

UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTÉS DE MÉDECINE

ANNÉE 2019

2019 TOU3 1610

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
MÉDECINE SPÉCIALISÉE CLINIQUE

Présentée et soutenue publiquement

par

Marie CADET
le 10 Octobre 2019

**Exposition professionnelle aux Inhibiteurs de la Succinate Déshydrogénase
(toxicité aigüe et chronique) :**

Une revue systématique de la littérature

Directeur de thèse : Dr Fabrice HERIN

JURY

Monsieur le Professeur Jean-Marc SOULAT
Madame le Professeur le Professeur Isabelle BALDI
Monsieur le Docteur Fabrice HERIN
Madame le Docteur Yolande ESQUIROL
Madame le Docteur Camille CARLES
Monsieur le Professeur Michel DRUET-CABANAC
Madame la Toxicologue Laurence HUC

Président
Suppléant
Assesseur
Assesseur
Assesseur
Invité
Invitée



TABLEAU du PERSONNEL HU
des Facultés de Médecine de l'Université Paul Sabatier Toulouse III
au 1^{er} septembre 2018

Professeurs Honoraires

Doyen Honoraire	M. CHAP Hugues	Professeur Honoraire	M. FREXINOS Jacques
Doyen Honoraire	M. GURAUD-CHAUMEL Bernard	Professeur Honoraire	Mme GENESTAL Michèle
Doyen Honoraire	M. LAZORTHES Yves	Professeur Honoraire	M. GÉRAUD Gilles
Doyen Honoraire	M. PUEL Pierre	Professeur Honoraire	M. GRESLOU Jacques
Doyen Honoraire	M. ROUGE Daniel	Professeur Honoraire	M. GOUS Jean-Louis
Doyen Honoraire	M. VINEL Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. GURAUD-CHAUMEL Bernard
Professeur Honoraire	M. ABIAL Michel	Professeur Honoraire	M. HOFF Jean
Professeur Honoraire	M. ADER Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. JOFFRE Patrick
Professeur Honoraire	M. ALBAREDE Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. LACOMME Yves
Professeur Honoraire	M. ARBUS Louis	Professeur Honoraire	M. LAGARRIGUE Jacques
Professeur Honoraire	M. ARLET Jacques	Professeur Honoraire	Mme LARING Marie-Blanche
Professeur Honoraire	M. ARLET Philippe	Professeur Honoraire	M. LARING Louis
Professeur Honoraire	M. ARLET-SUAU Elisabeth	Professeur Honoraire	M. LAURENT Guy
Professeur Honoraire	M. ARNE Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. LAZORTHES Patrick
Professeur Honoraire	M. BARRET André	Professeur Honoraire	M. LAZORTHES Yves
Professeur Honoraire	M. BARTHE Philippe	Professeur Honoraire	M. LÉOPHONTE Paul
Professeur Honoraire	M. BAYARD Patrick	Professeur Honoraire	M. MAGNAVAL Jean-François
Professeur Honoraire	M. BOCCALON Henri	Professeur Honoraire	M. MANELTE Claude
Professeur Honoraire	M. BONAFÉ Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. MANSIAT Michel
Professeur Honoraire	M. BONEU Bernard	Professeur Honoraire	M. MASSIP Patrick
Professeur Honoraire	M. BOUNHOURÉ Jean-Paul	Professeur Honoraire	Mme MARTY Nicole
Professeur Honoraire	M. BOUTAULT Patrick	Professeur Honoraire	M. MAZIERES Bernard
Professeur Honoraire	M. BUGAT Roland	Professeur Honoraire	M. MONROZIES Xavier
Professeur Honoraire	M. CAHUZAC Jean-Philippe	Professeur Honoraire	M. MOSCONICI Jacques
Professeur Honoraire	M. CARATERO Claude	Professeur Honoraire	M. MURAT
Professeur Honoraire	M. CARLES Pierre	Professeur Honoraire	M. OLIVÉ Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CARRIÈRE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. PAGES B.
Professeur Honoraire	M. CARTON Michel	Professeur Honoraire	M. PASCAL Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CATHALA Bernard	Professeur Honoraire	M. PESSIER Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. CHABANON Gérard	Professeur Honoraire	M. PLANTE Pierre
Professeur Honoraire	M. CHAMONTIN Bernard	Professeur Honoraire	M. PONTONNIER Georges
Professeur Honoraire	M. CHAP Hugues	Professeur Honoraire	M. POURRAT Jacques
Professeur Honoraire	M. CHAVOIN Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. PRADERE Bernard
Professeur Honoraire	M. CLANET Michel	Professeur Honoraire	M. PRIÉ Jacques
Professeur Honoraire	M. CONTE Jean	Professeur Honoraire	Mme PUEL Jacqueline
Professeur Honoraire	M. COSTAGUOLA Michel	Professeur Honoraire	M. PUEL Pierre
Professeur Honoraire	M. COTONAT Jean	Professeur Honoraire	M. PUJOL Michel
Professeur Honoraire	M. DABERNAT Henri	Professeur Honoraire	M. QUERLEU Daniel
Professeur Honoraire	M. DALOUS Antoine	Professeur Honoraire	M. RABHAC Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. DALY-SCHWEITZER Nicolas	Professeur Honoraire	M. REGIS Henri
Professeur Honoraire	M. DAVID Jean-Frédéric	Professeur Honoraire	M. REIGNER Claude
Professeur Honoraire	M. DELSOL Georges	Professeur Honoraire	M. REMÉ Jean-Michel
Professeur Honoraire	Mme DELSLE Marie-Bernadette	Professeur Honoraire	M. ROCHE Henri
Professeur Honoraire	Mme DIDIER Jacqueline	Professeur Honoraire	M. ROCHICCIOLI Pierre
Professeur Honoraire	M. DUCCO Jean	Professeur Honoraire	M. ROLLAND Michel
Professeur Honoraire	M. DURFAUT Michel	Professeur Honoraire	M. ROUS-LATRILLE Christian
Professeur Honoraire	M. DUPRE M.	Professeur Honoraire	M. RUMEAU Jean-Louis
Professeur Honoraire	M. DURAND Dominique	Professeur Honoraire	M. SALVADOR Michel
Professeur Honoraire	M. DUTAU Guy	Professeur Honoraire	M. SALVAYRE Robert
Professeur Honoraire	M. ESCANDE Michel	Professeur Honoraire	M. SARRAMON Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. ESCHAPASSE Henri	Professeur Honoraire	M. SIMON Jacques
Professeur Honoraire	M. ESCOURROU Jean	Professeur Honoraire	M. SUC Jean-Michel
Professeur Honoraire	M. ESQUERRE J.P.	Professeur Honoraire	M. THOUVENOT Jean-Paul
Professeur Honoraire	M. FASSÉ Michel	Professeur Honoraire	M. TRACZUK Jean
Professeur Honoraire	M. FASSÉ Jean	Professeur Honoraire	M. TREMOULET Michel
Professeur Honoraire	M. FAUVEL Jean-Marc	Professeur Honoraire	M. VALDIGUE Pierre
Professeur Honoraire	M. FOURNIAL Gérard	Professeur Honoraire	M. VAYSSÉ Philippe
Professeur Honoraire	M. FOURNIE Bernard	Professeur Honoraire	M. VIRENGUE Christian
Professeur Honoraire	M. FOURTANIER Gilles	Professeur Honoraire	M. VOIGT Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. FRAYSSE Bernard		

