derfor vurderes/undersøkes for seg.

Innledning

Faggruppen for GMO i Vitenskapskomiteen for mattrygghet har i denne gjennomgangen hovedsakelig lagt vekt på studier som er utført på forsøksdyr.

Det er benyttet følgende internasjonale kilder for å søke etter forskningsresultater på helsemessige effekter av GMO: Databasene PubMed, BioMedNet, AgBio, Essential Biosafety og OVID. Vi har også benyttet oss av ILSIs (The International Life Sciences Institute) International Food Biotechnology Committee publikasjonsoversikt "International documents and scientific publications on plant biotechnology and the safety assessment of food products derived from plant biotechnology", utgitt august 2002, og databasene til U.S. Environmental Protection Agency og Health Canada, samt dokumentasjon som er lagt ved noen notifikasjoner som vi har vurdert tidligere.

EUs forskningsprogram, "EC-sponsored Research on Safety of Genetically Modified Organisms" er et flerårig program som spenner over flere forskjellige forskningsområder, som planter, plantemikrober, mat etc. Matvareprogrammet, New methods for the safety testing of transgenic food (SAFOTEST), tar seg av matvaretrygghet med hensyn på GMO. Vi har ikke funnet at det er publisert noen resultater ennå.

I Norge er det identifisert ett forskningsprosjekt "Gene ecology related to genetically modified crop plants" som foregår i regi av GenØk-Norsk institutt for genøkologi. Vi har ikke funnet publiserte artikler fra dette prosjektet i de databasene som vi har benyttet.

På tross av at svært mange publiserte artikler omhandler forskning på og med genmodifiserte organismer (ILSI-rapporten inneholder svært mange slike referanser) er det imidlertid kun noen få artikler som omhandler spesifikt helseeffekter ved fôring av enkeltkomponenter,

genmodifiserte planter eller hele GMO som mat. Vi har ikke kunnet finne artikler av norske forfattere i databasene som vi har benyttet. Vi har bare funnet en artikkel som omhandler transgen fisk som er benyttet både i forsøk med ikke-humane primater og mennesker (Guillén et al, 1999). Artiklene som er referert til er funnet i de databasene som vi har søkt i.

Undersøkelse av helserisiko av genmodifiserte organismer

Undersøkelse av helserisiko av genmodifiserte organismer kan deles opp i flere faser. Dette omfatter en vurdering av de innsatte gener, deres opprinnelse, måten genmodifiseringen er skjedd på og undersøkelse av den genmodifiserte organismens utseende, vekstmønster, kjemisk sammensetning etc. Konkrete undersøkelser av helserisiko i eksperimentelle systemer omfatter testing på:

- a) funksjon og egenskaper til nye proteiner (genproduktene),
- b) potensielle uforutsette effekter av genmodifiseringen,
- c) potensielle overføringer av genmateriale fra genmodifisert mat til tarmbakterier,
- d) potensielle allergenisitet av den nye egenskapen

Generelt om testing av hele matvarer

Toksisitetstester og risikovurdering vektlegger forskjellige deler av matvaren, for eksempel hele matvaren, forskjellige vev fra matvaren, eller en næringsmiddelingsrediens avhengig av hva som skal markedsføres.

Hele matvarer, for eksempel korn, frukt og fisk er komplekse blandinger og på grunn av metthetseffekter og/eller ernæringsmessig ubalanse er den mengden av en slik matvare som kan tilsettes i fôret ved toksisitetstester på dyr, en liten fraksjon av det humane inntaket. Mange tradisjonelle matvarer inneholder toksiske stoffer i slike mengder at i forhold til tilsetningsstoffer er sikkerhetsmarginen svært liten, for eksempel potet som inneholder solanin. For matvarer som utgjør bare en liten del av vår mat vil det være nesten umulig å benytte seg av en usikkerhetsfaktor på 100, som benyttes ved etablering av for eksempel akseptabelt daglig inntak (ADI) for tilsetningsstoffer. Fôring med uhensiktsmessige mengder mat eller i en uegnet form kan føre til uheldige konsekvenser som kan feiltolkes som forgiftning av dyrene, for eksempel rå potet til rotte.

Generelt om toksikologisk testing av tilsetningsstoffer og kontaminater i matvarer

Prosedyrene for toksisitetstesting og risikovurdering av tilsetningsstoffer og kontaminater i mat kan ikke direkte overføres til evaluering av mat produsert ved bioteknologi. Tilsetningsstoffer og kontaminater i mat er ofte vel karakterisert, har ingen særlig næringsverdi og human eksponering er lav. Disse stoffene kan testes på dyr i doser som er flere tier-potenser større enn den sannsynlige humane eksponeringen.

Risiko ved bruk av spesifikke kjemiske stoffer i mat

For slike stoffer som tilsetningsstoffer og næringsmiddelkontaminater er vurdering av risiko basert på en modell som brukes av de fleste lands myndigheter:
helsefareidentifikasjon, helsefarekarakterisering, eksponeringsvurdering, og risikovurdering.

