

DÉCEMBRE 2021 - VOLUME 2

PERTURBATEURS ENDOCRINIENS : IL EST TEMPS D'AGIR !

L'exemple des pesticides perturbateurs thyroïdiens

RÉDACTION
RELECTURE ET MISE
EN FORME

Dr. PM Perinaud
Dr. R. Mazurier
Dr. M. Nicolle
F. Veillerette
N. Lauverjat

Remerciements à N. Cingotti



SOMMAIRE & ACRONYMES

PERTURBATEURS ENDOCRINIENS : IL EST TEMPS D'AGIR !
L'EXEMPLE DES PERTURBATEURS THYROÏDIENS

Page	
03	Rappel
04	Constat
05	Interpellation de l'EFSA
06	Des signaux d'alerte
10	Tableau de synthèse
11	Conclusion
14	Annexe
17	Liens d'intérêt & Contacts

ANSES Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

CAG Cumulative Group Assessment

CMR Cancérogènes, mutagènes ou reprotoxiques

CPVADAA (Scopaff en anglais) Comité permanent des végétaux, des animaux, des denrées alimentaires et de l'alimentation animale

DAR Draft Assessment report = projet de rapport d'évaluation

DiO Désiodinase

EAT Etude de l'Alimentation Totale

ECHA European Chemicals Agency= Agence européenne des produits chimiques

EFSA European Food Safety Authority (l'agence de sécurité alimentaire européenne)

EMR Etat Membre Rapporteur

HT Hormone thyroïdienne

KC Key characteristics = caractéristiques clés. Se rapporte à l'étude de LaMerrill et al.

MoA Mode d'action

NMDR Non monotonic dose response = relations dose-réponse non- monotones

ONMDR Non monotonic dose response = relations dose-réponse non- monotones

OCDE Organisation de coopération et de développement économique

OMS Organisation mondiale de la santé

PE Perturbation endocrinien

PEPPER Plateforme Public-privé sur la pré-validation des méthodes d'essai sur les Perturbateurs EndocRiniens

PT Perturbation thyroïdienne

RAR Renewal Assessment Report (rapport d'évaluation pour le renouvellement d'une substance pesticide déclarée active réalisé par l'Etat membre rapporteur (EMR)

SA Substance active

SNPE Stratégie Nationale sur les Perturbateurs endocriens

TDC Thyroid disrupting chemicals

TG Test Guidelines (lignes directrices pour les tests)

TPO Thyroperoxydase

TSH Thyroid-stimulating hormone

USEPA US Environmental Protection Agency

RAPPEL

UN NOUVEAU RAPPORT EN COMPLÉMENT

Dans la première partie de ce travail (1), nous avons examiné comment était réalisée l'évaluation de plusieurs pesticides suspectés de perturber la fonction thyroïdienne, et en cours de renouvellement au niveau européen. Nous avons pris l'exemple de 13 substances dont le renouvellement d'homologation par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) était prévu en 2021. Six auraient dû voir leur dossier de renouvellement examiné avant avril et ont fait l'objet du premier rapport. Sept autres devaient subir le même sort avant fin juillet 2021 et sont examinées dans ce rapport. Précisons que plusieurs d'entre elles, huit exactement, ont déjà bénéficié de reports de leur autorisation par une procédure dénommée « extension administrative ». Ce qui en clair signifie qu'elles ont déjà gagné entre 4 et 6 ans de maintien sur le marché !

Pourquoi ces 13 Substances Actives (SA) ?

Parce qu'un rapport de l'EFSA de 2013 avait montré qu'elles impactaient l'axe thyroïdien et parce qu'elles sont retrouvées dans l'alimentation des français (Anses) (2), avec la possibilité de contribuer à la contamination des femmes enceintes et des enfants par les PE. Les risques pour l'enfant d'une contamination pendant la grossesse sont reconnus, avec pour les perturbateurs de l'axe thyroïdien, une menace particulière sur le développement cérébral (3). Or en octobre 2018, l'Europe s'est enfin dotée d'un règlement, concernant les seuls pesticides et biocides, définissant des critères d'identification des PE. Ces critères sont donc censés être pris en compte dans ce processus, et en cas d'identification d'un caractère PE, signifier l'exclusion du marché pour la substance concernée (règlements 2018/605 et 1107/2009). Qu'en est-il ? Nous vous proposons de savoir si c'était bien le cas.



Après un rappel du constat fait dans la première partie de ce travail, nous vous proposons d'examiner la position de l'EFSA concernant le manque de données contenues dans les dossiers de renouvellement d'autorisation (RAR), ainsi que ses conséquences pratiques.

Nous avons également cherché à savoir si des signaux d'alerte permettant d'évoquer une perturbation thyroïdienne, sont retrouvés dans ces RAR. Pourquoi ? Parce que si c'est le cas cela signifie qu'un risque sanitaire est pris en toute connaissance de cause....

En conclusion nous formulerons plusieurs demandes précises.

CONSTAT



Les RAR (cf Vol. 1) qui constituent la base sur laquelle le renouvellement des autorisations de mise sur le marché est fait, **contiennent très peu d'éléments permettant une évaluation satisfaisante de la PE.**

Pour les 6 substances (Cyprodinil, Fenbuconazole, Mepanipyrim, Pyrimethanil, Ziram et Spinosad) dont l'homologation prenait fin en avril 2021 **nous avons fait les constats suivants :**

CONCERNANT LE RESPECT DE LA RÉGLEMENTATION :

des RAR souvent **obsolètes**, des **dosages hormonaux** qui sont **l'exception**, et une **absence de recherche de troubles** du neuro-développement selon les lignes directrices mises à jour précisément pour rechercher des effets PE.

CONCERNANT LES ASPECTS QUALITATIFS :

la revue de la littérature internationale n'est jamais réalisée de manière exhaustive ; les tests OCDE ne sont **pas conçus pour mettre en évidence des effets de perturbation** endocrinienne (effets à faible dose et relations dose-réponse non-monotones qui caractérisent la perturbation hormonale). Dans les résumés d'études trouvés dans les RAR, **les périodes de susceptibilité**, comme la gestation par exemple, ne sont **pas prises en compte**. Un seul RAR (celui du Ziram) comprend une étude portant sur le neuro-développement, non conforme à la dernière Test Guidelines - lignes directrices pour les tests - (TG) (2018) qui permettrait des dosages d'Hormone thyroïdienne (HT) pendant la gestation et en période post-natale.

Concernant les 7 autres substances traitées dans ce rapport (Cyproconazole, Myclobutanil, Diethofencarb, Fenoxycarb, Boscalid, Folpel, Metribuzin) ce constat n'est malheureusement pas remis en cause (cf. le tableau de synthèse pages 10 et 11) .