Professeurs Émérites

Professeur ADER Jean-Louis
Professeur ALBAREDE Jean-Louis
Professeur ARBUS Louis
Professeur ARLET-SUAU Elisabeth
Professeur BOCCALON Henri
Professeur BONEU Bernard
Professeur CARATERO Claude
Professeur CHAMONTIN Bernard
Professeur CHAP Hugues
Professeur CONTE Jean
Professeur COSTAGUOLA Michel
Professeur DABERNAT Henri
Professeur FRAYSSE Bernard
Professeur DELSLE Marie-Bernadette
Professeur GURAUD-CHAUMEL Bernard
Professeur JOFFRE Patrick

Professeur LARING Louis
Professeur LAGARRIGUE Jacques
Professeur LARING Louis
Professeur LAURENT Guy
Professeur LAZORTHES Yves
Professeur MAGNAVAL Jean-François
Professeur MANELTE Claude
Professeur MASSIP Patrick
Professeur MAZIERES Bernard
Professeur MOSCONICI Jacques
Professeur MURAT
Professeur ROUS-LATRILLE Christian
Professeur SALVAYRE Robert
Professeur SARRAMON Jean-Pierre
Professeur SIMON Jacques

Doyen : D. CARRIE

4

FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-RANGUEIL

133, route de Narbonne - 31062 TOULOUSE Cedex

Doyen : E. SERRANO

P.U. - P.H. Classe Exceptionnelle et 1 ^{ère} classe		P.U. - P.H. 2 ^{ème} classe	
M. ACAR Philippe	Pédiatrie	M. ARBUS Christophe	Psychiatrie
M. ACCADDELO Patrick	Chirurgie Infantile	M. AUSSEL Jérôme	Biochimie et biologie moléculaire
M. ALRIO Laurent (C.E)	Médecine Interne	M. BERRY Antoine	Parasitologie
Mme ANDRIEU Sandrine	Epidémiologie	M. BONNEVILLE Fabrice	Radiologie
M. ARNAL Jean-François	Physiologie	M. BOUNES Vincent	Médecine d'urgence
Mme BERRY Isabelle (C.E)	Biophysique	Mme BOURNET Barbara	Gastro-entérologie
M. BUJAN Louis (C. E)	Urologie-Andrologie	M. CHAPUT Benoît	Chirurgie plastique et des brûlés
Mme BURA-RIVIERE Alexandre	Médecine Vasculaire	M. CHAYNES Patrick	Anatomie
M. BUSCAIL Louis (C.E)	Hépatogastro-entérologie	Mme DALENO Florence	Cancérologie
M. CANTAGREL Alain (C.E)	Rhumatologie	M. DECRAMER Stéphane	Pédiatrie
M. CARON Philippe (C.E)	Endocrinologie	M. DELOBEL Pierre	Maladies infectieuses
M. CHAUFOUR Xavier	Chirurgie Vasculaire	M. FAGUER Stanislas	Néphrologie
M. CHIRON Philippe (C.E)	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie	M. FRANCHITTO Nicolas	Addictologie
M. CONSTANTIN Amaud	Rhumatologie	M. GARRIDO-STONHAS Ignacio	Chirurgie Plastique
M. COURBON Frédéric	Biophysique	M. GATMEL Nicolas	Médecine de la reproduction
Mme COURTADE SAÏD Monique	Histologie Embryologie	Mme GOMEZ-BROUCHET Anne-Muriel	Anatomie Pathologique
M. DAMBRIN Camille	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire	M. HUYGHE Eric	Urologie
M. DELASSEGE Eric	Hématologie	Mme LAPRIE Anna	Radiothérapie
M. DELORD Jean-Pierre	Cancérologie	M. LAURENT Camille	Anatomie Pathologique
M. DIDIER Alain (C.E)	Pneumologie	M. MARCHEDI Bertrand	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
Mme DULY-BOUHANICK Stéphanie	Thérapeutique	M. MAURY Jean-Philippe	Cardiologie
M. ELBAZ Meyer	Cardiologie	M. MEYER Nicolas	Dermatologie
M. GALINIER Michel (C.E)	Cardiologie	M. MUSCARI Fabrice	Chirurgie Digestive
M. GLOCK Yves (C.E)	Chirurgie Cardio-Vasculaire	M. REINA Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologique
M. GOURDY Pierre	Endocrinologie	M. SILVA SIFONTES Stein	Réanimation
M. GRAND Alain (C.E)	Radiobiologie, Ess. de la Santé et Prévention	M. SOLER Vincent	Ophthalmologie
M. GROLLEAU RAOUX Jean-Louis	Chirurgie plastique	Mme SOMMET Agnès	Pharmacologie
Mme GUMBARD Roxane	Cancérologie	Mme SOTO-MARTIN Maria-Eugenia	Gériatrie et biologie du vieillissement
Mme HANAIRE Hélène (C.E)	Endocrinologie	M. TACK Ivan	Physiologie
M. KAMAR Nassim	Néphrologie	M. VERGEZ Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
M. LARRUE Vincent	Neurologie	M. VESDAERT Loïc	Hématologie
M. LAUWERIS Frédéric	Anatomie		
M. LEVADE Thierry (C.E)	Biochimie		
M. MALLICET François (C.E)	Ophthalmologie	P.U. Médecine générale	
M. MARQUE Philippe	Médecine Physique et Réadaptation	Mme ROUGE-BUGAT Marie-Eve	
Mme MAZERESSE Juliette	Dermatologie		
M. MINVILLE Vincent	Anesthésiologie Réanimation	Professeur Associé de Médecine Générale	
M. OTAL Philippe	Radiologie	M. BOYER Pierre	
M. RAYNAUD Jean-Philippe (C.E)	Psychiatrie Infantile	M. STILLMUNKES André	
M. RYZ Patrick	Nutrition		
M. ROLLAND Yves (C.E)	Gériatrie	Professeur Associé en Pédiatrie	
M. ROUGE Daniel (C.E)	Médecine Légale	Mme CLAUDET Isabelle	
M. ROUSSEAU Hervé (C.E)	Radiologie		
M. ROUX François-Emmanuel	Neurochirurgie		
M. SAILLER Laurent	Médecine Interne		
M. SCHMITT Laurent (C.E)	Psychiatrie		
M. SENARD Jean-Michel (C.E)	Pharmacologie		
M. SERRANO Elix (C.E)	Oto-rhino-laryngologie		
M. SOULAT Jean-Marc	Médecine du Travail		
M. SOULIE Michel (C.E)	Urologie		
M. SUC Bertrand	Chirurgie Digestive		
Mme TAUBER Marie-Thérèse (C.E)	Pédiatrie		
Mme URO-COSTE Emmanuelle	Anatomie Pathologique		
M. VAYSSIERE Christophe	Gynécologie Obstétrique		
M. VELLAS Bruno (C.E)	Gériatrie		