Risikovurdering omfatter karakterisering av forholdet mellom størrelsen av eksponeringen av et helsefarlig stoff og sannsynlighet for uheldig helseeffekter. Risikoen er således avhengig av

eksponeringsnivået av et helsefarlig stoff, men tilstedeværelsen av et helsefarlig stoff behøver nødvendigvis ikke å innebære at det er en betydelig risiko. I de fleste tilfeller med tilsetningsstoffer til mat er det en terskel for helsefare, og i en slik situasjonen vil en risikovurdering omfatte vurdering av eksponering for et slikt stoff daglig hele livet, dvs. etablering av ADI/TDI for tilsetningsstoffet.

Generelt om testing av tilsetningsstoffer.

Alle toksikologiske studier som utføres må overholde visse standarder, og det er laget internasjonale retningslinjer for disse studiene. Toksikologiske studier styres av "Good laboratory practices" (GLP) retningslinjer. Slike retningslinjer spesifiserer behovet for enkle og konsise prosedyrer, og at dokumentasjonen av studiene er slik at alle aspekter ved dem kan gjenskapes og verifiseres (for eksempel OECD Guidelines 407, 408, 452). Generelt er det slik at dess lenger et gjentatt doseringsforsøk varer, for eksempel tester for subkronisk (90 dager)- og kronisk toksisitet (minimum 12 måneder), desto mer informasjon er det mulig å få frem om mulige uheldige effekter. Vanligvis utføres gjentatt doseringsforsøk med gnagere som 90 dagers tester.

Undersøkelser av genmodifiserte produkter og "nye" proteiner

Tester av genproduktene (dvs. nye proteiner)

I første omgang undersøkes om de nye proteinene inneholder aminosyresekvenser som er homologe til kjente proteintoksiner og – allergener. Det foretas så tester for akuttoksisitet på tilsvarende måte som ved konvensjonell akuttoksisitetstesting. Fordi de nye proteinene ofte uttrykkes i små mengder i den genmodifiserte organismen, må de nye proteinene oppformerer i en bakterie, for eksempel *E. coli*, for å få tilstrekkelig mengde protein for toksisitets testing. Bare i få tilfeller har protein rensset fra genmodifiserte organismer vært benyttet til tester for akuttoksisitet.

Insektsresistensproteiner

De mest utbredte insektsresistente proteinene som benyttes i genmodifiserte planter kommer fra *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *tenebrionis*, *berliner*, *israelensis*. Disse proteintoksinene omfatter svært mange forskjellige proteiner, og flere enn 100 *cry* gener er beskrevet. En rekke tester for akuttoksisitet er utført over de siste 40 årene.

U.S. Environmental Protection Agency (EPA) har sammenfattet akuttstudier, som er utført etter OECDs retningslinjer for toksikologiske studier, på mus over følgende delta-endotoksiner: CryIII(A), Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1F, Cry3A, Cry9C. EPAs konklusjon er at disse Bt-proteinene ikke er akutt toksiske (EPA 2001). Cry1Ab er også testet på mus med oppkonsentrert bladprotein fra mais, 5050 mg protein/kg. Mengde Cry1Ab i dette proteinet var 0,07%, tilsvarende 3,5 mg Cry1Ab/kg kroppsvekt. Ingen akuttoksiske effekter ble påvist(C/F/94/11/03). Teknisk grad av følgende delta-endotoksiner Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry 1B, Cry1C, Cry2A, Cry2Aa, Cry3Aa, Cry3Ba, Cry4A, Cry4B, Cry10A, Cry11A, og de rensede delta-endotoksinene Cry1Ab, Cry1Ac, Cry2Aa, Cry2Ab, Cry3A, Cry3Bb (fra ca. 1140 til 5220 mg/kg kroppsvekt) viste ingen akuttoksiske effekter på rotter og mus(Betz et al 2000). Mennesker som spiste 1 gram teknisk grad av bakterien i 5 dager viste heller ingen tegn på forgiftning. (Betz et al 2000).

Herbicidresistensproteiner

Glufosinattoleranseprotein (fosfotricinacetyltransferase (BAR og PAT)- enzymene)

Det er utført en rekke akutttester på rotter og mus med dette enzymet. Et av forsøkene er dokumentert i søknad som Folkehelseinstituttet har mottatt (C/F/94/11/03) og denne viser at PAT-enzymet ikke er akuttoksisisk i mengder på 5050 mg/kg kroppsvekt.

Glyfosattoleranseprotein (5-enolpyruvatshikimat-3-fosfatsynthase (CP4 EPSPS) og glyfosat-oksido-reduktase (GOX). Renset CP4 EPSPS, uttrykt i *E. coli*, viste ingen akuttoksisisk effekt ved doser opptil 572 mg/kg kroppsvekt (Cover note C96-05). For rensset GOX-enzym ble det ikke påvist toksiske effekter ved en mengde på 104 mg/kg kroppsvekt, dyreart ble ikke spesifisert i disse forsøkene(EPA 1997).

