



## Memo

To Miljøstyrelsen, P&B

Reg. [Tekst]

From Susanne Hougaard Bennekou

### Gennemgang af studie vedrørende sammenhængen mellem glyphosat og kræftsygdommen Non-Hodgkins Lymfom

"Exposure to Glyphosate-Based Herbicides and Risk for Non-Hodgkin Lymphoma: A Meta-Analysis and Supporting Evidence", af L. Zhang, L. Rana, R.M. Shaffer, E. Taioli, L. Sheppard blev publiceret i Mutation Research, februar 2019. Nærværende notat er en gennemgang og vurdering af artiklen.

6 March 2019  
shobe

#### Beskrivelse af undersøgelsen

##### Fund:

På baggrund af en meta-analyse af epidemiologiske data, som har undersøgt sammenhængen mellem udsættelse for glyphosat-holdige sprøjtemidler og udviklingen af Non-Hodgkin Lymfom (NHL) – en type kræft som opstår i lymfeknuderne – fandt man, at hvis man har haft en høj eksponering overfor glyphosat, har man en 41% øget risiko for at udvikle NHL.

##### Metode:

Studiet er en såkaldt meta-analyse, dvs. der er ikke lavet nye data, men undersøgelsen beror på nye analyser af eksisterende data – i dette tilfælde epidemiologiske data.

Forskerne ønskede at undersøge sammenhængen mellem høj eksponering overfor glyphosat og udvikling af NHL. Til det formål lavede de en søgning på relevante publikationer i databaser (PubMed, IARC, US-EPA, JMPR). Efter at sorteret studier fra som ikke opfyldt de kriterier, de have opsat, ender de med at inkludere 6 epidemiologiske undersøgelser i meta-analysen. Disse 6 undersøgelser omfatter:

- 5 case-control studier
- 1 kohorte undersøgelse (med resultater fra analyser i 2005 og 2017)

##### Data-grundlag:

Alle de fem case-kontrol undersøgelser blev vurderet under EU-vurderingen af glyphosat (glyphosate\_Addendum1\_IARC-monograph2015);

- Erikson et al. (2008) - 29 cases og 18 kontroller. Eksponering overfor glyphosat >10 dage versus aldrig. Odds ratio var 2.02 (1.10-3.71). Der blev justeret for udsættelse for andre pesticider, så nogen grad af justering for Konfounders blev udført. Validiteten blev scoret som lav/medium.
- Orsi et al (2009) – 12 cases og 24 kontroller. Eksponering overfor glyphosat versus aldrig. Ingen forøget odds ration. Validiteten blev scoret som middel.
- Hardell et al. (2002). Man har lagt to tidligere undersøgelser sammen (Hardell 1999 og Nordström (1998) – case 515 af NHL og CHL ("Hairy Cell Leukæmi") og 1141 kontroller. Eksponering overfor glyphosat versus aldrig. Odds ration blev rapporteret til 3,04 (1,08-8,52). Der blev justeret for udsættelse for andre pesticider, så nogen grad af justering for Konfounders blev udført. Studiet blev vurderet som ikke værende pålideligt fordi to studier med forskellige end-points (NHL og CHL) blev lagt sammen for at øge styrken.
- McDuffie et al. (2001) – 517 cases og 1506 kontroller. Odds ration 1,2 (0,83-1,74). Eksponering overfor glyphosat > 2dage versus aldrig. Validiteten blev scoret som lav/medium.
- De Roos et al. (2003). 36 cases – ikke-eksponerede (kontroller) ikke af-rapporteret. Eksponering overfor glyphosat versus aldrig. Afrapporterer resultater ved at lægge tre case-kontrol studier sammen. Eksponering 337,2 intensitets-vægtede livstids eksponeringsdage (antal dage brugt x intensitetsscores) versus ingen. Odds ratio 2,1 (1,1- 4). Der blev justeret for udsættelse for andre pesticider, så nogen grad af justering for konfounders blev udført. Validiteten kunne ikke vurderes, idet studiet er ikke afrapporteret tilstrækkeligt, men studiet blev vurderet som relevant ift. glyphosat vurderingen.

Både Zhang et al. og EU-vurderingsrapporten konkluderer at kvaliteten af case-kontrol studierne ikke er høj (middel til lav). Der er usikkerhed vedrørende multipel eksponering (eksponering over for andre pesticider/kemikalier), som er en generel usikkerhed ved befolkningsundersøgelser.