M.C.U. - P.H.

M. ABBO Olivier	Chirurgie infantile
M. APOIL Poi Andre	Immunologie
Mme ARNAUD Catherine	Epidémiologie
Mme BERTOLI Sarah	Hématologie, transfusion
M. BETH Eric	Généraliste
Mme CASPAR BRUGUIE Sylvie	Nutrition
Mme CASSAGNE Myriam	Cardiologie
Mme CASSANG Sophie	Pneumologie
M. CAVAGNAC Etienne	Chirurgie orthopédique et traumatologie
Mme CHANTRELAT Elodie	Anatomie
M. CONGY Nicolas	Immunologie
Mme COURBON Christine	Pharmacologie
Mme DAMADE Christine	Pharmacologie
Mme de GLEZENSKY Isabelle	Physiologie
Mme DE MAS Valérie	Hématologie
M. DUBOS Damien	Bactériologie-Virologie-Hygiène
Mme FILLAUX Judith	Pneumologie
M. GANTET Pierre	Biophysique
Mme GERBERO Isabelle	Biochimie
Mme GENOUX Annelise	Biochimie et biologie moléculaire
M. HAMDI Safouane	Biochimie
Mme HETZEL Anne	Biophysique
M. HUART Xavier	Pneumologie et mycologie
Mme JONCA Nathalie	Biologie cellulaire
M. KROIN Sylvain	Chirurgie générale
Mme LAPEYRE-MESTRE Maryse	Pharmacologie
M. LHERMUSIER Thibaut	Cardiologie
M. LHOUME Sébastien	Bactériologie-virologie
Mme MONTASTIER Emile	Nutrition
Mme MOREAU Marion	Physiologie
Mme NOGUEIRA M.L	Biologie Cellulaire
M. PILLARD Fabien	Physiologie
Mme PUSSANT Bénédicte	Immunologie
Mme RAYMOND Stéphanie	Bactériologie-Virologie-Hygiène
Mme SABCOURDY Frédérique	Biochimie
Mme SALINE Nadine	Bactériologie-Virologie
M. TAFANI Jean-André	Biophysique
M. TREINER Emmanuel	Immunologie
Mme VAYSE Charlotte	Cancérologie
M. VIDAL Fabien	Gynécologie-obstétrique
M.C.U. Médecine générale	
M. BRILLAC Thierry	
Mme DUPOUY Julie	

M.C.U. - P.H.

Mme ASRAVANEL Florence	Bactériologie-Virologie-Hygiène
Mme BASSET Céline	Cytologie et histologie
Mme CAMARE Caroline	Biochimie et biologie moléculaire
M. CAMBUS Jean-Pierre	Hématologie
Mme CANTERO Anne-Valérie	Biochimie
Mme CARFAGNA Luana	Pédiatrie
Mme CASSOL Emmanuelle	Biophysique
Mme CAUSSE Elizabeth	Biochimie
M. CHASSAING Nicolas	Généraliste
M. CLAVEL Cyril	Biologie Cellulaire
Mme COLOMBAT Magali	Anatomie et cytologie pathologiques
Mme CORRE JE	Hématologie
M. DE BONDOAZE Guillaume	Anatomie
M. DEDOUT Fabrice	Médecine Légale
M. DELPLA Pierre-André	Médecine Légale
M. DESPAS Fabien	Pharmacologie
M. EDOUARD Thomas	Pédiatrie
Mme ESCOURROL Yolande	Médecine du travail
Mme EVRARD Solène	Histologie, embryologie et cytologie
Mme GALINIER Anne	Nutrition
Mme GALLINI Adeline	Epidémiologie
Mme GARDETTE Virginie	Epidémiologie
M. GASSO David	Physiologie
M. GATTEL Nicolas	Médecine de la reproduction
Mme GRACE Marion	Bactériologie-Virologie-Hygiène
Mme GUILBEAU-FRUGIER Céline	Anatomie-Pathologique
M. GUILLEMINAULT Laurent	Pneumologie
Mme GUYONNET Sophie	Nutrition
M. HERIN Fabrice	Médecine et santé au travail
Mme INGUENEAU Cécile	Biochimie
M. LEANDRE Roger	Biologie du développement et de la reproduction
M. LEPAGE Benoit	Biochimie et informatique médicale
Mme MAURAS SCHWALM Françoise	Biochimie
M. MEUSSET Roger	Biologie du développement et de la reproduction
M. MOULIS Guillaume	Médecine interne
Mme NAOR Nathalie	Neurologie
M. RIMAILHO Jacques	Anatomie et Chirurgie Générale
M. RONDRES Michel	Anatomie - Chirurgie orthopédique
Mme VALLET Marion	Physiologie
M. VERGEE Françoise	Hématologie
M.C.U. Médecine générale	
M. BISMUTH Michel	
Mme ESCOURROU Brigitte	

Maitres de Conférences Associés de Médecine Générale

Dr BIRESENT Jordan
Dr BOURGEOIS Odile
Dr CHICOLAA Bruno

Dr FREYENG Anne
Dr IN-DELAHAYE Makiya
Dr LATROUS Laila

REMERCIEMENTS

À notre président de jury,

Monsieur le Professeur Jean-Marc SOULAT, Professeur des Universités de Médecine

Du travail de Toulouse,

Vous nous avez fait l'honneur de présider ce jury. Nous vous remercions pour votre dévouement et votre implication dans la formation des internes de Médecine du Travail de Toulouse. Soyez assuré de notre plus profond respect.