Andre markørproteiner

Proteinene neomycinfosfotransferase II, beta-glukuronidase og 12:0 acyl carrier protein tioesterase er ikke påvist å være akuttoksiske.

Disse testene er i henhold til dokumentasjonene som vi har hatt tilgang til og som er utført i henhold til retningslinjer for slike tester (for eksempel OECD, U.S. EPA). Testgrense for kjemiske produkter i akutttester er 5000 mg/kg kroppsvekt, og minst 10 dyr à 5 per kjønn.

Immunologiske effekter av Bt-toksin

Cry1Ac protoxin (pCry1Ac) protein gitt til mus finnes igjen som intakt protein på tarmslimhinnen, og de elektrofysiologiske egenskapene til enterocytterne er endret. Videre ble det avdekket 6 ulike polypeptider som bandt Cry1Ac til enterocytters brush border (Vazquez-Padron RI et al 2000). Kartlegging av systemisk og mucosal immunreaksjon av Cry1 har videre påvist at mus lager både systemisk IgM, IgG og sekretorisk IgA etter intraperitoneal og intragastrisk immunisering (Vazquez-Padron RI et al 2000b). Dette viser at Cry1c er et potent immunogen og at selv oral tilførsel av Cry1c induserer et systemisk immunsvare (dannelsen av IgG1). I et annet studie viste det seg at Cry1c har utpreget mucosal adjuvans effekt ved å potensierte IgG responsen mot bovint serum albumin som ble gitt samtidig med Cry1c (Vazquez-Padron RI et al 1999). Det er ukjent om Cry1c proteinet som er benyttet i disse studiene er identisk med den strukturen som blir laget i den transgene mais. Domain II fra Cry1Ab og Cry1c generer ulik immunologisk respons i kanin (Vazquez-Padron RI et al 1998)

Konklusjonen er at Cry1c kan være et potent antigen med sterk adjuvante egenskaper. Proteinene Cry1c binder seg til musetarmoverflaten og induserer immunologiske reaksjoner mot seg selv og mot andre proteiner som blir gitt samtidig. Det genererer både forsterket slimhinneimmunsvare (IgA) og systemisk IgG antistoffer.

Hvilken betydning dette har for mennesker er usikkert og en kan forestille seg både positive og negative effekter (NOU 2000: 29).

Allergi

Ved kloning av et paranøtt-protein med høyt metionin-innhold inn i soyabønner, ble det undersøkt om det transgene paranøtt-proteinene kunne være allergeniske. Det ble påvist at når paranøtt-proteinene ble uttrykt i soyabønner så var det allergenisk. Denne transgene soyabønner ble derfor ikke kommersialisert (Nordlee et al 1996).

FAO/WHO (2001) har siden anbefalt en prosedyre for å vurdere potensiell allergenitet av genmodifisert matvarer.

Hele matvarer

Potet

Rotter ble føret med transgene poteter som uttrykker lektinet Galanthus nivalis agglutinin (GNA). Seks rotter i hver gruppe ble føret i 10 dager med henholdsvis rå eller kokte transgene GNA poteter, normale rå eller kokte poteter, eller normale rå eller kokte poteter som var tilsatt GNA. Det ble undersøkt for histologiske endringer i mage, jejunum, ileum, caecum og colon. Det ble påvist forskjellige effekter mellom føretypene i ulike deler av mage-tarmsystemet, bl. a. ble det påvist en økning av mucosatykkelse ved føring av transgene GNA poteter og normale poteter tilsatt GNA. Kryptlengden i jejunum hos rotter føret med rå transgene GNA-poteter var lenger enn hos rotter føret med normal poteter eller normal poteter tilsatt GNA. (Ewen, W.B. & Pusztai, A., 1999).

I en annet ikke-publisert studie fra samme forfattere ble rotter også føret med rå og kokt transgen GNA potet. Etter 10 dagers føringforsøk på unge rotter ble det funnet forskjeller i organvekt mellom føring av rå og kokt potet. Disse funnene er imidlertid sterkt kritisert. I en 110 dagers studie på rotter måtte dyreforsøket med rå potet avsluttes etter ca. 60 dager

fordi rottene holdt på å sulte i hjel. Rå potetstivelse er ufordøyelige for gnagere og inntak av store mengder fører til massiv forstørrelse av caecum (blindtarm), mens varmebehandlet stivelse blir fordøyd. (Pusztai 1998). En potetdiett vil i utgangspunktet gi underernæring og rottene får ikke nok energi og protein for å vokse normalt. Sammenligningen av potetene gir svar på hvilke som gir minst dårlig vekst. Det er ikke tilfelle at organer blir tilbakedannet (atrofi), de vokser unormalt på grunn av underernæring. På grunn av de unormale vekstbetingelsene anser vi at testsystemet ikke er tilfredsstillende. Dette forsøket ble kommentert av Folkehelseinstituttet for SNTs vitenskapskomite i 1999, og en av konklusjonene var: "Potetene bør testes mens rottene er i vekst."

