

ONDERZOEK

Open

Toegang



Carcinogene effecten van langdurige blootstelling vanaf het prenatale leven aan glyfosaat en herbiciden op basis van glyfosaat bij Sprague-Dawley ratten

Simona Panzacchi^{1†}, Eva Tibaldi^{1†}, Luana De Angelis¹, Laura Falcioni¹, Rita Giovannini¹, Federica Gnudi¹, Martina Iuliani¹, Marco Manservigi¹, Fabiana Manservigi¹, Isabella Manzoli¹, Ilaria Menghetti¹, Rita Montella¹, Roberta Noferini¹, Daria Sgargi¹, Valentina Strollo¹, Francesca Truzzi^{1,4}, Michael N. Antoniou², Jia Chen³, Giovanni Dinelli⁴, Stefano Lorenzetti⁵, Alberto Mantovani⁶, Robin Mesnage², Melissa J. Perry⁷, Andrea Vornoli⁸, Philip J. Landrigan^{9,10†}, Fiorella Belpoggi^{1,11†} en Daniele Mandrioli^{1†}

Abstract

Achtergrond Herbiciden op basis van glyfosaat (GBH's) zijn de meest gebruikte onkruidbestrijdingsmiddelen ter wereld. De bezorgdheid over de volksgezondheid is toegenomen sinds het Internationaal Agentschap voor Kankeronderzoek (IARC) glyfosaat in 2015 heeft geïdentificeerd als een waarschijnlijk carcinogeen voor de mens. Om de gezondheidseffecten van glyfosaat en GBH's verder te onderzoeken, lanceerde het Ramazzini Instituut de Global Glyphosate Study (GGS), die ontworpen is om een breed scala aan toxicologische resultaten te testen. Hier worden de resultaten gerapporteerd van het carcinogeniteitsgedeelte van de GGS.

Methoden Glyfosaat en twee GBH's, Roundup Bioflow gebruikt in de Europese Unie (EU) en RangerPro gebruikt in de VS, werden toegediend aan mannelijke en vrouwelijke Sprague-Dawley (SD) ratten, te beginnen op dag 6 van de zwangerschap (via blootstelling van de moeder) tot de leeftijd van 104 weken. Glyfosaat werd toegediend via drinkwater in drie doses: de aanvaardbare dagelijkse inname (ADI) van de EU van 0,5 mg/kg lichaamsgewicht/dag, 5 mg/kg lichaamsgewicht/dag en het no-observed adverse effect level (NOAEL) van de EU van 50 mg/kg lichaamsgewicht/dag. De twee GBH-formuleringen werden toegediend in dezelfde glyfosaat-equivalente doses.

Resultaten In alle 3 behandelingsgroepen vertoonden statistisch significante dosisgerelateerde verhoogde trends of verhoogde incidenties van goedaardige en kwaadaardige tumoren op meerdere anatomische plaatsen werden waargenomen in vergelijking met historische en gelijktijdige controles. Deze tumoren ontstonden in hemolymfoïde weefsels (leukemie), huid, lever, schildklier, zenuwstelsel, eierstok, borstklier, bijnieren, nier, urineblaas, bot, endocriene pancreas, baarmoeder en milt (heman-giosarcoom). Verhoogde incidenties kwamen voor bij beide geslachten. In de meeste gevallen ging het om tumoren die zeldzaam zijn bij SD-ratten.

[†]Simona Panzacchi en Eva Tibaldi zijn mede-eerste auteurs.

[†]Philip J. Landrigan, Fiorella Belpoggi en Daniele Mandrioli zijn co-auteurs.

*Correspondentie:

Daniele Mandrioli
mandriolid@ramazzini.it

De volledige lijst met informatie over de auteurs is beschikbaar aan het einde van het artikel



© De auteur(s) 2025. **Open Access** Dit artikel is gelicenseerd onder een Creative Commons Naamsvermelding-NietCommercieel-GeenAfgeleideWerken 4.0 Internationale Licentie, die elk niet-commercieel gebruik, delen, verspreiden en reproduceren toestaat in elk medium of formaat, zolang je de originele auteur(s) en de bron vermeldt, een link geeft naar de Creative Commons licentie en aangeeft of je het gelicenseerde materiaal hebt aangepast. Je hebt onder deze licentie geen toestemming om aangepast materiaal dat is afgeleid van dit artikel of delen ervan te delen. De afbeeldingen of ander materiaal van derden in dit artikel vallen onder de Creative Commons-licentie van het artikel, tenzij anders aangegeven in een creditregel bij het materiaal. Als materiaal niet is opgenomen in de Creative Commons-licentie van het artikel en je beoogde gebruik niet is toegestaan door wettelijke regelgeving of het toegestane gebruik overschrijdt, moet je rechtstreeks toestemming vragen aan de houder van het auteursrecht. Ga voor een kopie van deze licentie naar <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>.

(achtergrondincidentie < 1%), waarbij 40% van de leukemiedoden in de behandelde groepen optrad vóór de leeftijd van 52 weken en ook voor andere solide tumoren werd een verhoogde vroegtijdige sterfte waargenomen.

Conclusies Glyfosaat en GBH's op blootstellingsniveaus die overeenkomen met de EU ADI en de EU NOAEL veroorzaakten dosisgerelateerde toename in incidentie van meervoudige goedaardige en kwaadaardige tumoren bij SD-ratten van beide geslachten. Voor meerdere tumoren werd een vroege levensloop en mortaliteit waargenomen. Deze resultaten leveren robuust bewijs ter ondersteuning van de conclusie van het IARC dat er "voldoende bewijs is voor carcinogeniteit [van glyfosaat] bij proefdieren". Bovendien zijn onze gegevens consistent met epidemiologisch bewijs over de carcinogeniteit van glyfosaat en GBH's.

Kernbegrippen Glyfosaat, herbicide op basis van glyfosaat, bestrijdingsmiddelen, kanker, Sprague-Dawley rat, aanvaardbare dagelijkse inname, prenataal, bioassay, DOHaD

Achtergrond

Glyfosaat [IUPAC chemische naam N-(fosfonomethyl)glycine] is een herbicide met een breed spectrum dat wordt gebruikt voor de niet-selectieve onkruidbestrijding in zowel de conventionele landbouw als daarbuiten. Glyfosaat werkt door het enzym 5-enolpyruvylshikimaat-3-fosfaat synthase te remmen, een component van de shikimate pathway die betrokken is bij de synthese van essentiële aromatische aminozuren in planten [1]. Het uitgebreide gebruik van glyfosaat weerspiegelt zijn doeltreffendheid in de bestrijding van een breed scala van zowel breedbladige als grasachtige onkruiden. Dit uitgebreide gebruik van herbiciden op basis van glyfosaat (GBH's) heeft ertoe geleid dat deze verbinding en zijn metabolieten gemakkelijk worden gedetecteerd in voedingsmiddelen [2, 3], water [4] en stof [5], wat duidt op een mogelijke wijdverspreide blootstelling.

In maart 2015 classificeerde het Internationaal Agentschap voor Kankeronderzoek (IARC), het kankeragentschap van de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO), glyfosaat als *waarschijnlijk kankerverwekkend voor mensen* (Groep 2A) op basis van *beperkt bewijs van kankerverwekkendheid* bij mensen, in het bijzonder non-Hodgkin lymfoom, en *voldoende bewijs van kankerverwekkendheid bij knaagdieren* [6]. In 2015 concludeerde de IARC Werkgroep aanvullend dat er sterk bewijs is dat glyfosaat genotoxisch is en dat het oxidatieve stress induceert, ook in menselijke cellen in vitro [7]. Tot op heden suggereert bewijs uit mechanistische studies bij mensen en diermodellen dat glyfosaat en zijn formuleringen verschillende van de tien hoofdkenmerken van kankerverwekkende stoffen bezitten [8], waaronder genotoxiciteit, epigenetische verandering, oxidatieve stress, chronische ontsteking, darmmicrobiële verstoringen en hormoonregulering [9]. Bij ratten kan de absorptie van glyfosaat uit het maagdarmlkanaal oplopen tot 30% van de dosis en hulpstoffen lijken geen groot effect te hebben op de absorptie en uitscheiding van glyfosaat [6, 10]. Er is slechts beperkte informatie beschikbaar over menselijke blootstelling of biologische halfwaardetijd van glyfosaat bij mensen [11, 12].

In 2019 lanceerde het Ramazzini Instituut (RI) de Global Glyphosate Study (GGS), een multi-institutionele studie met als doel de meest uitgebreide toxicologische evaluatie van glyfosaat en GBH's (glypho- satestudy.org). De GGS is een geïntegreerde studie [13]

ontworpen om een breed scala aan toxicologische resultaten te testen, waaronder carcinogeniteit, neurotoxiciteit, multigenerationele effecten, orgaan toxiciteit, hormoonregulering en prenatale ontwikkelingstoxiciteit. Resultaten van verschillende onderdelen van het onderzoek en de proeffase zijn al gepubliceerd [9, 10, 14].

Bij het ontwerp van de GGS werd verondersteld dat blootstelling aan GBH's toxischer zou kunnen zijn dan blootstelling aan glyfosaat alleen omdat GBH's niet-herbicide co-formulanten bevatten die de penetratie van glyfosaat in plantenweefsels vergemakkelijken via het wasachtige oppervlak van de bladeren [15]; daarom werd verondersteld dat deze co-formulanten de biologische beschikbaarheid van glyfosaat in zoogdieren, inclusief mensen, zouden kunnen verhogen. De Europese Unie (EU) erkende dit potentiële risico en verbood in 2016 het gebruik van polyoxyethyleen talk amine (POEA)-achtige co-formulanten in GBH's [15-18], maar deze formuleringen worden nog steeds gebruikt buiten de EU. Na het uitfasen van POEA in de EU zijn GBH-fabrikanten overgestapt op andere oppervlakteactieve stoffen.

Hier worden de resultaten gepresenteerd van de incidentie van neoplastische letsels van de carcinogeniteitsarm van het GGS. In dit onderzoek werden glyfosaat en twee commerciële GBH-formuleringen, de EU-formulering Roundup Bio-flow (MON 52276) en de Amerikaanse formulering RangerPro (EPA 524-517), langdurig toegediend aan SD-ratten vanaf de prenatale periode via het drinkwater aan de moederdieren in glyfosaatconcentraties van 0,5, 5 en 50 mg/kg lichaamsgewicht/dag, en verder tot de leeftijd van twee jaar. RangerPro bevat POEA oppervlakteactieve stoffen [19], terwijl Roundup Bioflow geen POEA bevat [20], maar het volledige co-formulanten profiel is momenteel nog niet bekend gemaakt. Dit dosisbereik omvat zowel de aanvaardbare dagelijkse inname (ADI; 0,5 mg/kg lichaamsgewicht/dag) als het niet-waargenomen-nadelig-effectniveau (NOAEL; 50 mg/kg lichaamsgewicht/dag) voor glyfosaat [21].

Methoden

Teststoffen

De volgende drie teststoffen werden in drinkwater toegediend aan vrouwelijke en mannelijke SD-ratten:

Glypfloaat, CAS 38641-94-0 [N-(pflospflonometfllyl) glycine, zuiverheid 99%, Sigma-Aldricfl, Milaan, Italië], tfl commercieële GBH-formulering Roundup Bio- flow [MON 52276, met 360 g/L glypfloaatzuur in tfl vorm van 486 g/L isopropylaminezouten van glypfloaat (41.5%)] en tfl commercieële GBH-formulering RangerPro [EPA-registratie n. 524-517, met 356 g/L glypfloaatzuur in tfl vorm van 480 g/L isopropylaminezouten van glypfloaat (41%)]. Oplossingen van tflse tflree teststoffen werden bereid door tfl toevoeging van een geschikt volume kraan- drinkwater, om tfl gewenste overeenkomstige con- centratie van glypfloaat te verkrijgen, overeenkomstigfl analyses van de stabiliteit van tfl oplossingen en concentraties van tfl test substantie [10].

Dieren en proefopzet

Alle aspecten van de dierproeven werden uitgevoerd volgens de Italiaanse wet die het gebruik en de behandeling van dieren voor wetenschappelijke doeleinden reguleert (Wetsdecreet n. 26, 2014. Implementatie van Richtlijn nr. 2010/63/EU betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt.

G.U. General Series, n. 61, 14 maart 2014). Alle onderzoeksprocedures bij dieren werden uitgevoerd in het Cesare Maltoni Cancer Research Centre van het Ramazzini Instituut (RI), Bentivoglio, Italië. Het studieprotocol werd goedgekeurd door de ethische commissie van het Ramazzini Instituut en goedgekeurd en formeel geautoriseerd door de ad-hoccommissie van het Italiaanse ministerie van Volksgezondheid (ministeriële goedkeuring n. 945/2018-PR).

De dierenfokkerij RI was de leverancier van SD-ratten.

Vrouwelijke fok- SD ratten werden individueel in polycarbonaat kooien geplaatst (42× 26×18 cm; Tecniplast Buguggiate, Varese, Italië) met één onverwant mannetje (outbred) totdat bewijs van copulatie (aanwezigheid van een vaginale copulatieplug of sperma in een dagelijkse vaginale lavage) werd waargenomen. Na de paring werd het mannetje verwijderd en de vrouwtjes werden apart gehuisvest tijdens de dracht en de bevalling. Pasgeborenen werden tot het spenen bij het moederdier gehuisvest. Gespeende nakomelingen werden samen gehuisvest, per geslacht en behandelingsgroep, niet meer dan drie dieren per kooi. De kooien werden geïdentificeerd met een kaart waarop de studieprotocolcode, de experimentele en stamboomnummers en de doseringsgroep werden vermeld. Een ondiepe laag wit sparrenhoutsnippen diende als bodembedekking (leverancier: Giuseppe Bordinon, Treviso, Italië). Tijdens het experiment hadden de dieren ad libitum toegang tot een biologische korrel "Corticella bio" geleverd door Laboratorio Dottori Piccioni Srl (Piccioni Laboratorio, Milaan, Italië). Daarnaast dronken de dieren ad libitum vers gemeentelijk kraanwater uit glazen flessen en werden de flessen dagelijks verversd. Het korrelvoer werd getest op mogelijke glyfosaatverontreiniging in overeenstemming met

Verordening (EU) nr. 293/2013 van de Commissie [maximumresidugehalten (MRL's) < 1 mg/kg]. Drinkwater uit de kraan werd getest op mogelijke verontreiniging met glyfosaat in overeenstemming met Richtlijn 2008/105/EG, D.Lgs. 152/2006, Richtlijn 2006/118/EG (werkzame stoffen in pesticiden, met inbegrip van de relevante metabolieten, afbraak- en reactieproducten < 0,1 µg/l). Analyses van chemische kenmerken (pH, as, drooggewicht en soortelijk gewicht) en mogelijke verontreinigingen met glyfosaat (< 0,01 mg/Kg) en andere chemische stoffen (metalen, aflatoxine, polychloorbifenylen, organofosfor- en organochloorpesticiden) van het strooisel werden uitgevoerd door de laboratoria van CONSULAB srl (Treviso, Italië).

De kooien werden op rekken geplaatst bij een kamertemperatuur van 22 °C ± 3 °C en 50% ± 20% relatieve vochtigheid. Temperatuur en vochtigheid werden dagelijks gecontroleerd. Het licht was kunstmatig en er werd een licht-donkericyclus van 12 uur aangehouden.

Sprague-Dawley rattenmoeders (F0) en relatieve pups (F1) werden behandeld met glyfosaat of Roundup Bioflow of RangerPro verdund in drinkwater om de gewenste glyfosaatconcentratie te bereiken. De drie gekozen concentraties voor elke teststof waren 5, 50 en 500 mg/L glyfosaat in drinkwater: de beoogde blootstellingsniveaus, gebaseerd op een gemiddelde waterconsumptie (40 ml) en een gemiddeld lichaamsgewicht (400 g), kwamen overeen met 0,5, 5 en 50 mg/kg lichaamsgewicht/dag. De controledieren kregen ad libitum water te drinken. Het totale aantal experimentele groepen was 10: controlegroep (drinkwater), glyfosaatgroepen (3 doses), Roundup Bioflow-groepen (3 doses), RangerPro-groepen (3 doses). F0-dieren werden willekeurig toegewezen aan de behandelingsgroepen, zodat er niet meer dan 1 mannetje en 1 vrouwtje per worp per groep waren, en werden uitgefokt. De vrouwelijke F0-fokkers kregen de behandeling via het drinkwater vanaf zwangerschapsdag (GD) 6, wat overeenkomt met de vroege innesteling van het embryo en het begin van de organogenese tot het einde van de lactatie, terwijl de nakomelingen (F1) blootgesteld bleven na het spenen tot het einde van de studie op een leeftijd van 104 weken. Na het spenen werden de F1 dieren willekeurig verdeeld zodat er niet meer dan 2 mannetjes en 2 vrouwtjes per worp per groep waren. Elke F1 experimentele groep bestond uit 51 mannetjes en 51 vrouwtjes, die tot dezelfde behandelingsgroep behoorden als hun blootgestelde moederdieren. Het totale aantal dieren was 1020 (510 mannetjes en 510 vrouwtjes).

Necropsie, histopathologie en immunohistochemie

De in vivo fase van het onderzoek eindigde op een leeftijd van 104 weken toen alle overlevende dieren werden geëuthanaseerd. Alle dieren ondergingen een volledige necropsie met een eerste lichamelijk onderzoek van de buitenkant en alle lichaamsopeningen, gevolgd door een inwendig onderzoek van weefsels en organen in situ. Histopathologie was

uitgevoerd op de volgende organen en weefsels van alle dieren: huid en onderhuids weefsel, borstklier (4 plaatsen: axillair en inguinaal, rechts en links), hersenen met cerebellum en medulla/pons, hypofyse, speekselklieren, klieren van Harder, tong, slokdarm, schildklier en bijschildklier, zwezerik en mediastinale lymfeklieren, luchtpijp, longen, hart, lever (2 kwabben voor histopathologie), milt, alveesklier, nieren, bijniere, maag (voormaag en kliermaag), dunne darm, dikke darm (met de Peyer's patches), blaas, baarmoeder (inclusief baarmoederhals), eierstokken, vagina, testes en epididymis, zaadblaasjes en stollingsklieren, prostaat, onderhuidse lymfeklieren, mesenteriale lymfeklieren, borstbeen, schedel en alle grove laesies en andere weefsels als er afwijkingen aanwezig waren. Na fixatie werden de monsters bijgesneden, verwerkt, ingebed in paraffinewas, gesneden tot een dikte van 4-5 μm en vervolgens verwerkt in een alcohol/xyleenreeks en gekleurd met hematoxyline en eosine voor microscopische evaluatie. Volledige histopathologische evaluaties werden uitgevoerd door de pathologen op alle organen en tissues van alle dieren. De histopathologische evaluatie werd uitgevoerd door ten minste twee pathologen en alle laesies werden collegiaal beoordeeld. De pathologische evaluaties werden uitgevoerd volgens de procedures van de International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria (INHAND) [22-29]. Alle neoplastische laesies worden vermeld in aanvullend materiaal (Aanvullende materialen: Tabellen 1-4). Voor zeldzame tumoren (historische controle-incidentie < 1%) werd een vergelijking uitgevoerd met historische controle-incidenties uit langlopende carcinogeniteitsstudies bij SD-ratten uitgevoerd door het RI (levenslange studies) en het Amerikaanse National Toxicology Program (NTP) (tweejarige studies) [30] en werden incidenties gerapporteerd die beide laboratoria overschreden. De historische controles van het RI omvatten 7142 dieren (3572 mannetjes en 3570 vrouwtjes) uit onderzoeken uitgevoerd tussen 1984 en 2008, terwijl de historische controles van het NTP 1180 dieren (590 vrouwtjes en 590 mannetjes) omvatten uit onderzoeken uitgevoerd tussen 2011 en 2019. RI historische controles gegevens over leukemie zijn alleen beschikbaar voor 490 dieren, omdat deze voorheen samen met andere tumoren werden geclassificeerd als "hemolymfoetische neoplasieën" [31].