À nos maîtres et juges,

Madame le Professeur Isabelle BALDI, Professeur de l'Universités de Médecine du Travail de Bordeaux,

Monsieur le Professeur Michel DRUET-CABANAC, Professeur de l'Université de Médecine du Travail de Limoges,

Madame le Docteur Camille CARLES, PH dans le service de Pathologies Professionnelles au CHU de Bordeaux

Madame le Docteur Yolande ESQUIROL, Maître de Conférences Universitaires et PH dans le service de pathologies professionnelles au CHU de Toulouse

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de siéger à ce jury. Nous vous remercions pour l'enseignement dont vous nous avez fait bénéficier durant notre cursus de Médecine du Travail.

Monsieur le Docteur Fabrice HERIN Maître de Conférences Universitaires et PH dans le service de pathologies professionnelles au CHU de Toulouse

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de siéger à ce jury. Nous vous remercions pour votre proposition du sujet de cette thèse sans qui rien n'aurait pu voir le jour. Merci pour l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail. Soyez assurée de notre sincère considération.

REMERCIEMENTS PERSONNELS

Mesdames Laurence HUC et Elisa BOUTET-ROBINET, Toxicologues à l'Institut National de Recherche en Agroalimentaire et de l'Université de Toulouse Paul Sabatier

Merci à vous premièrement d'avoir accepter cette collaboration inédite. Merci également pour votre dynamisme, soutien et implication inébranlable à toutes les deux. Cette expérience pour ma part aura été très enrichissante aussi bien sur le plan humain, que scientifique.

Madame Sylvie BORTOLI, Toxicologue à l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale et de l'Université Paris DESCARTES

Merci à vous d'avoir pris le temps d'apporter votre expertise sur ce travail dans un but commun de co-construction des savoirs.

Madame Emilie Bouillon, Documentaliste dans le service de Pathologies Professionnelles au CHU de Toulouse.

Merci pour vos précieux conseils de méthodologie de recherche et votre disponibilité.

A ma famille,

Merci pour votre soutien inconditionnel et votre bienveillance.

« La connaissance s'acquiert par l'expérience, tout le reste n'est qu'information »

Einstein

LISTE DES ABREVIATIONS

α -KG	Alpha kétooglutarate
AAOEL	Acute Acceptable Operator Exposure Level
ADI	Acceptable Daily Intake
ADME	Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination
ANSES	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation de L'Environnement et du travail
AOEL	Acceptable Operator Exposure Level
ARfD	Acute Reference Dose
ATP	Adénosine Triphosphate
CAP	Centre Anti-Poison
CAR/PXR	Constitutive Androstane Receptor / Pregnane X Receptor
CNRS	Centre National de Recherche Scientifique
CISMf	Catalogue et Index des Sites Médicaux en langue Française
CMR	Carcinogène Mutagène et Reprotoxique
DL50	Dose létale à 50%
DNMT	DNA methyltransferase (=méthyltransférase de l'ADN)
EO	Espèces Actives de l'Oxygène
EFSA	European Food Safety Authority
EPI	Equipement de Protection Individuelle
FRAC	Comité d'Action de Résistance des Fongicide
GIST	Gastro-Intestinal Stromal Tumor
HIF 1 α	Hypoxia-induced factor (=facteur induit par l'hypoxie)
HMT	Histon methyltransferase

INRA	Institut National de Recherche en Agronomie
INSERM	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
JHDMs	JmjC-domain histone demethylases
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level
MRL	Maxcimal Residu Level (ou LMR pour limite maximale de résidu)
MSA	Mutualité Sociale Agricole
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
PICO	Population Intervention Comparaison Outcomes
PHD	Propyl Hydroxylase
PGL/PCC	Paragangliomes /phéochromocytomes
PPM	Partie par millions (unité de mesure : 1 ppm = 1 kg/Mkg)
PPP	Produits de protection des plantes
PTP	Pore perméable de transition
RIS	Ratio d'Incidence Standardisée avec intervalle de confiance 95%
SA	Substance Active
SDH	Succinate Déshydrogénase
SDHi	Inhibiteurs de la Succinate Déshydrogénase
TET	ten-eleven-translocation 5-methylcytosine dioxygenases
TRAP1	TNF Receptor Associated Protein 1
TTFA	Thenoyltrifluoroacetone
US EPA	U.S. Environmental Protection Agency
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VHL	Van Hippel Lindeau
VTR	Valeurs Toxicologiques de Référence

SOMMAIRE

Liste des abréviations	9
1. Introduction	12
2. Bibliographie sur les inhibiteurs de la succinate déshydrogénase	18
2.1 Pesticides : définitions	18
2.2 Brève histoire des SDHi	19
2.3 La succinate déshydrogénase	22
2.3.1 Structure et fonction	22
2.3.2 Pathologies humaine et mutations SDHx	24
2.3.3 Hypothèses de mécanismes d'actions métaboliques et épigénétiques	26
2.4 Cadre réglementaire des pesticides	31
2.5 Toxicités des SDHi : études de 2005 à 2019	36
2.6 Exposition professionnelle aux pesticides	42
2.6.1 Population agricole	44
2.6.2 Pesticides et cancers	44
2.6.3 Pesticides et métrologie	47
2.6.4 Pesticides et moyens de prévention	49
3. Méthode	50
3.1 Définition du sujet	50
3.2 Organisation de la recherche	50
3.3 Sélection des études	51
3.4 Analyse des données	52
4. Résultats	54
4.1. Selection des études incluses	54
4.2. Mécanismes d'action de l'inhibition de la SDH	55
4.3. Exposition professionnelle aux SDHi	62
5. Discussion	72
6. Conclusion	80
Bibliographie	81
Liste des figures et tableaux	93
Annexes	95
Abstract	104

1. INTRODUCTION

Contexte

L'utilisation agricole des fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase (SDHi) et les conséquences potentielles sur la santé des professionnels exposés d'une part et d'autre part des consommateurs posent un certain nombre de questions concernant leur impact potentiel sur la santé humaine, au regard de l'absence de spécificité de ces molécules vis-à-vis des champignons.