Rotter ble føret i 28 dager med transgen potet som uttrykker glycinin fra soyabønner. Forsøkene ble utført i henhold til "Guideline of Research Institute for Food Science, Kyoto University". Mengde transgene glycininer i potetene er 3 % av proteininnholdet. Proteininnholdet i poteten er ikke oppgitt i artikkelen. Rottene ble delt i fire grupper, og føret henholdsvis med: 1) vanlig rottefôr, 2) rottefôr tilsatt normal potet, 3) rottefôr tilsatt genmodifisert potet, 4) rottefôr tilsatt genmodifisert potet med designede glycininer. Rotter ble føret med 2 g homogenisert potet/kg kroppsvekt per dag, dvs. ca. 0,16 gram potet per rotte. Det ble målt på forinntak, kroppsvekt, blodkjemi, antall blodceller, organvekt, lever- og nyrehistopatologi. Det ble ikke funnet statistiske forskjeller i de målte parametrene ved føring med normal og transgen potet. (Hashimoto et al 1999).

Mus ble føret med CryI genmodifisert -, CryI-delta-endotoksinbehandlet- og kontrollpotetdiett i 2 uker. Det ble ikke angitt hvor stor mengde potet som var tilsatt føret til rottene. Det ble påvist økt mengde av hyperplastiske celler i ileum av delta-endotoksinbehandlet kontrollfôr, mens fôr med genmodifisert potet ga mindre endringer i ileum sammenlignet med kontrollgruppen. (Fares & El-Sayed 1998)

Tomat

Transgen Bt-tomat med de innsatte genene *cryIAb* og *NPTII* (antibiotikaresistens) ble undersøkt i en 90 dagers føringsstudie (i henhold til OECD guideline 408). Tre grupper av hann og hunnrotter à 12 dyr i hver gruppe, ble gitt henholdsvis frysetørket kontroll og frysetørket transgen Bt.-toksin tomat blandet i en semisyntetisk diett og en justert semisyntetisk diett. Makro- og mikro-ernæringskomponenter ble likestilt i alle diettene. Mengde CryIA(b) ble målt til 40.6 ng/mg protein i Bt.-toksindietten. For mennesket tilsvarte dette 13 kg transgene tomater per dag. Alle dyrene overlevde forsøket og ingen forskjeller mellom dyrene ble observert. Både *in vitro* og *in vivo* tester ble utført på proteinene fra disse genene. Genproduktene ble føret subkronisk (28 til 31 dager) til mus og kaniner i totalmengde som svarer til henholdsvis ca. 500 og 60 kg transgen tomat. Ingen immuntoksiske - eller skadelige effekter i mage-tarm ble påvist. Det ble heller ikke påvist binding av Bt-toksinet til humant tarmepitel. (Noteborn et al. 1995)

FLAVR SAVR tomat

Tre subkroniske studier, 28 dager, med 3x20 hunn og hannrotter i hver studie. I de tre studiene fikk gruppe 1) vann; og gruppe 2) homogenisert umodifisert tomat, og i studium 3) fikk en ekstra gruppe lyofilisert (dvs. frysetørket) CD3 kontroll. I studie 1 fikk gruppe 3) fersk Flavr savr tomat linje 501-1001-15; i studie 2 gruppe 3) fikk en gruppe frossen Flavr Savr linje CD3-613, og en annen frossen Flavr Savr linje CD3-623; og i studie 3 gruppe 3) fikk en gruppe frossen CD3-623 og en annen fikk lyofilisert CD3-623.

Mengde av homogeniserte tomater tilsvarer et humant inntak på 10 store tomater for voksne personer, mens lyofiliserte tomater tilsvarer 20 store tomater. Konklusjonen på disse studiene er at det ikke var noen statistiske forskjeller i kroppsvekt, organvekt, fôrinntak, hematologiske parametre og kjemisk-kliniske funn mellom de ulike forsøksgruppene. Det ble observert erosjon i mage både i kontrollgruppene (kun vann, umodifisert tomat) og de genmodifiserte gruppene. Et panel av patologer konkluderte med at erosjonen som ble observert ikke var relatert til testsubstansen, fordi denne type erosjon ble observert både i kontroll og genmodifisert fôr. (Memorandum, 1994).

Ris

Ris som uttrykker soyabønneglycinin ble fôret til rotter, 10 g ris/kg kroppsvekt per dag, i 28 dager. Rotter ble delt i tre grupper, vanlig rottefôr, rottefôr + ris, rottefôr + genmodifisert ris. Det ble målt på fôrinntak, kroppsvekt, kumulativ kroppsvekt, blodkjemi, antall blodceller, organvekt, lever- og nyrehistopatologi. Det ble ikke funnet noen statistiske forskjeller i de målte parametrene ved fôring med umodifisert og modifisert ris. (Momma et al 2000).

