

BfR-Kommission für genetisch veränderte Lebens- und Futtermittel*

Gentransfer aus Futterpflanzen auf höhere Tiere

Stellungnahme der „BfR-Kommission für genetisch veränderte Lebens- und Futtermittel“ vom 17. März 2011

1 Anlass

Wissenschaftliche Publikationen wie die zuletzt von Tudisco *et al.* (2010) in der Zeitschrift „Animal“ veröffentlichte Studie mit dem Titel „*Fate of transgenic DNA and evaluation of metabolic effects in goats fed genetically modified soybean and in their offsprings*“ lösen immer wieder Diskussionen aus über eine mögliche Gefährdung der Gesundheit von Mensch und Tier durch den Verzehr von Lebens- und Futtermitteln aus gentechnisch veränderten Organismen (GVO). Dies war Anlass für die BfR-Kommission¹ für genetisch veränderte Lebens- und Futtermittel, sich am Beispiel dieser Studie mit der Thematik des Gentransfers und dessen potenziellen Auswirkungen zu befassen.

2 Gegenstand der Bewertung

Die der Veröffentlichung von Tudisco *et al.* (2010) zugrunde liegende Fütterungsstudie wurde mit jeweils 10 trächtigen Ziegen je Test- und Kontrollgruppe durchgeführt. Die Tiere erhielten zwei Monate vor der Geburt ihrer Nachkommen bis zwei Monate danach Futter mit Sojaschrot aus gentechnisch veränderten bzw. konventionellen Sojabohnen in zunehmender Konzentration. Jeweils 10 der männlichen Nachkommen jeder Gruppe wurden ausgewählt und zwei Monate lang mit der Milch der Muttertiere gesäugt.

Mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) wurden bei der Mehrzahl der Muttertiere sowohl in der Test- als auch in der Kontrollgruppe über den gesamten Untersuchungszeitraum kurze Fragmente eines in hoher Kopienzahl in Pflanzen vorkommenden Chloroplastengens im Blut und während der Laktationsphase auch in der Milch gefunden. Ab dem dreißigsten Tag wurden bei etlichen dieser Muttertiere aus beiden Gruppen auch Fragmente des nur in einer Kopie im Sojabohnengenom vorliegenden Lektins sowie bei Muttertieren der Testgruppe auch Fragmente des aufgrund der gentechnischen Veränderung in das Sojabohnengenom inserierten cp4 ϵ psps-Gens und des 35S-Promotors nachgewiesen. In den positiv auf Chloroplasten-Fragmente getesteten Zicklein wurden in Blut, Muskel, Niere, Leber, Milz und Herz bei etwa der Hälfte der Tiere in beiden Gruppen Lektin-Fragmente sowie bei denen der Testgruppe auch Fragmente der rekombinanten Gene gefunden.

Des Weiteren wurden die Aktivitäten spezifischer Enzyme in Proben von Muskel, Niere, Leber und Herz der Zicklein bestimmt. Im Vergleich zu den Zicklein der Kontrollgruppe wurde bei denen der Testgruppe eine höhere Aktivität der Laktat-Dehydrogenase (LDH) in Herz-, Nieren- und Skelettmuskelgewebe gefunden. Im Nierengewebe wurde außerdem ein Anstieg der Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) gefunden. Im Serum der Zicklein, ebenso wie im

¹ Die Erstellung der Stellungnahme beschloss die BfR-Kommission auf ihrer 4. Sitzung am 30. November 2011, http://www.bfr.bund.de/cm/343/4_sitzung_der_bfr_kommission_fuer_genetisch_veraenderte_lebens_und_futtermittel.pdf

* Die BfR-Kommissionen setzen sich aus externen, unabhängigen Sachverständigen zusammen. Die Stellungnahmen der BfR-Kommissionen müssen nicht der Meinung des BfR entsprechen.

Serum der Muttertiere, wurden zwischen den Tieren aus der Test- und der Kontrollgruppe keine Unterschiede in den LDH- und GGT-Werten festgestellt. Auch die Körper- und Organ-gewichte der Zicklein aus beiden Gruppen unterschieden sich nicht.

3 Ergebnis

Die Kommission kam nach kritischer Prüfung der Veröffentlichung von Tudisco *et al.* (2010) zu der Einschätzung, dass sich aus der Studie keine neuen Erkenntnisse hinsichtlich eines Transfers rekombinanter DNA aus gentechnisch veränderten Pflanzen auf höhere Tiere und dessen potentielle Auswirkungen ableiten lassen. Der Übergang und der vorübergehende Verbleib von mit der Nahrung aufgenommenen DNA-Fragmente in Gewebe von Tieren ist ein natürlicher Vorgang. Ein *per se* höheres Risiko durch rekombinante DNA-Sequenzen aus gentechnisch veränderten Pflanzen ergibt sich hieraus nicht.