INTERPELLATION DE L'EFSA

Fort de ces constats plutôt inquiétants, nous nous sommes tournés vers l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA).

L'argument des autorités est celui-ci : le processus d'élaboration de ces RARs a débuté avant l'adoption du règlement 2018 ce qui explique l'indigence des dossiers. La Commission européenne a donc demandé à l'EFSA de réaliser des évaluations supplémentaires, concernant les substances pour lesquelles le renouvellement de l'examen par les pairs était déjà terminé ou largement avancé en octobre 2018, ce qui est le cas des 13 substances dont nous parlons. Certes, mais nous sommes en...2021, soit 3 ans après l'adoption des critères d'identification des pesticides PE.

Quelles informations complémentaires ont donc été exigées des industriels pour ces 6 premiers RARs ? L'EFSA n'a malheureusement pas souhaité nous préciser les éléments sur lesquels portent leurs attentes. **Nous ne pouvons donc que déplorer :**

→ **que tous les échanges ayant lieu après la consultation publique portant sur le RAR, restent dans une sorte de « boîte noire »** dont rien n'est accessible avant la décision finale. Ceci n'est pas propre à l'évaluation de la PE depuis 2018, mais n'en prend que plus d'importance.


→ **que tout se passe comme si les règles du jeu actuelles édictées par la CE et les Etats membres de l'UE, permettaient aux industriels de « jouer la montre »**. La mise en conformité au règlement 2018 laissant à désirer, l'autorité européenne vient d'accorder le délai maximal pour la production de données - 30 mois - aux demandeurs industriels pour 5 des 6 substances devant être examinées en avril (le fenbuconazole ne faisant plus l'objet d'une demande de renouvellement). Du fait de cette disposition nommée "stop the clock", ces évaluations seront au mieux finalisées entre le milieu et la fin de l'année 2022 et les décisions finales sur le sort des substances seront publiées au mieux à la fin de l'année 2022, voire dans le courant de l'année 2023. Pendant ce temps les substances restent sur le marché.

Le même sort fut réservé aux 7 dernières substances étudiée puisque leur homologation prenait fin en juillet 2021 et qu'elles ne figurent pas à l'ordre du jour des votes en Scopaff de juillet (il s'agit du Cyproconazole, du Myclobutanyl, du Diethofencarb, du Fenoxycarb, du Boscalid, du Folpet et du Métribuzin).

« Stop the clock » ne concernerait que les substances en cours d'évaluation lors de l'adoption du règlement 2018/605. Ce temps ainsi suspendu serait le résultat d'un choix : celui de permettre l'évaluation de ces substances selon les nouveaux critères. Pour cela, il faut que des tests suffisamment sensibles et recherchant les troubles du neuro-développement soient, de l'avis des scientifiques, disponibles. Est-ce le cas ? Enfin, et ceci n'est pas un détail, des éléments figurant dans ces RAR permettent-ils de suspecter des effets de perturbation de l'axe thyroïdien ? Cette question revêt une grande importance du point de vue de la santé publique mais aussi pour l'appréciation des données complémentaires à rechercher.



DES SIGNAUX D'ALERTE RETROUVÉS DANS LES RAR*

 Rappelons que pour être reconnue PE une substance doit remplir l'ensemble des critères suivants :

- a) présenter un effet indésirable chez un organisme intact ou ses descendants
- b) avoir un mode d'action endocrinien,
- c) l'effet indésirable doit être une conséquence du mode d'action endocrinien.

Quand on n'est pas un spécialiste de ces questions, le fait d'exiger que l'effet mis en évidence soit bien la conséquence d'un mode d'action connu peut paraître aller de soi. Dans la réalité il est très difficile d'affirmer, souvent même pour les médicaments, qu'un effet recherché ou indésirable est en rapport avec un mécanisme précis, et seulement avec ce mécanisme.

Ce qui signifie qu'exprimé ainsi, **le niveau de preuve exigé est très élevé**. On retrouve cependant dans le règlement 2018/605 modifiant l'annexe 2 du règlement 1107/2009 – c'est à dire dans le règlement définissant les pesticides PE – au point 3 concernant l'identification des substances actives :

" sur la base de l'analyse de la force probante des données, le lien entre le ou les effets indésirables et le mode d'action endocrinien doit être établi en se fondant sur la plausibilité biologique, qui doit être déterminée à la lumière des connaissances scientifiques actuelles et en tenant compte des lignes directrices convenues au niveau international "

Il serait donc plus clair, comme le suggère le rapport Demeneix-Slama (3), de modifier ainsi le 3ème point de la définition :

" there is a biologically plausible link between the adverse effect and the endocrine activity."

Nous allons limiter notre analyse à 12 SA car pour le fenbuconazole l'industriel n'a pas demandé de prolongation de mise sur le marché. **Et nous allons examiner si l'argument de la « plausibilité biologique » est évoqué.**

1 TOUTES CES SUBSTANCES PRÉSENTENT UN EFFET SUR L'AXE THYROÏDIEN (**),

Ce sont dans tous ces dossiers **des effets portant sur la glande thyroïde elle-même** qui sont retrouvés (hyperplasie la plupart du temps). On peut presque dire par chance car d'autres perturbations sont possibles – du transport des HT dans le sang maternel ou dans le cerveau du bébé, à une perturbation des enzymes permettant la transformation en hormones actives (désiodases) – mais celles-ci ne se traduiraient pas forcément par un impact sur la glande thyroïde (3). Or aucun test validé au niveau de l'OCDE ne permet à l'heure actuelle de les mettre en évidence. Pas plus qu'il n'existe de test validé permettant de mettre en évidence l'action sur certains récepteurs des xénobiotiques contrôlant l'expression des enzymes responsables du catabolisme des HT (5). Ces phénomènes sont appelés des « mécanismes moléculaires initiateurs ». Réalisés par exemple dans le cadre du projet américain ToxCast, ils sont parfois cités dans les RAR. Mais n'ayant pas de valeur réglementaire, ils sont peu considérés. Cependant si les participants du Workshop EFSA 2017 [(5) p 151] soulignent l'intérêt de ce type de test pour fournir des informations sur le ou les modes d'action possible, ils font remarquer que des résultats négatifs de ces tests ne sont pas suffisants pour éliminer une perturbation thyroïdienne, et ne peuvent pas remplacer les tests in vivo. Des effets sur les taux d' HT sont recherchés dans un dossier sur 2 seulement (7 sur les 13 SA), certains effets ne sont pas pris en compte (déformations squelettiques par ex), ou seulement chez les adultes.

