

**Am 09 Januar 2017 wurde eine wissenschaftliche Publikation (Mesnage et al 2017) mit dem Titel „Multiomics reveal non-alcoholic fatty liver disease in rats following chronic exposure to an ultra-low dose of Roundup herbicide“ veröffentlicht. Das SCAHT hat in Zusammenarbeit mit dem BLW eine Stellungnahme zu dieser Publikation erarbeitet.**

Die aktuelle Publikation (R. Mesnage et al 2017) schliesst an die“ Transcriptomics“ Publikation des gleichen Autors aus dem Jahr 2015 (R. Mesnage et al. 2015) an, in welcher der Einfluss von „ultra low“ dosiertem Roundup auf die Expressionsmuster von mRNA in Leber und Niere von Ratten untersucht wurde. Dies entspricht einer täglich verabreichten Glyphosatdosis von 4ng/kg Körpergewicht und liegt somit deutlich unter dem für Ratten abgeleiteten aktuellen chronischen NOAEL von 100 mg/kg Körpergewicht pro Tag der EFSA Conclusion für Glyphosat (European Food Safety Authority EFSA 2015). Beiden Studien vorausgegangen ist die Studie von Séralini aus dem Jahr 2012 (GE Séralini et al 2012, retracted 2013) in der u.a. die chronische Toxizität von Roundup an Ratten untersucht wurde. Die ursprüngliche Veröffentlichung dieser Studie im Jahr 2012 wurde von der Fachzeitschrift nach heftiger Kritik der Wissenschaft im Jahr 2013 zurückgezogen und von Séralini im Jahr 2014 in einer anderen Fachzeitschrift wiederveröffentlicht (GE Séralini et al republished 2014).

Die aktuelle Publikation beschreibt die Wirkung von „ultra low“ dosiertem Roundup auf die Expressionsmuster von Proteinen. Es werden Unterschiede bei den Metaboliten in der Leber gefunden. Aus den Resultaten wird die Schlussfolgerung gezogen, dass die chronische Exposition von „ultra low“ dosiertem Roundup bei Ratten den Fettstoffwechsel beeinflusst und in Folge zu einer Leberverfettung führt.

Die Anwendung von Transkriptomics, Proteomics und Metabolomics zur Identifizierung von möglichen Biomarkern für chemikalieninduzierte Toxizität ist ein interessanter und wichtiger Schritt hin zur mechanistischen Aufklärung der Toxizitätsmechanismen. Solche Untersuchungen können die Ergebnisse aus klassischen regulatorischen Studien sinnvoll komplementieren. In der regulatorischen Toxikologie werden histopathologische Veränderungen und klinisch-chemische Parameter anhand gesetzlich vorgeschriebener Studien untersucht, die zum Zwecke der Qualitätssicherung und Reproduzierbarkeit nach international anerkannten Testrichtlinien durchgeführt werden. Diese Studien bilden die Grundlage für die Risikobeurteilung von Chemikalien. Zusätzlich werden für die Zulassung von Pflanzenschutzmitteln aber auch Studien berücksichtigt, die im Rahmen der akademischen Forschung durchgeführt wurden und die nicht primär für die Risikobeurteilung konzipiert wurden. Inwiefern solche akademischen Studien für die Risikobeurteilung berücksichtigt werden können, wird im Rahmen eines sog. Weight of Evidence-Verfahrens von Fall zu Fall entschieden.

Der methodische Ansatz des Forscherteams, eine Korrelation zwischen Veränderungen in Blut, Urin und Geweben und den molekularen Komponenten der Zellen herzustellen ist generell zu begrüßen. Omics-Daten sind wichtig bei der Entschlüsselung sogenannter „Toxicity Pathways“ und können zur Erstellung von [AOPs \(Adverse Outcome Pathways\)](#) beitragen. Diese haben zum Ziel, die vorhandenen mechanistischen Informationen zur Entstehung toxikologischer Effekte systematisch zu beschreiben. AOPs werden helfen, die Relevanz einzelner wissenschaftlicher Befunde für die Risikobeurteilung und das Risikomanagement besser zu beurteilen.