4 Begründung

Bei Mikroorganismen ist der Transfer funktioneller Gene ein natürlicher Vorgang und wesentlicher Faktor der Evolution. Ein solcher, als horizontaler Gentransfer (HGT) bezeichneter Vorgang kann auch zwischen Pflanzen und Mikroorganismen nicht ausgeschlossen werden. Die aus Experimenten im Labor abgeleitete Wahrscheinlichkeit eines HGT unter natürlichen Bedingungen ist jedoch sehr gering (Brigulla und Wackernagel, 2010). Für einen HGT von pflanzlicher DNA auf höhere Tiere gibt es bislang keinen Nachweis.

Erste Untersuchungen an Mäusen haben gezeigt, dass oral aufgenommene fremde DNA, in diesem Fall mit oder ohne Nahrung zugeführte M13-Phagen-DNA, nicht vollständig im Magen abgebaut wird. Bis zu 4 % der oral zugeführten Phagen-DNA wurde im Verdauungstrakt der Tiere nachgewiesen. Bis zu 0,1 % der Phagen-DNA wurde in Form kurzer DNA-Fragmente (bis zu 472 bp) zudem in Blutzellen und im Serum der Tiere im Zeitraum von zwei bis sieben Stunden nach der Fütterung gefunden (Schubbert *et al.*, 1994).

Auch der Transfer kurzer Fragmente oral aufgenommener fremder DNA über die Plazenta-Schranke hinweg in Zellcluster verschiedener Gewebe einiger der Nachkommen wurde bereits in einer Studie an trächtigen Mäusen nachgewiesen. Daraus leiteten die Autoren der Studie ab, dass es sich dabei nicht um einen Transfer der DNA-Fragmente über die Keimbahn handeln könne (Schubbert *et al.*, 1998). Diese Vermutung wurde durch die Ergebnisse einer Mehrgenerationenstudie an Mäusen bestätigt, in der trächtigen Tieren über acht Generationen täglich Plasmid-DNA oral zugeführt wurde. In den untersuchten Geweben ihrer Nachkommen wurde keine Plasmid-DNA gefunden. Daraus schlossen die Autoren der Studie, dass die Zellen der Keimbahn gegen das Eindringen fremder DNA geschützt sind (Hohlweg und Doerfler, 2001).

Der von Tudisco *et al.* (2010) gezeigte Übergang von Fragmenten der mit der Nahrung aufgenommenen pflanzlichen DNA in Gewebe von höheren Tieren ist ebenfalls nicht neu. Die Autoren selbst verweisen auf Studien an Schweinen (Reuter und Aulrich, 2003), Broilern (Tony *et al.*, 2003) und Kaninchen (Tudisco *et al.*, 2006), in deren Geweben Fragmente aus Chloroplasten-Genen, die in hoher Kopienzahl in Pflanzen vorkommen, gefunden wurden. Sie schließen daraus, dass der Transfer von Genfragmenten aus pflanzlicher Nahrung in tierische Gewebe ein natürliches Ereignis darstellt. Die Autoren weisen auch auf die Detektion von Chloroplasten-Genfragmenten in der Milch von Kühen (Phipps *et al.*, 2003) und in Geweben der Nachkommen von Schafen (Laudadio *et al.*, 2006) hin.

Spuren rekombinanter DNA-Fragmente aus pflanzlichen Futtermitteln waren auch bereits in Geweben von Schweinen nachgewiesen worden (Mazza *et al.*, 2005; Sharma *et al.*, 2006). Neu an der Studie von Tudisco *et al.* (2010) ist der Nachweis rekombinanter Genfragmente aus gentechnisch verändertem Pflanzenmaterial in der Milch und in Geweben der damit gesügten Nachkommen. Die Autoren stellen jedoch fest, dass der bloße Nachweis rekombinanter DNA-Fragmente kein Grund zur Besorgnis hinsichtlich des Verzehrs von Produkten von Tieren ist, die mit gentechnisch verändertem Pflanzenmaterial gefüttert wurden. Sie verweisen auf Mazza *et al.* (2005), die es für unwahrscheinlich halten, dass ein mit gentechnisch veränderten Pflanzen assoziierter Gentransfer häufiger vorkommt als der aus konventionellen Pflanzen, und schließen daraus, dass mögliche Folgen eines DNA-Transfers von Lebensmitteln aus gentechnisch veränderten und vergleichbaren konventionellen Pflanzen sich nicht unterscheiden.