En Avril 2018, un collectif de scientifiques de l'INSERM, du CNRS, de l'INRA et de l'Université Paris Descartes issus de disciplines différentes, biochimie, biologie moléculaire, médecine, toxicologie lancent une alerte (1) dans la tribune publiée par *Libération* (2) concernant l'utilisation des fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase (SDHi) en demandant leur suspension au regard de leurs potentiels effets néfastes sur la santé humaine. Un groupe d'expertise d'urgence mis en place quelques mois plus tard par l'ANSES chargé nationalement d'évaluer les risques sanitaires en lien avec l'utilisation des pesticides fut chargé d'évaluer la pertinence de l'alerte.

En Janvier 2019 l'ANSES rendit son avis sur la question (3) en concluant « *à l'absence d'éléments en faveur de l'existence d'une alerte sanitaire* » et ce en dépit de nombreuses lacunes dans les connaissances sur le mode d'action de ces molécules, leurs métabolisation dans l'organisme, de leurs mécanismes de toxicité, des niveaux d'imprégnation des professionnels exposés ainsi que la population générale, et des potentiels effets sur la santé des êtres humains et des écosystèmes le tout requérant des études complémentaires.

Connaissances antérieures

Les pesticides ou produits phytosanitaires sont actuellement largement utilisés en agriculture dans le monde entier. Entre 2008 et 2012, les fongicides représentent 14% du marché mondial avec en 2008 et 2012, 7370 tonnes (soit 15%) et 7990 tonnes (soit 14%) respectivement. Cet usage est majoritairement agricole aux Etats Unis reste stable de 2005 à 2012 avec plus de 80% soit 500 tonnes annuelle utilisées dans ce secteur pour 68 à 600 entreprises productrices et distributrices dénombrées en 2012 (4). Par ailleurs, en Europe, la France est le premier pays producteur agricole, avec une consommation de pesticides

représentant 73 milliards d'euros en 2017, suivie par l'Allemagne et l'Italie. Cette utilisation de pesticides englobe une grande partie du territoire avec 52,2% de la surface agricole utilisée (SAU)(5). Mais la France est également un des plus gros vendeurs de pesticides (fongicides et bactéricides) en Europe avec en 2016 plus de 31 900 tonnes écoulées, à la troisième place derrière l'Espagne et l'Italie (6). Parmi les phytosanitaires, en France les fongicides apparaissent les plus utilisés dans de nombreux domaines d'activité agricole : cultures céréalières, fruitières, maraichères et vitivole (7).

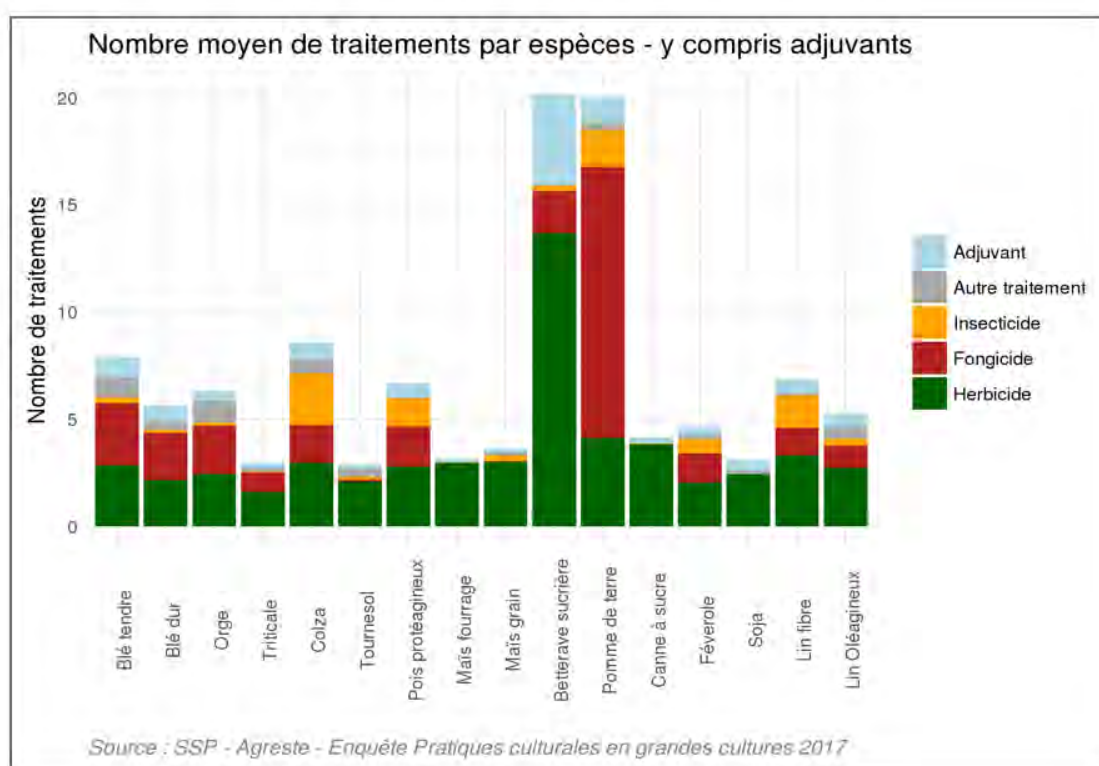


Figure 1 : Nombre moyen de traitements par espèces y compris adjuvants (7)

Les pesticides sont donc largement utilisés en agriculture pour améliorer les rendements, la qualité et l'aspect des produits, en détruisant des organismes jugés nuisibles tels que les insectes (insecticides), les champignons (fongicides), les bactéries (bactéricides) ou des mauvaises herbes (herbicides). La plupart des pesticides sont connus pour perturber la physiologie de l'organisme ciblé, entraînant un dysfonctionnement létal. Les pesticides peuvent être classés selon leur nature chimique (organochlorés, organophosphorés, thiocarbamates, pyrethroïdes, phenylamides, phenoxyalkonates, triazine, phthalimides,

dipyrides, ...), de leur mode d'application et de leur organisme cible (végétaux, champignons, insectes, ...). Ils constituent une source majeure de contamination environnementale de l'air, de l'eau et des sols. La toxicité pour l'être humain dépend de leur mode d'absorption, de leurs propriétés chimiques et de leurs métabolismes, c'est-à-dire de leurs capacités à être biotransformés en molécules facilement éliminables par l'organisme. L'utilisation pour l'agriculture intensive à haut rendement a conduit à une augmentation de la contamination de ces compartiments environnementaux, avec parfois une rémanence de nombreuses années après l'arrêt de leur utilisation et ce en raison de la demi-vie longue de certaines substances dites persistantes.