**l'axe thyroïdien correspond à l'ensemble des événements, régulations hormonales (par l'Hypothalamus et l'hypophyse), synthèse des hormones thyroïdiennes HT par la thyroïde, transport dans le sang, franchissement des barrières (hémato-encéphalique, placentaire), jusqu'aux effets périphériques des HT sur des récepteurs de tissus cibles (comme le cerveau par ex) après transformation de la T4 en T3 ; sans oublier leur dégradation par les enzymes hépatiques. Tous ces différents niveaux peuvent être perturbés par des substances chimiques. Mais du fait du rôle crucial des HT dès les premiers stades de la gestation, particulièrement sur le cerveau (le fœtus ne débutant sa propre synthèse d'HT qu'à partir de la 10-12ème semaine), ce sont les effets neuro-développementaux qui constituent la menace principale.

TOUTES CES SUBSTANCES PRÉSENTENT UN EFFET SUR L'AXE THYROÏDIEN (SUITE),

D'autres effets ne sont jamais recherchés : les troubles du neurodéveloppement représentent pourtant la plus grande menace chez l'homme liée à une perturbation de l'axe thyroïdien. Bien entendu aucun test n'est réalisé selon la TG 443, une « guideline » mise à jour en 2018 permettant l'étude du neurodéveloppement, même si elle est encore loin d'être parfaite (4). Elle permet quand même des dosages hormonaux sur la progéniture or, on sait que la sécrétion d'HT de celle-ci peut-être impactée même si celle de la mère ne l'est pas.

POUR MIEUX METTRE EN ÉVIDENCE LE(S) EFFET(S) SUR L'AXE THYROÏDIEN, ET ARGUMENTER « LA PLAUSIBILITÉ BIOLOGIQUE », IL FAUDRAIT APPLIQUER LES RECOMMANDATIONS D'EXPERTS, NOTAMMENT :

► **obligation de fournir plusieurs études in-vivo avec dosage des HT.** Ces dosages ne doivent pas seulement porter sur les adultes mais aussi sur la progéniture.

► **Toute modification des taux d'HT doit être considérée** comme un effet sur l'axe thyroïdien. Cependant **les effets chez l'humain se produisent dans les valeurs basses** (ou hautes) des normes physiologiques : ce sont donc comme lors de la surveillance de la grossesse, **ces valeurs là qu'il faut étudier** (d'où un nombre de doses et de rats plus élevé dans les groupes étudiés). Car l'absence de perturbation des taux d'HT dans le sérum, n'est pas suffisante pour exclure des effets neuro-développementaux (2).

► **Un test portant sur le neurodéveloppement doit être obligatoire** afin d'apprécier la PT. Compte-tenu du manque de sensibilité des tests actuels, il convient que les items suivants soient exigés : étude de la migration neuronale (subcortical hétérotopie) ; de la prolifération neuronale ; de la différenciation des Oligodendrocytes et histologie cérébelleuse. (cf (2) et recos du Workshop EFSA 2017 (6)

2 LA PLUPART ONT UN OU DES MODE(S) D'ACTION (MOA) POSSIBLES CE QUI CONSTITUE LE SECOND CRITÈRE D'IDENTIFICATION

Pour 10 des 13 substances actives, un mécanisme d'induction enzymatique est mis en évidence chez le rat. L'induction enzymatique correspond à une augmentation de synthèse d'enzymes impliquées dans l'élimination des HT, ayant pour conséquence une baisse potentielle du taux de celles-ci. Or ce mécanisme est à chaque fois écarté car estimé non pertinent pour l'humain. Pourtant d'après le document guide ECHA-EFSA pour l'application des critères PE, l'induction enzymatique et ses conséquences potentielles doivent être reconnues a priori comme pertinentes pour l'humain (7) et c'est au contraire la preuve de la non-pertinence qui doit être apportée (détails de l'argumentation technique en annexe 1).

Ce mécanisme semble par ailleurs l'un des plus répandu puisque dans le CAG 2019 - étude des effets hypothyroïdiens EFSA (8) - il serait évoqué pour 60 substances sur les 128 concernées par une perturbation de l'axe thyroïdien.

NOUS ESTIMONS QUE

► **Tout mécanisme d'action reconnu par la littérature internationale** - par ex dans la synthèse La Merill (9) - **doit être considéré comme un signal d'alerte majeur.**

Conformément au point 3 de l'annexe 2 cité précédemment : « *le lien entre le ou les effets indésirables et le mode d'action endocrinien doit être établi en se fondant sur la plausibilité biologique, qui doit être déterminée à la lumière des connaissances scientifiques actuelles* ».

► **L'induction enzymatique et ses conséquences potentielles doit être reconnue a priori comme pertinente** pour l'humain selon la position affirmée dans le document guide ECHA-EFSA (7) , et c'est la preuve de la non pertinence qui doit être apportée (le détail de l'argumentation technique figure en annexe 1)

LA PLUPART ONT UN OU DES MODE(S) D'ACTION (MOA) POSSIBLES CE QUI CONSTITUE LE SECOND CRITÈRE D'IDENTIFICATION (SUITE),

Deux autres modes d'action possibles ont été mis en évidence dans les RAR auxquels nous avons eu accès. Ils portent tous les deux sur la synthèse hormonale. Il s'agit de l'inhibition d'un transporteur d'iode à l'intérieur de la cellule (le NIS, symporteur NA/iodure) dans le cas du Cyprodinil et du Mépaniprim, ou l'inhibition de la TPO (Thyroperoxydase, enzyme permettant la synthèse des HT) dans le cas du Ziram. Ce sont également deux mécanismes clés reconnus dans la synthèse de La Merill (9).

3 LA QUESTION DU LIEN ENTRE MOA ET EFFET ENDOCRINIEN

L'induction enzymatique devrait être considérée comme un MoA pertinent à priori. Elle est, nous l'avons dit, écartée pour un certain nombre de raisons discutées et discutables (annexe 1), mais aussi en raison selon les industriels d'un seuil en dessous duquel elle ne se produirait pas. Encore faut-il que les conditions expérimentales aient été réunies pour le prouver.

CONCERNANT LE MÉCANISME D'INDUCTION ENZYMATIQUE

la question de l'existence d'un seuil en dessous duquel n'existerait pas d'induction enzymatique nécessite d'en administrer la preuve : **elle doit être recherchée à faibles doses** (cf ex du Metribuzin où l'effet sur les HT est inverse à faible et à forte doses), sur 5 groupes de doses, et avec plus d'animaux par groupe aux doses les plus basses, précautions suggérées par l'Endocrine Society (10).

L'appréciation de la plausibilité du lien entre un MoA identifié et un effet adverse doit être examinée au regard de la littérature scientifique portant sur la problématique générale de la perturbation thyroïdienne et pas seulement sur la substance examinée (car les données publiées sont le plus souvent inexistantes en considérant une substance unique).