Bezüglich der Ergebnisse der Enzymanalysen räumen die Autoren selbst ein, dass es spekulativ wäre, die höhere LDH-Aktivität auf die Fütterung transgener Sojabohnen zurückzuführen. Sie stellen auch fest, dass es keinen wissenschaftlich begründeten Hinweis dafür gibt, dass ein lokaler Anstieg des LDH-Metabolismus bei nicht erhöhtem Serumlevel eine Gefahr für die Gesundheit darstellt. Die Autoren vermuten dennoch, dass die in mehr als einem Organ festgestellte Veränderung der LDH-Aktivität, ungeachtet der unveränderten Serumwerte, auf einen Anstieg des Zellmetabolismus mit möglichen Langzeitfolgen hindeuten könnte.

Aufgrund von Defiziten in der Konzeption dieser Fütterungsstudie sind die Ergebnisse der Untersuchungen jedoch nicht geeignet, diese Vermutung der Autoren zu belegen. So ist unklar, ob es sich bei der als Kontrolle verwendeten Sojabohnensorte um eine nahe isogene Vergleichslinie handelt. Darüber hinaus fehlen vergleichende Analysen der relevanten Inhaltsstoffe der Test- und der Kontrollsojabohnen. Die festgestellten Abweichungen in der LDH-Aktivität könnten daher auch durch Unterschiede in der Nährstoffzufuhr bedingt sein. Solche ernährungsbedingten Änderungen der LDH-Aktivität wurden z.B. von Gondret und Lebret (2002) beschrieben. Da die Untersuchungen keine zusätzlichen Kontrollgruppen einschlossen, die mit weiteren konventionellen Sojasorten gefüttert wurden, fehlen aber insbesondere Informationen zu den natürlichen Schwankungen der Enzymaktivitäten.

5 Schlussfolgerungen

Die wissenschaftlichen Arbeiten zum Nachweis fremder DNA-Sequenzen in tierischen Organen und Geweben zeigen:

- DNA ist ein natürlicher Bestandteil der Nahrung und hat in allen höheren Lebewesen die gleiche chemische Zusammensetzung. Rekombinante DNA ist chemisch äquivalent zu nicht gentechnisch veränderter DNA und wird im Organismus von Mensch und höheren Tieren nach denselben Prinzipien verstoffwechselt. Die mit der Nahrung aufgenommene DNA wird nicht vollständig abgebaut, geringe Mengen kurzer DNA-Fragmente überstehen den Verdauungsprozess und können von den Epithelzellen des Gastrointestinaltrakts absorbiert werden (McAllan, 1982; Schubbert *et al.*, 1994; Hohlweg und Doerfler, 2001).
- Kurze Fragmente der mit der Nahrung aufgenommenen pflanzlichen Gene können zeitweilig in Geweben bzw. Zellen von Tieren (Hohlweg und Doerfler, 2001; Klotz *et al.*, 2002; Reuter und Aulrich, 2003; Tony *et al.*, 2003) sowie in der Milch von Säugetieren (Einspanier *et al.*, 2001; Phipps *et al.*, 2003) und in den mit dieser Milch gesügten Nachkommen (Laudadio *et al.*, 2006; Tudisco *et al.*, 2006; Tudisco *et al.*, 2010) nachgewiesen werden.

- Rekombinante DNA-Fragmente aus transgenen Pflanzen wurden in tierischen Geweben (Mazza et al., 2005; Sharma et al., 2006) sowie in der Milch von Säugern und ihren Nachkommen (Tudisco et al., 2010) nachgewiesen.
- Die Detektion fremder Genfragmente in Zellen oder Geweben von Tieren ist abhängig von der Kopienzahl der Gene und der Sensitivität der Nachweismethode (Nemeth et al., 2004).
- Ein mit der Aufnahme von Genfragmenten aus der Nahrung verbundener horizontaler Gentransfer, der die dauerhafte Integration funktioneller Fremdgene in das Genom voraussetzt, wurde bei höheren Tieren bisher nicht beobachtet.

Die von Tudisco *et al.* veröffentlichte Studie bestätigt bereits publizierte Untersuchungsergebnisse zum Übergang kurzer Genfragmente aus der Nahrung in verschiedene Gewebe von Säugetieren und deren Nachkommen. Die biologische Relevanz der beobachteten höheren Enzym-Aktivitäten in bestimmten Organen kann ohne Kenntnis der natürlichen Schwankungsbreiten nicht beurteilt werden.