Il existe une grande variété de modes d'action des fongicides, certains sont multisites c'est-à-dire visent plusieurs cibles biochimiques au sein de la cellule fongique ; d'autres sont unisites et visent une seule cible du champignon. Concernant les fongicides ciblant la respiration cellulaire, certains réduisent la biodisponibilité de l'ATP, la molécule stockant l'énergie (silthiofam) et d'autres ont une action directe sur la chaîne respiratoire (les SDHi sur le complexe II et les strobilurines sur le complexe III).

Parmi le grand nombre de fongicides, une famille particulière est utilisée de manière croissante depuis les années 2000, il s'agit de fongicides dénommés SDHi ou inhibiteurs de la succinate déshydrogénase. En effet, les SDHi sont utilisés depuis les années 2000 en agriculture en traitement des semences ou des parties aériennes pour lutter contre les basidiomycètes, adélo-mycètes et ascomycètes.

Actuellement, parmi les 20 substances actives identifiées par le Fungicide Resistance Action Committee (FRAC) seulement 11 sont autorisées en France : (3) Les données de ventes en kg par an montrent que le boscalid est le plus utilisé parmi les SDHI avec 257 tonnes en 2016, devant le fluxapyroxad avec 146 tonnes, le bixafène avec 90 tonnes la même année. Au total, les SDHi vendus en France représentent 500 à 700 tonnes par an depuis 2008 (8).

Les substances actives des différents composés présentent un mécanisme d'action commun (9),(10) agissant sur la respiration cellulaire des mitochondries. Ces organites intracellulaires présents dans la plupart des eucaryotes, dont la fonction est cruciale dans la survie cellulaire notamment. La mitochondrie possède de multiples fonctions, incluant la production d'énergie sous forme d'ATP, l'homéostasie calcique, la thermogénèse, et la mort cellulaire. La mitochondrie est un organite dont la taille varie de 1 à 10 μm de long et de 0,5 à 1 μm de large. Elle comporte deux compartiments séparés par une membrane externe et une membrane

interne : la matrice et l'espace intermembranaire. La membrane interne forme des invaginations qui apparaissent sous forme de crêtes ou replis qui augmentent la surface de la membrane et dont le nombre varie selon l'activité mitochondriale (respiration cellulaire, oxydation des acides gras...). Les complexes de la chaîne respiratoire sont situés au niveau de ces crêtes.

Parmi les fonctions mitochondriales, la respiration cellulaire tient une place prépondérante dans la production d'énergie. Elle est assurée grâce à une étroite connection entre la glycolyse et la β -oxydation des acides gras qui se produisent dans le cytoplasme, et le cycle de Krebs dans la matrice mitochondriale. La chaîne respiratoire, localisée dans la membrane interne mitochondriale, est composée d'une centaine d'éléments, protéiques et lipidiques, organisés en 5 complexes (I à V). Elle est reliée au cycle de Krebs, qui lui fournit une partie des équivalents réduits (NADH, FADH₂) inhérents à la synthèse d'ATP. Les électrons provenant du NADH et FADH₂ sont respectivement transmis aux complexes I et II, puis transitent par les complexes III et IV pour être enfin transmis à l'oxygène, accepteur final. L'énergie ainsi libérée par le passage des électrons d'un complexe au suivant est utilisée pour pomper des protons (H⁺) par l'intermédiaire des complexes I, III et V, depuis la matrice mitochondriale vers l'espace intermembranaire. Ce mouvement de protons crée un gradient de pH de part et d'autre de la membrane interne mitochondriale : le pH devient plus acide dans l'espace intermembranaire que dans la matrice. De plus, il engendre un potentiel de membrane ($\Delta\psi_m$) à travers la membrane interne de la mitochondrie : l'intérieur devient négatif et l'extérieur positif. La résultante de ces deux forces constitue un gradient électrochimique de protons qui va être employé pour activer l'ATP synthase qui catalyse la conversion d'ADP + Pi en ATP.

Les SDHi agissent en inhibant une enzyme clé de la respiration cellulaire, la succinate déshydrogénase (SDH), qui constitue le complexe II de la chaîne respiratoire mitochondriale. La SDH présente une double fonction. Au sein du cycle de Krebs, elle oxyde le succinate en fumarate permettant ainsi le transfert d'électrons par l'ubiquinone ou coenzyme Q, qui sous sa forme réduite en ubiquinol se mobilise dans l'espace intermembranaire mitochondriale afin de transporter les électrons jusqu'au complexe III. Succinate + FAD $\leftrightarrow$ Fumarate + FADH₂. La SDH existe dans la plupart des organismes vivants, de la levure à la bactérie, des mammifères jusqu'à l'être humain. En particulier, la poche catalytique de l'enzyme, dans laquelle se fixe

les SDHi est très conservée entre les espèces, laissant supposer que les substances actives ne sont pas spécifiques de la SDH des champignons.

Dans ce contexte, on peut se demander quel pourrait être l'impact d'un blocage de la SDH humaine, après une exposition aux SDHi. Depuis quelques années, de nombreuses études ont retrouvé ont montré chez l'être humain qu'une inactivation génétique de la SDH par l'acquisition de mutations à l'état homozygote et conduisant à un déficit fonctionnel de l'enzyme (complet ou non), conduit au développement de pathologies neurologiques ou cancéreuses. Une association entre des mutations des gènes codants pour les sous-unités de la succinate déshydrogénase (regroupés sous le terme de mutants SDHx) est responsable d'un déficit fonctionnel complet ou non de la SDH et de certains cancers, tumeurs neuroendocrines et de pathologies héréditaires rares comme les paragangliomes, les phéochromocytomes (11).