Transgen ris som uttrykker laktoferrin(LF) eller lysozym(LZ) ble fôret til 3 dager gamle kyllinger i enten 17 (eksperiment 1, totalt 300 kylling) eller 19 (eksperiment 2, totalt 360 kyllinger) dager. I begge eksperimentene ble det fôret med umodifisert ris ± antibiotika. Det ble målt fôrinntak, fôr(utnyttelse)effektivitet og tarmhistologi. Det er ikke opplyst om det ble påvist mortalitet under fôringsforsøket. Det ble ikke påvist forskjeller i begge eksperimentene med hensyn på fôrinntak, fôreffektivitet i LF-, LZ- og antibiotikagruppene, men det ble påvist statistiske forskjeller mellom disse tre gruppene og kontroll. Det ble påvist forskjeller i tarmhistologiske parametre for noen grupper som ble tilført antibiotika, LF og LZ i forhold til kontroll. Disse forskjellene ble vurdert til å skyldes mengden av laktoferrin, lysozym eller antibiotika, heller enn genmodifiseringen som sådan. (Humphrey et al. 2002).

Transgen ris som uttrykker ferritin ble fôret til 21 dager gamle rotter i 28 dager, 6 – 11 rotter i hver gruppe, i kontrollgruppen var antallet dyr 10. De ble undersøkt mht. kroppsvekt, levervekt, miltvekt, total leverjern, total miltjern, hematokrit og hemoglobin. For gruppen av rotter som ble fôret med en jernfattig diett var det statistiske forskjeller i alle parametre i forhold til de andre gruppene. For de andre gruppene ble det funnet statistiske forskjeller både i kroppsvekt og levervekt, men det er usikkert om disse forskjellene skyldes genmodifiseringen, eller om de skyldes lavere innhold av jern i kosten. Det ble ikke rapportert om mortalitet i gruppene. (Murray-Kolbe et al. 2002).

Soya

Transgene soyabønner eller soyamel fra disse er blitt testet på flere dyrearter, kylling, rotte, ”catfish” og melkekuer, med hensyn på fôrverdi og toksikologiske parametre. I en 6 ukers studie ble kylling, 360 hann- og hunnkyllinger/studie, fôret med umodifisert og modifisert soya som kom fra samme feltforsøk. Det ble ikke påvist statistiske forskjeller mellom gruppene m.h.p. kroppsvekt, vektøkning, fôrinntak eller mortalitet. Det var heller ingen forskjell mellom gruppene i vekt av brystmuskel og fettpute. Åtte uker gamle hann- og hunnrotter, 10 av hvert kjønn i hver gruppe, ble fôret i 4 uker med en diett som bestod av prosessert og uprosessert soya, maks 10% uprosessert pga. anti-ernæringskomponenter i rå soya. Soyaene var fra de samme soyalinjer (planter) som ble benyttet i kyllingstudien. Ingen ugunstige effekter ble observert mellom gruppene. En annen studie på rotter med 24,8% prosessert soyamel i fôret viste heller ingen ugunstige effekter på dyrene. En fireukers studie på melkekuer viste heller ingen forskjeller m.h.p. fôrinntak, melkeproduksjon og melkens komponentinnhold. En tiukers studie på ”Catfish”, 300 fisk av blandet kjønn, viste ingen

forskjeller i mortalitet, vektøkning, fôrinntak, tørrstoff-, protein-, fett- og askeinnhold i de forskjellige gruppene av fisker. Fem dagers studie på vaktel (30 fugler à 10 i hver gruppe), hvor fuglene ble gitt et fôr med 20 % soya, (tilsvarende fôr som ble gitt kylling- og rottegruppene). Det ble heller ikke her påviste økt mortalitet, forskjeller i fôrinntak, kroppsvekt eller oppførsel av fuglene (Hammond et al. 1996, ACNFP 1994). Flere av disse studiene er stort sett fôringsforsøk m.h.p. fôrverdi, men for rottestudiene er det foretatt analyser på kroppsvekt, kumulativ kroppsvektøkning, fôrkonsum, absolutt organvekt og organvekt/-kroppsvekt ratio, og 40 vev ble tatt vare på fra hvert dyr. Det var ingen mortalitet i rottestudiene.

Mais

Bare forsøk relatert til fôrverdi er utført.

Erter

Erter som uttrykker α -amylasehemmer-protein ble fôret til 19 dager gamle rotter à 4 rotter i hvert forsøk med en diett som inneholder gen-modifiserte og umodifiserte erter. Fôret inneholder 300 eller 650 g erter/kg fôr. Forsøkene ble utført i henhold til UK Animals (Scientific Procedures) Act 1986. Forfatterene konkluderer med at dette ernæringsstudiet på rotte konkluderte med at transgene erter som uttrykker α -amylasehemmer-protein kan benyttes som fôr til pattedyr, men kan ikke på nåværende stadium benyttes som mat til mennesker. (Pusztai et al. 1999).