L'approche par mécanismes clés, est une piste intéressante : la mise en évidence de l'un d'eux dans un RAR ne peut être ignorée. C'est le cas de l'induction enzymatique considérée comme l'un de ces 10 mécanismes clés dans ce travail de synthèse (9).

CONCERNANT LA DÉMONSTRATION DU LIEN ENTRE MODE D'ACTION ET L'EFFET

Les signaux d'alerte que nous avons identifiés ne suffisent évidemment pas à caractériser un effet PE selon les critères réglementaires. Ils sont en effet retrouvés dans des études non conçues pour rechercher spécifiquement des effets sur l'axe thyroïdien. Nos critiques portent sur les insuffisances des tests (pas d'exigence de dosages hormonaux par ex), mais aussi sur la conception même de la perturbation de l'axe thyroïdien. Celui-ci est réduit aux effets sur la seule glande thyroïde, alors que nous avons vu que pendant la gestation et la période néo-natale la cible principale est le cerveau (sans qu'aucune ligne directrice n'oblige à ce jour à l'examen de la migration neuronale par ex). Et que l'induction enzymatique est qualifiée d'effet indirect et de ce fait écartée, sans que soit apportée la preuve de son innocuité.

Toutes ces critiques sont partagées par les scientifiques experts de ces questions, et elles sont même prises en compte dans le **projet ATHENA** (11) financé par le programme Horizon 2020 de l'Union européenne (UE). Celui-ci est destiné à mobiliser les progrès scientifiques réalisés ces dernières années concernant la compréhension du système hormonal thyroïdien pour combler les lacunes en matière de tests permettant l'appréciation de la neurotoxicité développementale : **« Il est largement reconnu que les méthodes d'essai de l'OCDE, validées et acceptées au niveau international pour les perturbateurs endocriniens sont inadéquates pour l'identification des produits chimiques perturbateurs du système TH. Par conséquent, le mandat légal de protection contre les perturbateurs endocriniens et les perturbateurs du système TH ne peut actuellement pas être pleinement réalisé »** (11)

On ne saurait être plus clair ! **Cela souligne le manque total d'anticipation du législateur qui, en adoptant des critères en 2018, n'a pas pris le soin de vérifier que ce règlement était applicable.**

Souhaitons au projet ATHENA de permettre des avancées mais comme le disent les auteurs eux-mêmes : cela prendra du temps....

En attendant les décisions réglementaires ne peuvent être prises que sur la base de données insuffisantes ne permettant pas que les 3 conditions réglementaires soient remplies. **Il faut donc en tirer les conséquences** : sur la base des recommandations du guide ECHA-EFSA (Appendix A p 102) il faut identifier les substances, telles que celles «*induisant des modifications histopathologiques de la thyroïde (hyperplasie focale et/ou néoplasie), avec ou sans modification des taux circulants de TH* » ou celles qui «*modifient les niveaux circulants de T3 et/ou T4 sans résultats histopathologiques* » et considérer qu'elles présentent un risque de perturbation du système thyroïdien chez l'homme. **En bref il faut prendre en considération les signaux d'alerte existants, sans attendre la validation de nouveaux tests** (qui peut prendre des années). **Cela s'appelle identifier des substances suspectes** d'avoir des effets PE, catégorie n'ayant malheureusement pas encore d'existence réglementaire.

Un seul RAR, celui du Metribuzin prend en compte le mécanisme d'action à type d'induction enzymatique et fait le lien avec les effets mis en évidence :

Le dossier du Metribuzin (RAR de 2018 mis à jour pour une nouvelle version parue en septembre 2019) comporte de nombreux éléments en faveur d'une perturbation de l'axe thyroïdien.

L'état rapporteur considère d'ailleurs « *que selon les données actuelles, le Metribuzin a des études in vivo de niveau 4 (selon OCDE) positives pour la thyroïde (effets adverses , mode d'action). Les critères PE pour l'axe thyroïdien peuvent donc être considérés comme remplis et concluants chez l'homme* ».

Il s'agit du seul dossier dans lequel une induction enzymatique est mise en évidence, et pour lequel l'État membre rapporteur conclut que les critères PE sont remplis, en termes d'effets chez l'humain. Nous attendons donc des autres Etats et particulièrement de l'État français, qu'ils soutiennent cette interprétation. Mais les arguments qui seront avancés au cours de la Peer-review (avis des agences sanitaires des autres états membres, synthétisés ensuite par l'EFSA) resteront confidentiels. Curieuse conception de la transparence...



TABLEAU DE SYNTHÈSE 1/2

Substances	Cyprodinil	Fenbuconazole	Mepanipyrim	Pyrimethanil	Ziram	Spinosad
------------	------------	---------------	-------------	--------------	-------	----------

CES SUBSTANCES ONT-ELLES LES 3 CRITÈRES PERMETTANT DE LES DÉFINIR COMME PE CERTAINS ?

Reconnues PE selon 2018/605	non	non	non	non	non	non
-----------------------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----

CES SUBSTANCES PRÉSENTENT-ELLES DES **SIGNAUX D'ALERTE** CONCERNANT SOIT L'EFFET, SOIT LE MODE D'ACTION, SOIT LE LIEN ENTRE LES DEUX ?

Effet	Sur glande thyroïde	Sur glande thyroïde HT et TSH	Sur glande thyroïde	Sur glande thyroïde HT et TSH	Sur glande thyroïde	Sur glande thyroïde
MoA (méca d'action)	Ind Enzym ? Inh NIS ?	Ind Enzym ?	NIS ? (selon littérature)	Ind Enzym ?	Ind Enzym par CS2 ? Inh TPO ?	phospholipidose
Lien MoA - effet	Pertinence pour humain rejetée	Pertinence pour humain rejetée	Non examiné	Pertinence pour humain rejetée	Non examiné	Non examiné
Conclusion : signal d'alerte ?	Oui Couple effet thy / Ind enz	Oui Couple effet thy / Ind enz	Oui données dans littérature sur MoA	Oui Couple effet thy / Ind enz	Oui données dans littérature sur MoA	Besoin d'infos complémentaires

CES SUBSTANCES ONT-ELLES BÉNÉFICIÉ D'UN OU PLUSIEURS MÉCANISMES DE PROLONGATION D'HOMOLOGATION ?