Plusieurs études soutiennent l'hypothèse que des mécanismes épigénétiques secondaires à l'inhibition de la SDH seraient associés à la survenue de pathologies de type néoplasique par un phénotype d'hyperméthylation, responsable de la modification de l'expression de plusieurs milliers de gènes. En effet, l'accumulation d'un oncométabolite : le succinate, substrat de l'enzyme engendrerait en conditions de normoxie une activation du facteur d'induction de l'hypoxie (HIF1 α) responsable ainsi d'une « pseudo-hypoxie » et stimulerait l'angiogenèse entre autres (12), (13). D'autres hypothèses impliquent la formation d'espèces activées de l'oxygène (EAO) (14), (15) toxiques pour les cellules secondaires aux mutations des gènes SDHx. Le tout aboutissant à une dysfonction des mitochondries. Mais les études sont assez contradictoires sur le sujet (p23-24). On serait alors tenté de dénommer plutôt les SDHi et les autres composés phytosanitaires agissant sur la chaîne respiratoire comme des « mitochondricides » ou « mitotoxiques » comme les qualifie Mme Paule Bénit ingénieure à l'INSERM (16).

Justification de l'étude

Dans ce contexte il semble urgent et nécessaire de commencer à regrouper et formaliser les données existantes sur les différents fronts de recherche sur le sujet des SDHi notamment l'épidémiologie, la biologie, la toxicologie, mais aussi l'économie et la politique de gestion du risque professionnel.

Objectifs de l'étude

L'objectif de ce travail en collaboration avec deux toxicologues de l'Université Paul Sabatier et de l'INRA Toxalim à Toulouse, est de réaliser une revue systématique de la littérature selon la méthode PRISMA sur deux problématiques distinctes en lien avec les inhibiteurs de la succinate déshydrogénase (SDHi). La première est d'identifier les mécanismes d'actions métaboliques et épigénétiques engendrés par l'inhibition de la SDH, chez l'animal et chez l'humain ainsi que les potentielles pathologies associées. La seconde concerne l'exposition professionnelle aux SDHi, dans le but de mieux cerner les tâches professionnelles exposantes et décrire les effets toxiques chez l'homme dans le cadre d'une exposition aiguë et chronique.

2. Bibliographie sur les inhibiteurs de la succinate déshydrogénase

2.1 Le terme « pesticides » : définitions

Le terme de « pesticides » est communément utilisé et vulgarise la représentation commune de ces produits pour la population générale au travers des médias notamment. Pesticide vient de l'anglais, il est formé du suffixe *-cide* qui vient du latin *cida* signifiant « tuer » et de l'anglais *pest* signifiant « nuisible » ainsi que du latin *pestis* pour « maladie contagieuse ». Ce terme désigne assez clairement la notion de toxique pour la vie. Au fil des décénies, le terme s'est quelque peu transformé pour plutôt prendre une dimension/connotation de protecteur pour la vie humaine à 180° de la définition initiale avec actuellement plusieurs dénominations quelque peu différentes. Les pesticides ou produits phytosanitaires ou phytopharmaceutiques ou encore produits de protection des plantes (PPP) sont définis en Europe par l'article 3 du règlement (CE) n°1107/2009, repris en France par l'article L 253-1 du code rural.

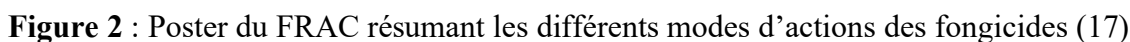
Il s'agit de « *substances ou mélanges, préparations chimiques synthétiques, naturelles ou micro-organismes* » ayant pour effets de « **protéger les végétaux** ou les produits végétaux **contre tous les organismes nuisibles** ou prévenir l'action de ceux-ci, assurer la **conservation** des produits végétaux, **détruire les végétaux** ou les parties de végétaux **indésirables**, à l'exception des algues, **freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux** ».

Il faut ajouter à cette définition celle des biocides, donnée dans l'article 3 du Règlement Européen UE N°528/2012, désignant des substances, mélanges, préparations visant à « *détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles à en prévenir l'action ou à les combattre, par une action chimique ou biologique* ».

Il existe 23 types de biocides répartis en quatre groupes selon le Règlement Européen parmi les désinfectants (hygiène humaine, animale, de surfaces), les produits de protection (du bois, matériaux de construction), et autres comme pour l'embaumement par exemple.

Ces produits sont composés d'une ou plusieurs **substances actives** permettant de classer les phytopharmaceutiques selon leur mode d'action. A cela s'ajoute des **co-formulants** c'est-à-dire les solvants et additifs ou adjuvants utilisés par les différentes firmes comme par exemple pour faciliter la pénétration de la substance active et ainsi constituer le **produit, composé ou mélange final industriel** pour sa commercialisation.

L'omniprésence de ces différentes substances chimiques dans notre environnement moderne rend légitime une meilleure connaissance de leur mode d'action. Il existe à ce jour, plus de **260 types de fongicides** avec environ **64 modes d'actions différents** comme nous le présente ci-dessous de Comité d'Action de Résistance des Fongicide dans son poster (17).



Les SDHi sont des fongicides utilisés depuis les années soixante. La première génération de substances actives de cette famille était principalement utilisée pour le traitement des **semences**, avec un spectre assez restreint pour lutter contre les **basidiomycètes** (*rhizoctonia spp*, *ustilago spp*, *puccinia spp*, *thypula spp*, *tilletia spp*). Cette première génération de SDHi comptait seulement deux classes, les carboxamides avec la **carboxine**, l'oxycarboxine et les benzamides avec le bénodanil et le fenfuram.

Quelques années plus tard, dans les années quatre-vingt et quatre-vingt-dix, une seconde génération a vu le jour. Cependant ces nouvelles substances comprenant le mépronil, flutolanil, furametpyr et le thifluzamide ne permirent pas de beaucoup élargir le spectre d'action des SDHi (10)