Immunohistochemie werd gebruikt om de diagnose en karakterisering van kwaadaardige Schwannomen en lymfomen te bevestigen. Voor kwaadaardige Schwannomen werd S-100 (Z0311, Dako Agilent) gebruikt [32]. Voor lymfomen werd een panel van antilichamen gebruikt: CD68 (MCA341GA, AbD Serotec), CD3 (ab5690, abcam), CD138 (sc-12765, Santa Cruz), CD45 (ab10558, abcam), CD20 (sc-393,894, Santa Cruz Biotechnology), TdT (BMS14-9739-82, eBiosciences), CD33 (orb10316, biorbyt) [33].

Statistische methoden

Voor alle analyses werden p-waarden < 0,05 als statistisch significant beschouwd. Er werden gegevens van beide geslachten verzameld en de analyses werden afzonderlijk uitgevoerd.

De overlevingskans werd geschat met de productlimietprocedure van Kaplan en Meier en wordt grafisch weergegeven [34]. Alle dieren werden meegenomen in de analyse, inclusief de dieren die door een onnatuurlijke oorzaak stierven binnen de observatieperiode (humanitaire offers) en de dieren die overleefden tot het einde van de observatieperiode, beëindigd via een laatste offer; hun overlevingsduur werd vastgesteld op 104 weken.

Dosisgerelateerde verschillen en trends werden beoordeeld met een log-rank test, eerst voor alle experimentele groepen samen en daarna apart per blootstellingsgroep (Glyfosaat vs Controle, Roundup Bioflow vs Controle, RangerPro vs Controle). Voor de subgroep van animalen met enig type leukemie werden dosisgerelateerde trends onderzocht met de levenstabelltest van Tarone en Ware [35]. Alle gerapporteerde p-waarden voor de overlevingsanalyses zijn tweezijdig.

De incidentie van neoplastische laesies werd berekend als het aantal dieren met laesies gedeeld door het totale aantal microscopisch onderzochte dieren. Significantietests bestonden uit paarsgewijze vergelijkingen van elke blootgestelde groep met de controlegroep met behulp van een Fisher's exact test met één staart (eenzijdige resultaten werden overwogen omdat vaststaat dat alleen een toename in de incidentie van leukemie kan worden verwacht als gevolg van de blootstelling, en de incidentie van leukemie in de controlegroep bijna altijd 0 is). De Cochran-Armitage trendtest werd uitgevoerd om te testen op dosisgerelateerde trends binnen verschillende blootstellingsgroepen (glyfosaat vs Controle, Roundup Bioflow vs Controle, RangerPro vs Controle). Gerapporteerde p-waarden zijn eenzijdig.

Bij het beoordelen van de incidentie van neoplastische laesies werd rekening gehouden met overlevingsverschillen tussen groepen en werd de Poly-k-test gebruikt [36-39]. Deze test is een voor overleving gecorrigeerde kwantum-respons procedure die de Cochran Armitage lineaire trendtest wijzigt om rekening te houden met overlevingsverschillen door een verlaagd risico op neoplasma, evenredig met de kracht van de tijdsfractie in het onderzoek, toe te kennen aan alleen die laesievrije dieren die geen terminale euthanasie bereikten. Meer specifiek wijzigt deze methode de noemer in de kwantitatieve schatting van de letselincidentie om het totale aantal risicojaren van de dieren beter te benaderen. Aan elk dier wordt een risicogewicht toegekend: deze waarde is 1 als het dier een laesie had op de onderzochte locatie of als het overleefde tot de euthanasie; als het dier stierf voordat het terminaal werd opgeofferd en geen laesie had op de onderzochte locatie, is het risicogewicht de fractie van de gehele studietijd dat het dier overleefde, verheven tot de k-de macht. Een waarde van $k=3$ werd gebruikt in de

analyse, zoals aanbevolen door Bailer en Portier [36, 37]. Gerapporteerde p-waarden voor deze analyses zijn eenzijdig.

Statistische analyses werden uitgevoerd met behulp van de software van het Duitse centrum voor kankeronderzoek (<https://biostatistics.dkfz.de/>) en Stata 18-software (StataCorp 2023. Stata Statistische Software: Versie 18. College Station, TX: StataCorp LLC).

Resultaten

In de in vivo fase van het onderzoek werden geen acute toxische effecten waargenomen tijdens dracht of lactatie. Alle blootstellingsconcentraties werden goed verdragen zonder effecten op lichaamsgewichtstoename of voer- en waterconsumptie. De grootte van de nesten was vergelijkbaar tussen de groepen. Het gemiddelde lichaamsgewicht van zowel de moederdieren als de pups was 10% variabel ten opzichte van de controlegroep; de voedselconsumptie was 20% variabel ten opzichte van de controlegroep; het waterverbruik was 20% variabel ten opzichte van de controlegroep. Na het spenen waren lichaamsgewicht, waterconsumptie, voerconsumptie en glyfosaatopname homogeen tussen de groepen bij zowel de vrouwelijke als de mannelijke dieren (Fig. 1).

Analyse van de overlevingsduur bij mannen en vrouwen toonde geen statistisch significante verschillen tussen behandelde en controlegroepen. Figuur 2 toont de grafische weergave van de Kaplan-Meier-curves van de overlevingsfuncties voor mannen en vrouwen van de experimentele groepen.

De incidentie van leukemie was significant hoger in alle groepen behandelde dieren vergeleken met de controlegroepen; in het bijzonder werden er geen leukemieën waargenomen bij gelijktijdige controles.

Het meest ongebruikelijk was dat bijna de helft van de sterfgevallen door leukemie in de glyfosaat- en GBHs-groepen op jonge leeftijd optrad - op een leeftijd van minder dan een jaar. Bovendien toonden analyses met de Tarone-Ware trendtest een stijgende frequentie van vroegtijdige sterfgevallen als gevolg van leukemie met toenemende concentraties glyfosaat en GBHs. In het bijzonder werd een statistisch significante toename in vroegtijdige leukemiesterfte waargenomen bij mannetjes, waarbij alle stoffen samen in beschouwing werden genomen (Tarone trendtest, $p=0,0150$) en bij dieren behandeld met Roundup Bioflow vergeleken met controledieren (Tarone trendtest, $p=0,0149$). Dit werd gecompenseerd door de poly-3 test, een voor overleving gecorrigeerde statistische analyses van tumorincidentietrend die werd uitgevoerd als aanvulling op de Cochran-Armitage trendtest. De gegevens over leukemie zijn samengevat in de tabellen 1, 2 en 3.

Geen broers of zussen uit hetzelfde nest werden getroffen door leukemie. Er werden geen gevallen van leukemie waargenomen bij onbehandelde controledieren van beide geslachten.

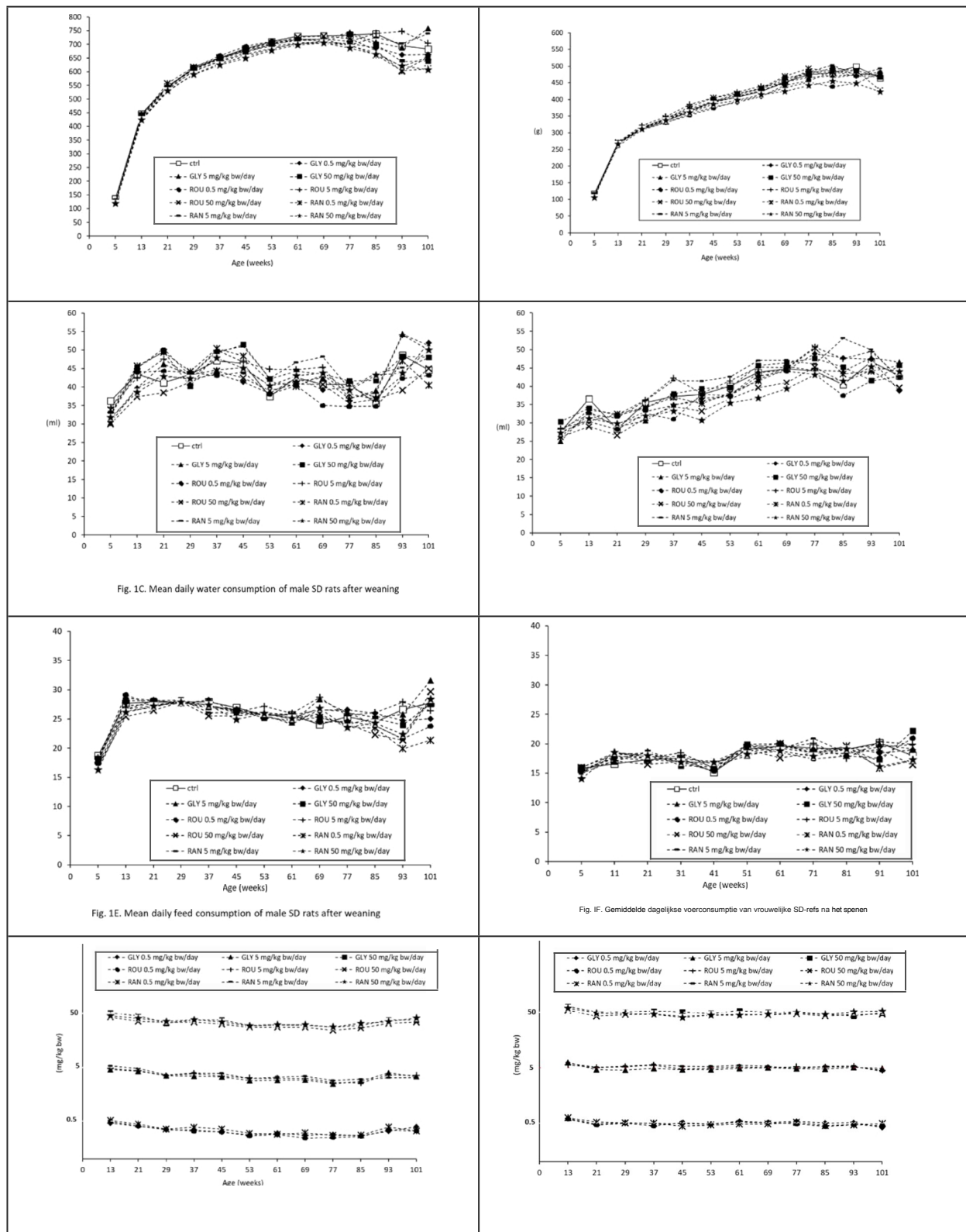
Een dosisgerelateerde verhoogde trend in incidentie van lymfoblastische leukemie werd waargenomen bij mannetjes blootgesteld aan puur glyfosaat ($p=0,0419$, Cochran-Armitage trend test; $p=0,0335$, poly-3 test); een significant verhoogde trend in incidentie van monocytische leukemie werd waargenomen bij vrouwtjes ($p=0,0419$, Cochran-Armitage trend test; $p=0,0411$, poly-3 test). Een geval van monocytische leukemie werd waargenomen bij vrouwelijke dieren behandeld met 50 mg/kg lichaamsgewicht/dag; terwijl twee gevallen werden waargenomen bij mannelijke dieren behandeld met glyfosaat - één behandeld met 0,5 mg/kg lichaamsgewicht/dag en de andere met 5 mg/kg lichaamsgewicht/dag. Bij vrouwelijke dieren werd één geval van myeloïde leukemie waargenomen in de groep die werd behandeld met de laagste dosis glyfosaat (0,5 mg/kg lichaamsgewicht/dag) (tabel 1).

In de Roundup Bioflow-groep werd een significant verhoogde trend in incidentie van lymfoblastische leukemie waargenomen bij zowel mannen ($p=0,0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p=0,0425$, poly-3 test) als vrouwen ($p=0,0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p=0,0439$, poly-3 test). Wanneer mannen en vrouwen samen werden beschouwd, werd de statistische significantie met zowel de Cochran-Armitage trendtest ($p=0,0072$) als de poly-3 test ($p=0,0071$) sterker. Een significant verhoogde trend in de incidentie van monocytische leukemie werd waargenomen bij mannen ($p=0,0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p=0,0425$, poly-3 test). Zowel bij mannen ($p=0,0071$, Cochran-Armitage trendtest; $p=0,0083$, poly-3 test) als bij vrouwen ($p=0,0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p=0,0439$, poly-3 test) werd een significant verhoogde incidentie van alle typen leukemieën samen waargenomen. Wanneer mannen en vrouwen samen werden beschouwd, werd de waargenomen statistische significantie sterker ($p=0,0014$, Cochran-Armitage trendtest; $p=0,0016$, poly-3 test) (Tabel 2).

In de RangerPro-groep werd een significant verhoogde incidentie van lymfoblastische leukemie waargenomen bij zowel mannen ($p=0,0071$, Cochran-Armitage trendtest; $p=0,0092$, poly-3 test) als vrouwen ($p=0,0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p=0,0411$, poly-3 test). Wanneer mannen en vrouwen samen werden beschouwd, werd de statistische significantie die werd waargenomen met zowel de Cochran-Armitage trendtest ($p=0,0014$) als de poly-3 test ($p=0,0016$) sterker. Een significant verhoogde trend in de incidentie van monocytische leukemie werd waargenomen bij mannen ($p=0,0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p=0,0459$, poly-3 test).

(Zie afbeelding op de volgende pagina.)

Fig. 1 Lichaamsgewicht, water/voerconsumptie en glyfosaatopname bij mannelijke en vrouwelijke Sprague-Dawley ratten na het spenen. Legenda: Gemiddeld lichaamsgewicht (A en B) en gemiddeld water- (C en D) en voerverbruik (E en F) bij mannelijke en vrouwelijke Sprague-Dawley ratten na het spenen. Gemiddeld lichaamsgewicht mannetjes (A) en vrouwtjes (B); gemiddeld dagelijks waterverbruik mannetjes (C) en vrouwtjes (D); gemiddeld dagelijks voerverbruik mannetjes (E) en vrouwtjes (F); gemiddelde dagelijkse glyfosaatopname mannetjes (G) en vrouwtjes (H) per kg lichaamsgewicht. GLY = glyfosaat; ROU = Roundup Bioflow; RAN = RangerPro

**Fig. 1** (Zie legenda op vorige pagina.)

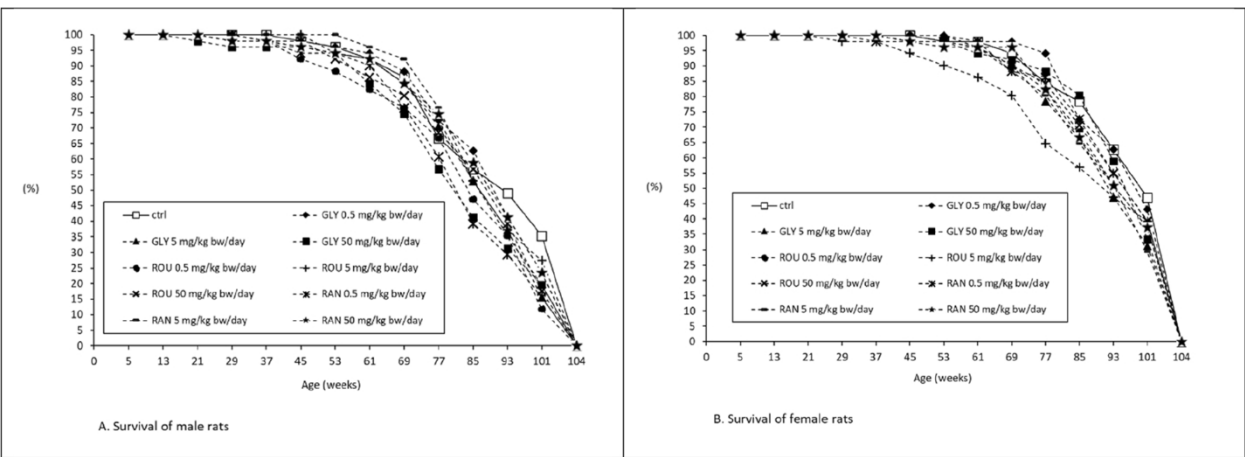


Fig. 2 Overleving bij mannelijke en vrouwelijke Sprague-Dawley ratten. Legenda: Overleving van mannelijke (A) en vrouwelijke (B) Sprague-Dawley ratten. GLY= glyfosaat; ROU = Roundup Bioflow; RAN= RangerPro

Tabel 1 Incidentie van leukemie: glyfosaat vs controlegroep

Dosis (mg/kg lichaamsgewicht/dag glyfosaat)	Dieren		Lymfoblastische leukemieën				Monocytisch e leukemieën				Myeloïde leukemieën				Totale lymfoïde leukemieën				Totaal myeloïde leukemieën				Alle leukemieën*			
	Seks	Ge en	Ge en	%	P- waarde	Ge en	%	P- waarde	Ge en	%	Ge en	%	P- waarde	Ge en	%	Ge en	%	P- waarde	Ge en	%	Ge en	%	Ge en	%	Ge en	%
0 (controle)	M	51	0	-	(#)0,0419 (*)0,0335	0	-		0	-	0	-		0	-	0	-	(#)0,0419 (*)0,0335	0	-	0	-	0	-	0	-
	F	51	0	-		0	-	(#)0,0419 (*)0,0411	0	-	0	-		0	-	0	-		0	-	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	0	-	(#)0,0421 (*)0,0372	0	-	(#)0,0421	0	-	0	-		0	-	0	-	(#)0,0421 (*)0,0372	0	-	0	-	0	-	0	-
0,5 Glyfosaat	M	51	0	-		1	1.96		0	-	0	-		1	1.96	1	1.96		1	1.96	1	1.96	1	1.96	1	1.96
	F	51	0	-		0	-		1	1.96	0	-		1	1.96	1	1.96		1	1.96	1	1.96	1	1.96	1	1.96
	M + F	102	0	-		1	0.98		1	0.98	0	-		2	1.96	2	1.96		2	1.96	2	1.96	2	1.96	2	1.96
5 Glyfosaat	M	51	0	-		1	1.96		0	-	0	-		1	1.96	1	1.96		1	1.96	1	1.96	1	1.96	1	1.96
	F	51	0	-		0	-		0	-	0	-		0	-	0	-		0	-	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	0	-		1	0.98		0	-	0	-		1	0.98	1	0.98		1	0.98	1	0.98	1	0.98	1	0.98
50 Glyfosaat	M	51	1	1.96		0	-		0	-	1	1.96		0	-	1	1.96		1	1.96	1	1.96	1	1.96	1	1.96
	F	51	0	-		1	1.96		0	-	-	-		1	1.96	1	1.96		1	1.96	1	1.96	1	1.96	1	1.96
	M + F	102	1	0.98		1	0.98		0	-	1	0.98		1	0.98	2	1.96		2	1.96	2	1.96	2	1.96	2	1.96

*Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest

*Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest (Poly-k gecorrigeerd)

*Leeftijd bij overlijden van dieren met leukemie (weken oud): 0,5 glyfosaat (mannetje 104, vrouwtje 104), 5 glyfosaat (mannetje 35), 50 glyfosaat (mannetje 21, vrouwtje 101)

test). Voor alle typen leukemie samen werd een significant verhoogde incidentietrend waargenomen bij mannen ($p= 0,0313$, Cochran-Armitage trendtest; $p= 0,0371$, poly-3 test). Wanneer mannen en vrouwen samen werden beschouwd, werd de statistische significantie sterker ($p= 0,0195$, Cochran-Armitage trendtest; $p= 0,0218$, poly-3 test) (Tabel 3).

De gemiddelde leeftijd bij overlijden van alle dieren met leukemie was 97 weken (standaardafwijking± 13).

voor de 0,5 mg/kg lg/dag groepen (alle behandelingen); 68 weken (standaardafwijking± 33) voor de 5 mg/kg lg/dag groepen (alle behandelingen); en 62 weken (standaardafwijking ± 29) voor de 50 mg/kg lg/dag groepen (alle behandelingen) (Fig. 3). Met name stierf 40% van de dieren met leukemie (6/15) vóór de leeftijd van het eerste jaar (52 weken): 5 van deze 6 dieren bevonden zich in de hoogste dosisgroepen (50 mg/kg lg/dag), en één dier bevond zich in de intermediaire dosisgroep (5 mg/kg lg/dag) (tabellen 1, 2 3 en).