A bénéficié d'une ou plusieurs extensions administratives EA

Oui (5)	non	Oui (6)	Oui (5)	Oui (6)	Oui (5)
---------	-----	---------	---------	---------	---------

Bénéficie d'un stop the clock

Oui	Non retrait de la demande	Oui	Oui	Oui	Oui
-----	---------------------------	-----	-----	-----	-----

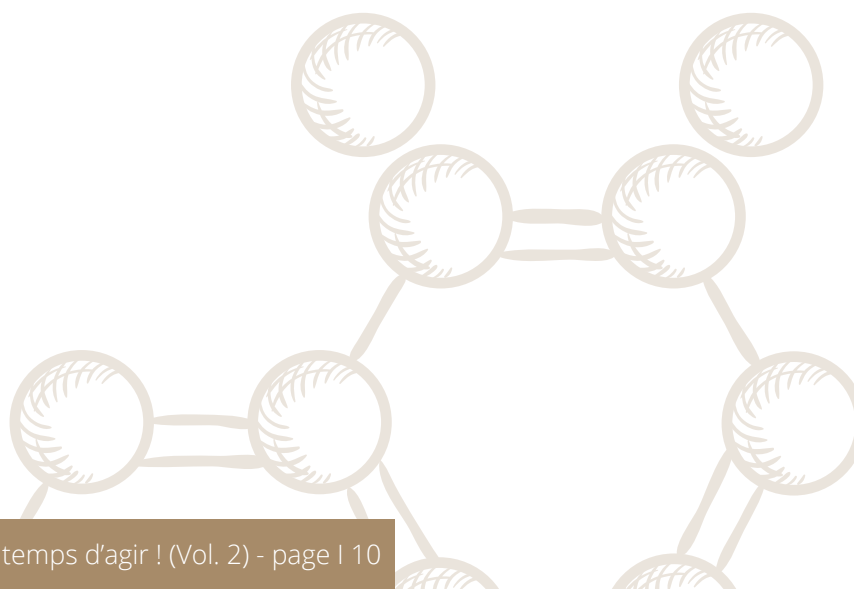


TABLEAU DE SYNTHÈSE 2/2

Substances	Cyproconazole	Myclobutanyl	Diethofencarb	Fenoxycarb	Boscalid	Folpel	Metribuzin
------------	---------------	--------------	---------------	------------	----------	--------	------------

CES SUBSTANCES ONT-ELLES LES 3 CRITÈRES PERMETTANT DE LES DÉFINIR COMME PE CERTAINS ?

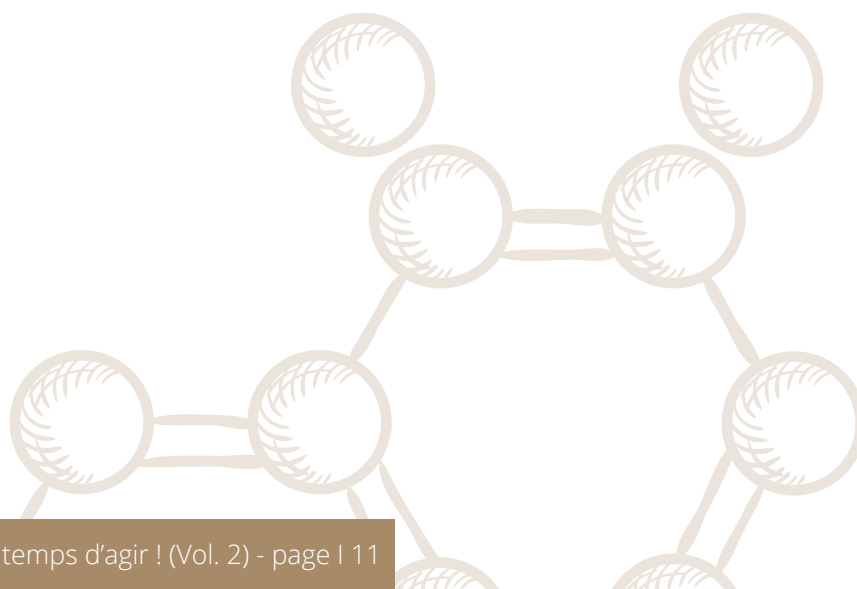
Reconnues PE selon 2018/605	non	non	non	non	non	non	Oui
-----------------------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

CES SUBSTANCES PRÉSENTENT-ELLES DES **SIGNAUX D'ALERTE** CONCERNANT SOIT L'EFFET, SOIT LE MODE D'ACTION, SOIT LE LIEN ENTRE LES DEUX ?

Effet	Sur glande thyroïde	Sur glande thyroïde HT	Sur glande thyroïde HT et TSH	Sur glande thyroïde	Sur glande thyroïde T4 et TSH	Sur glande thyroïde HT	Sur glande thyroïde
MoA (méca d'action)	Ind Enzym ?	Ind Enzym ?	Ind Enzym ?	Ind Enzym ?	Ind Enzym avec baisse HT	?	Ind Enzym
Lien MoA - effet	Pertinence pour humain rejetée	Pertinence pour humain rejetée	Pertinence pour humain rejetée	Non examiné	Non pertinent pour RAR (p 318-319 B6)	Non examiné	Lien induction enzymatique - effet thyroïdien reconnu
Conclusion : signal d'alerte ?	Oui Couple effet thyr / Ind enz	Oui Couple effet thyr / Ind enz	Oui Couple effet thyr / Ind enz	Besoin d'infos complémentaires	Oui Couple effet thyr / Ind enz	Oui Baisse des HT mais MoA non recherché	Oui Couple effet thyr / Ind enz pris en compte par l'EMR

CES SUBSTANCES ONT-ELLES BÉNÉFICIÉ D'UN OU PLUSIEURS MÉCANISMES DE PROLONGATION D'HOMOLOGATION ?

A bénéficié d'une ou plusieurs extensions administratives EA	non	non	non	non	Oui (4)	Oui (5)	Oui (5)
Bénéficie d'un stop the clock	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui



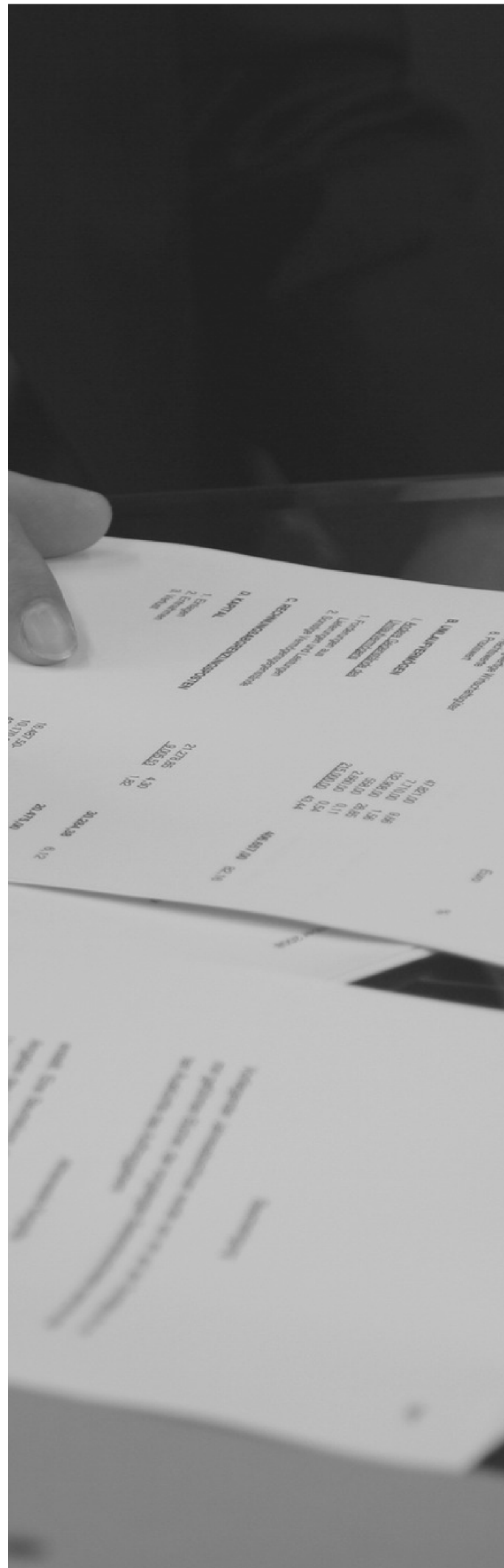
CONCLUSION

Pour les substances en cours d'évaluation lors de l'adoption du règlement 2018/605, **les délais d'évaluation sont allongés de façon inacceptable**. Certes, les données disponibles ne permettent pas de conclure, mais faut-il rappeler que le règlement « pesticides » a été voté en 2009, que la définition des PE devait être adoptée au plus tard en 2013, et qu'elle ne le fut que 5 ans après ? Alors que plus de 10 années auraient déjà dû permettre aux agences et aux industriels d'anticiper ces nouvelles exigences, 30 mois supplémentaires leur sont accordés !

Les autorités disposent donc de données soit anciennes, soit inadéquates (la recherche d'effets portant quasi exclusivement sur la glande thyroïde), soit **manquantes** (l'étude des troubles du neuro-développement). Et (cf. partie 1) **lorsque des modes d'action « clés » sont mis en évidence** dans la littérature scientifique (La Merill) **des tests validés sont très loin d'être toujours disponibles. Comment dans ces conditions apporter la preuve d'un effet PE certain ?** En l'état actuel des choses, les autorités n'ont donc pas les moyens de conclure et les critères d'identification du règlement sont inapplicables en pratique.. On peut malheureusement imaginer dans ces conditions, que le "stop of clock" pour rechercher les éléments de perturbation endocrinienne va s'appliquer de façon systématique à de nombreuses autres substances.

Faute de pouvoir agir sur le problème de fond que constituent les critères adoptés dans le cadre du règlement 2018/605, certaines avancées seraient de nature à offrir une meilleure protection de la population par rapport aux PE.

Aussi nous demandons à l'Etat français de soutenir les points suivants :



1

L'ADOPTION D'UNE CATÉGORIE DE PE SUSPECTÉS

Une vision réaliste des données disponibles s'impose : le classement en PE thyroïdien selon le règlement 2018/605 exige une qualité de données qu'aucun des dossiers que nous avons examinés ne contient.

L'exemple de l'insuffisance thyroïdienne à médiation hépatique montre que l'interprétation est biaisée en faveur de la protection contre les faux positifs (des substances étiquetées PE de l'axe thyroïdien alors qu'elles ne le seraient pas), alors que du point de vue de la santé publique, la protection contre les faux négatifs devrait être impérative.

La mise à jour du règlement CLP que l'Europe a engagée en fournit

l'occasion. Elle doit s'accompagner de la publication d'une méthodologie de sélection selon le niveau de preuve des données - comme le propose l'Anses par ex (12). La catégorie PE suspecté permettrait de retenir les signaux présents (par ex des effets sur la thyroïde ou sur les HT, une suspicion de mécanisme d'action méritant investigation avant d'être rejetée) et de protéger sans attendre les populations à risque si elle signifie la mise à l'écart des substances qualifiées de « PE suspectés », comme le stipulait le règlement 1107/2009 qui ne précisait pas le niveau de preuve pour exclure toute substance reconnue PE.

Nous saluons le fait que l'Etat français défende l'adoption d'une catégorie de « PE suspectés » dans le cadre du règlement CLP .

2

LA FIN DE L'EXTENSION « AUTOMATIQUE » DES HOMOLOGATIONS SOUS PRÉTEXTE DE DONNÉES SCIENTIFIQUES MANQUANTES POUR L'ÉVALUATION PE.

Concernant les substances en cours d'examen lors de l'adoption du règlement 2018/605 : **le régulateur est conduit à prendre des décisions sur la base de dossiers ne permettant pas le respect du règlement.** Avec les conséquences en termes d'exposition de la population, et particulièrement des femmes enceintes pour les substances retrouvées dans l'alimentation. **Les Etats membres, dont la France, doivent en tirer les conséquences et donner mandat à la CE pour que les substances pour lesquelles des signaux d'alerte sont retrouvés, ne soient plus homologuées le temps que les études complémentaires soient faites.**

Pour les substances examinées depuis l'adoption du règlement 2018/605 **toute extension administrative ou processus équivalent (stop the clock) est inadmissible qu'elle qu'en soit la raison.**

3

LA TRANSPARENCE DE L'EFSA

1. **L'EFSA doit rendre publique la liste des données complémentaires** exigées des industriels et qui justifient ce délai de 30 mois. Les observateurs doivent pouvoir vérifier que les données jugées nécessaires ont bien été demandées.
2. Toutes **les données complémentaires fournies** par les demandeurs industriels après l'entrée en vigueur du règlement 2018/605 **doivent être mises à la disposition du public avant le vote des Etats** (il s'agit en quelque sorte d'un nouveau RAR).
3. **Les discussions et conclusions des Peer Review** intervenant entre la conclusion de l'état rapporteur et le vote au scopaff **doivent aussi être rendues publiques**. Cette phase est actuellement une « boîte noire » inacceptable.

