



Kan genmodifisert mais gi kreft og andre sykdommer hos rotter?

Vitenskapelig vurdering av studiet:

“Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize”
publisert i *Food and Chemical Toxicology* av Seralini et al. (2012).

Genøk har som et nasjonalt kompetansesenter for biosikkerhet mål om å bidra til sikrere bruk av bioteknologi gjennom uavhengig og helhetlig forskning og analyse.

Food and Chemical Toxicology xxx (2012) xxx–xxx



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Food and Chemical Toxicology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodchemtox



Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize

Gilles-Eric Seralini^{a,*}, Emilie Clair^a, Robin Mesnage^a, Steeve Gress^a, Nicolas Defarge^a,
Manuela Malatesta^b, Didier Hennequin^c, Joël Spiroux de Vendômois^a

^a University of Caen, Institute of Biology, CRIIGEN and Risk Pole, MRSH-CNRS, EA 2608, Esplanade de la Paix, Caen Cedex 14032, France

^b University of Verona, Department of Neurological, Neuropsychological, Morphological and Motor Sciences, Verona 37134, Italy

^c University of Caen, UR ABTE, EA 4651, Bd Maréchal Juin, Caen Cedex 14032, France

Fagrapport skrevet av

Thomas Bøhn, Dr. scient.
Seniorforsker, GenØk-Senter for biosikkerhet
Professor i genøkologi, Universitetet i Tromsø

Terje Traavik, Dr. philos.
Seniorrådgiver, GenØk-Senter for biosikkerhet
Professor i genøkologi, Universitetet i Tromsø

Januar 2013



Sammendrag

Et nylig publisert fôringsstudie (<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.08.005>) med den genmodifiserte (GM) mais-planten NK603 legger frem data som indikerer økt forekomst av kreft og andre sykdomstilstander hos rotter. Dette studiet har resultert i en opphetet diskusjon i flere europeiske land.

Det er nå viktig å evaluere studiet med hensyn på vitenskapelig validitet. Det eneste tidligere publiserte rotte-fôringsstudiet med NK603 er gjennomført av produsenten og strakte seg over 90 dager og rapporterte ingen negative funn (Hammond et al. 2004). Dette tidsrommet dekker bare en liten del (10-15 %) av rotters forventede levetid. Det nye studiet dekker det meste av laboratorierotters forventede livsløp på ca. 2 år. Negative helseeffekter ble i Seralinis studie observert i rotter fôret med GM mais og rotter eksponert for Roundup sprøytemiddel, men først *etter* at fôring/eksponering hadde pågått lenger enn 90 dager. Begge studier var basert på samme rottetype.

En svakhet med Seralinis studie er at antall dyr i de forskjellige forsøksoppsettene er for lavt til at det kan konkluderes med statistisk sikkerhet at økt dødelighet og kreft er assosiert med inntak av GM mais. Det er også blitt påpekt at det ble brukt rotter av en type som lettere utvikler kreftsykdom, men disse er vanlige i 90 dager-studier.

Resultatene er urovekkende da tidligere studier på 90 dager kan ha hatt for kort tidshorisont, og disse kan følgelig ha gått glipp av viktige effekter. Det bør hurtigst mulig settes ressurser inn på å etterprøve de funn Seralinis gruppe har publisert.

For å trygge mat- og førsikkerheten bør livsløpsstudier inkluderes i de risikovurderinger og uttestinger som blir gjort før produkter fra GM planter tillates markedsført.



Bakgrunn

Mais er en viktig del av kostholdet i mange kulturer, men utgjør kun en liten andel av kostholdet i Norge. Til fôr for fisk og husdyr er andelen plantemateriale, også fra mais, økende. GM mais vil ved eventuell godkjenning bli spist av mennesker og dyr hele livet. Derfor er det viktig at fôringsstudiene som skal teste plantene er basert på kronisk eksponering over tid.

Mange GM planter søkes nå godkjent for det europeiske markedet, inkludert det norske. Dette gjelder særlig mais, raps og soya. Den omtalte maislinjen NK603 ble i år 2000 godkjent i USA, og har vært godkjent til mat og fôr i EU siden 2004. Vitenskapskomiteen for Mattrygghet (VKM) og Direktoratet for Naturforvaltning (DN) anbefalte i 2008 godkjenning av NK603, til bruk som mat og fôr i Norge, og er nå til behandling hos Miljøverndepartementet.