Endvidere blev kohorte-undersøgelsen fra 2005 også vurderet:

- De Roos et al. (2005). Studiet er en afrapportering af Agricultural Health Study (AHS) hvor sammenhængen mellem pesticid-eksponering og udvikling af cancer blev undersøgt i USA. Der var 92 cases. Den relative risiko var 1,1 (0,7-1,9). Validiteten blev vurderet som høj/medium, idet det er et kohortestudie med kontrol af relevante konfounders, dog stadig med svaghed ift. eksponering overfor mange stoffer og ikke glyphosat alene.

I nærværende publikation er resultaterne taget med fra en ny og større analyse af AHS kohorten (Andreotti et al. 2018). Denne undersøgelse er *ikke* blevet vurderet i forbindelse med EU-vurderingen af glyphosat. Livs-eksponeringen af brug af glyphosat (og 49 andre pesticider) blev vurderet ved tre mål: ingen/aldrig brugt, antal dage brugt (dage/år x antal år) og intensitets-vægtede antal livstidsdage (antal dage brugt x intensitetsscores). Eksponeringen kunne på den baggrund inddelt i "ingen" eksponering og 4 kvartiler. Den nye AHS undersøgelse har over 50.000 personer indrullet, som sprøjter med pesticider. Der var 575 NHL cases i undersøgelsen. Andreotti et al. afrapporterer følgende for NHL

1. Kvartil (1-598,9): Relativ risiko 0,83 (0,59-1,18)
2. Kvartil (599-1649,9): Relativ risiko 0,83 (0,61 -1,12)
3. Kvartil (1650-4339,9): Relativ risiko 0,88 (0,65 – 1,19)
4. Kvartil (>4340): Relativ risiko 0,87 (0,64 – 1,2)

På den baggrund konkluderer Andreotti et al., at der ikke var nogen øget relativ risiko for udvikling af NHL og eksponering overfor glyphosat.

Som fremgår af data supplement til artiklen, så har de også analyseret data og stratificeret dem ift. "life-time lag"; det vil sige hvornår man har været udsat for glyphosat, og hvornår man derefter udvikler sygdommen. For hvert kvartil har man lavet analyser af den relative risiko efter 5, 10, 15 og 20 års life-time lag.

For den 4 kvartil (data fra den kvartil benyttes af Zhang et al.) sås følgende:

5 år: Relativ risiko 0,88 (0,66-1,17), p-trend: 0,58  
10 år: Relativ risiko 0,85 (0,65-1,12), p-trend: 0,37  
15 år: Relativ risiko 0,91 (0,69-1,2), p-trend: 0,62  
20 år: Relativ risiko 1,13 (0,85-1,52), p-trend: 0,69

I meta-analysen inddrog Zhang et al. data fra 20 års life-time lag.

Endvidere laver forfatterne en vurdering af dyrestudier og mekanistiske data ift. udvikling af NHL ved glyphosat eksponering. Det drejer sig om en opsummering af data på kræftundersøgelser i mus. Disse er afrapporteret og vurderet i detaljer i EU (RAR 2015) og nyere (og ikke vurderet i forbindelse med EU-vurderingen) og ældre mekanistiske studier. Her diskuteres forskellige mekanismer: immunsuppression og påvirkning af tarmbakterier, hormonforstyrrelsesmedieret, genetiske ændringer og oxidativt stress.

Forfatterne konkluderer, at der er støttende mekanistisk evidens.

### **Vurdering af undersøgelsen**

Undersøgelsen vurderes i forhold til eksisterende vurderinger fra EU og ud fra metoder beskrevet i ved EFSA's Scientific Opinion of the PPR Panel on the follow-up of the findings of the External Scientific Report 'Literature review of epidemiological studies linking exposure to pesticides and health effects', 2017 og "Anbefalinger for brug af epidemiologiske undersøgelser i risikovurdering af pesticider" og Notat 1. " Notat 1 fra arbejdsgruppen vedr. børneleukæmi og pesticider:

Beskrivelse af muligheder for at bruge befolkningsundersøgelser i vurdering af pesticider og hvad det betyder for vurdering af risikoen for gravide - herunder begrænsninger ved denne type undersøgelser og behov for yderligere undersøgelser", 2019, fra Miljø- og Fødevareministeriets arbejdsgruppe.

Det er ikke homogene data, der er indgået i undersøgelsen – 5 case-kontrol studier og et kohorte studie. Det vil sige, at et stort, højkvalitets studie, er analyseret sammen med case-kontrol studier med meget mindre prøvetagning, hvor der mangler tidsmæssig temporalitet.