RÉFÉRENCES

- (1) Perturbateurs endocriniens, il est temps d'agir. L'exemple des pesticides perturbateurs thyroïdiens. Mars 2021
- (2) Anses, Etude de l'alimentation totale (EAT2) 2014 : PASER2006sa0361Ra2.pdf (anses.fr) et Etude de l'alimentation totale infantile (EATi) 2016 : Avis et rapport de l'Anses relatif l'exposition alimentaire des enfants de moins 3 ans à certaines substances - EAT infantile Tome 2 - Partie 4 - Résultats relatifs aux résidus de pesticides
- (3) Mary E. Gilbert, Katherine L. O'Shaughnessy, and Marta Axelstad. Regulation of Thyroid-disrupting Chemicals to Protect the Developing Brain. *Endocrinology*, Vol 161 octobre 2020
- (4) Barbara Demeneix B, Rémi Slama. Endocrine disruptors : from scientific evidence to human health protection. Policy Department for Citizens' Rights and Constitutional Affairs. Directorate General for Internal Policies of the Union PE 608.866 - March 2019
- (5) Pamela D. Noyes et al. Evaluating Chemicals for Thyroid Disruption: Opportunities and Challenges with in Vitro Testing and Adverse Outcome Pathway Approaches. *Environmental Health Perspectives*, septem-bre 2019.
- (6) Kortenkamp, A., Martin, O., Baynes, A., Silva, E., Petersen, M. A., & Hass, U. (2017). Supporting the organization of a workshop on thyroid disruption – final report. European Commission. <https://doi.org/10.2779/921523>
- (7) Guidance for the identification of endocrine disruptors in the context of Regulations (EU) No 528/2012 and (EC)No 1107/2009
- (8) Federica Crivellente, Andy Hart, Antonio F. Hernandez-Jerez, Susanne Hougaard Bennekou, Ragnor Pedersen, Andrea Terron, Gerrit Wolterink and Luc Mohimont. Establishment of cumulative assessment groups of pesticides for their effects on the thyroid, European Food Safety Authority (EFSA), 2019
- (9) La Merrill, et al. Consensus on the key characteristics of endocrine- disrupting chemicals as a basis for hazard identification. *Nature Reviews/Endocrinology*, 2020
- (10) Date (endocrine.org)
- (11) Andreas Kortenkamp et al, Removing Critical Gaps in Chemical Test Methods by Developing New Assays for the Identification of Thyroid Hormone System-Disrupting Chemicals—The ATHENA Project. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 3123
- (12) Élaboration d'une méthodologie d'évaluation du caractère perturbateur endocrinien des substances chimiques. Contribution à la Stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens 2019-2022. Avril 2021

ANNEXE

L'INDUCTION ENZYMATIQUE

L'induction de tumeur thyroïdienne secondaire à l'augmentation du métabolisme hépatique des hormones thyroïdiennes causé par l'exposition à un xénobiotique, est un mécanisme toxicologique bien décrit chez le rongeur, en particulier chez le rat. **Ce mécanisme n'est reconnu comme pertinent chez l'homme dans les RAR que nous avons consultés, ni pour les industriels ni pour les Etats membres rapporteurs** (sauf dans le cas du Métribuzin). Mais pour les substances qui nous intéressent ici le débat est mal posé : **ce n'est pas seulement l'induction de tumeurs thyroïdiennes qui nous préoccupe mais celle de modifications des HT.**

Autrement dit l'induction d'enzymes augmentant l'élimination des HT est-elle de nature à entraîner une hypothyroïdie même transitoire, et en particulier pendant la gestation ?

Voici les arguments classiquement avancés (1), pour considérer que ce type de mécanisme est non extrapolable à l'être humain :

1 Les enzymes de phase II induites responsables de l'augmentation de clairance hépatique des hormones thyroïdiennes bien que relativement proches, diffèrent entre l'homme et le rat.

Selon FINDLAY (2) chez le rat, comme chez l'homme la T4 et la rT3 sont glucuronidées dans une large mesure par des isoenzymes de la sous-famille UGT1A. En revanche la T3 n'est pas glucuronidée de façon significative dans le foie ou le rein humain, contrairement à la glucuronidation substantielle de la T3 par les microsomes hépatiques normaux du rat Wistar (2). La T3 semble être métabolisée principalement par déiodination et sulfation, mais « Il reste à déterminer si la T3 est également un substrat pour une UGT non identifiée chez l'homme » Par contre, si dans des conditions physiologiques normales, la glucuronidation ne paraît pas être une voie importante par laquelle les hormones thyroïdiennes sont métabolisées, son importance s'accroît en cas d'induction enzymatique.

Pour les auteurs de l'article « lorsque l'activité des UGT responsables de la glucuronidation des hormones thyroïdiennes s'élève, par exemple suite à une exposition à un xénobiotique, le métabolisme de l'hormone thyroïdienne peut être modifié par rapport à la normale, la glucuronidation devenant une voie plus active ». En conclusion sur ce point, rats et humains partagent bien la même voie d'élimination (glucuronidation) pour la T4 qui après déiodation périphérique sera la source de 80% de la T3. De plus le Workshop fait remarquer que « les récepteurs humains PXR/CAR - régulant l'activité des enzymes de phase 1, 2, 3 - sont similaires à ceux du rat » (p 156).

2 Le réservoir d'hormones thyroïdiennes est considérablement moins important chez le rongeur que chez l'être humain, ce qui rendrait le rat particulièrement sensible aux perturbations de l'axe HPT.

Certes mais durant le premier trimestre de grossesse, la T4 maternelle est la seule source d'HT pour l'embryon, qui n'a donc pas d'autre « réservoir ». La mère reste une importante source d'HT plus tard pendant la gestation, contribuant environ à 30% de la demande du fœtus (reviewed by Ginsberg et al. 2007). Pendant la gestation, l'organe cible n'est pas la thyroïde, mais le cerveau (p 97).

L'argumentation de l'US EPA en faveur de la reconnaissance de ce lien causal est intéressante : "There are multiple data sets associating the degree of disruption of thyroid function to adverse neurodevelopmental outcomes where the perturbations are mild to moderate. Haddow et al (1999) reported a 25% decrease in maternal free T4 during the second trimester in women and associated this with neurodevelopmental and cognitive deficits in children. Henrichs et al. (2010) associated maternal hypothyroxinemia with higher risk of verbal and nonverbal cognitive delay in early childhood".(3) p 30

ANNEXE

L'INDUCTION ENZYMATIQUE (SUITES)

De plus (p 97) : “There are very low levels of TH in mother’s milk. For this reason, newborns cannot anymore rely on mother’s TH and have to synthesise their own supply. However, newborns have quite low functional reserves of TH, and the reserves available in the adult are not yet established. This makes newborns more vulnerable to perturbations of the thyroid system”.

Several factors play a role (Ginsberg et al. 2007): (3) p 98

- The serum half-life of T4 is lower in neonates than in adults (3 days vs 7-10 days). (La demi-vie sérique de la T4 est plus faible chez les nouveau-nés que chez les adultes (3 jours contre 7-10 jours).
- The rate of TH replacement in neonates must therefore be higher than in adults. (Le taux de renouvellement des TH chez les nouveau-nés doit donc être plus élevé que chez les adultes)
- The storage capacity of the neonatal thyroid is less than 1 day’s worth of TH demand, compared to the adult gland which can store the demand of several months. (La capacité de stockage de la thyroïde néonatale est inférieure à 1 jour de demande de TH, alors que la glande adulte peut stocker la demande de plusieurs mois)

Compte-tenu des enjeux en terme de neuro-développement, ce n’est pas la capacité de stockage des HT de l’être humain adulte qu’il faut considérer, mais bien celle qui correspond à toute la période péri-natale.