Gilles-Eric Seralini og hans gruppe har publisert flere artikler angående toksisiteten til Roundup (Gasnier et al. 2009; Benachour and Seralini 2009) og fôringskvaliteten av GM maisplanten NK603 (de Vendomois et al. 2009). Seralini-gruppen har videre publisert et oversikts-arbeid (basert på 19 tidligere publiserte fôringsforsøk med GM planter) der de viser til at lever og nyre ofte er påvirket, hvilket *indikerer påbegynt kronisk sykdom* (Seralini et al. 2011). Siden 90 dager ikke utgjør mer enn 10-15 % av en rottes forventede levetid har Seralini og andre etterlyst oppfølgende livsløpsstudier i relevante forsøksdyr. Det er en slik studie som nå er gjennomført ved at rotter har blitt føret med NK603 mais daglig gjennom 2 år (Seralini et al. 2012).

Hva er NK603 mais?

NK603 er en av Monsanto's "Roundup Ready" maislinjer. Frøene selges som "en pakke", sammen med sprøytemiddelet Roundup. Glyfosat er den aktive, ugressdrepende substansen i Roundup. Glyfosat dreper alle slags planteceller ved å binde seg til og inaktivere EPSPS, et planteenzym som er nødvendig for produksjon av viktige aminosyrer.

NK603 har fått satt inn to kopier av et bakterie-gen kalt *cp4-epsps* i sitt genom. De to genkopiene kontrolleres av hver sin promotor. Den ene er en "forsterket" CaMV 35S promotor (se Myhre et al 2006), den andre er en actin promotor fra ris.

I følge Center for Environmental Risk Assessment (CERA) (2013) er det påvist noen "anomalier" for det transgene NK603-genomet: i) Et mindre "snudd" transgen-fragment; ii) Endring av to nukleotider i ett av de to transgenene. Dette medfører uttrykk av et protein som inneholder en annen aminosyre enn i det opprinnelige protein. Dette proteinet kalles CP4 EPSPS L214P for å skille det fra det opprinnelige (Hammond et al. 2004); iii) Integrasjon av et kloroplast DNA-fragment i cellens genom. Dette er eksempler på såkalte "ikke-tilsiktede" endringer i planten.

NK603 ble utviklet på basis av en "gen-kanon" (biolistics) basert innskyting i maisceller av et transgen konstruert som inneholdt begge genkopiene. Når transgenet uttrykkes får plantecellene



tilført CP4 EPSPS. Dette proteinet bindes til glyfosat i langt mindre grad, og gir derved planten toleranse mot glyfosatbehandling. Dyrking av NK603 vil derfor føre til økt forbruk av glyfosat og Roundup. Ved å sprøyte med glyfosatholdige sprøytemidler (Roundup), kan en bli kvitt ugress uten å skade den genmodifiserte kulturplanten. Siden ugressplanter kan utvikle resistens mot glyfosat, kan bruk av NK603 og andre sprøytemiddeltolerante GM planter føre til økt bruk og effekter av glyfosat og Roundup. Per i dag er 24 arter av ugress med resistens mot glyfosat registrert i en internasjonal database (www.weedscience.org)

De siste årene har det blitt publisert artikler som indikerer negative effekter av glyfosat for flere organismetyper, inkludert pattedyr, blant annet kjønnshormonforstyrrende effekter (se for eksempel Gasnier et al 2009 og referanser i denne). Komplette Roundup viser typisk kraftigere effekter enn rent glyfosat (Cuhra et al. 2012).

Fôringsforsøk

Tidligere er det publisert to fôringsstudier med NK603 i USA. Harrison et al. utførte forsøk i mus med EPSPS proteiner. Musene ble sondeført en eneste gang med renset protein, i høy dose, og ble avlivet 8 eller 9 dager senere. Det dreier seg altså om forsøk hvor man ønsker å observere om EPSPS proteinet fører til akutte effekter og symptomer. Det ble ikke utført immunsystem-relaterte analyser av dyrene, men på grunnlag av ekstrapoleringer resonnerer man seg til at CP4 EPSPS ikke medfører allergi-bekymringer. Artikkelens tittel indikerer at musene eksponeres for CP4 EPSPS slik det uttrykkes i glyfosat-tolerante soyabønner. Men dette er ikke tilfelle: Dyrene føres utelukkende med et bakterielt, renset EPSPS protein. Konklusjonen som trekkes er at glyfosattolerante planter er like trygge og næringsrike som tradisjonelle soyabønner på markedet ("glyphosate-tolerant soybeans are as safe and nutritious as traditional soybeans currently being marketed.") (Harrison et al. 1996).