Tabel 2 Incidentie van leukemie: Roundup Bioflow vs controlegroep

Dosis (mg/kg lichaamsgewicht/dag glyfosaat)	Dieren		Lymfoblastische leukemieën			Monocytische leukemieën			Myeloïde leukemieën		Totaal lymfoïde leukemieën			Totaal myeloïde leukemieën			Alle leukemieën ^a		
	Seks	Geen	Geen	%	P-waarde	Geen	%	P-waarde	Geen	%	Geen	%	P-waarde	Geen	%	P-waarde	Geen	%	P-waarde
0 (controle)	M	51	0	-	(#)0,0419 (*)0,0425	0	-	(#)0,0419 (*)0,0425	0	-	0	-	(#)0,0419 (*)0,0425	0	-	(#)0,0419 (*)0,0425	0	-	(#)0,0071 (*)0,0083
	F	51	0	-	(#)0,0419 (*)0,0439	0	-		0	-	0	-	(#)0,0419 (*)0,0439	0	-		0	-	(#)0,0419 (*)0,0439
	M + F	102	0	-	(#)0,0072 (*)0,0071	0	-	(#)0,0421 (*)0,0432	0	-	0	-	(#)0,0072 (*)0,0078	0	-	(#)0,0421 (*)0,0432	0	-	(#)0,0014 (*)0,0016
0,5 Roundup Bioflow	M	51	0	-		0	-		0	-	0	-		0	-		0	-	
	F	51	0	-		0	-		0	-	0	-		0	-		0	-	
	M + F	102	0	-		0	-		0	-	0	-		0	-		0	-	
5 Roundup Bioflow	M	51	0	-		0	-		0	-	0	-		0	-		0	-	
	F	51	0	-		0	-		0	-	0	-		0	-		0	-	
	M + F	102	0	-		0	-		0	-	0	-		0	-		0	-	
50 Roundup Bioflow	M	51	1	1.96		1	1.96		0	-	1	1.96		1	1.96		2	3.92	
	F	51	1	1.96		0	-		0	-	1	1.96		0	-		1	1.96	
	M + F	102	2	1.96		1	0.98		0	-	2	1.96		1	0.98		3	2.94	

^aEenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest

* Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest (Poly-k gecorrigeerd)

^aLeeftijd bij overlijden van dieren met leukemie (weken oud): 50 Roundup Bioflow (mannetje 47, mannetje 48, vrouwtje 104)

Tabel 3 Incidentie van leukemie: RangerPro vs controlegroep

Dosis (mg/ kg lichaamsgewic ht/dag glyfosaat)	Dieren		Lymfoblastische leukemieën			Monocytair e leukemieën			Myeloïde leukemieën		Totaal lymfoïde leukemieën			Totaal myeloïde leukemieën		Alle leukemieën*		
	Seks	Ge en	Ge en	%	P- waarde	Ge en	%	P- waarde	Gee n	%	Gee n	%	P- waarde	Gee n	%	Gee n	%	P- waarde
0 (controle)	M	51	0	-	(#)0,0071 (*)0,0092	0	-	(#)0,0419 (*)0,0459	0	-	0	-	(#)0,0071 (*)0,0092	0	-	0	-	(#)0,0313 (*)0,0371
	F	51	0	-	(#)0,0419 (*)0,0411	0	-		0	-	0	-	(#)0,0419 (*)0,0411	0	-	0	-	
	M + F	102	0	-	(#)0,0014 (*)0,0016	0	-		0	-	0	-	(#)0,0014 (*)0,0016	0	-	0	-	(#)0,0195 (*)0,0218
0,5 RangerPro	M	51	0	-		0	-		1	1,96	0	-		1	1,96	1	1,96	
	F	51	0	-		0	-		0	-	0	-		0	-	0	-	
	M + F	102	0	-		0	-		1	0,98	0	-		1	0,98	1	0,98	
5 RangerPro	M	51	0	-		0	-		1	1,96	0	-		1	1,96	1	1,96	
	F	51	0	-		1	1,96		0	-	0	-		1	1,96	1	1,96	
	M + F	102	0	-		1	0,98		1	0,98	0	-		2	1,96	2	1,96	
50 RangerPro	M	51	2	3,92		1	1,96		0	-	2	3,92		1	1,96	3	5,88	
	F	51	1	1,96		0	-		0	-	1	1,96		0	-	1	1,96	
	M + F	102	3	2,94		1	0,98		0	-	3	2,94		1	0,98	4	3,92	

*Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest
*Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest (Poly-k gecorrigeerd)
*Leeftijd bij overlijden van dieren met leukemie (weken oud): 0,5 RangerPro (mannetje 82), 5 RangerPro (mannetje 70, vrouwtje 100), 50 RangerPro (mannetje 40, mannetje 74, mannetje 76, vrouw 43)

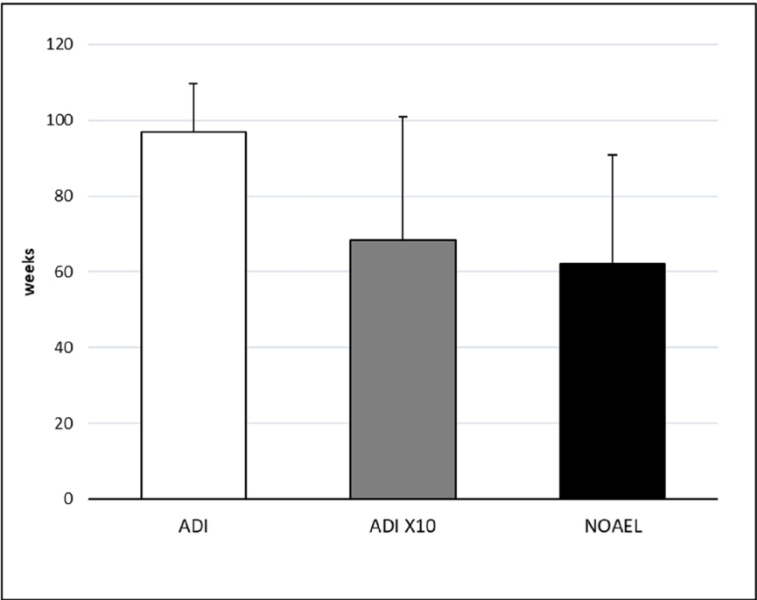


Fig. 3 Weken leeftijd bij overlijden van dieren met leukemie door glyfosaat equivalente doses. Legenda: Gemiddelde (met standaardafwijking) weken leeftijd bij de dood van dieren met leukemie, gedeeld door doses van 0,5, 5 en 50 mg/kg lichaamsgewicht/dag, wat overeenkomt met de aanvaardbare dagelijkse inname (ADI), ADIx10 en het EU-waarnemingsniveau zonder schadelijk effect (NOAEL) voor glyfosaat. De 3 behandelingsgroepen (glyfosaat, Roundup Bioflow, RangerPro) worden gecombineerd per dosis gerapporteerd.

3). Een hoge prevalentie van sterfte door leukemie (vóór de leeftijd van 52 weken) bij dieren met deze laesies werd consequent waargenomen in alle drie de behandelingsgroepen: 40% in de glyfosaatgroep (2/5), 66% in Roundup Bioflow (2/3) en 29% in Ranger Pro (2/7).

Omdat leukemieën zeldzame maligniteiten zijn bij SD-ratten, vergeleken we de leeftijd bij overlijden van dieren met leukemieën met historische controlegegevens van het Ramazzini Instituut (RI) (490 dieren) [31] en het Amerikaanse National Toxicology Program (NTP) (1180 dieren) [30]. In 1670 historische controles werd bij slechts 15 dieren leukemie vastgesteld, met een totale incidentie van 0,90% in vergelijking met 1,63% in de huidige studie. Onderzoeksspecifieke incidentiecijfers waren 0,82% bij RI (4/490; 1,63% man 4/245, 0% vrouw 0/245) en 0,93% bij NTP (11/1180; 1,19% man 7/590, 0,68% vrouw 4/590). Van deze 15 gevallen overleed geen enkele voor het eerste levensjaar. Deze bevindingen staan in schril contrast met de hier waargenomen resultaten, waarbij 40% van de leukemie-gerelateerde sterfgevallen in de met glyfosaat en GBHs behandelde groepen voorkwamen voor de leeftijd van één jaar (Fig. 4).

Naast leukemie werden in de behandelde groepen verhoogde incidenties waargenomen van multi-ple goedaardige en kwaadaardige tumoren, waaronder zeldzame tumoren (historische controle incidentie < 1%), waarvan sommige ook met een vroeg begin [40].

De incidentie van goedaardige en kwaadaardige huidtumoren is samengevat in tabellen 4, 5 en 6. Geen gevallen van huidtumoren

(kwaadaardig of goedaardig) werden waargenomen bij onbehandelde dieren. Er werden geen broers of zussen getroffen door huidtumoren. In de glyfosaatgroep werd een significant verhoogde trend in incidentie van plaveiselcelpapillomen van de huid waargenomen bij mannetjes ($p = 0,0392$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0274$, poly-3 test). Bij hoge doses was de incidentie 3,92% bij mannen, terwijl bij mannen van de historische NTP-controle 1,02% [30] was en van de historische RI-controle slechts 0,39%. Een significant verhoogde trend in incidentie van keratoacanthoom werd ook waargenomen bij mannen ($p = 0,0419$, Cochran-Armitage trend test; $p = 0,0311$, poly-3 test). Ook bij mannen werden significant verhoogde trends in incidentie waargenomen bij alle goedaardige huidtumoren ($p = 0,0082$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0046$, poly-3 test) en bij alle (goedaardige en kwaadaardige) huidtumoren ($p = 0,0228$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0120$, poly-3 test). Bij vergelijking van de hoge dosis en de controlegroep werd een statistisch grensgeval van toename in de incidentie van goedaardige+ kwaadaardige huidtumoren waargenomen bij mannen behandeld met glyfosaat ($p = 0,059$, Fisher exact test) (Tabel 4). In de groepen behandeld met Roundup Bioflow werd een geval van trichoepithelioma (1,96% incidentie) waargenomen bij vrouwtjes met een hoge dosis, met een significant verhoogde trend in incidentie ($p = 0,0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0439$, poly-3 test) (Tabel 5). Trichoepithelioma is een zeer zeldzame tumor, met geen

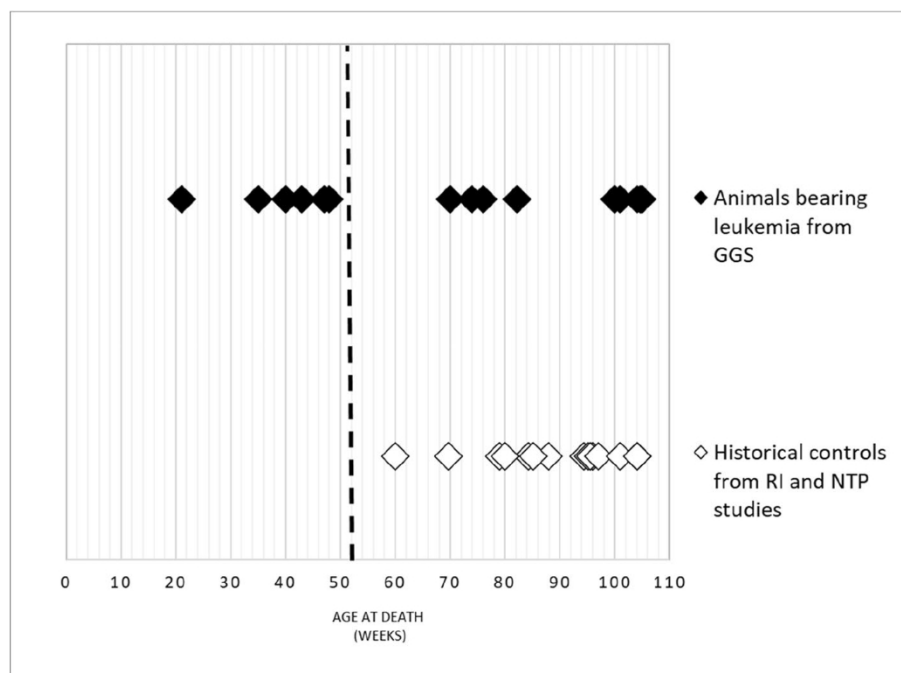


Fig. 4 Leeftijd bij overlijden van SD ratten met leukemie in GGS en NTP-RI historische controles. Legende: Leeftijd bij overlijden van Sprague-Dawley ratten met leukemie van GGS (♦) of van het Ramazzini Instituut (RI) en US National Toxicology Program (NTP) historische controles (◇). Voor GGS behoren alle dieren tot de behandelde groepen; dieren uit historische controles behoren alleen tot niet behandelde groepen uit verschillende experimenten. Week 52, die overeenkomt met een leeftijd van 1 jaar, is gestippeld.

Tabel 4 Incidentie van goedaardige en kwaadaardige tumoren van de huid: Glyfosaat vs controlegroep

Dosis (mg/kg lichaamsgewicht/ dag glyfosaat)	Dieren		Plaveiselcel papilloom			Keratoacanthoom			Goedaardige tumoren			Plaveisel celcarcinoom		Basaalcelcar cinoom		Talgkliercar cinoom		Kwaadaardi ge tumoren		Totaal goedaardig+ kwaadaardig		
	Seks	Gee n	Ge en	%	P- waarde	Geen	%	P- waarde	Ge en	%	P- waarde	Gee n	%	Gee n	%	Geen	%	Gee n	%	Gee n	%	P- waarde
0 (controle)	M	51	0	-	(#)0,0392 (*)0,0274	0	-	(#)0,0419 (*)0,0311	0	-	(#)0,0082 (*)0,0046	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	(#)0,0228 (*)0,0120
	F	51	0	-		0	-		0	-		0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
	M + F	102	0	-	(#)0,0392 (*)0,0331	0	-	(#)0,0421 (*)0,0361	0	-	(#)0,0085 (*)0,0064	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
0,5 Glyfosaat	M	51	0	-		0	-		0	-		1	1,96	0	-	1	1,96	2	3,92	2	3,92	
	F	51	0	-		0	-		0	-		1	1,96	0	-	0	-	1	1,96	1	1,96	
	M + F	102	0	-		0	-		0	-		2	1,96	0	-	1	1,0	3	2,94	3	2,94	
5 Glyfosaat	M	51	1	1,96		0	-		1	1,96		0	-	0	-	0	-	0	-	1	1,96	
	F	51	0	-		0	-		0	-		0	-	1	1,96	0	-	1	1,96	1	1,96	
	M + F	102	1	0,98		0	-		1	0,98		0	-	1	0,98	0	-	1	0,98	2	1,96	
50 Glyfosaat	M	51	2	3,92		1	1,96		3	5,88		1	1,96	0	-	0	-	1	1,96	4	7,84	♦ 0,059
	F	51	0	-		0	-		0	-		0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
	M + F	102	2	1,96		1	0,98		3	2,94		1	0,98	0	-	0	-	1	0,98	4	3,92	

♦ P-waarden voor Fisher exact test

*Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest

* Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest (Poly-k gecorrigeerd)

Tabel 5 Incidentie van goedaardige en kwaadaardige tumoren van de huid: Roundup Bioflow vs controlegroep

Dosis (mg/kg lichaamsgewicht/ dag glyfosaat)	Dieren		Plaveiselcel papilloom		Kerato- acanthoom		Trichoepitheliom			Goedaardige tumoren			Plaveisel celcarcinoom		Basaalcelcarcinoom			Kwaadaardi tumoren		Totaal goedaar	
			Geen	%	Geen	%	P- waarde	Geen	%	P- waarde	Geen	%	P- waarde	Geen	%	P- waarde	Geen			%	dig + kwaadaardig
	Geen	%																Geen	%		Geen
0 (controle)	M	51	0	-	0	-	0	-		0	-		0	-	0	-	^(#) 0,0419 ^(*) 0,0400	0	-	0	-
	F	51	0	-	0	-	0	-	^(#) 0,0419 ^(*) 0,0439	0	-	^(#) 0,0419 ^(*) 0,0439	0	-	0	-		0	-	0	-
	M + F	102	0	-	0	-	0	-	^(#) 0,0421 ^(*) 0,0428	0	-		0	-	0	-	^(#) 0,0421 ^(*) 0,0428	0	-	0	-
0,5 Roundup Bioflow	M	51	1	1.96	0	-	0	-		1	1.96		0	-	0	-		0	-	1	1.96
	F	51	0	-	0	-	0	-		0	-		1	1.96	0	-		1	1.96	1	1.96
	M + F	102	1	0.98	0	-	0	-		1	0.98		1	0.98	0	-		1	0.98	2	1.96
5 Roundup Bioflow	M	51	1	1.96	1	1.96	0	-		2	3.92		1	1.96	0	-		1	1.96	3	5.88
	F	51	0	-	0	-	0	-		0	-		0	-	0	-		0	-	0	-
	M + F	102	1	0.98	1	0.98	0	-		2	1.96		1	0.98	0	-		1	0.98	3	2.94
50 Roundup Bioflow	M	51	0	-	0	-	0	-		0	-		0	-	1	1.96		1	1.96	1	1.96
	F	51	0	-	0	-	1	1.96		1	1.96		0	-	0	-		0	-	1	1.96
	M + F	102	0	-	0	-	1	0.98		1	0.98		0	-	1	0.98		1	0.98	2	1.96

*Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest

* Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest (Poly-k gecorrigeerd)

Tabel 6 Incidentie van goedaardige en kwaadaardige tumoren van de huid: RangerPro vs controlegroep

Dosis (mg/kg lichaamsgewicht/ dag glyfosaat)	Dieren		Plaveiselcel papilloom		Keratoacanthoom		P- waarde	Trichoepitheliom Goedaardig tumoren		Plaveiselcelcarci noom		Talgkliercar cinoom		Kwaadaardi ge tumoren		Totaal goedaar dig + kwaadaardig	
	Seks	Gee n	Geen	%	Geen	%		Geen	%	Geen	%	Geen	%	Geen	%	Geen	%
0 (controle)	M	51	0	-	0	-	^(#) 0,0419 ^(*) 0,0489	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
	F	51	0	-	0	-		0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	0	-	0	-		0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
0,5 RangerPro	M	51	1	1.96	0	-	^(#) 0,0421 ^(*) 0,0440	2	3.92	0	-	0	-	0	-	2	3.92
	F	51	1	1.96	0	-		1	1.96	0	-	0	-	0	-	1	1.96
	M + F	102	2	1.96	0	-		3	2.94	0	-	0	-	0	-	3	2.94
5 RangerPro	M	51	0	-	0	-		0	-	0	0.0	0	-	0	-	0	-
	F	51	0	-	0	-		0	-	2	3.92	1	1.96	3	5.88	3	5.88
	M + F	102	0	-	0	-		0	-	2	1.96	1	0.98	3	2.94	3	2.94
50 RangerPro	M	51	0	-	1	1.96		1	1.96	0	-	0	-	0	-	1	1.96
	F	51	0	-	0	-		0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	0	-	1	0.98		1	0.98	0	-	0	-	0	-	1	0.98

[#]Eenzijdige *p*-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest

^{*}Eenzijdige *p*-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest (Poly-k gecorrigeerd)

geval waargenomen bij vrouwelijke SD ratten van NTP [30] en RI historische controles. Bij mannetjes met een hoge dosis werd een geval van basaalcelcarcinoom (1,96% incidentie) waargenomen met een significant verhoogde incidentietrend ($p = 0,0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0400$, poly-3 test) (Tabel 5). Bij mannen met een hoge dosis behandeld met Ranger- Pro werd keratoacanthoom (1,96% incidentie) waargenomen, met een significant verhoogde trend in incidentie ($p = 0,0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0489$, poly-3 test) (Tabel 6).