6 Referenzen

Brigulla, M. and Wackernagel, W. (2010) Molecular aspects of gene transfer and foreign DNA acquisition in prokaryotes with regard to safety issues. *Appl Microbiol Biotechnol* 86: 1027-1041

Gondret F, Lebret B. (2002) Feeding intensity and dietary protein level affect adipocyte cellularity and lipogenic capacity of muscle homogenates in growing pigs, without modification of the expression of sterol regulatory element binding protein. *J Anim Sci.* 80(12): 3184-93).

Einspanier, R., Klotz, A., Kraft, J., Aulrich, K., Poser, R., Schwägele, F., Jahreis, G., Flachowsky, G. (2001) The fate of forage plant DNA in farm animals: a collaborative case study investigating cattle and chicken fed recombinant plant material. *Eur Food Res Technol* 212: 129-134

Hohlweg, U. and Doerfler, W. (2001) On the fate of plant or other foreign genes upon the uptake in food or after intramuscular injection in mice. *Mol Genet Genomics* 265: 225-233

Klotz, A., Mayer, J., Einspanier, R. (2002) Degradation and possible carry over of feed DNA monitored in pigs and poultry. *Eur Food Res Technol* 214: 271-275

Laudadio, V., Petrera, F. Tudisco, R., Infascelli, F. (2006) Genetically modified soya bean in sheep feeding: detection of DNA fragments in suckling lambs. *Proceedings of 12th AAAP Animal Science Congress, 18-22 September, Bexco, Busan, Korea, pp. 3-6*

Mazza, R., Soave, M., Morlacchini, M. Piva, G. Marocco, A (2005) Assessing the transfer of genetically modified DNA from feed to animal tissues. *Transgenic Research* 14: 775-784

McAllen, A.B. (1982) The fate of nucleic acids in ruminants, *Proc. Nutr. Soc.* 41: 309-317.

Nemeth, A., Wurz, A., Artim, L., Charlton, S., Dana, G., Glenn, K., Hunst, P., Jennings, J., Shilito, R., Song, P. (2004) Sensitive PCR analysis of animal tissue samples for fragments of endogenous and transgenic plant DNA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 6129-6135

Phipps, R.H., Deauville, E.R., Maddison, B.C. (2003) Detection of transgenic and endogenous plant DNA in rumen fluid, duodenal digesta, milk, blood, and feces of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 86: 4070-4078

Reuter, T. and Aulrich, K. (2003) Investigations on genetically modified maize (Bt-maize) in pig nutrition: fate of feed-ingested foreign DNA in pig bodies. *European Food Research and Technology* 216: 185-192

Schubbert, R., Lettmann, C., Doerfler, W. (1994) Ingested foreign (phage M13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice. *Mol Gen Genet* 242: 495-504

Schubbert, R., Hohlweg, W., Renz, D., Doerfler, W. (1998) On the fate of orally ingested foreign DNA in mice: chromosomal association and placental transmission to the fetus. *Mol Gen Genet* 259: 569-576

Sharma, R., Damgaard, D., Alexander, T.W., Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Stanford, K., McAllister, T.A. (2006) Detection of transgenic and endogenous plant DNA in digesta and tissues of sheep and pigs fed Roundup Ready canola meal. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 54: 1699-1709

Tudisco, R., Lombard, P., Bovera, F., D'Angelo, D., Cutrignelli, M.I., Mastellone, V., Terzi, V., Avallone, L., Infascelli, F. (2006) Genetically modified soybean in rabbit feeding: detection of DNA fragments and evaluation of metabolic effects by enzymatic analysis. *Animal Science* 82: 193-199

Tudisco, R., Mastellone, Cutrignelli, M.I., V., Lombardi, P., Bovera, F., Mirabella, N., Piccolo, G., Calabrò, S., Avallone, L., Infascelli, F. (2010) Fate of transgenic DNA and evaluation of metabolic effects in goats fed genetically modified soybean and in their offsprings. *Animal* 4: 1662-1671

M. A. Tony, A. Butschke, H. Broll, L. Grohmann, J. Zagon, I. Halle, S. Dänicke, M. Schauzu, H. M. Hafez, and G. Flachowsky (2003) Safety assessment of Bt 176 maize in broiler nutrition: Degradation of maize-DNA and its metabolic fate. *Archives of Animal Nutrition-Archiv für Tierernährung* 57 (4):235-252