Für die vorliegende „Multiomics“ Studie wurden die Proben der Séralini Studie aus dem Jahr 2012 weiter verwendet. Dieselben Proben wurden auch in der oben erwähnten Transkriptomics Publikation aus dem Jahr 2015 eingesetzt. Der Probenumfang ist für eine aussagekräftige statistische Auswertung zu gering. Es standen 10 Kontrolltiere und 10 dosierte Tiere zur Verfügung. Ausserdem konnten nur Proben weiblicher Tiere ausgewertet werden, da die männlichen Tiere im Rahmen der ursprünglichen 2 Jahresstudie frühzeitig gestorben sind und die Organentnahme zu spät erfolgte.

Auffällig ist, dass die in der Originalstudie von 2012 beschriebenen histopathologischen Effekte, die bei „ultra low“ Konzentrationen (4ng/kg/Tag) beobachtet wurden, im Widerspruch zu bisherigen Befunden zahlreicher regulatorischer Studien stehen. Selbst bei millionenfach erhöhter Konzentration konnten keine negativen Auswirkungen auf die Gewebe beobachtet werden. Diese Diskrepanz gilt es zu klären. Die Resultate der drei erwähnten Publikationen, welche alle auf dem selben

Ursprungsmaterial basieren, sind erst dann von Relevanz für die toxikologische Risikobeurteilung, wenn sie mit neuem Probenmaterial reproduziert werden können. Es gilt nachzuweisen, dass die Befunde substanzinduziert sind und nicht aufgrund von nicht identifizierten Artefakten aufgetreten sind.

Weiter fehlt eine auf Grund des identischen Probenmaterials erwartete Konsistenz und Logik der Resultate zwischen den drei Publikationen. Dies betrifft z.B. die Experimente zu Veränderungen in den mRNA- und den entsprechenden Metabolitenmuster, oder fehlende pathologische Befunde in der Ursprungsstudie, die die Resultate der vorliegenden Studie (Fettleber) stützen würden.

Auffällig ist auch, dass eine übliche Dosis-Wirkungs-Beziehung nicht feststellbar ist (Ursprungsstudie 2012) oder nicht untersucht wurde (Folgestudien 2015 & 2017). Erwartet würde, dass eine grössere Exposition gegenüber Roundup zu einer stärkeren Ausprägung des Befundes führt. Die in der Ursprungsstudie beschriebenen histopathologischen Veränderungen zeigen keine Dosis-Wirkungs-Beziehung, und die in den Folgestudien erwähnten Veränderungen im mRNA, Protein- und Metabolitenmuster wurden nur für die niedrigste Dosis durchgeführt.

Es ist nicht nachvollziehbar, weshalb in den Folgestudien bisher nur die Proben der niedrigsten Dosisgruppe untersucht wurden, obwohl noch zwei weitere deutlich höhere Dosierungen aus der Originalstudie zur Verfügung stehen. Wichtig wäre daher die „Omics“-Analysen auch mit den höher dosierten Dosisgruppen durchzuführen, um zu sehen, ob Veränderungen der gleichen Parameter reproduziert werden können und ob diese bei höherer Dosierung stärker ausgeprägt sind.

Die vorliegende Studie beabsichtigt, eine Korrelation zwischen der Exposition von Roundup und der Veränderung im Expressionsmuster von Proteinen und Metaboliten und der Entstehung einer Fettleber aufzuzeigen. Wie oben erwähnt, ist der Probenumfang für eine seriöse statistische Auswertung und Aussage zu gering. Auch zeigten nur drei von 55 veränderten und 673 untersuchten Metaboliten eine statistisch signifikante Veränderung gegenüber den Kontrollen. Weiter sind starke Schwankungen bei den Protein- und Metabolitenmuster zwischen den einzelnen Versuchstieren zu beobachten, die teilweise grösser waren als die Unterschiede zwischen Kontrolltieren und behandelten Tieren. Der Studienautor stellt selbstkritisch fest: „larger cohorts would be needed to reach the statistical power required to reduce false discovery rates“. Er erwähnt auch: „differences in metabolite levels between individual animals within a group were greater than the effect of Roundup in some cases“.