Hammond et al. har i sine fôringsforsøk med NK603 anvendt samme rottetype som Seralini et al. har brukt i sin studie. Det er tre viktige forskjeller i forsøksoppleggene for Seralini og Hammond et al. (2004):

- i) Hammond et al. avslutter forsøket etter 13 uker (91 dager), mens Seralini et al. avslutter etter 2 år;
- ii) Hammond et al. har foretatt Roundup sprøyting under vekstsesongen til de NK603 plantene som inngår i forsøket, men angir at plantematerialet *ikke* inneholder glyfosat ("below detection limits"). Seralini et al. bruker både sprøytet og usprøytet NK603, og har i tillegg separate grupper som fikk Roundup i drikkevannet (3 ulike doser). Dette for å kunne skille ulike effekter fra GM plante og sprøytemiddel fra hverandre. Begge studier har umodifisert mais som kontrollgruppe;
- iii) Seralini-studien tester 3 ulike doser GM mais (11, 22 og 33 %) med 10 dyr i hver gruppe, mens Hammond tester 2 ulike doser (11 og 33 %) med 20 dyr i hver gruppe.

Resultater beskrevet i Seralinis artikkel

Den nylig utgitte artikkelen, publisert i tidsskriftet *Food and Chemical Toxicology* (Impact Factor = 3.0) er utført i tråd med retningslinjer fra OECD (no. 408, som gjelder toksikologiske studier av fôr og kjemiske substanser) med den uttalte intensjonen å påvise eller avkrefte toksikologiske effekter av NK603 i mat og fôr hos rotter. Studien viser til følgende resultater:

1. Rotter utviklet alvorlige helseskader ved fôring med 11-33 % mais av NK 603, i livsløpsstudier (over to år).
2. Helseskadene inkluderte økt dødelighet og høyere antall svulster observert (figurer 1 og 2). For eksempel hadde n=30 rotter (17 hanner + 13 hunner) utviklet permanente svulster før dette ble observert i kontrollgruppene. Indikasjoner på nyre- og leverskader ble tolket utfra overrepresentasjon av anatomiske organpatologier (Tabell 2) og endrede blodparametere (Figur 5 og Tabell 3). Effekter ble funnet hos dyr som ble fôret med ulike doser av GM mais (11 %, 22 % og 33 % av dietten). Det ble ikke observert sterkere effekter av høyere doser med GM mais (ikke positiv dose-respons sammenheng).
3. Effekter ble funnet i grupper som hadde spist GM mais, både når plantene var sprøytet og når de ikke var sprøytet med Roundup.
4. Effekter ble også funnet i grupper som ble gitt svært lave doser av sprøytemiddelet Roundup i vannet de drakk (konsentrasjon 0.1 ppb = 1/10 av en milliard-del – tilsvarende toleransegrensen i EU). Ved økte konsentrasjoner (svært høye, 400 ppm og 2250 ppm) av Roundup ble det ikke observert kraftigere effekter enn ved lav konsentrasjon (ikke positiv dose-respons sammenheng).
5. De kjønnsavhengige effektene settes av forfatterne i sammenheng med hormon-relaterte endringer som kan være forårsaket både av sprøytemiddelet Roundup (fra rester i GM plantene, eller i drikkevannet) og av GM planten i seg selv (selve transgenet eller uforutsette endringer i GM planten).

Vitenskapelige svakheter i Seralinis artikkel

1. Kontrollgruppene var på 20 dyr totalt (10 hanner + 10 hunner), i tråd med retningslinjer fra OECD (no. 408) for toksikologiske studier. Dette er likevel for få dyr for å gjøre valide statistiske sammenligninger mellom de enkelte testgruppene mot kontrollen, særlig for mortalitet og forekomst av svulster. Fullverdige studier av kreftutvikling krever i følge OECD (no. 451) n=50 dyr i hver gruppe. For blodparametere (som vanligvis måles på 10 individer) er studiedesignet i tråd med tidligere utførte fôringsstudier (cf. Hammond et al. 2004).
2. Noen viktige konklusjoner (for dødelighet og svulster) er basert på funn i enkeltindivider heller enn på testing av statistiske forskjeller.
3. Immunologiske undersøkelser er ikke inkludert i studiet, men det er heller ikke tilfelle for de to Monsanto-studiene.