3 Le rat, en raison des différences entre espèces dans les demi-vies de la T4 et dans les protéines porteuses, a été considéré comme particulièrement sensible aux perturbations de la thyroïde. En outre, on pensait que la TBG serait la principale protéine de transport physiologiquement pertinente chez l’homme, alors qu’elle est à peine détectée chez les rats adultes.

La demi-vie des hormones thyroïdiennes est en effet bien plus courte chez le rat que chez l’être humain attribuée à l’absence de thyroxine-binding globulin TBG chez le rat adulte (la demi-vie de la T4 est de 5 à 9 jours chez l’être humain, contre 0,5 à 1 jour chez le rat (Jahnke et al., 2004)). Cependant, il a été souligné lors d’un workshop de l’EFSA(3) que :

Les demi-vies de l’hormone active T3 sont beaucoup plus similaires dans les deux espèces. Et comme on vient de le souligner la demie-vie de la T4 est beaucoup plus basse dans la période néo-natale que chez l’adulte.

la TBG est exprimée chez le rat, mais cela dépend de l’âge (Savu et al 1991, Vranckx et al 1990, & 1989, Savu et al 1987) et la transthyrethine (TTR) est la protéine de transport principale de la T4 chez le rat.

Mais la fraction liée au TTR est la plus pertinente pour déterminer la disponibilité tissulaire des hormones thyroïdiennes chez l’homme, et la fraction liée au TBG est moins pertinente à cet égard (Alshehri et al. 2015). « The most physiologically relevant carrier protein in humans is also TTR »(3) Par conséquent, la pertinence du modèle de rat ne doit pas être écartée en raison des faibles niveaux de TBG chez les rats adultes. Et si on considère les demies-vie des HT il faut considérer celle de l’hormone active, la T3, et aussi celle de la T4 en période néo-natale.

ANNEXE

L'INDUCTION ENZYMATIQUE (SUITES)

4 L'absence d'effets correspondants sur la TSH en cas de baisse des HT conduit à écarter les données portant sur les HT.

Or de tels effets ont pourtant été documentés avec certaines substances (PBDE, PCB et PFAS) et surtout des études épidémiologiques montrent en cas d'hypothyroïdisme (baisse de T4 sans modification de la TSH) des effets neurodéveloppementaux : Henrichs et al. (2010), les méta-analyses de Fan and Wu (2016), celle de Wang (2016), Ghassabian et al. (2014),

5 Peut-on imaginer qu'il existe un seuil en dessous duquel une induction des HT ne se produirait pas ?

A priori cette hypothèse ne peut être écartée, et les industriels n'ont pas tort de la soulever. Cependant pour s'en assurer, compte tenu des enjeux en termes d'impacts neurodéveloppementaux il y a lieu de tester aussi de faibles doses, avec un nombre d'animaux suffisant selon les recommandations de l'Endocrine Society. L'exemple du Métribuzin montrant des effets opposés sur la T4 (hausse à faible exposition et baisse de T4 à forte exposition), montre bien que cela ne sera pas toujours le cas.

CONCLUSION

Un groupe du « Workshop on thyroid » a convenu que l'augmentation de la clairance de la T4 chez les rongeurs à la suite de l'induction d'enzymes hépatiques de phase II ne peut pas être considérée comme non pertinente pour l'homme. Il devrait être présumé pertinent jusqu'à ce que des données supplémentaires avec d'autres espèces indiquent le contraire (ce qui est aussi le point de vue exprimé dans le « Guidance for the identification of endocrine disruptors in the context of Regulations (EU) No 528/2012 and (EC)No 1107/2009 »). Celles-ci sont absentes des dossiers auxquels nous avons eu accès, alors que le mécanisme était jugé non pertinent. Le seront-elles des données complémentaires demandées par l'EFSA ? Une substance qui induit des modifications de taux hormonaux secondaires à des effets sur les enzymes hépatiques devrait être considérée comme un perturbateur endocrinien (avec selon le niveau de preuve, la classification en certain, présumé, suspecté). La logique de ce point de vue étant que les voies de dégradation des hormones, et donc l'augmentation des réactions de conjugaison hépatique, sont considérées comme des événements clés dans le maintien de l'homéostasie, aussi importante que la synthèse hormonale.

(1) Constantin Dallot. Perturbation de la fonction thyroïdienne : mise en place d'une stratégie de criblage des produits chimiques. Sciences agricoles. Université Nice Sophia Antipolis, 2015. Français. : 2015NICE4135.

(2) KAREN A. B. FINDLAY, ELLEN KAPTEIN, THEO J. VISSER, AND BRIAN BURCHELL, Characterization of the Uridine Diphosphate-Glucuronosyltransferase-Catalyzing Thyroid Hormone Glucuronidation in Man*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism Printed in U.S.A. Copyright © 2000 by The Endocrine Society

(3) Kortenkamp, A., Martin, O., Baynes, A., Silva, E., Petersen, M. A., & Hass, U. (2017). Supporting the organization of a workshop on thyroid disruption – final report. European Commission. <https://doi.org/10.2779/921523>

LIENS D'INTÉRÊT

AMLP

L'AMLP est une association dont les ressources proviennent uniquement des cotisations de ses adhérents et de prestations type conférences ou formations. Les membres de son CA se sont engagés à ne recevoir aucun avantage en nature, dons et subventions de firmes intervenant dans le domaine de la santé, susceptibles de commercialiser des produits contenant des perturbateurs endocriniens, ou commercialisant des « produits bio et dérivés », afin d'assurer sa totale indépendance

GÉNÉRATIONS FUTURES

Génération Futures est une association agréée par le Ministère de l'Écologie. Ses ressources proviennent de ses adhérents et donateurs, de fondations privées et de subventions publiques. L'association n'accepte des financements que de structures qui ont une démarche éthique, écologique et socialement juste en cohérence avec les objectifs de l'association. Plus d'infos sur <https://www.generations-futures.fr/qui-sommes-nous/>

CONTACTS

AMLP

Dr. Pierre-Michel PERINAUD

Président de l'AMLP

Tel: 06 31 23 66 72

Email: pierre-michel.perinaud@orange.fr

GÉNÉRATIONS FUTURES

François VEILLERETTE

Porte-parole de Génération Futures

Tel: 06 81 64 65 58

Email: francois@generations-futures.fr