Over het geheel genomen werd er geen statistisch significant verschil in incidentie van levertumoren waargenomen tussen behandelde en controlegroepen (tabellen 7, 8 en 9). Echter, in verschillende behandelde mannengroepen was meer dan één geval

waargenomen bij verschillende doses (glyfosaat 0,5 en 50 mg/kg lichaamsgewicht/dag, Roundup 0,5 mg/kg lichaamsgewicht/dag, RangerPro 5 mg/kg lichaamsgewicht/dag). Levercelcarcinoom is een zeldzame maligniteit bij SD-ratten. Bij 590 mannelijke historische NTP-controles werd bij slechts 1 dier hepatocellulair carcinoom vastgesteld (totale incidentie 0,17%) [30]; bij de historische RI-controles werd bij 30 mannetjes op een totaal van 3572 controles hepatocellulair carcinoom vastgesteld (totale incidentie 0,82%). Bij de historische controles van het levenslange RI-onderzoek was de gemiddelde leeftijd bij overlijden bij mannelijke dieren met hepatocellulair carcinoom 118 weken, terwijl bij één mannelijk dier van de historische controle van het NTP-onderzoek van 104 weken de leeftijd bij overlijden 94 weken was [30]. In zowel NTP als RI historische controles was de vroegere leeftijd waarop hepatocellulair carcinoom stierf

Tabel 7 Incidentie van goedaardige en kwaadaardige tumoren van de lever: glyfosaat vs controlegroep

Dosis (mg/kg lichaamsgewicht/dag glyfosaat)	Dieren		Hepatocellulair adenoom		Levercelcarcinoom ^a		Totaal	
	Seks	Gee n	Geen	%	Geen	%	Geen	%
0 (controle)	M	51	0	-	1	1.96	1	1.96
	F	51	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	0	-	1	0.98	1	0.98
0,5 Glyfosaat	M	51	1	1.96	2	3.92	3	5.88
	F	51	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	1	0.98	2	1.96	3	2.94
5 Glyfosaat	M	51	1	1.98	1	1.96	2	3.92
	F	51	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	1	0.98	1	0.98	2	1.96
50 Glyfosaat	M	51	0	-	2	3.92	2	3.92
	F	51	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	0	-	2	1.96	2	1.96

^aLeeftijd bij overlijden van dieren met hepatocellulair carcinoom (weken oud): controle (104), 0,5 glyfosaat (99; 92), 5 glyfosaat (74), 50 glyfosaat (85; 104)

Tabel 8 Incidentie van goedaardige en kwaadaardige tumoren van de lever: Roundup Bioflow vs controlegroep

Dosis (mg/kg lichaamsgewicht/dag glyfosaat)	Dieren		Hepatocellulair adenoom		Hepatocellulair carcinoom ^a		Totaal	
	Seks	Gee n	Geen	%	Geen	%	Geen	%
0 (controle)	M	51	0	-	1	1.96	1	1.96
	F	51	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	0	-	1	0.98	1	0.98
0,5 Roundup Bioflow	M	51	0	-	2	3.92	2	3.92
	F	51	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	0	-	2	1.96	2	1.96
5 Roundup Bioflow	M	51	0	-	1	1.96	1	1.96
	F	51	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	0	-	1	0.98	1	0.98
50 Roundup Bioflow	M	51	0	-	0	-	0	-
	F	51	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	0	-	0	-	0	-

^aLeeftijd bij overlijden van dieren met hepatocellulair carcinoom (weken oud): controle (104), 0,5 Roundup Bioflow (99; 82), 5 Roundup Bioflow (104)

Tabel 9 Incidentie van goedaardige en kwaadaardige tumoren van de lever: RangerPro vs controlegroep

Dosis (mg/kg lichaamsgewicht/dag glyfosaat)	Dieren		Hepatocellulair adenoom		Hepatocellulair carcinoom*		Totaal	
	Seks	Geen	Geen	%	Geen	%	Geen	%
0 (controle)	M	51	0	-	1	1.96	1	1.96
	F	51	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	0	-	1	0.98	1	0.98
0,5 RangerPro	M	51	0	-	0	-	0	-
	F	51	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	0	-	0	-	0	-
5 RangerPro	M	51	0	-	2	3.92	2	3.92
	F	51	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	0	-	2	1.96	2	1.96
50 RangerPro	M	51	0	-	0	-	0	-
	F	51	0	-	0	-	0	-
	M + F	102	0	-	0	-	0	-

*Leeftijd bij overlijden van dieren met hepatocellulair carcinoom (weken leeftijd): controle (104), RangerPro (94;93)

carcinoom werd gerapporteerd als waarschijnlijke doodsoorzaak is 94 weken. In de huidige studie werd een hoge prevalentie van vroege sterfte aan hepatocellulair carcinoom (vóór de leeftijd van 94 weken) bij dieren met deze laesies consistent waargenomen in alle behandelingsgroepen: 60% in de glyfosaatgroep (3/5), 33% in Roundup Bioflow (1/3) en 50% in RangerPro (1/2) (tabellen 7, 8 en 9). Hepatocellulair carcinoom was het enige kwaadaardige letsel dat bij deze 5 dieren werd waargenomen. Geen broers of zussen uit hetzelfde nest werden getroffen door hepatocellulair carcinoom. Het ene controledier met hepatocellulair carcinoom overleefde tot het einde van de studie (104 weken).

Er werden verhoogde incidenties van een aantal bottumoren waargenomen (tabellen 10, 11 en 12). In de glyfosaat- en RangerPro-groepen vertoonden mannen significant verhoogde trends in de incidentie van totaal goedaardige tumoren (chondroma en osteoma) (tabellen 10 en 12); de significantieniveaus waren namelijk ($p = 0.0071$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0.0046$, poly-3 test) en ($p = 0.0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0.0379$, poly-3 test) voor respectievelijk de glyfosaat- en RangerPro-groepen (Tabel 12). Daarnaast werd één geval van osteosarcoom (1,96%) waargenomen bij vrouwtjes met een hoge dosis behandeld met Roundup Bioflow, zonder gevallen in de controles of bij lagere doseringen, met een significant toegenomen trend in incidentie ($p = 0.0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0.0439$, poly-3 test) (Tabel 11).

Schildkliertumoren werden bij beide geslachten waargenomen en in twee gevallen was de incidentie gerelateerd aan de behandeling (tabellen 13, 14, 15, 16, 17 en 18). Folliculair carcinoom van de schildklier werd waargenomen bij mannen in de groep met de hoge est glyfosaatdosis, met een significant stijgende trend in incidentie ($p = 0.0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0.0311$, poly-3 test) (Tabel 13). Er waren geen gevallen

waargenomen bij de historische NTP-controles [30] en slechts een incidentie van 0,09% bij de historische RI-controles. Bij vrouwen met een hoge dosis behandeld met RangePro werd één geval (1,96%) van C-celcarcinoom waargenomen, met geen gevallen bij lagere doses of controles, wat een statistisch significant verhoogde trend oplevert ($p = 0.0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0.0390$, poly-3 test) (Tabel 18). De waargenomen incidentie was iets hoger dan bij de historische controles van het NTP (9/589, 1,53%) en de historische controles van RI (38/3570, 1,06%).

Bij mannen, met betrekking tot andere endocriene weefsels, was er 1 geval (1,96%) van pancreas isletcelcarcinoom aanwezig in de groep met hoge doses RangerPro-behandeling, met geen gevallen bij lagere doses of controles: dit zorgde voor een statistisch significant verhoogde trend in de incidentie ($p = 0.0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0.0459$, poly-3 test) (Tabel 15).

Bij mannen werden zowel het centrale als het perifere zenuwstelsel (CZS en PZS) aangetast door de behandelingen (tabellen 13, 14 en 15), waarbij twee typen kwaadaardige tumoren werden waargenomen: kwaadaardige korrelceltumor van het centrale zenuwstelsel en kwaadaardig Schwannoom van het perifere zenuwstelsel. Schwannomen (goedaardig en kwaadaardig) kwamen ook voor bij vrouwen in de baarmoeder (tabellen 16, 17 en 18). Een significant verhoogde incidentie van kwaadaardige granulaire celtumoren van het centrale zenuwstelsel werd waargenomen bij mannen ($p = 0.0071$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0.0040$, poly-3 test) die met glyfosaat werden behandeld (tabel 13). Op een totaal van 589 historische NTP-controles werd bij slechts 1 man de diagnose kwaadaardige korrelceltumor in de hersenen gesteld (totale incidentie 0,17%); gezien de historische RI-controle op een totaal van 3572 controles werd bij 5 mannen de diagnose kwaadaardige korrelceltumor in de hersenen gesteld.

Tabel 10 Incidentie van bottumoren: glyfosaat vs controlegroep

Dosis (mg/kg lichaamsgewicht/dag glyfosaat)	Dieren	Chondroma			Osteoma			Totaal goedaardig			Osteosarcroom		Totaal	
		Seks	Geen	%	P-waarde	Geen	%	P-waarde	Geen	%	P-waarde	Geen	%	Goedaardig + Kwaadaardig
0 (controle)	M	51	0	-	(#)0,0419 (*)0,0311	0	-	(#)0,0419 (*)0,0335	0	-	(#)0,0071 (*)0,0046	0	-	0
	F	51	0	-		1	1,96		1	1,96		0	-	1
	M + F	102	0	-	(#)0,0421 (*)0,0372	1	0,98		1	0,98		0	-	1
0,5 Glyfosaat	M	51	0	-		0	-		0	-		1	1,96	1
	F	51	0	-		1	1,96		1	1,96		1	1,96	2
	M + F	102	0	-		1	0,98		1	0,98		2	1,96	3
5 Glyfosaat	M	51	0	-		0	-		0	-		1	1,96	1
	F	51	0	-		0	-		0	-		0	-	0
	M + F	102	0	-		0	-		0	-		1	0,98	1
50 Glyfosaat	M	51	1	1,96		1	1,96		2	3,92		0	-	2
	F	51	0	-		0	-		0	-		0	-	0
	M + F	102	1	0,98		1	0,98		2	1,96		0	-	2

*Eenzijdige *p*-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest* Eenzijdige *p*-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest (Poly-k gecorrigeerd)**Tabel 11** Incidentie van bottumoren: Roundup Bioflow vs controlegroep

Dosis (mg/kg lichaamsgewicht/dag glyfosaat)	Dieren		Chondroma		Osteoma		Totaal goedaardig			Osteosarcroom			Totaal	
	Seks	Geen	Geen	%	Geen	%	Geen	%	Geen	%	P-waarde	Goedaardig + Kwaadaardig		
												Geen	%	
0 (controle)	M	51	0	-	0	-	0	-	0	-	(H)0,0419 (*)0,0439 (H)0,0421 (*)0,0428	0	-	
	F	51	0	-	1	1.96	1	1.96	0	-		1	1.96	
	M + F	102	0	-	1	0.98	1	0.98	0	-		1	0.98	
0,5 Roundup Bioflow	M	51	0	-	0	-	0	-	0	-		0	-	
	F	51	0	-	0	-	0	-	0	-		0	-	
	M + F	102	0	-	0	-	0	-	0	-		0	-	
5 Roundup Bioflow	M	51	0	-	0	-	0	-	0	-		0	-	
	F	51	0	-	0	-	0	-	0	-		0	-	
	M + F	102	0	-	0	-	0	-	0	-		0	-	
50 Roundup Bioflow	M	51	0	-	0	-	0	-	0	-		0	-	
	F	51	0	-	0	-	0	-	1	1.96		1	1.96	
	M + F	102	0	-	0	-	0	-	1	0.98		1	0.98	

*Eenzijdige *p*-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest* Eenzijdige *p*-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest (Poly-k gecorrigeerd)

kwaadaardige granulaire cel tumor (totale incidentie van 0,15%). Daarentegen was de incidentie bij mannen met een hoge dosis van de glyfosaatbehandeling 3,92%; er werden geen gevallen waargenomen bij lagere doses of bij controles. Twee gevallen (3,92%) van kwaadaardig Schwannoom van het perifere zenuwstelsel

werden waargenomen bij mannelijke dieren behandeld met Roundup Bioflow, met geen gevallen in controles of lagere dosisiniveaus. Deze bevinding ging gepaard met een significant verhoogde trend in incidentie ($p = 0,0071$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0080$, poly-3 test) (Tabel 14). Beide dieren

Tabel 12 Incidentie van bottumoren: RangerPro vs controlegroep

Dosis (mg/kg lichaamsgewicht/dag van glyfosaat)	Dieren		Chondroma		Osteoma			Totaal goedaardig			Osteosarcoom		Totaal	
	Seks	Geen	Geen	%	Geen	%	P-waarde	Geen	%	P-waarde	Geen	%	Goedaardig + Kwaadaardig	
													Geen	%
0 (controle)	M	51	0	-	0	-	(#) 0,0419 (*) 0,0379	0	-	(#) 0,0419 (*) 0,0379	0	-	0	-
	F	51	0	-	1	1,96		1	1,96		0	-	1	1,96
	M + F	102	0	-	1	0,98		1	0,98		0	-	1	0,98
0,5 RangerPro	M	51	0	-	0	-		0	-		1	1,96	1	1,96
	F	51	0	-	0	-		0	-		0	-	0	-
	M + F	102	0	-	0	-		0	-		1	0,98	1	0,98
5 RangerPro	M	51	0	-	0	-		0	-		2	3,92	2	3,92
	F	51	0	-	0	-		0	-		0	-	0	-
	M + F	102	0	-	0	-		0	-		2	1,96	2	1,96
50 RangerPro	M	51	0	-	1	1,96		1	1,96		0	-	1	1,96
	F	51	0	-	0	-		0	-		0	-	0	-
	M + F	102	0	-	1	0,98		1	0,98		0	-	1	0,98

*Eenzijdige *p*-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest* Eenzijdige *p*-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest (Poly-k gecorrigeerd)

stierven zeer vroeg, op een leeftijd van 34 en 67 weken, zonder andere neoplasma. Er werd geen enkel geval waargenomen bij meer dan 590 mannelijke dieren in de historische controledatabase van het NTP en er werden 29 gevallen waargenomen bij 3572 controledieren (0,82%) in RI historische controles. Een behandelingsgerelateerde incidentie van Schwannomen werd ook waargenomen bij vrouwelijke dieren in de baarmoeders (Tabellen 16, 17 en 18). Bij dieren behandeld met glyfosaat vertoonden goedaardige Schwannomen van de baarmoeder een significant verhoogde incidentietrend als gevolg van één enkel geval bij de hoogste dosis ($p = 0,0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0411$, poly-3 test), terwijl kwaadaardige Schwannomen een niet-statistisch significante toename (tot 3,92%) vertoonden bij de doses van 5 en 50 mg/kg lichaamsgewicht/dag (Tabel 16). Er werd één geval per groep ontdekt in de met RangerPro behandelde groepen van 5 en 50 mg/kg lg/dag (Tabel 18), en er werd één geval ontdekt in de met Roundup laag behandelde groep van 5 mg/kg lg/dag (Tabel 17). Het verband met de behandeling van deze gevallen was twijfelachtig, maar kon niet volledig worden uitgesloten. In feite werd geen enkel geval van goedaardig of kwaadaardig Schwannoom waargenomen bij mannelijke en vrouwelijke onbehandelde controledieren: in de historische NTP-controles [30] werden slechts 2 gevallen van kwaadaardig Schwannoom in de baarmoeder (0,40%) waargenomen in meer dan 449 controles vrouwelijke SD-ratten, terwijl een incidentie van 2,74% werd gedetecteerd in RI historische controles. Er werd geen enkel geval van goedaardig Schwannoom gerapporteerd bij historische NTP-controles en slechts 0,06% werd gedetecteerd bij historische RI-controles.

Er werd één geval van hemangiosarcoom van de baarmoeder gevonden in de behandelgroep met de hoogste RangerPro-dosis (1,96%), met een significant verhoogde trend in incidentie.

($p = 0,0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0390$, poly-3 test) (Tabel 18); geen enkel geval van hemangiosarcoom van de baarmoeder werd waargenomen in historische NTP-controles [30] en 4 gevallen onder 3570 vrouwen uit historische RI-controles (incidentie 0,12%). Bij mannen werd 1 geval van hemangiosarcoma van de milt (1,96%) waargenomen in de hoogste dosis behandeld met RangerPro, met een stijgende trend in incidentie ($p = 0,0419$, Cochran-Armitage trendtest, $p = 0,0434$ poly-3 test) (Tabel 15). Milthemangiosarcoom is een zeldzame tumor bij ratten met een incidentie van 0,51% (3/590) in de historische controle van NTP [30] en 0,27% in de historische controle van RI (10/3572). Opmerkelijk is dat de behandelingsgerelateerde gevallen van hemangiosarcoom (baarmoeder en milt) werden gedetecteerd in de hoogste-dosisgroep van RangerPro ($p = 0,0532$, Cochran-Armitage trendtest). Andere sporadische gevallen werden ontdekt in de controlegroep (1 in vrouwelijke lever) en in de laagste-dosisgroep van Roundup Bioflow (1 in weke delen van een vrouw).

Een verhoogde incidentie van goedaardige borstkliertumoren bij mannelijke SD-ratten werd waargenomen in behandelde groepen, terwijl er geen mannelijke borstkliertumoren voorkwamen in de controlegroep (tabellen 13, 14 en 15). Een significant verhoogde trend in incidentie van goedaardige melkkliertumoren (fibroadenoom en lipoom) werd waargenomen bij mannetjes behandeld met glyfosaat ($p = 0,0071$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0040$, poly-3 test) (Tabel 13) en met Roundup Bioflow ($p = 0,0071$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0072$, poly-3 test) (Tabel 15). In het bijzonder wordt bij glyfosaat en Roundup Bioflow hoogste doses elk 1 geval (1,96% incidentie) van lipoom beschouwd als een tamelijk ongebruikelijke tumor met geen gevallen waargenomen in het NTP.