Um trotz starker Schwankungen zwischen den Einzeltieren eine Aussage zur Relevanz der beobachteten Veränderungen machen zu können, wäre es zumindest erforderlich, Einzeltiere im Hinblick auf konsistente Veränderungen im mRNA, Protein und Metabolitenmuster, wie auch mit Hilfe der Pathologie zu analysieren. Sollten sich auf individueller Basis Veränderungen zeigen, die im Einklang mit einem toxikologischen Pathway stehen, wie er zur Bildung der Fettleber angenommen wird, könnte dies die Schlussfolgerungen der Autoren trotz „schwacher“ Statistik stützen.

Abschliessend ist zu bemerken, dass ein Organismus/Organ (insbesondere die Leber), praktisch immer auf einen externen Stimulus reagiert. Im Rahmen der toxikologischen Risikobewertung ist es daher unabdingbar zu klären, inwiefern solche Veränderungen, wenn sie denn substanzinduziert sind, rein adaptiv sind und ab wann man von einer adversen Reaktion auf den Organismus sprechen kann.

Wie eingangs erwähnt ist die Anwendung von Multiomics ein vielversprechender Ansatz, der der Toxikologie viele neue Möglichkeiten eröffnet, um noch aussagekräftigere und in sich konsistentere Ergebnisse zu erhalten. Die vorliegenden Ergebnisse lassen aber aufgrund der oben beschriebenen Mängel die Interpretation nicht zu, dass wider Erwarten extrem niedrige Dosierungen von Roundup zu einem adversen Effekt führen. Keine der zahlreichen zur Verfügung stehenden toxikologischen Studien zu Roundup stützen diese Interpretation. Weitere Untersuchungen sind daher notwendig, um die Aussage der vorliegenden Publikation zu untermauern.

## Literatur

### **R. Mesnage et al 2017**

Robin Mesnage, George Renney, Gilles-Eric Séralini, Malcolm Ward & Michael N. Antoniou; Multiomics reveal non-alcoholic fatty liver disease in rats following chronic exposure to an ultra-low dose of Roundup herbicide; Scientific Reports 7, Article number: 39328 (2017)

<http://www.nature.com/articles/srep39328>

### **R. Mesnage et al. 2015**

Robin Mesnage, Matthew Arno, Manuela Costanzo, Manuela Malatesta, Gilles-Eric Séralini and Michael N. Antoniou; Transcriptome profile analysis reflects rat liver and kidney damage following chronic ultra-low dose Roundup exposure; Environmental Health 2015.

<https://ehjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12940-015-0056-1>

### **GE Séralini et al 2012, retracted 2013**

Gilles-Eric Séralini, Emilie Clair, Robin Mesnage, Steeve Gress, Nicolas Defarge, Manuela Malatesta, Didier Hennequin, Joël Spiroux De Vendômois; Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize; In: Food and Chemical Toxicology. 50, Nr. 11, 2012, S. 4221–31.

Die ursprüngliche Veröffentlichung dieser Studie im Jahr 2012 wurde von der Fachzeitschrift nach heftiger Kritik der Wissenschaft im Jahr 2013 zurückgezogen und von Séralini im Jahr 2014 in einer anderen Fachzeitschrift wiederveröffentlicht.

Kritik an der Studie: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691512005637>.

Séralini-Affäre: <https://de.wikipedia.org/wiki/Séralini-Affäre>

### **GE Séralini et al republished 2014**

Gilles-Eric Séralini, Emilie Clair, Robin Mesnage, Steeve Gress, Nicolas Defarge, Manuela Malatesta, Didier Hennequin and Joël Spiroux de Vendômois; Republished study: long-term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize; Environmental Sciences Europe Bridging Science and Regulation at the Regional and European Level.

<https://enveurope.springeropen.com/articles/10.1186/s12302-014-0014-5>

European Food Safety Authority EFSA 2015

**Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate**, EFSA Journal 2015;13(11):4302 [107 pp.].

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2015.4302/epdf>