Fisk

Seks makaqaper (*Macaca fascicularis*) ble behandlet med 1 mikrogram/kg kroppsvekt av tiGH (Tilapia veksthormon) ved injeksjon en gang per dag i 30 dager i en lårvene. Det ble ikke funnet statistiske forskjeller i de undersøkte parametrene. Et randomisert blindforsøk med 22 personer (24-46 år) av begge kjønn fikk to måltider per dag i 5 dager med modifisert eller umodifisert Tilapia. De kliniske parametrene som det ble undersøkt på var: hemoglobin, kolesterol, kreatinin, totalt serumproteiner, glukose, leukocytter og erytrocytter. En undersøkelse på smak og kvalitet av fiskekjøttet ble også gjort. Det ble ikke påvist noen effekter på kliniske og biokjemiske parametre. Det ble heller ikke påvist noen uheldige effekter hos de personene som spiste transgent fiskekjøtt. (Guillén et al. 1999).

Kommentar til andre studier

For fire av studiene har vi bare hatt tilgang til publiserte sammendrag, da disse studiene har vært på et annet språk enn engelsk, dvs. russisk, kinesisk og koreansk. Vi har ikke fått tak i oversettelser av disse rapportene.

Disse studiene er:

i) "Toxicity of anti-herbicide (BAR) transgenic rice." Ris som uttrykker herbicidresistensgenet fosfinotricinacetyltransferase (BAR, glufosinat-resistens) ble fôret til rotter og mus både i akutt- og i en 30 dagers forsøksperiode. Det ble undersøkt for fôrinntak, kroppsvekt, median letal dose for BAR, blodkjemi, organvekt, og histopatologi. Det ble ikke funnet statistiske endringer i de undersøkte parametrene. (Wang et al. 2000)(Kinesisk, sammendrag på engelsk)

ii) "A safety assessment of feeding rats and quails with cotton-seed meal from transgenic plants". I sammendraget sier de at i en 28-dagers fôringsstudie ble det ikke funnet noen

signifikante forskjeller med hensyn på vekt, fôrinntak, relative organvekter, GPT aktivitet, ureanitrogen eller patologiske funn. (Chen et al.1996), (Kinesisk, sammendrag på engelsk)

iii) ”Medical and biological assessment of the safety of genetically modified corn lines MON810 and GA21: a toxicological-biochemical study” I sammendraget vises det til at de har foretatt en studie på rotter som ble fôret med 3 gram maismel per rotte per dag i 6 måneder. Det er bare satt opp hvilke analyser som er gjort, ikke hva som er funnet. (Tutel’ian VA et al 2001)(Russisk, sammendrag på engelsk).

iv) ”Safety evaluation of genetically modified organisms (GMO) for a 90-day exposure in rats”. I en nittidagers studie på rotter, 10 kontroll og 15 GMO, som ble fôret med 5% genmodifiserte soyabønner, ble det ikke påvist forskjeller på fôrinntak, vanninntak, urinsammensetning (pH, protein, urobilinogen, bilirubin, glukose, ketoner, tetthet, blod), hematologi, serum biokjemi, absolutt og relativ organvekter (14 organer) og histopatologiske funn (Kim et al. 2001)(Koreansk, sammendrag og tabeller på engelsk).

Fôringsforsøk på husdyr.

Det er gjort en rekke fôringsforsøk for å undersøke om fôrkvaliteten til GM-planter har samme fôr kvalitet som umodifisert fôr. Disse fôringsforsøkene er gjort på forskjellige husdyr, som sau, gris, stut, melkekuer etc. Ved slike fôringsforsøk vurderes risiko for det dyret som skal spise fôret, men også en indirekte risiko for de som spiser produktene fra dyrene, for eksempel kjøtt, melk og egg. Flere av disse fôr kvalitetsstudiene er av lengre varighet, for eksempel gressende kuer i 126 dager på Bt-mais. Resultater fra slike studier tyder på at GM-planter har samme fôrverdi som umodifiserte planter, og at kjøtt, melk og egg fra dyr fôret med GM-planter ikke er forskjellige fra kjøtt, melk og egg fra dyr fôret med det tradisjonelle motstykket. (Faust 2001).

Referanser til slike fôr kvalitetsforsøk finnes i rapporten fra ILSI, (The International Life Sciences Institute) International Food Biotechnology Committee publikasjonsoversikt ”International documents and scientific publications on plant biotechnology and the safety assessment of food products derived from plant biotechnology”, utgitt august 2002, side 60-68.

Konklusjon

I denne gjennomgangen har vi tatt for oss forsøk med genmodifiserte organismer utført på dyr.

Mat som skal testes i toksikologiske dyreforsøk må være i den form som mennesker spiser den. Mange toksiner, for eksempel fytohemagglutiner, trypsinhemmere etc. inaktiveres ved koking, mens de er toksiske i rå tilstand. Rå soyabønner kan for eksempel kun fôres til rotter i mengder som er lik eller mindre enn 10% i fôret. For å unngå en mangelfull ernæringsmessig testdiett er en detaljert vurdering som dekker både innhold av komponenter og biotilgjengelighet av makro- og mikrokomponenter i dietten essensiell før langtidstoksikologistudier startes opp. I de fleste av forsøkene som er gjengitt er dietten balansert i henhold til visse kriterier. Unntak er forsøkene utført av Pusztai et al. (1998) hvor dietten med poteter hadde lavt proteininnhold.