Tabel 13 Incidentie van goedaardige en kwaadaardige tumoren bij mannen: glyfosaat vs controlegroep

Dosis (mg/ kg lichaamsgewic ht/dag van glyfosaat)	Dieren		Borstklier			Nieren		Urine Blaas		Schildklier			Bijnier		Endocriene pancreas		Milt		Centraal zenuwstelsel			Perifeer zenuwstelsel	
			Goedaardige tumoren			Kwaadaardig mesenchymale tumor ^a		Transitiecelp carcinoom ^a		Folliculair carcinoom ^a			Corticaal carcinoom ^a		Isletcelcarci noom		Hemangiosarcoom ^a		Kwaadaardig korrelige celtumor ^a			Kwaadaardig Schwannoom ^a	
	Seks	Ge en	Ge en	%	P- waarde	Geen	%	Geen	%	Ge en	%	P- waarde	Geen	%	Geen	%	Geen	%	Gee n	%	P- waarde	Geen	%
0 (controle)	M	51	0	-	(#) 0,0071 (*) 0,0040	0	-	0	-	0	-	(#) 0,0419 (*) 0,0311	0	-	0	-	0	-	0	-	(#) 0,0071 (*) 0,0040	0	-
0,5 Glyfosaat	M	51	0	-		0	-	0	-	0	-		0	-	0	-	0	-	0	-		0	-
5 Glyfosaat	M	51	0	-		0	-	0	-	0	-		0	-	0	-	0	-	0	-		2	3,92
50 Glyfosaat	M	51	2	3,92		0	-	0	-	1	1,96		0	-	0	-	0	-	2	3,92		0	-

^aEenzijdige *p*-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest
* Eenzijdige *p*-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest (Poly-k gecorrigeerd)
^aZeldzame tumoren (incidentie< 1%) van NTP en RI historische controle

Tabel 14 Incidentie van goedaardige en kwaadaardige tumoren bij mannen: Roundup Bioflow vs controlegroep

Dosis (mg/kg lichaamsgewicht/da g glyfosaat)	Dieren		Borstklier Schildklier			Nieren			Urineblaas				Bijnier		Endocriene pancreas		Milt		Centraal zenuwst elsel		Perifeer zenuwstelsel		
									klier														
	Goedaardige tumoren			Kwaadaardige mesenchymale tumor			Transitieceldcarcin oom ^{ab}			Folliculair carcinoom ^a		Corticaal carcinoom ^a		Isletcelcarci noom		Hemangio sarcoom ^a		Kwaadaardi ge granulaire celtumor ^a		Kwaadaardig Schwannoom ^a			
	Sek s	Ge en	Gee n	%	P- waarde	Ge en	%	P- waarde	Gee n	%	P- waarde	Geen	%	Gee n	%	Geen	%	Geen	%	Gee n	%	P- waarde	
0 (controle)	M	51	0	-	(#)0,0071 (*)0,0072	0	-	(#)0,0419 (*)0,0400	0	-	(#)0,0419 (*)0,0325	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	(#)0,0071 (*)0,0080	
0,5 Roundup Bioflow	M	51	0	-		0	-		0	-		0	-	0	-	0	-	0	-	0	-		
5 Roundup Bioflow	M	51	0	-		0	-		0	-		0	-	1	1.96	0	-	0	-	0	-		
50 Roundup Bioflow	M	51	2	3.92		1	1.96		1	1.96		0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	2	3.92

^aEenzijdige *p*-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest

^{*}Eenzijdige *p*-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest (Poly-k gecorrigeerd)

^aZeldzame tumoren (incidentie< 1%) van NTP en RI historische controle

^bLeeftijd bij overlijden van dieren met transitional celdcarcinoom in de urineblaas (weken oud): 50 Roundup Bioflow (61)

Tabel 15 Incidentie van goedaardige en kwaadaardige tumoren bij mannen: RangerPro vs controlegroep

Dosis (mg/ kg lichaamsgewic ht/dag glyfosaat)	Dieren		Borstkas klier				Nieren Urin eblaas		Schildkli er		Bijnier		Endocriene pancreas		Milt		Centraal zenuwst elsel		Perifeer zenuwstelsel											
			Goedaa rdige tumore n		Kwaadaardige mesenchymale tumor		Transitiecelp arcinoom ^a		Folliculair carcinoom ^a		Corticaal carcinoom ^a		Isletcelcarcinoom g		Hemangiosarcoom ^a		Kwaadaardi korrelceltu mor ^a		Kwaadaardig Schwannoom ^a											
	Sek s	Ge en	Geen		%		Geen		%		Geen		%		P- waarde		Geen		%		P- waarde		Geen		%		Geen		%	
0 (controle)	M	51	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	(#)0,0071 (*)0,0075	0	-	(#)0,0419 (*)0,0459	0	-	(#)0,0419 (*)0,0434	0	-	0	-	0	-	0	-			
0,5 RangerPro	M	51	1	1.96	0	-	0	-	0	-	0	-		0	-		0	-		0	-	0	-	0	-	0	-			
5 RangerPro	M	51	1	1.96	0	-	0	-	0	-	0	-		0	-		0	-		1	1.96	0	-	0	-	0	-			
50 RangerPro	M	51	1	1.96	0	-	0	-	0	-	2	3.92		1	1.96		1	1.96		0	0.0	0	-	0	-	0	-			

*Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest
* Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest (Poly-k gecorrigeerd)
^aZeldzame tumoren (incidentie< 1%) van NTP en RI historische controle

Tabel 16 Incidentie van goedaardige en kwaadaardige tumoren bij vrouwen: glyfosaat vs controlegroep

Dosis (mg/kg lichaamsgewicht/ dag glyfosaat)	Dieren n	Schildklier				Eierstok				Baarmoeder							
		Seks	Geen	%		Geen	%	P-waarde		Geen	%	P-waarde		Geen	%		
0 (controle)	F	51	0	-		0	-	(#)0,0419 (*)0,0411	0	-		(#)0,0419 (*)0,0411	0	-			-
0,5 Glyfosaat	F	51	2	3,92		0	-		1	1,96			1	1,96			-
5 Glyfosaat	F	51	1	1,96		0	-		0	-			2	3,92			-
50 Glyfosaat	F	51	1	1,96		1	1,96		0	-			2	3,92			-

*Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest

* Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest (Poly-k gecorrigeerd)

*Zeldzame tumoren (incidentie < 1%) van NTP en RI historische controle

Tabel 17 Incidentie van goedaardige en kwaadaardige tumoren bij vrouwen: Roundup Bioflow vs controlegroep

Dosis (mg/kg lichaamsgewicht/ dag glyfosaat)	Dieren n	Schildklier				Eierstok				Baarmoeder							
		Seks	Geen	%		Geen	%	P-waarde		Geen	%	P-waarde		Geen	%		
0 (controle)	F	51	0	-		0	-	(#)0,0419 (*)0,0460	0	-			0	-			-
0,5 Roundup Bioflow	F	51	0	-		0	-		0	-			0	-			-
5 Roundup Bioflow	F	51	1	1,96		0	-		0	-			1	1,96			-
50 Roundup Bioflow	F	51	0	-		0	-		1	1,96			0	-			-

*Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest

* Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest (Poly-k gecorrigeerd)

*Zeldzame tumoren (incidentie < 1%) van NTP en RI historische controle

*Leeftijd bij overlijden van dieren met ovarium Maligne granulosa celtumor (weken oud): 50 Roundup Bioflow (43)

Tabel 18 Incidentie van goedaardige en kwaadaardige tumoren bij vrouwen: RangerPro vs controlegroep

Dosis (mg/kg lichaamsgewicht/ dag glyfosaat)	Dieren n	Schildklier				Eierstok				Baarmoeder							
		Seks	Geen	%	P-waarde	Geen	%			Geen	%			Geen	%		P-waarde
0 (controle)	F	51	0	-	(#)0,0419 (*)0,0390	0	-	0	-	0	-		0	-			(#)0,0419 (*)0,0390
0,5 RangerPro	F	51	0	-		0	-	0	-	0	-		0	-			
5 RangerPro	F	51	0	-		0	-	0	-	0	-		1	1,96			
50 RangerPro	F	51	1	1,96		0	-	0	-	0	-		1	1,96			

*Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest

* Eenzijdige p-waarden voor de Cochran-Armitage trendtest (Poly-k gecorrigeerd)

*Zeldzame tumoren (incidentie < 1%) van NTP en RI historische controle

Tabel 19 Vergelijking van resultaten waargenomen bij dieren behandeld met glyfosaat, Roundup Bioflow of RangerPro

Tumoren	Glyfosaat		Roundup Bioflow		RangerPro	
	Mannelijk	Vrouw	Mannelijk	Vrouw	Mannelijk	Vrouw
HematologischHematologisch (Leukemieën)	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑
Huid	↑↑	↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑
Lever	↑		↑		↑	
Schildklier	↑↑	↑		↑		↑↑
Zenuwstelsel	↑↑	↑	↑↑		↑	
Bot	↑↑			↑↑	↑↑	
Eierstok (Geslachtskoord-gonadale stromale tumoren)		↑		↑↑		
Borstklier	↑↑		↑↑			
Bijnieren			↑		↑↑	
Nieren			↑↑			
Urineblaas			↑↑			
Hemangiosarcoom (baarmoeder en milt)					↑↑	↑↑
Alvleesklier (endocrien)					↑↑	

↑↑= Tumoren met een statistisch significant verhoogde trend in incidentie vergeleken met gelijktijdige controle

↑= Zeldzame tumoren in overmaat vergeleken met historische controles van NTP en RI

historische controles [30] en een incidentie van 1,2% in RI historische controles.

Bij mannen die blootgesteld waren aan de hoogste dosis Roundup Bioflow, werd een kwaadaardige mesenchymale tumor van de nierkid (1,96%) waargenomen, met een statistisch significante stijgende trend ($p = 0,0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0400$, poly-3 test) (Tabel 14). In de historische controle van NTP [30] wordt deze laesie niet gerapporteerd en in de historische controle van RI werden slechts 2 gevallen in 3752 (0,06%) alleen bij mannen vastgesteld.

Bij de mannen van dezelfde groep werd een vroeg begin (leeftijd bij overlijden 61 weken) transitional celcarcinoom van de urineblaas waargenomen (1,96%) met een statistisch significante stijgende trend ($p = 0,0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0325$, poly-3) (Tabel 14). In NTP [30] en RI historische controle werd deze laesie niet waargenomen.

Een significant verhoogde trend in incidentie van corticaal carcinoom van de bijnier werd waargenomen bij mannetjes behandeld met RangerPro (3,92%; $p = 0,0071$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0075$, poly-3 test) (Tabel 15). Daarentegen werd slechts 1 geval waargenomen onder 590 dieren (0,17%) in de historische NTP-controles [30] en een incidentie van 0,24% in de historische RI-controles bij mannelijke dieren.

Eén geval van kwaadaardige granulosaaceltumor van het ovarium (1,96%) werd waargenomen bij vrouwtjes met een hoge dosis behandeld met Roundup Bioflow (Tabel 17), die een significant verhoogde trend in incidentie van kwaadaardige granulosaaceltumor van het ovarium werd waargenomen bij vrouwtjes ($p = 0,0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0460$, poly-3 test). Met name de leeftijd bij overlijden van dit geval was erg laag, 43 weken, en er werd geen andere bijkomende laesie gevonden. Zeldzame gevallen (5/588, 0,85%) van deze tumor waren

waargenomen in NTP historische controles [30] en slechts 2 gevallen meer dan 3570 (0,06%) in RI historische controles.

Bij vrouwtjes met een hoge dosis van de met glyfosaat behandelde groep werd één geval van eierstokfibroom ontdekt (1,96%), met een statistisch significant verhoogde trend ($p = 0,0419$, Cochran-Armitage trendtest; $p = 0,0411$, poly-3 test) (Tabel 16).

Een samenvatting van de verschillende tumoren, per plaats, tussen de glyfosaat, Roundup Bioflow en RangerPro behandelingsgroepen, waarbij er een statistisch significante toename was in de incidentie van goedaardige of kwaadaardige tumoren of een overmaat aan incidentie van zeldzame tumoren vergeleken met zowel de NTP als de RI historische controles, wordt gegeven in Tabel 19. Hematologische tumoren (leukemieën) waren toegenomen in alle behandelingsgroepen (glyfosaat, Roundup Bioflow en RangerPro) bij zowel mannen als vrouwen; huidtumoren waren toegenomen in de glyfosaat (zowel mannen als vrouwen) en, in mindere mate, in de Roundup Bioflow en RangerPro (alleen mannen) groepen; levertumoren waren toegenomen in alle behandelingsgroepen bij mannen, schildkliertumoren bij glyfosaat (mannen) en RangerPro (vrouwen); tumoren van het centrale zenuwstelsel namen toe bij glyfosaat (mannen, hersenkorrelceltumoren) en perifere zenuwstelseltumoren namen toe bij glyfosaat (beide geslachten, Schwannoom) en mogelijk bij Roundup Bioflow en RangerPro (vrouwen), bottumoren namen toe bij mannen behandeld met glyfosaat en RangerPro en bij vrouwen behandeld met Roundup Bioflow; eierstoktumoren (geslachtskoord-gonadale stromale tumoren) toegenomen bij vrouwen behandeld met glyfosaat en Roundup Bioflow, borsttumoren toegenomen bij mannen behandeld met glyfosaat en Roundup Bioflow, bijniertumoren toegenomen bij mannen behandeld met Roundup Bioflow, bijniertumoren toegenomen bij mannen behandeld met Roundup Bioflow en bij vrouwen behandeld met Roundup Bioflow.

mannetjes behandeld met RangerPro, nier- en urineblaastumoren namen toe bij mannetjes behandeld met Roundup Bio- flow, hemangiosaroom (milt en baarmoeder) nam toe bij beide geslachten behandeld met RangerPro; en endocriene pancreastumor nam toe bij mannetjes behandeld met RangerPro (Tabel 19).

Statistisch significante stijgingen in incidentie werden waargenomen voor een aantal andere niet-zeldzame goedaardige en kwaadaardige tumoren (aanvullende tabellen 1-4). Bij dieren behandeld met glyfosaat werd een statistisch significant verhoogde trend (met Cochran-Armitage trendtest) in incidentie waargenomen voor long squameus cel papil- loma bij mannetjes. Bij dieren behandeld met Roundup Bioflow werd een statistisch significant verhoogde trend (met Cochran-Armitage trendtest) in incidentie waargenomen voor longfibroom bij mannetjes. Bij dieren behandeld met glyfosaat werd een statistisch significant verhoogde trend (met Cochran-Armitage trendtest) in incidentie waargenomen voor osteoom buiten het bot (long) bij mannetjes. Bij dieren behandeld met RangerPro werd een statistisch significant verhoogde trend (met Cochran-Armitage trendtest) in incidentie waargenomen voor fibromen van weke delen bij mannetjes en longfibrosarcomen bij vrouwtjes. In de vrouwelijke RangerPro laagste dosisgroep was er een statistisch significante toename in incidentie (Fisher exact test) van melkkliertumoren (adenoom, fibroom en fibroadenoom).

Discussie

De belangrijkste bevinding van dit 2-jarige carcinogeniteitsonderzoek naar glyfosaat en twee commerciële GBH-formules was een verhoogde incidentie (statistisch significant, dosisgerelateerd en/of in overmaat vergeleken met zowel NTP als RI historische controles) van meervoudige goedaardige en kwaadaardige tumoren bij SD ratten bij blootstellingsniveaus die overeenkomen met de EU glyfosaat ADI en de EU NOAEL (Tabel 19).

Dosisgerelateerde verhoogde incidenties van leukemie, en van huid-, lever-, schildklier- en zenuwstelsel tumoren, in vergelijking met gelijktijdige controle of historische controles, werden waargenomen in alle drie behandelingsgroepen, wat aangeeft dat glyfosaat voldoende was om de carcinogene effecten te veroorzaken die in alle groepen werden waargenomen. Een statistisch significante toename van de incidentie van borsttumoren bij mannen werd waargenomen in groepen behandeld met glyfosaat en Roundup Bioflow, terwijl sporadische gevallen werden geregistreerd in de drie doses blootgesteld aan RangerPro, vergelijkbaar met ovariumtumoren waar alleen toenames werden waargenomen bij glyfosaat en Roundup Bioflow, wat aangeeft dat glyfosaat waarschijnlijk de carcinogene effecten aanstuurde die in alle groepen werden waargenomen. Tumoren van de bijnieren namen alleen in incidentie toe bij blootstelling aan GBH's (Roundup Bio- flow en RangerPro), wat suggereert dat deze formuleringen ofwel de kankerverwekkende effecten van glyfosaat versterkten of een gemeenschappelijk werkingsmechanisme hadden.

dan die gerelateerd aan glyfosaat. Tumoren van de nier, urineblaas, hemangiosaroom en endocriene pancreas namen alleen toe bij behandeling met GBH's (Roundup Bioflow of RangerPro), wat suggereert dat andere werkingsmechanismen dan die gerelateerd aan glyfosaat verantwoordelijk zouden kunnen zijn voor deze toenames (Tabel 19).

Met betrekking tot leukemie waren de twee belangrijkste bevindingen van onze studie, ten eerste, een significante dosisgerelateerde trend in verhoogde leukemie-incidentie en, ten tweede, het vroege begin van leukemie bij blootgestelde ratten. Dosisgerelateerde trends in leukemie-incidentie werden waargenomen bij zowel mannetjes als vrouwtjes, terwijl de meeste significante resultaten werden waargenomen bij mannetjes. Wanneer mannetjes en vrouwtjes samen werden beschouwd, werd de statistische significantie consequent sterker. Er werd geen enkel geval van leukemie waargenomen bij onbehandelde controledieren.

Met betrekking tot sterfte aan leukemie in de met glyfosaat en GBH behandelde groepen, trad 40% op vóór de leeftijd van één jaar (52 weken), wat vergelijkbaar is met een leeftijd van minder dan 35-40 jaar bij mensen [41]. Daarentegen zijn er geen gevallen van leukemiedood waargenomen vóór de leeftijd van één jaar bij meer dan 1600 SD onbehandelde controleratten die de afgelopen tien jaar zijn onderzocht door het NTP en het RI (Fig. 4). Het vroege begin van leukemie in de met glyfosaat en GBH behandelde groepen lijkt dosisafhankelijk te zijn en is waarschijnlijk te wijten aan prenatale blootstelling, aangezien de behandeling tijdens de zwangerschap begon.

Glyfosaat en GBH's veroorzaakten een verhoogde incidentie van huidtumoren bij zowel mannetjes als vrouwtjes. Bij controledieren werden geen gevallen van huidtumoren (kwaadaardig of goedaardig) waargenomen. Portier [42] rapporteerde dat er "duidelijk bewijs is dat orale toediening van glyfosaat bij mannelijke SD-ratten huidtumoren veroorzaakt (basaalceltumor en keratoa- canthoom). Resultaten verkregen door George et al. [43] suggereerden ook dat glyfosaat huidcarcinogenese- profecten heeft bij mannelijke Zwitserse muizen. Opgemerkt moet worden dat huidcontact een belangrijke blootstellingsroute is voor werknemers in de landbouw en mensen die pesticiden aanbrengen [6, 44]. Deze bevindingen komen overeen met resultaten van twee case-control studies, uitgevoerd in verschillende geografische gebieden (Italië en Brazilië), die een verhoogd risico op cutaan melanoom laten zien in relatie tot blootstelling aan pesticiden en in het bijzonder aan herbiciden (glyfosaat) en fungiciden (mancozeb, maneb) [45].

Levercelcarcinoom is een zeldzame laesie bij SD-ratten. In de huidige studie veroorzaakten glyfosaat en GBH's verhoogde incidenties van hepatocellulair carcinoom in vergelijking met historische controles. Hoewel de incidenties geen statistische significantie bereikten in vergelijking met de gelijktijdige controles, werd in veel behandelde groepen meer dan

1 hepatocellulair carcinoom werd waargenomen bij verschillende doses. Hoewel er in de huidige studie geen duidelijke dosis-respons kon worden waargenomen, zou dit bovendien kunnen zijn

beïnvloed door de duur van het experiment (104 weken), aangezien hepatocellulair carcinoom voornamelijk voorkomt bij zeer oude dieren (gemiddelde leeftijd bij overlijden 118 weken in RI historische controle). Opgemerkt moet worden dat hepatocellulair adenoom al in verband werd gebracht met blootstelling aan glyfosaat bij mannelijke SD-ratten [42], waarschijnlijk als gevolg van de hogere geteste doses [46]. Glyfosaat en GBH's blijken oxidatieve stress in de lever te induceren bij verschillende rattenstammen, ook bij relatief lage doses [47-49]. Oxidatieve stress is een erkend werkingsmechanisme voor genotoxiciteit en carcinogeniciteit in de lever, zij het mogelijk met een drempelwaarde [50]. Een onderzoek onder landarbeiders als onderdeel van de US Agricultural Health Study toonde een positieve correlatie tussen de glyfosaatspiegels in de urine en markers van oxidatieve stress, waaronder verhoogde niveaus van 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine [51]. Glyfosaat kan bijdragen aan de ontwikkeling van leveraandoeningen en metabool syndroom bij jongeren. In het kader van de CHAMACOS-studie rapporteerden Ezkenazi et al. deze associatie door vast te stellen dat verhoogd urine-aminomethylfosfonzuur (AMPA) tijdens de kindertijd correleerde met een verhoogd risico op verhoogde levertransaminasen (14%) en metabool syndroom (55%); bovendien werd wonen in de buurt van landbouwtoepassingen van glyfosaat tijdens de vroege kinderjaren (vanaf de geboorte tot de leeftijd van 5 jaar) geassocieerd met metabool syndroom op de leeftijd van 18 jaar [52]. Bovendien werd blootstelling aan GBH's in een dierstudie in verband gebracht met DNA-schade in de lever. Moleculaire profilering van de lever bij ratten die 90 dagen lang werden blootgesteld aan de GBH Roundup Bioflow of puur glyfosaat toonde aan dat alleen de formuleringen leversteatose en necrose veroorzaakten, en dat zowel glyfosaat als de formuleringen de genexpressie veranderden, waaronder TP53 activering [47]. Daarnaast toonde de profilering van klein RNA in de lever veranderingen aan in miRNA-profielen bij blootstelling aan zowel glyfosaat als Roundup Bioflow en ook dat blootstelling aan alleen glyfosaat resulteerde in DNA-beschadiging, zoals blijkt uit de vorming van apurine/apyrimidine sites [47]. Bovendien werd een verhoogde concentratie van biomarkers van oxidatieve stress, gekoppeld aan DNA-beschadiging en de potentie van hormoonontregelaars, waargenomen in verhouding tot de concentratie glyfosaat die werd gedetecteerd in bloed en seminaal plasma [53].