4. Data fra forsøkene bør umiddelbart frigis for videre analyser. Det samme kravet må gjøres gjeldende alle relevante data fra produsentene, slik at sammenlignende undersøkelser kan utføres.
5. Studiet bruker rotter av en type som lett utvikler kreftsykdom.
6. Det kan stilles dyreetiske spørsmål til å la dyr utvikle langt fremskredne svulster.

Vitenskapelige styrker i Seralinis artikkel

7. Studiet utvider eksponeringstiden i forhold til OECDs retningslinjer (fra 90 til 600 dager). At negative helseeffekter kommer til syne først etter standard-tidsrommet for testing i rotter (90 dager), indikerer en urovekkende svakhet ved gjeldende risikovurderinger og test-regimer. Langtidsstudier er nødvendige for å kunne fange opp mulige kroniske, akkumulative og synergistiske effekter samt sårbare grupper eller livsstadier.
8. Studiet vurderer både GM planten og sprøytemiddelet som er bruksmessig forbundet med den, samt kombinasjoner av disse, på en rekke parametere.
9. Studiet opprettholder standarden til OECD (408) ved å teste 3 ulike doser. De fleste 90 dagers studier holder en lavere standard, f.eks. Hammond et al (2004) har kun 2 ulike doser. Det nye studiet kan derfor identifisere dose-respons sammenhenger (som ikke ble funnet).
10. Studiet er realistisk og relevant for kronisk alimentær eksponering over tid, hvilket tilsvarer det påtenkte bruksområdet for denne GM planten.
11. Samme rotte-type ble brukt i 90-dagers fôringsstudiet til Monsanto (Hammond et al. 2004) og er derfor det naturlige sammenligningsgrunnlaget for toksikologiske parametre.

Konklusjon

Det nye studiet fra Seralinis forskningsgruppe presenterer urovekkende resultater som indikerer alvorlige langtidshelseeffekter hos rotter etter fôring med NK603 mais både med og uten det tilhørende Roundup-sprøytemiddelet. Det er knyttet usikkerhet til studiet, da noen viktige observasjoner ikke kan belegges med nødvendig vitenskapelig sikkerhet. Studiet representerer et første skritt, snarere enn en endelig konklusjon vedrørende potensielle virkninger og effekter av NK603 mais.

Testing av GM planter til mat og fôr bør være basert på livsløpsstudier. Regulerende myndigheter bør legge forholdene til rette for at relevant forskningsmateriale fra produsentene stilles til rådighet for uavhengige studier.



Referanser

Benachour, N. and Seralini, G. E. 2009. Glyphosate Formulations Induce Apoptosis and Necrosis in Human Umbilical, Embryonic, and Placental Cells. - Chemical Research in Toxicology 22: 97-105.

CERA (2013). GM crop database. NK603 (http://www.cera-gmc.org/?action=gm_crop_database&mode=ShowProd&data=NK603). (Tilgang 2. Januar 2013)

Cuhra, M., Traavik, T. and Bøhn, T. 2012. Clone- and age-dependent toxicity of a glyphosate commercial formulation and its active ingredient in *Daphnia magna*. - Ecotoxicology (published online 06 December 2012, DOI 10.1007/s10646-012-1021-1)

de Vendomois, J. S., Roullier, F., Cellier, D. and Seralini, G. E. 2009. A Comparison of the Effects of Three GM Corn on Mammalian Health. - International Journal of Biological Sciences 5: 706-721.

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

Hammond B et al. 2004. Results of a 13 week safety assurance study with rats fed grain from glyphosate tolerant corn. Food and Chemical Toxicology 42: 1003-1014

Harrison LA et al. 1996. The expressed protein in glyphosate-tolerant soybean, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp strain CP4, is rapidly digested in vitro and is not toxic to acutely gavaged mice. Journal of Nutrition 126: 728-740, 1996

Myhre, M. R., Fenton, K. A., Eggert, J., Nielsen, K. M. and Traavik, T. 2006. The 35S CaMV plant virus promoter is active in human enterocyte-like cells. - European Food Research and Technology 222: 185-193.

Seralini, G. E., Clair, E., Mesnage, R., Gress, S., Defarge, N., Malatesta, M., Hennequin, D. and Vendômois, J. S. 2012. Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. - Food and Chemical Toxicology <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.08.005>.

Seralini, G. E., Mesnage, R., Clair, E., Gress, S., Vendômois, J. S. and Cellier, D. 2011. Genetically modified crops safety assessments: present limits and possible improvements. - Environmental Science Europe 23: 1-10.