Fôring med enkeltkomponenter, for eksempel innsatte proteiner, er enklere å designe enn studier på hel mat. Vanlige retningslinjer for toksikologisk testing vil vanligvis kunne følges. WHO/FAO (2000) sier at der det er nødvendig å benytte toksikologiske studier for å vurdere tryggheten av langtidskonsum av hel mat, er det et minimumskrav at 90 dagers subkronisk studie benyttes for å vise at gjentatt matvarekonsum av den genmodifiserte matvaren er trygg. EUs Scientific Committee on Food sier også i et "Preliminary Guidance" dokument at for matvarer der det er tvil om likhet til det tradisjonelle motstykket skal hele GM mat/fôr testes i 90 dagers fôringsstudie på gnagere. Fire av studiene er utført med 91- og 180 dagers fôringsforsøk, henholdsvis Noteborn et al (1996), Pusztai (1998) (kun kokt potet), Tutel'ian et al (2001) og Kim et al (2001). I tre av disse forsøkene kunne det ikke påvises toksikologiske eller histopatologiske abnormiteter. I sammendraget av den russiske studien er det ikke nevnt hvilke funn som er gjort.

Faggruppen for GMO i Vitenskapskomiteen for mattrygghet er av den oppfatning at dersom fôringsstudier på dyr av hele matvarer er nødvendig, vil subakutte studier (av 10-28 dagers varighet) på pattedyr være lite egnet til å påvise toksikologiske eller histopatologiske endringer hos dyrene. Slike studier bør bare brukes som en innledning til langtidsstudier for å sikre at fôret er av en slik beskaffenhet at dyrene aksepterer det og at kontrolldietten inneholder like mengder av det tradisjonelle motstykket.

Det er oftest ikke mulig å generalisere konklusjoner/funn fra en undersøkelse av en genmodifisert organisme til en annen. Hver enkel genmodifisert organisme må derfor vurderes/undersøkes for seg.

REFERANSER

- ACNFP-1994, "Review of the safety of glyphosate tolerant soybeans" by Monsanto, July 27, 1994. (ACNFP = UK-Advisory committee on novel foods and processes).
- Betz, F.S., B.G. Hammond and R.L. Fuchs (2000) Safety and Advantages of *Bacillus thuringiensis*-Protected Plants to Control Insect Pests. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 32:156-173
- Chen, S., Huang, J., Zhou, B., Ni, W., Zhang, Z., Shen, X., Xu, Y., Gu, L., Li, S., (1996) A safety assessment of feeding rats and quails with cotton-seed meal from Bt-transgenic cotton plants. *Jiangsu J. Agri. Sci.* 12(2), 17-22.
- Cover note C96-05: Markedsføring av genmodifisert mais MON 809, C/F/95/12-01/B
- EPA (1997) Glyphosate Oxidoreductase and the Genetic Material Necessary for Its Production in All Plants; Exemption From Tolerance Requirement On All Raw Agricultural Commodities
- EPA (2001) *Bacillus thuringiensis* Plant-Incorporated Protectants
Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki Cry1Ac Delta-Endotoxin and Its Controlling Sequences as Expressed in Cotton (006445)
Bacillus thuringiensis subspecies tolworthi Cry9C Protein and the Genetic Material Necessary for Its Production in Corn (006466)
- Ewen, Stanley W B and Arpad Pusztai (1999). Effect of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine, *Lancet*, Vol. 354, No. 9187, 1353-1354.
- FAO/WHO (2001) Evaluation of allergenicity of genetically modified food.
- Fares, N.H. and El-Sayed, A.K. (1998) Fine structural changes in the ileum of mice fed on delta-endotoxin-treated potatoes and transgenic potatoes. *Natural Toxins* 6, 219-233.
- Faust, M.A. (2001) Biotech feeds undetectable in food products. *ISB News Report*, January, 9-11.
- Guillén I I, Berlanga J, Valenzuela CM, Morales A, Toledo J, Estrada MP, Puentes P, Hayes O, de la Fuente J., (1999). Safety Evaluation of Transgenic Tilapia with Accelerated Growth. *Mar. Biotechnol.* 1(1):2-14.
- Hammond BG, Vicini JL, Hartnell GF, Naylor MW, Knight CD, Robinson EH, Fuchs RL, Padgett SR., (1996) The feeding value of soybeans fed to rats, chickens, catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance. *J Nutr*;126(3):717-727.
- Hashimoto W, Momma K, Yoon HJ, Ozawa S, Ohkawa Y, Ishige T, Kito M, Utsumi S, Murata K., (1999), Safety assessment of transgenic potatoes with soybean glycinin by feeding studies in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* Nov;63(11):1942-1946
- Humphrey BD, Huang N, Klasing KC., (2002) Rice expressing lactoferrin and lysozyme has antibiotic-like properties when fed to chicks. *J Nutr*, 132(6):1214-1218
- Kim, T-Y., Che, J-H., Cho, S-D., Kang, K-S., Lee, Y-S. (2001) Safety evaluation of genetically modified organisms (GMO) for a 90-day exposure in rats. *J. Toxicol. Pub. Health*, 17(1), 49-57.
- Noteborn, H.P.J.M., Bienenmann-Ploum, M.E., van den Berg, J.H.J., Alink, G.M., Zolla, L., Raynaerts, A., Pensa, M. and Kuiper, H.A. (1995) Safety assessment of the *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal protein CRYIA(b) expressed in transgenic tomatoes. In: *ACS Symposium series 605 Genetically Modified Foods - Safety Issues*, Eds. Engel, K.H, Takeoka, G.R. and Teranishi, R. Chapter 12, 135-147. American Chemical Society, Washington, D.C.
- Memorandum, (1994), Summary of Consultation with Calgene, Inc. Concerning FLAVR SAVR Tomatoes, May 17, 1994, HFS-206 to HFS-200.