De borstklier van de mannelijke rat is een gevoelig doelwit voor het evalueren van de effecten van hormoonverstorende chemicaliën (EDC's), mede gezien de recent toegenomen incidentie van borstkanker bij mannen [54]. De Organisatie voor Economische Samenwerking en Ontwikkeling (OESO) beschouwt de evaluatie van de borstklier van de mannelijke rat als een EDC-gerelateerd eindpunt in haar richtlijnen voor subchronische orale toxiciteitstesten [55]. Als hormoonafhankelijk weefsel wordt de groei en differentiatie van de borstklier geassocieerd met de werking van oestrogeenpaden en andere hormonale assen [54, 55]. In SD

Bij ratten komen, net als bij mensen, borstkliertumoren bij mannen veel minder vaak voor dan bij vrouwen [56]. Daarom is de aanwezigheid van verschillende borstkliertumoren bij mannelijke ratten in onze studie interessant, gezien het feit dat het tijdstip van blootstelling de prenatale programmering omvatte, evenals de verhoogde incidenties die werden waargenomen voor een aantal andere endocriene tumoren in de met glyfosaat en GBH's behandelde groepen (d.w.z. eierstok-, schildklier- en bijniertumoren). Er werden met name 3 adenocarcinomen van de borstklieren bij mannetjes behandeld met RangerPro waargenomen, 2 gevallen bij de laagste dosis (3,92%) en 1 geval in de hoogste dosisgroep (1,96%) (Aanvullende materialen: Tabel 1).

Hoewel er geen statistische significantie werd bereikt in het huidige onderzoek, is de incidentie van mammacarcinoom bij mannen hoger dan bij NTP (1/590, 0,17%) [30] en bij RI historische controles (14/3572, 0,39%). In een onderzoek van Gomez e.a. [57] verstoorde blootstelling aan een GBH tijdens de zwangerschap en de lactatie de borstklierontwikkeling bij mannelijke ratten, waardoor de regulatie van genexpressienetwerken werd verstoord; het kan niet worden uitgesloten dat een verstoorde genregulatie op latere leeftijd kan leiden tot een verhoogde vatbaarheid voor de ontwikkeling van tumoren na de puberteit en geslachtsrijpe leeftijd. Zoals gerapporteerd in de INHAND [23], zijn renale kwaadaardige mesenchymale tumoren zeldzaam en is aangetoond dat ze bij ratten alleen worden geïnduceerd door krachtige genotoxische chemicaliën [47]. Hoewel ze sporadisch kunnen voorkomen, bijvoorbeeld in de 2-jaarlijkse carcinogeniteitsbeoordeling gepubliceerd door het NTP in 2007, werd er geen melding van dit type tumor gevonden in de controlegroep van ratten van enig NTP-onderzoek. In de meeste onderzoeken komt de renale mesenchymale tumor voor als een enkele tumor in een groep met één enkele dosis [58], zoals we hier rapporteren voor mannelijke ratten die zijn blootgesteld aan de hoogste dosis Roundup Bioflow. Andere kankeronderzoeken bij knaagdieren hebben niertumoren gerapporteerd als gevolg van blootstelling aan glyfosaat [42, 58]. Landbouwwerkzaamheden en beroepsmatig gebruik van pesticiden zijn in verband gebracht met een verhoogd risico op niercelcarcinoom, met een verhoogd risico onder de hoogste gebruikers van verschillende pesticiden, waaronder GBH's [59].

Frazier et al. [23] rapporteerden ook dat spontane carcinomen van de lagere urinewegen en het nierbekken ongewone tumoren zijn bij de meeste knaagdiersoorten en -stammen. Spontane transitionele carcinomen in de urineblaas of urinebuis van muizen zijn zeldzaam en enkele genotoxische chemicaliën hebben ze experimenteel geïnduceerd. Chandra et al. [60] rapporteerden dat slechts 1 mannelijke en 1 vrouwelijke SD rat overgangscelcarcinomen hadden onder 2669 ratten (1340 mannetjes en 1329 vrouwtjes) uit 17 carcinogeniteitsstudies. In NTP [30] en RI historische controles werd geen enkel geval van transitioneel celcarcinoom in de nieren waargenomen. Vanwege de zeldzaamheid ervan bij ratten is het vrij moeilijk om het belang van deze laesie in relatie tot de blootstelling aan GBH's te beoordelen. Een case-control onderzoek bij honden (Schotse Terriers) suggereerde dat

blootstelling aan gazons of tuinen die behandeld zijn met herbiciden, waaronder GBH's, werd in verband gebracht met een verhoogd risico op transitieelcarcinoom van de urineblaas [61].

Onze gegevens geven aan dat glyfosaat tumorigenese kan richten op de endocriene weefsels. Bijnierschorscarcinoom is een zeldzame tumor bij SD-ratten. Een 'duidelijk bewijs' van bijnierkankerverwekkendheid bij vrouwelijke SD-ratten werd toegeschreven in de heranalyse door Portier [42], waarbij onderzoeken werden geëvalueerd waarbij blootstellingsniveaus van puur glyfosaat werden gebruikt in vergelijking met de huidige studie. Onze resultaten tonen de aanwezigheid van corticaal carcinoom van de bijnieren bij mannelijke SD-ratten blootgesteld aan RangerPro en Roundup Bioflow, wat suggereert dat GBH-componenten ofwel de carcinogene effecten van glyfosaat hebben versterkt of een gemeenschappelijk werkingsmechanisme hadden dat niet gerelateerd is aan glyfosaat. In een kortetermijnstudie (2 weken) die alleen werd uitgevoerd bij mannelijke ratten en alleen met Roundup Bioflow, namen de auteurs een vermindering waar in de regulatie van de endogene adrenocortico- tropische hormoonreceptor (ACTH), een toestand die lijkt op de menselijke aandoening die bekend staat als bijnierinsufficiëntie [62]. Owagboriaye et al. [63] observeerden daarentegen bij mannelijke ratten een significante dosisafhankelijke toename van serum aldosteron en corticosteron na een langdurige (13 weken) blootstelling aan een GBH, maar niet na blootstelling aan equivalente doses glyfosaat. Dit suggereert dat GBH's invloed zouden kunnen hebben op de hypothalamus-hypofyse-bijnieras, wat bij levenslange blootstelling mogelijk zou kunnen leiden tot bijnierkanker [42]. Toename van schildkliertumoren werd aangetoond bij mannelijke en vrouwelijke SD-ratten, met een meer uitgesproken effect bij vrouwtjes die behandeld werden met puur glyfosaat. Dit resultaat kwam overeen met de literatuur; er is gesuggereerd dat milieurisicofactoren een cruciale rol spelen bij de verhoogde incidentie van schildkliergezwellen bij mensen en sommige pesticiden worden tot deze factoren gerekend [64-66]. In een andere studie bij SD-ratten werd een significant positieve trend in de incidentie van C-cel adenoom van de schildklier bij vrouwelijke ratten waargenomen [6, 67]; hierbij moet worden opgemerkt dat de toediening begon op de leeftijd van 8 weken en niet prenataal zoals in de huidige studie. Portier [42] rapporteert ook "dubbelzinnig bewijs" voor schildklier c-cel adenoom en carcinoom bij beide geslachten en schildklier folliculair adenoom en carcinoom bij mannelijke SD-ratten behandeld vanaf volwassenheid. Onze gegevens suggereren dat de pre- en/of postnatale ontwikkeling een gevoelig venster kan zijn voor schildklierkanker veroorzaakt door blootstelling aan glyfosaat.

Toxische effecten van glyfosaat op het zenuwstelsel werden beschreven in een recent systematisch overzicht, waaruit bleek dat glyfosaat belangrijke veranderingen veroorzaakt in de structuur en functie van het zenuwstelsel van mensen, knaagdieren, vissen en ongewervelde dieren [68]. Een andere recente systematische review en meta-analyse van ouderlijke blootstelling

van bestrijdingsmiddelen, waaronder glyfosaat, en hersentumoren bij kinderen toonde een verband aan tussen deze tumoren en blootstelling voor de bevalling, na de geboorte, en resistentie blootstelling [68, 69]. Bovendien is gebleken dat mengsels van bestrijdingsmiddelen, waaronder glyfosaat, in verband worden gebracht met algehele kanker, kanker van de hersenen en andere CZS-kankers en leukemie bij kinderen, zoals onlangs gerapporteerd door Taiba et al. [70] en ook door het Franse National Institute of Health and Medical Research (Inserm) [71]. In onze studie werd het perifere en centrale zenuwstelsel in verschillende mate aangetast door alle 3 typen behandelingen op basis van glyfosaat en bij beide geslachten. Bij mannen kwam kwaadaardige korrelceltumor in de groep met de hoge dosis glyfosaat voor in het centrale zenuwstelsel, terwijl kwaadaardig Schwan- noma werd waargenomen in het perifere zenuwstelsel in associatie met vooral de hoogste dosis Roundup Bioflow. De rol van glyfosaat en GBH's in perifere en centrale zenuwstelselveranderingen moet nog grondiger worden onderzocht, vooral wanneer de blootstelling vroeg in het leven of in utero is begonnen. Recente studies hebben gesuggereerd dat glyfosaat en GBH's de cerebellaire ontwikkeling veranderen, voornamelijk door de migratie en differentiatie van granulecellen te beïnvloeden, en dat perinatale blootstelling leidt tot langetermijnveranderingen in het zenuwstelsel van de volwassen mannelijke rat [72, 73]. In onze studie werd ook een effect op het PNS vastgesteld bij vrouwtjes, aangezien we verschillende goedaardige en kwaadaardige Schwannomen van de baarmoeder ontdekten, vooral in de groepen met blootstelling aan glyfosaat en RangerPro. Soms worden kwaadaardige Schwannomen waargenomen in de baarmoederhals van ratten, maar meestal alleen na blootstelling aan direct werkende alkyliserende stoffen, zoals N-nitrosoethylester of methylethanol-sulfonaat [29]. Blootstelling aan GBH's, vroeg in de neuronale ontwikkeling, induceert ontregeling van verschillende signaalwegen in zowel het CZS als het PZS; in het bijzonder veranderen GBH's de expressie van S100B-eiwit, een marker van schade aan het zenuwstelsel in Wistar ratten, waarbij downregulatie tijdens de ontwikkeling en upregulatie in volwassen nakomelingen na chronische blootstelling wordt geïnduceerd [68]. Al deze bevindingen over de neurotoxiciteit van glyfosaat komen overeen met rapporten die aangeven dat blootstelling aan pesticiden in het milieu het risico op neurodegeneratieve aandoeningen zoals de ziekte van Parkinson bij mensen verhoogt [74].

In ons onderzoek naar de carcinogeniteit van glyfosaat en GBH's werden verhoogde incidenties van kwaadaardige en goedaardige bottumoren waargenomen bij alle 3 de behandelingen. Van slechts enkele agentia (d.w.z. natriumfluoride, bijschildklierhormoon en verwante peptiden, ioniserende straling) is in kankertests bij knaagdieren aangetoond dat ze osteosarcoom veroorzaken, met dubbelzinnig of duidelijk bewijs [26, 75-77]. Bij SD-ratten was de totale lichaamsbelasting, zelfs na slechts zeven dagen toediening van glyfosaat, voornamelijk geconcentreerd in het bot [78]. Veranderingen in bot- en kraakbeenstructuur werden waargenomen in verschillende modellen, waaronder zebravissen

na blootstelling aan glyfosaat in het vroege leven [79]. Een verstoring van het botmetabolisme (calcium en fosfor) werd waargenomen bij ratten na subchronische blootstelling aan GBH's [80]. Onze bevindingen ondersteunen dus dat het skeletweefsel een doelwit is voor glyfosaattoxiciteit en geven aan dat bottumoren een relevant apicaal effect kunnen zijn van langdurige blootstelling.

Om onze bevindingen in een bredere context te evalueren, merken we op dat in de afgelopen vijftig jaar de incidentie van kinderkanker met 35% is toegenomen [81] en dat epidemiologisch bewijs en mechanistische studies suggereren dat blootstelling van moeders aan pesticiden in verband wordt gebracht met een verhoogd risico op kinderleukemie [70, 82], zoals eerder ook werd gesuggereerd door een werkgroep georganiseerd door de Europese Autoriteit voor Voedselveiligheid [83]. Recente epidemiologische studies hebben de kennis over de carcinogeniteit van glyfosaat en GBH's bij mensen uitgebreid. Een recente meta-analyse meldt dat GBH's in verband worden gebracht met een 41% verhoogd relatief risico op non-Hodgkin lymfoom onder sterk blootgestelde personen [84]. Skidmore et al. [85] toonden een significante temporele en geografische relatie aan tussen de uitbreiding van de glyfosaattolerante genetisch gemodificeerde soja-teelt in het Braziliaanse Amazonegebied en de Cerrado en sterfgevallen door acute lymfoblastische leukemie bij kinderen, een van de meest voorkomende pediatrie bloedkankers. Hardell et al. [86] publiceerden de resultaten van een gepoolde analyse van drie Zweedse case-control studies met 1425 gevallen en 2157 controles, waarin de blootstelling aan fenoxycarboxylzuren en glyfosaat werd onderzocht in relatie tot de ernst van de ziekte.

non-Hodgkin lymfoom en heeft een verband aangetoond tussen non-Hodgkin lymfoom en blootstelling aan deze herbiciden. Een ander onderzoek dat zich richtte op blootstelling aan landbouwpesticiden in de perceelsrand en het risico op kinderleukemie in een Italiaanse gemeenschap, rapporteerde een toenemend risico bij kinderen die in de buurt van akkerbouwgewassen woonden die blootgesteld waren aan een mix van glyfosaat en andere pesticiden [82, 87]. In een bijgewerkt vervolverslag van de United States Agricultural Health Study, een groot prospectief cohort dat de incidentie van kanker onderzoekt tot 2012 (North Carolina)/2013 (Iowa) met 7290 gevallen, werd bewijs gevonden van een verhoogd risico op acute myeloïde leukemie onder de groep met de hoogste blootstelling aan glyfosaat [59, 88]. Verder werd in een recente studie van Taiba et al. [70] een positieve associatie waargenomen tussen agrochemische mengsels die glyfosaat bevatten en verhoogde gevallen van jeugdleukemie (< 20 jaar). Onlangs werd de hypothese geopperd dat een deel van het geabsorbeerde glyfosaat zich snel kan verplaatsen naar het beenmerg en vervolgens naar de botten, waar het kan bioaccumuleren en kan bijdragen aan het risico op hematopoïetische maligne (bijv. leukemie) [89].

Kankerverwekkendheidsstudies bij dieren bieden biologische plausibiliteit voor deze groeiende epidemiologische literatuur die een verband legt tussen GBH's en kanker door aan te tonen dat glyfosaat meerdere soorten kanker en genotoxische laesies kan veroorzaken [90]. De belangrijkste plaatsen van neoplasma's die eerder werden waargenomen in andere langetermijnstudies met glyfosaat bij SD-ratten waren nier, lever, huid, alveolair, schildklier en testikels bij mannetjes en bijnier en schildklier bij vrouwtjes. In andere rattenstammen,

Tabel 20 Vergelijking tussen de resultaten waargenomen bij dieren behandeld met glyfosaat in de GGS en vorige evaluatie

Tumoren	Portier 2020 ^a		IARC 2017 ^b		GGS ^c	
	Mannelijk	Vrouw	Mannelijk	Vrouw	Mannelijk	Vrouw
Hematologisch (leukemieën)					↑	↑
Huid	CE				↑	↑
Lever	CE		+		↑	
Schildklier	EE	EE		+	↑	↑
Zenuwstelsel					↑	↑
Bot					↑	↑
Eierstok en teelballen (geslachtskoord-gonadale stromale SE tumoren)						↑
Bijnieren		CE			↑↑	
Nieren	CE				↑↑	
Urineblaas					↑↑	
Hemangiosaroom (baarmoeder en milt)					↑↑	↑↑
Alveolair (Endocrien)	EE		+		↑↑	

^aAangepast van Portier, 2020 [42]: mate van bewijs voor tumoren waargenomen bij Sprague-Dawley ratten: CE Duidelijk bewijs; SE Enig bewijs; EE Equivoocaal bewijs.

^bAangepast aan de IARC monografie, 2017 [6]: += significante paarsgewijze of trendtest in goedaardige of kwaadaardige tumoren volgens gegevens over carcinogeniteit bij dieren uit studies met Sprague-Dawley ratten die door de Werkgroep als adequaat zijn beoordeeld.

^c↑= statistisch significant verhoogde trend in de incidentie van goedaardige of kwaadaardige tumoren in met glyfosaat behandelde groepen of zeldzame overmatige tumoren in vergelijking met de historische controle van NTP en RI. ↑↑= statistisch significant verhoogde trend in de incidentie van goedaardige of kwaadaardige tumoren alleen in met Roundup Bioflow of RangerPro behandelde groepen of zeldzame overmatige tumoren in vergelijking met de historische controle van NTP en RI.

laesies gerelateerd aan blootstelling aan glyfosaat waren lever- en huidtumoren, alleen bij mannetjes, en borst- en bijniertumoren bij vrouwtjes. De incidentie van niertumoren was ook verhoogd bij mannelijke CD-1 muizen, samen met mesenchymale tumoren en lymfoom [42]. Alle studies bij ratten en muizen waren echter gebaseerd op blootstelling beginnend bij een standaard postnatale vroege volwassenheidsfase van het leven en bevatten dosissen die over het algemeen hoger waren dan deze getest in de GGS. De enige studie op lange termijn (postnataal) uitgevoerd bij SD ratten die gelijkaardige of lagere dosissen bevatte dan de GGS werd gerapporteerd door Lankas et al. [91] (~ 3, 10, 31 mg/kg lichaamsgewicht/dag), waarin pancreas (lage dosis), testes (trend) en schildklier (trend) tumorincidenties significant verhoogd waren [6, 42].

Blootstelling aan GBH's, vroeg in de neuronale ontwikkeling, induceert ontregeling van verschillende signaalwegen die leiden tot zowel het CZS als het PZS [68, 72, 73, 91, 92]. Naast DNA-schade is hormoonontregeling een relevant mechanisme van tumorigenese. Glyfosaat en GBH's zouden kunnen fungeren als hormoonontregelaars bij mensen en diermodellen, zoals goed gedocumenteerd is in de literatuur [9, 66, 93-95]. In de GGS vertoonden glyfosaat en Roundup Bioflow significante androgeenachtige effecten op de voortplantingsparameters [9]. In de huidige studie waren de effecten die mogelijk geassocieerd werden met hormoonontregeling onder andere mamma-, bijnierschors- en schildkliertumoren bij mannen. Een ander mogelijk hormoonverstorend effect van Roundup Bioflow is het geval van kwaadaardige granulosa-cel tumoren in de eierstokken, een zeldzame tumor bij SD-ratten die werd waargenomen in de Roundup-groep met hoge doses en die een vroege dood veroorzaakte op een leeftijd van slechts 43 weken. Chronische blootstelling aan lage doses (tot 2,0 mg/kg lichaamsgewicht) glyfosaat verandert het proteoom van de eierstokken en heeft daardoor invloed op de functie van de eierstokken bij muizen; volgens de auteurs zijn de oxidatieve stressgerelateerde paden het primaire doelwit [96]. GBH's bleken de proliferatie van granulosa cellen te veranderen in een *in vitro* model, wat suggereert dat blootstelling aan GBH's krachtigere effecten zou kunnen hebben dan glyfosaat alleen, in overeenstemming met de bevindingen van GGS [9, 96, 97]. In de literatuur wordt gemeld dat chronische blootstelling aan GBH ook de endocriene pancreasfunctie en histoarchitectuur zou kunnen veranderen [98]. In het bijzonder observeerden we een significant verhoogde trend in eilandjescelcarcinomen in RangerPro.