Ligeledes, som fremgår ovenfor, er der meget stor forskel mellem studierne ift. præcisionen i eksponeringsestimater. Case-kontrol studierne eksponeringsestimater er generelt meget svage fra glyfosat-eksponering versus ingen og op til >10 dage versus ingen eksponering, mens AHS studiet har et langt mere præcist estimat. Det er en svaghed i meta-analysen af Zhang et al., at man har kombineret så heterogene data i en meta-analyse.

Særligt er det værd at bemærke, at analysen lavet i AHS studiet, som er langt det stærkeste studie, ikke støtter konklusionen i Zhang et al.; Andreotti et al. konkluderer *ikke*, at der er øget risiko for NHL, mens det konkluderes i Zhang et al.

En anerkendt epidemiolog inden for kræftforskning, professor G. Kabat, har efterfølgende publiceret en kommentar/analyse af studiet (<https://geneticliteracyproject.org/2019/02/18/41-glyphosate-cancer-increase-claim-under-fire-did-the-authors-of-new-meta-study-deliberately-manipulate-data-or-just-botch-their-analysis/>). Heri kritiserer han særligt, at Zhang et al. ikke har forklaret hvorfor de vælger inkluderer data efter 20 års life-time lag, men ikke 15 eller 10 år. Han postulerer, at hvis man havde valgt 15 år eller 10 års life-time lag ville der formodentligt ikke have været en forøget relativ risiko. G. Kabat mener, at under alle omstændigheder burde den relative risiko være beregnet for de øvrige life-time lags.

Analysen vedrørende dyrestudierne og de mekanistisk in vitro studier er ikke særligt fyldestgørende.

Analysen af studierne i mus bibringer intet nyt ift. EFSA vurderingen. I EU-vurderingen kommer man frem til at muse-studierne, selvom der i nogle ses en statistisk forøget forekomst af malignt lymfom (en kræftsygdom som ligner NHL) hos hanmus i nogle af studierne, så er der ikke er evidens for at glyfosat giver

kræft. Det vurderes, at de fund der er i mus ikke er relevante, idet enten lægger de inden for historiske kontrol data, eller så ses de ved ekstreme doser (over 1000 mg/kg/dag), eller også er selve studiet ikke validt pga. af infektioner.

Der diskuteres forskellige mulige mekanistiske forklaringer – immunsuppression, hormonforstyrrende effekter, genetiske ændringer og oxidativt stress. Der findes en meget stor mængde litteratur inden for disse områder, men kun en mindre del diskuteres og ret selektivt. Eksempelvis nævnes der undersøgelser vedr. glyphosats effekt på tarmbakterier, men der nævnes ikke undersøgelse hvor dette ikke kunne bekræftes (Nielsen et al. 2018). Ligeledes i relation til mulige endokrint medierede mekanismer, nævnes nogle publicerede dyrestuder, men disse diskuteres ikke i forhold til de omfattende data, der findes i forbindelse med eksempelvis EU-vurderingen, og at man i EU-vurderingen vurderede, at der ikke var tegn på at glyphosat er hormonforstyrrende.

I forhold til genetiske ændringer, så refereres ikke til EU-vurderingen af de meget omfattende data (også fra den åbne litteratur), og hvori det konkluderes at glyphosat i sig selv ikke giver skader på arveanlæggene. Zhang et al. nævner et par enkelte studier med positive fund uden at diskutere disse ift. den øvrige evidens. Ift. oxidativt stress diskuteres enkelte af de studier, der er blevet vurderet i forbindelse med EU-vurderingen (EFSA 2017).

## Konklusion

“Exposure to Glyphosate-Based Herbicides and Risk for Non-Hodgkin Lymphoma: A Meta-Analysis and Supporting Evidence” af L. Zhang et al., 2019 er en ny analyse af eksisterende epidemiologiske data om sammenhængen mellem glyphosat eksponering og udvikling af NHL.

I analysen indgår data fra 6 undersøgelser, 5 case-kontrol studier og et kohorte studie. De 5 case-kontrol studier er alle blevet vurderet i forbindelse med EU-vurderingen. Generelt er de ikke særligt stærke, idet de er relativt små i størrelse, deres eksponeringsestimater er meget upræcise, at der kun delvist er justeret for confounding i nogle af studierne. De fleste af de undersøgelser af rapportere en forøget odds ratio for NHL og eksponering overfor glyphosat.