Momma K, Hashimoto W, Yoon HJ, Ozawa S, Fukuda Y, Kawai S, Takaiwa F, Utsumi S, Murata K. (2000), Safety assessment of rice genetically modified with soybean glycinin by feeding studies on rats. Research Institute for Food Science, Kyoto University, Uji, Japan. *Biosci Biotechnol Biochem Sep*;64(9):1881-1886

Murray-Kolb LE, Takaiwa F, Goto F, Yoshihara T, Theil EC, Beard JL., (2002) Transgenic rice is a source of iron for iron-depleted rats., *J Nutr*, 132(5):957-960.

Nordlee, J.A., Taylor, S.L., Townsend, R., Thomas, L.A., Bush, R.K., (1996) Identification of a Brazil-nut allergen in transgenic soybeans. *New Engl. J. Med.* 334, 688-692.

NOU 2000: 29, GMO-mat. Helsemessige konsekvenser ved bruk av genmodifiserte næringsmidler og næringsmiddelingsredienser.

Pusztai A (1998) SOAFED flexible fund project RO818. (Rapport sendt Folkehelseinstituttet fra Rowett Research Institute, Skottland).

Pusztai, A., Grant, G., Bardocz, S., Alonso, R., Chrispeels, M.J., Schroeder, H.E., Tabe, L.M. and Higgins, T.J.V. (1999) Expression of the insecticidal bean alpha-amylase inhibitor transgene has minimal detrimental effect on the nutritional value of peas fed to rats at 30% of the diet. *J. Nutr.* 129, 1597-1603.

Tutel'ian VA, Kravchenko LV, Sorokina Elu, Korolev AA, Avren'eva LI, Guseva GV, Chernysheva ON, Tyshko NV. (2001) [Medical and biological assessment of the safety of genetically modified corn lines MON 810 and GA 21: a toxicological-biochemical study], *Vopr Pitan*;70(3):28-31[Article in Russian]

Vazquez-Padron, R.I., Gonzales-Cabrera, J., Garcia-Tovar, C., Neri-Bazan, L., Lopez-Revilla, R., Hernandez, M., Moreno-Fierro, L., de la Riva, G.A., (2000) Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* sp. kurstaki HD73 binds to surface proteins in the mouse small intestine. *Biochemical & Biophysical Research Communications.* 271:54-58.

Vazquez-Padron, R.I., Moreno-Fierro, L., Neri-Bazan, L., Martinez-Gil, A.F., de la Riva, G.A., Lopez-Revilla, R., (2000b) Characterization of the mucosal and systemic immune response induced by Cry1Ac protein from *Bacillus thuringiensis* HD 73 in mice. *Brazilian Journal of Medical & Biological Research.* 33(2):147-155.

Vazquez-Padron, R.I., Moreno-Fierro, L., Neri-Bazan, L., de la Riva, G.A., Lopez-Revilla, R., (1999) *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac Protoxin is a Potent Systemic and Mucosal Adjuvant. *Scandinavian Journal of Immunology.* 49: 578-584.

Vazquez-Padron, R.I., Martinez-Gil, A.F., Ayra-Pardo, C., Gonzalez-Cabrera, J., Prieto-Samsonov, D.L., de la Riva, G.A., (1998) Biochemical characterization of the third domain from *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxins. *Biochemistry & Molecular Biology International.* 45(5):1011-1020.

Wang, Y., Lai, W., Chen, J., Mei, S., Fu, Y., Hu, X., and Zhang, W., (2000) Toxicity of anti-herbicide (BAR) transgenic rice. *J. Hyg. Res.* 29(3), 141-142.

WHO/FAO 2000, Safety aspects of genetically modified foods of plant origin.