Bot is een ander weefsel met een sterke en complexe endocriene regulatie, waaronder bijnierschors-, pituit-, schildklier- en steroïdhormonen. Onze studie geeft aan dat botten een doelwit zijn van glyfosaat en GBH's carcinogeniciteit. Onderzoek bij vrouwelijke Wistar ratten die blootgesteld waren aan GBH heeft de waargenomen calcium-fosfor onbalans en veranderingen in de botstructuur in verband gebracht met een verstoord schildkliermetabolisme [90]. Het is opmerkelijk dat een recente epidemiologische studie op basis van NHANES-gegevens de urinegehalten aan glyfosaat in verband bracht met een verminderde botmineraaldichtheid bij de Amerikaanse bevolking.

chemische stoffen [26]. Onze resultaten suggereren dus dat bot een aanvullend doelwit zou kunnen zijn van endocrien-gerelateerde tumoren veroorzaakt door glyfosaat en GBH's [27].

Onze bevindingen komen ook overeen met eerdere reviews uitgevoerd door Portier [42] en IARC [6], over de carcinogeniciteit van glyfosaat bij SD-ratten, zoals weergegeven in tabel 20. Met name de tumortoename die in onze studie werd waargenomen, komt overeen met eerdere studies bij SD-ratten voor huid, lever, schildklier, geslachtskoord-gonadale stroma, bijnier, nier en endocriene pancreas. Opmerkelijk is dat in de meeste gevallen de tumortoename niet alleen consistent was in termen van doelorgaan, maar ook in termen van geslacht. Stijgingen in leukemie, zenuwstelsel, bot en hemangiosaroom werden alleen in onze studie waargenomen. Dit hangt waarschijnlijk samen met de verhoogde gevoeligheid van de onderzoeksopzet: de blootstelling die ook de prenatale en prepuberale ontwikkeling omvatte, maakte het mogelijk om carcinogene effecten te detecteren die veroorzaakt werden door vroege blootstellingen die niet effectief onderzocht kunnen worden als de blootstelling van het dier begint vanaf de volwassenheid. Vroegtijdige aanvang en sterfte van leukemie en een aantal andere zeldzame tumoren (lever, eierstok en zenuwstelsel) konden ook worden waargenomen in onze studie vanwege de gevoeligheid van de prenatale studieopzet, omdat volwassen studies een langere tumorlatentie zouden hebben en mogelijk niet zo gevoelig zouden zijn, met name voor de effecten van lage doses. Beginnend met het bewijs dat Prof. Maltoni leverde in zijn carcinogene studies over vroege blootstellingen aan vinylchloride vanaf de jaren 1970 [99], tot de meest recente goedkeuring door het Amerikaanse National Toxicology Program, [100] worden prenatale ontwerpen voor kankertests in SD-ratten nu algemeen beschouwd als een voorspellend en betrouwbaar model voor mensen. Het is inderdaad duidelijk aangetoond dat blootstelling aan chemische stoffen, zelfs in lage doses tijdens de prenatale en ontwikkelingsfase van het leven, een aantal schadelijke effecten op lange termijn kan veroorzaken, waaronder kanker [81]. Dit concept, dat de ontwikkelings-mentale oorsprong van gezondheid en ziekte, of DOHaD, wordt genoemd, is nu algemeen geaccepteerd en vormt een hoeksteen van strategieën voor volksgezondheidspreventie voor een verscheidenheid aan ziekten, waaronder obesitas, diabetes type 2, insulineresistentie, astma, hart- en vaatziekten, gedragsstoornissen, neurodegeneratieve ziekten, voortplantingsstoornissen en kanker [101].

Onze resultaten geven een nieuw en uitgebreider inzicht in de carcinogeniciteit van glyfosaat bij ratten, en ze komen overeen met eerdere meldingen van verhoogde tumoren bij proefdieren blootgesteld aan glyfosaat en GBH's [6, 42]. Onze studie heeft beperkingen. Eén beperking is dat we, hoewel we glyfosaat en twee veelgebruikte formuleringen (Roundup Bioflow en RangerPro) vergeleken, de gezondheidseffecten van de specifieke hulpstoffen in de GBH's niet konden onderzoeken. De toxicologische relevantie van verhoogde incidenties van zeldzame tumoren is moeilijk te beoordelen, vooral wanneer er sprake is van statistische grensgevallen.

significantie of wanneer de tumorincidentie alleen te hoog is in vergelijking met historische controles. In een poging om deze beperking op te heffen en de biologische plausibiliteit van toenames van zeldzame tumoren op te helderen, hebben we deze vergeleken met zowel RI als NTP historische controle incidenties. Bovendien geven onze gegevens geen directe informatie over de tumorigene mechanismen en werkingsmechanismen van glyfosaat; door de beschikbare literatuur te bestuderen, veronderstellen we echter dat genotoxiciteit en endocrien verstoring een rol kunnen spelen, maar andere mechanismen zoals defect DNA-herstel of tumorsuppressorgenen kunnen niet worden uitgesloten. Tot slot hebben we ons geconcentreerd op de nauwkeurige beschrijving van effecten zonder te proberen om benchmarkdoses af te leiden, waarbij we deze verdere uitwerking overlaten aan een toekomstige risicokarakteriseringsfase. De ADI van de EU werd echter vastgesteld op 0,5 mg/kg lw per dag, gebaseerd op een NOAEL van 53 mg/kg lw per dag uit een 90-daagse studie bij honden en ondersteund door het NOAEL van 59,4 mg/kg lw per dag uit een 2-jarige studie bij ratten en het NOAEL van 50 mg/kg lw per dag voor maternale toxiciteit uit een studie naar ontwikkelingstoxiciteit bij konijnen [21]. De standaard ard onzekerheidsfactor (UF) van 100 werd toegepast. In het onderhavige onderzoek hebben we effecten waargenomen bij doses gelijk aan of lager dan het NOAEL bij knaagdieren en andere diersmodellen.

Conclusie

Dit rapport van de carcinogeniteitsafdeling van de GGS vond dat glyfosaat en GBH's bij blootstellingsniveaus die overeenkomen met de EU glyfosaat ADI en NOAEL statistisch significante, dosisgerelateerde verhoogde trends of verhoogde incidenties veroorzaakten in vergelijking met RI en NTP historische controles, van meerdere goedaardige en kwaadaardige tumoren van bloed, huid, lever, schildklier, zenuwstelsel, eierstok, melkklier, bijnieren, nieren, urineblaas, botten, endocriene pancreas en bloedsomloop. De meeste van deze verhogingen betroffen tumoren die zeldzaam zijn bij SD-ratten (incidentie < 1%).

We zagen ook een vroeg begin en vroege sterfte voor een aantal zeldzame kwaadaardige tumoren, waaronder leukemie, lever-, eierstok- en zenuwstelsel tumoren. Met name ongeveer de helft van de sterfgevallen aan leukemie in de glyfosaat- en GBH-behandelingsgroepen trad op bij een leeftijd van minder dan één jaar. Daarentegen werd geen enkel geval van leukemie waargenomen in het eerste levensjaar bij meer dan 1600 historische controles in carcinogeniteitsstudies uitgevoerd door het RI of het NTP.

Onze resultaten geven een uitgebreid en nauwkeurig overzicht van de carcinogeniciteit van glyfosaat en GBH's in SD ratten. Ze ondersteunen de conclusie van het IARC dat er "voldoende bewijs is van carcinogeniteit [van glyfosaat] bij proefdieren" [6]. Onze bevindingen komen ook overeen met het epidemiologische bewijs dat een toename laat zien van

in incidentie van meerdere maligniteiten bij mensen die zijn blootgesteld aan glyfosaat en GBH's. Onze resultaten geven aan dat, terwijl glyfosaat alleen in staat is om een aantal goedaardige en kwaadaardige tumoren te veroorzaken, GBH's co-formulanten de carcinogeniteit van glyfosaat kunnen versterken, met name in het geval van leukemie.

Tot slot benadrukken onze bevindingen het belang van het in overweging nemen van blootstellingen in de vroege ontwikkeling, van de pre- natale tijdens de organogenese tot aan de puberteit, bij uitgebreide evaluaties van de carcinogeniteit van chemische stoffen bij knaagdieren.

Afkortingen

AMPA	Aminomethylfosfonzuur ADI
	Aanvaardbare Dagelijkse Inname
CZS	Centraal Zenuwstelsel
DOHaD	Ontwikkelingsoorzaken van gezondheid en ziekte
EU	Europese Unie
GBH	Herbicide op basis van glyfosaat
GGG	Wereldwijde studie over
glyfosaat	
IARC	Internationaal Agentschap voor Kankeronderzoek
INHAND	Internationale harmonisatie van nomenclatuur en diagnostische criteria
NOAEL	Geen Waargenomen Ongewenst
Effect Niveau NTP	Nationaal Toxicologisch
Programma	
PNS	Perifeer Zenuwstelsel POEA
	Polyoxyethyleen talk amine
RI	Cesare Maltoni Centrum voor Kankeronderzoek, Ramazzini Instituut
SD	Sprague-Dawley

Aanvullende informatie

De online versie bevat aanvullend materiaal dat beschikbaar is op <https://doi.org/10.1186/s12940-025-01187-2>.

Aanvullend materiaal 1.

Erkenningen

De auteurs willen graag de nagedachtenis van Dr. Luciano Bua en zijn belangrijke bijdragen aan dit werk erkennen.

Bijdragen van auteurs

SP conceptualisatie, gegevensverzameling en formele analyse, onderzoek, visualisatie, schrijven van het oorspronkelijke werk, beoordelen en redigeren. ET gegevensverzameling en formele analyse, onderzoek, visualisatie, beoordelen en redigeren. LDA onderzoek. LF onderzoek. RG onderzoek. FG onderzoek. MI onderzoek. MM-onderzoek. Onderzoek FM. IM-onderzoek. IME-onderzoek. RM onderzoek. RN onderzoek. DS-onderzoek. VS onderzoek. FT die het werk nakijkt en bewerkt. MNA die het werk nakijkt en redigeert. JC die het werk nakijkt en bewerkt. GD die het werk nakijkt en bewerkt. SL die het werk nakijkt en b e w e r k t . AM die het werk nakijkt en bewerkt. RME die het werk beoordeeld en geredigeerd heeft. MJP die het werk nakijkt en bewerkt. AV onderzoek. PJL conceptualiseren, beoordelen en redigeren van het werk. FB conceptualisatie, beoordelen en redigeren van het werk, projectadministratie (tot 2019) en middelen voor de uitvoering van het onderzoek (tot 2019). DM conceptualisatie, onderzoek, visualisatie, schrijven van het originele werk, beoordelen en redigeren, supervisie, p r o j e c t a d m i n i s t r a t i e en middelen voor het uitvoeren van het onderzoek.

Financiering

De Global Glyphosate Study werd gesteund door het Ramazzini Instituut (Italië), de Heartland Health Research Alliance (VS), het Boston College (VS), het Institute for Preventive Health (VS), de Fondazione Carisbo (Italië), de Fondazione del Monte di Bologna e Ravenna (Italië), de Associazione Federide (Italië), de Coop Reno (Italië) en de Coopfond Fondo Mutualistico Legacoop (Italië).

Beschikbaarheid van gegevens

Er werden geen datasets gegenereerd of geanalyseerd tijdens het huidige onderzoek.

Verklaringen

Ethische goedkeuring en toestemming voor deelname

Het carcinogeniteitsonderzoek bij dieren werd ethisch goedgekeurd.

Tegenstrijdige belangen

De auteurs verklaren geen concurrerende belangen te hebben.

Details auteur

¹Cesare Maltoni Centrum voor kankeronderzoek, Ramazzini Instituut, Via Saliceto, 3, Bentivoglio, Bologna 40010, Italië. ²Groep voor genexpressie en therapie, Afdeling Medische en Moleculaire Genetica, King's College London, Faculty of Biomedical Sciences, Guy's Hospital, Londen, Verenigd Koninkrijk. ³Afdeling Milieugeneeskunde, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, NY, USA. ⁴Departement Landbouw- en Voedingwetenschappen, Alma Mater Studiorum Universiteit van Bologna, Bologna, Italië. ⁵Departement Voedselveiligheid, Voeding en Veterinaire Volksgezondheid, Italiaans Nationaal Instituut voor Gezondheid (ISS), Rome, Italië. ⁶Nationaal Comité voor Voedselveiligheid - Ministerie van Volksgezondheid, Rome, Italië. ⁷College of Public Health, George Mason University, Fairfax, VA, VS. ⁸Instituut van Landbouwbiologie en Biotechnologie (IBBA), Eenheid Pisa, Nationale Onderzoeksraad (CNR), Onderzoeksgebied Pisa, Pisa, Italië. ⁹Programma voor wereldwijde volksgezondheid en algemeen welzijn, Boston College, Boston, MA, VS. ¹⁰Wetenschappelijk Centrum van Monaco, Monaco, MC, Monaco. ¹¹Cesare Maltoni Cancer Research Center, Ramazzini Institute (gepensioneerd), Bentivoglio, Bologna, Italië.

Ontvangen: 3 april 2025 Aanvaard: 12 mei 2025

Published online: 10 June 2025

Referenties

- Schönbrunn E, Eschenburg S, Shuttleworth WA, Schloss JV, Amrhein N, Evans JN, Kabsch W. Interaction of the herbicide glyphosate with its doelenzym 5-enolpyruvylshikimaat-3-fosfaat synthase in atomair detail. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(4):1376-80.
- Rodrigues NR, de Souza APF. Voorkomen van glyfosaat- en AMPA-residuen in in Brazilië verkochte zuigelingsvoeding op sojabasis. *Food Addit Contam Part A*. 2018;35(4):724-31.
- Wang YS, Jaw CG, Chen YL. Accumulatie van 2, 4-D en glyfosaat in vis en waterhyacint. *Water Air Soil Pollut*. 1994;74:397-403.
- Alferness PL, Iwata Y. Determination of glyphosate and (aminomethyl) phosphonic acid in soil, plant and animal matrices, and water by capillary gas chromatography with mass-selective detection. *J Agric Food Chem*. 1994;42(12):2751-9.
- Navarro I, de la Torre A, Sanz P, Baldi I, Harkes P, Huerta-Lwanga E, Nørgaard T, Glavan M, Pasković I, Pasković MP. Occurrence of pesticide residues in indoor dust of farmworker households across Europe and Argentina. *Sci Total Environ*. 2023;905:167797.
- IARC. Monografieën, deel 112: Enkele organofosfaat-insecticiden en herbiciden: Tetrachloorvinfos, parathion, malathion, diazinon en glyfosaat. Lyon: IARC Working Group; 2015.
- Smith MT, Guyton KZ, Gibbons CF, Fritz JM, Portier CJ, Rusyn I, DeMarini DM, Caldwell JC, Kavlock RJ, Lambert PF. Key characteristics of carcinogens as a basis for organizing data on mechanisms of carcinogenesis. *Environ Health Perspect*. 2016;124(6):713-21.
- Rana I, Nguyen PK, Rigutto G, Louie A, Lee J, Smith MT, Zhang L. Mapping the key characteristics of carcinogens for glyphosate and its formulations: a systematic review. *Chemosphere*. 2023;339:139572.
- Manservigi F, Lesseur C, Panzacchi S, Mandrioli D, Falcioni L, Bua L, Manservigi M, Spinaci M, Galeati G, Mantovani A, et al. The Ramazzini Institute 13-week pilot study glyphosate-based herbicides administered at human-equivalent dose to Sprague Dawley rats: effects on development and endocrine system. *Environ Health*. 2019;18(1):15.
- Panzacchi S, Mandrioli D, Manservigi F, Bua L, Falcioni L, Spinaci M, Galeati G, Dinelli G, Miglio R, Mantovani A, et al. De 13 weken durende studie van het Ramazzini Instituut naar herbiciden op basis van glyfosaat bij een humaan equivalent van glyfosaat. dosis in Sprague Dawley ratten: onderzoeksopzet en eerste evaluatie van eindpunten in het leven. *Environ Health*. 2018;17(1):52.
- Connolly A, Jones K, Basinas I, Galea KS, Kenny L, McGowan P, Coggins MA. Exploring the half-life of glyphosate in human urine samples. *Int J Hyg Environ Health*. 2019;222(2):205-10.
- Faniband MH, Norén E, Littorin M, Lindh CH. Experimentele blootstelling van mensen aan glyfosaat en biomonitoring van jonge Zweedse volwassenen. *Int J Hyg Environ Health*. 2021;231:113657.
- Manservigi F, Marquillas CB, Buscaroli A, Huff J, Lauriola M, Mandrioli D, Manservigi M, Panzacchi S, Silbergeld EK, Belpoggi F. An integrated experimental design for the assessment of multiple toxicological end points in rat bioassays. *Environ Health Perspect*. 2017;125(3):289-95.
- Mesnage R, Panzacchi S, Bourne E, Mein CA, Perry MJ, Hu J, Chen J, Mandrioli D, Belpoggi F, Antoniou MN. Glyfosaat en zijn formuleringen Roundup Bioflow en RangerPro veranderen de bacteriële en schimmelsamenstelling in het caecummicrobioom van ratten. *Front Microbiol*. 2022;13:888853.
- Mesnage R, Benbrook C, Antoniou MN. Inzicht in de verwarring over oppervlakteactieve co-formulanten in herbiciden op basis van glyfosaat. *Food Chem Toxicol*. 2019;128:137-45.
- Langrand J, Blanc-Brisset I, Boucaud-Maitre D, Puskarczyk E, Nisse P, Garnier R, Pulce C. Increased severity associated with tallowamine in acute glyphosate poisoning. *Clin Toxicol (Phila)*. 2020;58(3):201-3.
- Mesnage R, Antoniou MN. Het negeren van de toxiciteit van hulpstoffen vervalst het veiligheidsprofiel van commerciële pesticiden. *Front Public Health*. 2017;5:361.
- Amreen B, Lesseur C, Jagani R, Yelamanchili S, Barrett ES, Nguyen RHN, Sathyanarayana S, Swan SH, Andra SS, Chen J. Exposure to polyoxyethylene tallow amines (POEAs), glyphosate co-formulation surfactants, in a US pregnant population and their potential endocrine disrupting effects. *Environ Pollut*. 2025;374:126205.
- Mesnage R, Ferguson S, Brandsma I, Moeliker N, Zhang G, Mazzacova F, Caldwell A, Halket J, Antoniou MN. De oppervlakteactieve co-formulant POEA in het op glyfosaat gebaseerde herbicide RangerPro maar niet glyfosaat alleen veroorzaakt necrose in Caco-2 en HepG2 menselijke cellijnen en ER-stress in de ToxTracker-test. *Food Chem Toxicol*. 2022;168:113380.
- Mesnage R, Mazzacova F, Caldwell A, Halket J, Antoniou MN. Urinary excretion of herbicide co-formulants after oral exposure to roundup MON 52276 in rats. *Environ Res*. 2021;197:111103.
- EFSA EFS, Álvarez F, Arena M, Auteri D, Binaglia M, Castoldi AF, Chiusolo A, Crivellente F, Egsmose M, Falt G, et al. Peer review van de risicobeoordeling van de werkzame stof glyfosaat als pesticide. *EFSA J*. 2023;21(7):e08164.
- Mecklenburg L, Kusewitt D, Kolly C, Treumann S, Adams ET, Diegel K, Yamate J, Kaufmann W, Müller S, Danilenko D, et al. Proliferatieve en niet-proliferatieve laesies van het integument van ratten en muizen. *J Toxicol Pathol*. 2013;26(3 Suppl):275-57s.
- Frazier KS, Seely JC, Hard GC, Betton G, Burnett R, Nakatsuji S, Nishikawa A, Durchfeld-Meyer B, Bube A. Proliferatieve en niet-proliferatieve laesies van het urinaire systeem van ratten en muizen. *Toxicol Pathol*. 2012;40(4 Suppl):14s-86s.
- Willard-Mack CL, Elmore SA, Hall WC, Harleman J, Kuper CF, Losco P, Reh JE, Rühl-Fehlert C, Ward JM, Weinstock D, et al. Non-proliferatieve en proliferatieve laesies van het hematolymfoïde systeem van ratten en muizen. *Toxicol Pathol*. 2019;47(6):665-783.
- Kaufmann W, Bolon B, Bradley A, Butt M, Czasch S, Garman RH, George C, Gröters S, Krinke G, Little P. Proliferatieve en niet-proliferatieve laesies van het centrale en perifere zenuwstelsel van ratten en muizen. *Toxicol Pathol*. 2012;40(4_suppl):87S-157S.
- Fossey S, Vahle J, Long P, Schelling S, Ernst H, Boyce RW, Jolette J, Bolon B, Bendele A, Rinke M, et al. Niet-proliferatieve en proliferatieve laesies van het skeletweefsel van ratten en muizen (botten, gewrichten en tanden). *J Toxicol Pathol*. 2016;29(3 Suppl):49s-103s.
- Thoolen B, Maronpot RR, Harada T, Nyska A, Rousseaux C, Nolte T, Malar-key DE, Kaufmann W, Küttler K, Deschl U. Proliferatieve en nonproliferatieve laesies of the rat and mouse hepatobiliary system. *Toxicol Pathol*. 2010;38(7_suppl):S5-S15.
- Brändli-Baiocco A, Balme E, Bruder M, Chandra S, Hellmann J, Hoerner-hoff MJ, Kambara T, Landes C, Lenz B, Mense M. Nonproliferatieve en proliferatieve laesies of the rat and mouse endocrine system. *J Toxicol Pathol*. 2018;31(3 Suppl):15.