Kohorteundersøgelsen fra 2017 indgik ikke i EU-vurderingen, men det gjorde en tidligere analyse af den samme kohorte fra 2005. Kohorte-undersøgelsen er langt den stærkeste. I begge analyser af kohorten, finder man ikke en øget relativ risiko for udvikling af NHL og eksponering overfor glyphosat. Det er vurderingen, at grundet metodologiske årsager, at undersøgelsen af Zhang et al. ikke væsentligt styrker konklusionerne fra de enkelte undersøgelser hver for sig. Hvad angår en mulig sammenhæng mellem eksponering overfor glyphosat og udvikling af NHL, giver kohorte-undersøgelsen i sig selv langt det mest robuste data-grundlag. Kon-

klusionen var, at der ikke var nogen sammenhæng mellem glyphosat eksponering og udvikling af NHL.

Generelt er der ved alle befolkningsundersøgelserne nævnt usikkerhed i forbindelse med udsættelse for andre stoffer.

Den mekanistiske analyse foretaget i Zhang et al. er ikke fyldestgørende og uddybende. Overordnet er det vurderingen, at Zhang et al. ikke bibringer væsentlig ny viden, som anfægter EU-vurderingen af dyrestudierne samt viden fra den åbne litteratur.

## Referencer

L. Zhang, L. Rana, R.M. Shaffer, E. Taioli, L. Sheppard Exposure to Glyphosate-Based Herbicides and Risk for Non-Hodgkin Lymphoma: A Meta-Analysis and Supporting Evidence". Mutation Research, februar 2019.

Andreotti G, Koutros S, Hofmann JN, Sandler DP, Lubin JH, Lynch CF, Lerro CC, De Roos AJ, Parks CG, Alavanja MC, Silverman DT, Beane Freeman LE. Glyphosate Use and Cancer Incidence in the Agricultural Health Study. J Natl Cancer Inst. 2018 May 1;110(5):509-516.

Renewal Assessment Report. Glyphosate Addendum 1 to RAR. Assessment of IARC Monographs Volume 112 (2015): Glyphosate. RMS: Germany. 31 August 2016.

Renewal Assessment Report. Glyphosate RMS: Germany. 18 December 2013. Revised 29 January 2015.

EFSA (European Food Safety Authority), 2017. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the potential endocrine disrupting properties of glyphosate. EFSA Journal 2017;15(9):4979, 20 pp.

EFSA PPR Panel (EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues), Ockleford C, Adriaanse P, Beryn P, Brock T, Duquesne S, Grilli S, Hougaard S, Klein M, Kuhl T, Laskowski R, Machera K, Pelkonen O, Pieper S, Smith R, Stem-

mer M, Sundh I, Teodorovic I, Tiktak A, Topping CJ, Wolterink G, Bottai M, Hall-dorsson T, Hamey P, Rambourg M-O, Tzoulaki I, Court Marques D, Crivellente F, Deluyker H and Hernandez-Jerez AF, 2017. Scientific Opinion of the PPR Panel on the follow-up of the findings of the External Scientific Report 'Literature review of epidemiological studies linking exposure to pesticides and health effects'. EFSA Journal 2017;15(10):5007, 101 pp.

Anbefalinger for brug af epidemiologiske undersøgelser i risikovurdering af pesticider. Miljø- og Fødevareministeriet. 28. januar 2019.03.06

Notat 1 fra arbejdsgruppen vedr. børneleukæmi og pesticider:

Beskrivelse af muligheder for at bruge befolkningsundersøgelser i vurdering af pesticider og hvad det betyder for vurdering af risikoen for gravide - herunder begrænsninger ved denne type undersøgelser og behov for yderligere undersøgelser.

Kabat, G. 41% glyphosate-cancer increase claim under fire: Did authors of new meta-study deliberately manipulate data or just botch their analysis?

<https://geneticliteracyproject.org/2019/02/18/41-glyphosate-cancer-increase-claim-under-fire-did-the-authors-of-new-meta-study-deliberately-manipulate-data-or-just-botch-their-analysis/>

Nielsen LN, Roager HM, Casas ME, Frandsen HL, Gosewinkel U, Bester K, Licht TR, Hendriksen NB, Bahl MI. Glyphosate has limited short-term effects on commensal bacterial community composition in the gut environment due to sufficient aromatic amino acid levels. Environ Pollut. 2018 Feb;233:364-376.