29. Dixon D, Alison R, Bach U, Colman K, Foley GL, Harleman JH, Haworth R, Herbert R, Heuser A, Long G. Nonproliferatieve en proliferatieve laesies van het vrouwelijke voortplantingssysteem van ratten en muizen. *J Toxicol Pathol*. 2014;27(3-4 Suppl):15.
30. Programma NT. NTP historical controls report, all routes and vehicles, Harlan Sprague-Dawley RATS. Washington, DC: Nationaal programma voor toxicologie; 2024.
31. Gnudi F, Panzacchi S, Tibaldi E, Iuliani M, Sgargi D, Bua L, Mandrioli D. Hemolymphoreticular neoplasias from the Ramazzini Institute long-term mice and rat studies on aspartame. *Ann Glob Health*. 2023;89(1):43.
32. Soffritti M, Belpoggi F, Degli Esposti D, Lambertini L, Tibaldi E, Rigano A. First experimental demonstration of the multipotential carcinogenic effects of aspartame administered in the feed to Sprague-Dawley rats. *Environ Health Perspect*. 2006;114(3):379-85.
33. Tibaldi E, Gnudi F, Panzacchi S, Mandrioli D, Vornoli A, Manservigi M, Sgargi D, Falcioni L, Bua L, Belpoggi F. Identification of aspartame induced haematopoietic and lymphoid tumours in rats after lifetime treatment. *Acta Histochem*. 2020;122(5):151548.
34. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc*. 1958;53(282):457-81.
35. Tarone RE. Tests voor trend in levensanalyse. *Biometrika*. 1975;62(3):679-90.
36. Bailer AJ, Portier CJ. Effecten van behandelingsgeïnduceerde mortaliteit en tumorgeïnduceerde mortaliteit op tests voor carcinogeniteit in kleine steekproeven. *Biometrie*. 1988;44:417-31.
37. Piegorsch W, Bailer A. Statistiek voor milieubiologie en toxicologie, paragraaf 6.3. 2. London: Chapman and Hall; 1997.
38. Portier CJ, Hedges JC, Hoel DG. Age-specific models of mortality and tumor onset for historical control animals in the national toxicology program's carcinogenicity experiments. *Cancer Res*. 1986;46(9):4372-8.
39. Portier CJ, Bailer AJ. Testen op verhoogde carcinogeniteit met behulp van een voor overleving gecorrigeerde quantalresponstest. *Fundam Appl Toxicol*. 1989;12(4):731-7.
40. Taylor I, Mowat V. Vergelijking van levensduur en gemeenschappelijke tumorprofielen tussen Sprague-Dawley en Han Wistar ratten. *J Toxicol Pathol*. 2020;33(3):189-96.
41. Sengupta P. De laboratoriumrat: een vergelijking tussen zijn leeftijd en die van de mens. *Int J Prev Med*. 2013;4(6):624-30.
42. Portier CJ. A comprehensive analysis of the animal carcinogenicity data for glyphosate from chronic exposure rodent carcinogenicity studies. *Environ Health*. 2020;19(1):1-17.
43. George J, Prasad S, Mahmood Z, Shukla Y. Onderzoek naar door glyfoosaat geïnduceerde carcinogeniteit in de huid van muizen: een proteomische benadering. *J Proteomics*. 2010;73(5):951-64.
44. Connolly A, Coggins MA, Galea KS, Jones K, Kenny L, McGowan P, Basinas I. Evaluating glyphosate exposure routes and their contribution to total body burden: a study among amenity horticulturalists. *Ann Work Expo Health*. 2019;63(2):133-47.
45. Fortes C, Mastroeni S, Segatto MM, Hohmann C, Miligi L, Bakos L, Bonamico R. Occupational exposure to pesticides with occupational sun exposure increases the risk for cutaneous melanoma. *J Occup Environ Med*. 2016;58(4):370-5.
46. Stout L, Ruecker F. Chronic study of glyphosate administered in feed to albino rats. Ongepubliceerde studie, Project No MSL-10495 Monsanto Agricultural Company (2.175 pp) EPA MRID 1990:416438-416401. <https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/103601/103601-263.pdf>.
47. Mesnage R, Ibragim M, Mandrioli D, Falcioni L, Tibaldi E, Belpoggi F, Brandsma I, Bourne E, Savage E, Mein CA, et al. Comparative toxicogenomics of glyphosate and roundup herbicides by mammalian stem cell-based genotoxicity assays and molecular profiling in Sprague-Dawley rats. *Toxicol Sci*. 2022;186(1):83-101.
48. Milić M, Žunec S, Micek V, Kašuba V, Mikolić A, Lovaković BT, Semren T, Pavičić I, Čermak AMM, Pizent A, et al. Oxidatieve stress, cholinesteraseactiviteit en DNA-schade in de lever, het volbloed en het plasma van Wistar-ratten na 28 dagen blootstelling aan glyfoosaat. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2018;69(2):154-68.
49. El-Shenawy NS. Oxidatieve stressresponsen van ratten blootgesteld aan Roundup en het actieve ingrediënt glyfoosaat. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2009;28(3):379-85.
50. Wang Y, Charkoftaki G, Orlicky DJ, Davidson E, Aalizadeh R, Sun N, Ginsberg G, Thompson DC, Vasilou V, Chen Y. CYP2E1 in 1,4-dioxaan metabolisme en levertoxiciteit: inzichten uit CYP2E1 knock-out muizen studie. *Arch Toxicol*. 2024;98(10):3241-57.
51. Chang VC, Andreotti G, Ospina M, Parks CG, Liu D, Shearer JJ, Rothman N, Silverman DT, Sandler DP, Calafat AM, et al. Glyphosate exposure and urinary oxidative stress biomarkers in the agricultural health study. *J Natl Cancer Inst*. 2023;115(4):394-404.
52. Eskenazi B, Gunier RB, Rauch S, Kogut K, Perito ER, Mendez X, Limbach C, Holland N, Bradman A, Harley KG, et al. Association of lifetime exposure to glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid (AMPA) with liver inflammation and metabolic syndrome at young adult-hood: findings from the CHAMACOS study. *Environ Health Perspect*. 2023;131(3):37001.
53. Vasseur C, Serra L, El Balkhi S, Lefort G, Ramé C, Froment P, Dupont J. Glyphosate presence in human sperm: first report and positive correlation with oxidative stress in an infertile French population. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2024;278: 116410.
54. Kass L, Gomez AL, Altamirano GA. Relationship between agrochemical compounds and mammary gland development and breast cancer. *Mol Cell Endocrinol*. 2020;508:110789.
55. OESO. Test nr. 407: toxiciteitsonderzoek bij knaagdieren bij herhaalde toediening gedurende 28 dagen bij orale toediening. 2008.
56. Altamirano GA, Delconte MB, Gomez AL, Ingaramo PI, Bosquiazio VL, Luque EH, Muñoz-de-Toro M, Kass L. Postnatale blootstelling aan een herbicide op basis van glyfoosaat wijzigt de groei van de borstklieren en de gevolgen daarvan voor de gezondheid. *Food Chem Toxicol*. 2018;118:111-8.
57. Gomez AL, Altamirano GA, Tschopp MV, Bosquiazio VL, Muñoz-de-Toro M, Kass L. Exposure to a glyphosate-based herbicide alter the expression of key regulators of mammary gland development on pre-pubertal male rat. *Toxicology*. 2020;439:152477.
58. Hard GC, Seely JC, Betz LJ. A survey of mesenchyme-related tumors of the rat kidney in the national toxicology program archives, with particular reference to renal mesenchymal tumor. *Toxicol Pathol*. 2016;44(6):848-55.
59. Andreotti G, Koutros S, Hofmann JN, Sandler DP, Lubin JH, Lynch CF, Lerro CC, De Roos AJ, Parks CG, Alavanja MC. Glyphosate use and cancer incidence in the agricultural health study. *J Natl Cancer Inst*. 2018;110(5):509-16.
60. Chandra M, Riley MG, Johnson DE. Incidence and pathology of spontaneous renal pelvis transitional cell carcinomas in rats. *Toxicol Pathol*. 1991;19(3):287-9.
61. Glickman LT, Raghavan M, Knapp DW, Bonney PL, Dawson MH. Herbicide exposure and the risk of transitional cell carcinoma of the urinary bladder in Scottish Terriers. *J Am Vet Med Assoc*. 2004;224(8):1290-7.
62. Pandey A, Rudraiah M. Analyse van het hormoonverstorende effect van Roundup® in de bijen van mannelijke ratten. *Toxicol Rep*. 2015;2:1075-85.
63. Owagboriaye F, Dedek G, Ademolu K, Olujimi O, Aladesida A, Adeleke M. Vergelijkende studies naar endogene stresshormonen, antioxidant, biochemische en hematologische status van metabole verstoring bij albinoratten blootgesteld aan roundup herbicide en zijn actieve ingrediënt glyfoosaat. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2019;26(14):14502-12.
64. Deziel NC, Warren JL, Huang H, Zhou H, Sjodin A, Zhang Y. Exposure to polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides and thyroid cancer in connecticut women. *Environ Res*. 2021;192:110333.
65. Norouzi F, Alizadeh I, Faraji M. Human exposure to pesticides and thyroid cancer: a worldwide systematic review of the literatures. *Thyroid Res*. 2023;16(1):13.
66. Omidakhsh N, Heck JE, Cockburn M, Ling C, Hershman JM, Harari A. Schildklierkanker en pesticidengebruik in een agrarisch gebied in centraal Californië: een case-controlstudie. *J Clin Endocrinol Metab*. 2022;107(9):e3574-82.
67. Agentschap USEP. Tweede intercollegiale toetsing van glyfoosaat. Washington (DC): Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency; 1991. Beschikbaar op: <http://www.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/cleared-reviews/reviews/103601/103601-265.pdf>.
68. Costas-Ferreira C, Durán R, Faro LRF. Toxische effecten van glyfoosaat op het zenuwstelsel: een systematisch overzicht. *Int J Mol Sci*. 2022;23(9):4605.
69. Feulefack J, Khan A, Forastiere F, Sergi CM. Ouderlijke blootstelling aan pesticiden en hersenkanker bij kinderen: een systematische review en meta-analyse

- bevestiging van de IARC/WHO monografieën over sommige organofosfaat insecticiden en herbiciden. Kinderen (Bazel). 2021;8(12):1096.
70. Taiba J, Beseler C, Zahid M, Bartelt-Hunt S, Kolok A, Rogan E. Exploring the joint association between agricultural mixtures and pediatric cancer. *Geohealth*. 2025;9(2):e2024GH001236.
71. Centrum ICE. Collectieve deskundigenrapporten INSERM. In: Effecten van pesticiden op de gezondheid: nieuwe gegevens. Montrouge (FR) bepalingen van het Inserm Expertise Charter.; EDP Sciences Copyright © 2022.; EDP Sciences.; 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35759550/>
72. Cattani D, Struyf N, Steffensen V, Bergquist J, Zamonir A, Brittebo E, Andersson M. Perinatale blootstelling aan een herbicide op basis van glyfosaat veroorzaakt ontregeling van dynorfinen en een toename van neurale voorlopercellen in de hersenen van volwassen mannelijke ratten. *Toxicology*. 2021;461:152922.
73. Ojio R, Ozawa S, Zou X, Tang Q, Woo GH, Shibutani M. Similar toxicity potential of glyphosate and glyphosate-based herbicide on cerebellar development after maternal exposure in rats. *Environ Toxicol*. 2024;39(5):3040-54.
74. Santos JR, Mendes MC, Dallabrida KG, Gonçalves R, Sampaio TB. Pesticide exposure and the development of Parkinson disease: a systematic review of Brazilian studies. *Cad Saude Publica*. 2025;41(4):e00011424.
75. National Toxicology Program. NTP toxicology and carcinogenesis studies of sodium fluoride (CAS No. 7681-49-4) in F344/N Rats and B6C3F1 mice (drinking water studies). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser*. 1990;393:1-448. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12637966/>.
76. 15e verslag over carcinogenen. *Rep Carcinog*. 2021;15. <https://ntp.niehs.nih.gov/research/assessments/cancer/roc>.
77. IARC. Ioniserende straling, deel I, X- en gammastraling (γ) en neutronen. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2000;75 Pt 1(Pt 1):1-448. <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-De-identificatie-van-kankerverwekkende-gevaaren-voor-de-mens/ionizing-Radiation-Part-1-X-And-Gamma-%CE%83-Radiation-And-Neutrons-2000>.
78. Brewster DW, Warren J, Hopkins WE 2nd. Metabolism of glyphosate in Sprague-Dawley rats: tissue distribution, identification, and quantitation of glyphosate-derived materials following a single oral dose. *Fundam Appl Toxicol*. 1991;17(1):43-51.
79. Díaz-Martín RD, Carvajal-Peraza A, Yáñez-Rivera B, Betancourt-Lozano M. Korte blootstelling aan glyfosaat induceert locomotorische, craniofaciale en botafwijkingen in zebravisembryo's (Danio rerio). *Environ Toxicol Pharmacol*. 2021;87:103700.
80. Hamdaoui L, Oudadesse H, Lefevre B, Mahmoud A, Naïfer M, Badraoui R, Ayadi F, Rebai T. Subchronische blootstelling aan Kalach 360 SL, een herbicide op basis van glyfosaat, induceerde botverzakking bij vrouwelijke Wistar ratten. *Toxicology*. 2020;436:152412.
81. Het Consortium voor het milieu van kinderen H, Wirth DA, Cropper M, Axelrad DA, Bald C, Bhatnagar A, Birnbaum LS, Burke TA, Chiles TC, Geiser K, et al. Manufactured chemicals and children's health - the need for new law. *N Engl J Med*. 2025;392(3):299-305.
82. Karalexi MA, Tagkas CF, Markozannes G, Tseretopoulou X, Hernández AF, Schüz J, Halldórsson TI, Psaltopoulou T, Petridou ET, Tzoulaki I, et al. Exposure to pesticides and childhood leukemia risk: a systematic review and meta-analysis. *Environ Pollut*. 2021;285:117376.
83. Pelkonen O, Terron A, Hernandez AF, Menendez P, Bennekou SH, Angeli K, Fritsche E, Leist M, Mantovani A, Price A, et al. Chemical exposure and infant leukaemia: development of an adverse outcome pathway (AOP) voor onderzoek naar etiologie en risicobeoordeling. *Arch Toxicol*. 2017;91(8):2763-80.
84. Zhang L, Rana I, Shaffer RM, Taioli E, Sheppard L. Exposure to glyphosate-based herbicides and risk for non-Hodgkin lymphoma: a meta-analysis and supporting evidence. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2019;781:186-206.
85. Skidmore ME, Sims KM, Gibbs HK. Agricultural intensification and childhood cancer in Brazil. *Proc Natl Acad Sci*. 2023;120(45):e2306003120.
86. Hardell L, Carlberg M, Nordström M, Eriksson M. Exposure to phenoxy-acetic acids and glyphosate as risk factors for non-Hodgkin lymphoma- pooled analysis of three Swedish case-control studies including the sub-type hairy cell leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2023;64(5):997-1004.
87. Malagoli C, Costanzini S, Heck JE, Malavolti M, De Girolamo G, Oleari P, Palazzi G, Teggi S, Vinceti M. Passive exposure to agricultural pesticides and risk of childhood leukemia in an Italian community. *Int J Hyg Environ Health*. 2016;219(8):742-8.
88. Untalan M, Ivic-Pavlicic T, Taioli E. Urinary glyphosate levels and association with mortality in the 2013-16 National Health and Nutrition Examination Survey. *Carcinogenesis*. 2023;45(3):163-9.
89. Benbrook CM. Hypothesis: glyphosate-based herbicides can increase risk of hematopoietic malignancies through extended persistence in bone. *Environ Sci Eur*. 2025;37(1):18.
90. Chang Vicky C, Zhou W, Berndt Sonja I, Andreotti G, Yeager M, Parks Christine G, Sandler Dale P, Rothman N, Beane Freeman Laura E, Machiela Mitchell J, et al. Glyphosate use and mosaic loss of chromosome Y among male farmers in the agricultural health study. *Environ Health Perspect*. 2023;131(12):127006.
91. Lankas G. Een levenslange studie van glyfosaat bij ratten. In: Report. 1981.
92. Astiz M, de Alaniz MJ, Marra CA. Effect of pesticides on cell survival in liver and brain rat weefsels. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2009;72(7):2025-32.
93. Nagy K, Duca RC, Lovas S, Creta M, Scheepers PTJ, Godderis L, Ádám B. Systematic review of comparative studies assessing the toxicity of pesticide active ingredients and their product formulations. *Environ Res*. 2020 Feb;181:108926. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108926>. Epub 2019 Nov 20. PMID: 31791711
94. Lesseur C, Pirrotte P, Pathak KV, Manservigi F, Mandrioli D, Belpoggi F, Panzacchi S, Li Q, Barrett ES, Nguyen RHN, et al. Maternal urinary levels of glyphosate during pregnancy and anogenital distance in newborns in a US multicenter pregnancy cohort. *Environ Pollut*. 2021;280:117002.
95. Kaboli Kafshgiri S, Farkhondeh T, Miri-Moghaddam E. Glyphosate effects on the female reproductive systems: a systematic review. *Rev Environ Health*. 2022;37(4):487-500.
96. Ganesan S, Keating AF. Ovarian mitochondrial and oxidative stress proteins are altered by glyphosate exposure in mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2020;402:115116.
97. Perego MC, Caloni F, Cortinovis C, Schutz LF, Albonico M, Tsukubashi D, Spicer LJ. Influence of a Roundup formulation on glyphosate effects on steroidogenesis and proliferation of bovine granulosa cells in vitro. *Chemosphere*. 2017;188:274-9.
98. Tizhe E, Ibrahim N, Fatihu M, Ambali S, Igboke I, Tizhe U. Pancreatic function and histoarchitecture in Wistar rats following chronic exposure to Bushfire*: the mitigating role of zinc. *J Int Med Res*. 2018;46(8):3296-305.
99. Maltoni C, Lefemine G, Ciliberti A, Cotti G, Carretti D. Carcinogenicity bioassays of vinyl chloride monomer: a model of risk assessment on an experimental basis. *Environ Health Perspect*. 1981;41:3-29.
100. Onderzoek naar toxicologie en carcinogenese van perfluorocetanzuur toegediend in voer aan Sprague Dawley (Hsd:Sprague Dawley SD) ratten (herzien). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser*. 2020;(598). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560147/>.
101. Heindel JJ, Balbus J, Birnbaum L, Brune-Drise MN, Grandjean P, Gray K, Landrigan PJ, Sly PD, Suk W, Cory Slechta D, et al. Developmental origins of health and disease: integrating environmental influences. *Endocrinology*. 2015;156(10):3416-21.

Noot van de uitgever

Springer Nature blijft neutraal met betrekking tot juridische claims in gepubliceerde kaarten en institutionele affiliaties.