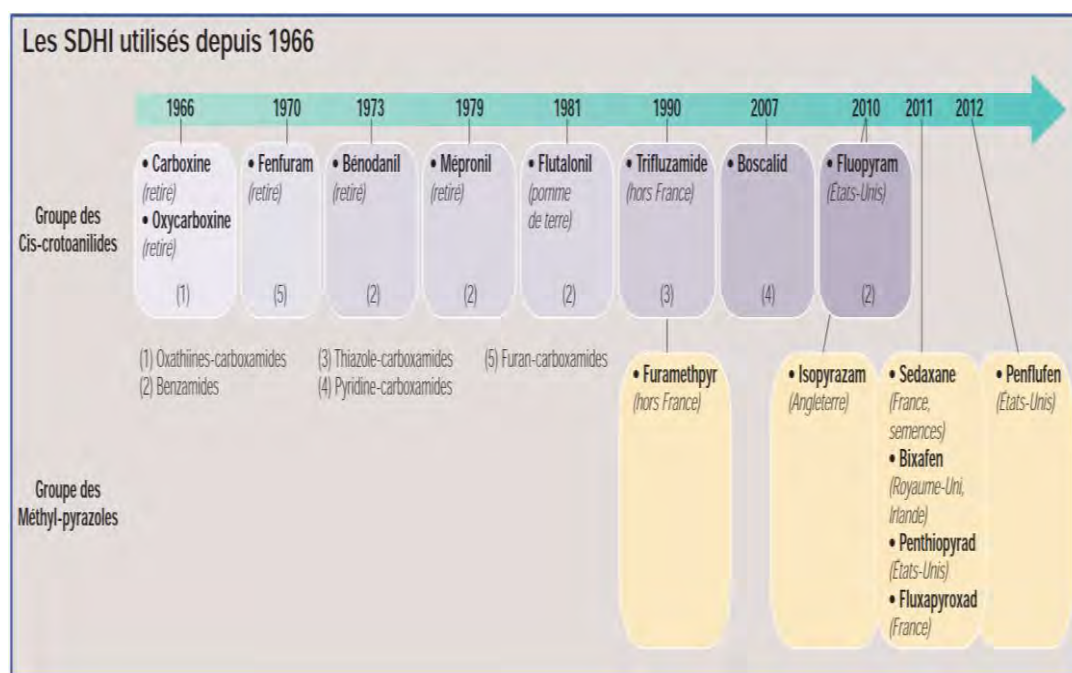


Figure 3: Historique des SDHi (18)

Il faudra attendre les années 2000, en 2003 pour voir apparaitre une nouvelle substance active le **boscalid**, permettant d'élargir le spectre d'action à la lutte contre les **ascomycètes** (*botrytis cinerea*, *sclerotinia sclerotiorum*, *alternaria spp*, *septoria tritici*, *monilinia spp*) et ainsi diversifier son utilisation contre la lutte antifongique dans de nombreuses cultures céréalières, fruitières, viticole, arboricoles et maraichères. (18), (19).

La recherche en matière de SDHi s'est intensifiée depuis 2003 et a permis de mettre sur le marché de nouvelles générations de SDHi virent le jour dans les années 2010 avec le penthiopyrad, fluopyram, penflufen, sedaxane, bixafen, isopyrazam (10).

On compte actuellement 20 substances actives regroupées sous le terme de SDHi. Cependant en fonction du cadre réglementaire de chaque pays, toutes ne sont pas ou plus autorisées à la mise sur le marché.

La grande famille des fongicides compte de nombreuses classes chimiques et modes d'action. La **respiration cellulaire** est une des voies privilégiées et de nombreux composés agissent à chacune de ses étapes comme au niveau du complexe I, du complexe III. Les SDHi comme leur nom l'indique ont pour caractéristique **d'agir sur le complexe II** de la chaîne respiratoire mitochondriale ou **succinate déshydrogénase (SDH)**.

Code	Target site of action	Group name	Chemical group	Common name
7	Complex II; succinate-dehydrogenase	SDHI (Succinate dehydrogenase inhibitors)	Phenyl-benzamides	Benodanil Flutolanil Mepronil
			phenyl-oxo-ethyl thiophene amide	Isofetamid
			Pyridinyl-ethyl-benzamide	Fluopyram
			Furan-carboxamides	Fenfuram
			Oxathiin-carboxamides	Carboxin Oxycarboxin
			Thiazole-carboxamides	Thifluzamide
			Pyrazole-carboxamides	Benzovindiflupyr Bixafen Fluxapyroxad Furametpyr Isopyrazam Penflufen Penthiopyrad Sedaxane
			Pyridine-carboxamides	Boscalid
			N-methoxy-(phenyl-ethyl)-pyrazole-carboxamides	pydiflumetofen
			pyrazine-carboxamides	pyraziflumid

Tableau 1 : les différents SDHi selon le FRAC (19)

Le FRAC résume sous le code n°7 l'ensemble des SDHi (19) soit au total 20 substances actives regroupées sous le même mode d'action comme présentés dans le tableau ci-dessus.

Liste SDHi (source: FRAC)	Principaux types d'usages	Date de la dernière approbation de la SA	Date la 1ère autorisation d'un PPP contenant la SA
Benzovindiflupyr	Traitement des parties aériennes: céréales	01/03/2016	01/11/2016
Bixafen	Traitement des parties aériennes: céréales	01/10/2013	01/08/2011
Boscalid	Traitement des parties aériennes: céréales, vigne, arboriculture, crucifères oléagineux, tournesol, légumes	01/08/2008	01/06/2005
Carboxine	Traitement de semences	01/06/2011	01/12/1968
Fluopyram	Traitement des parties aériennes: céréales, vigne, arboriculture, culture légumières, oléagineux, banane	01/02/2014	01/10/2013
Flutolanil	Traitement de semences: pomme de terre	01/09/2009	01/06/1992
Fluxapyroxad	Traitement de semences et partie aériennes: céréales, arboriculture, légumes	01/09/2016	01/08/2018
Isofetamid	Traitement des parties aériennes: plantes ornementales	01/04/2013	01/12/2017
Penthiopyrad	Traitement des parties aériennes: céréales et tomates	01/05/2014	01/11/2014
Sedaxane	Traitement des parties aériennes: céréales et maïs	01/02/2014	01/07/2011
Isoprazam	Traitement des parties aériennes: plantes ornementales	01/04/2013	01/12/2017
Pydiflumetofen	Traitement des parties aériennes: plantes ornementales, tomates, pommes		11/2018 en attente
Penflufen	Traitement des semences : pomme de terre, céréales , riz , légumes		01/02/2019

Tableau 2 : Les 11 SDHi autorisés en Eurpore en janvier 2019 et leur utilisation agricole.

2.3 La succinate déshydrogénase (SDH)

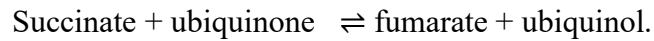
2.3.1 Structure et fonction

La succinate déshydrogénase ou SDH est une enzyme clé du cycle de Krebs et de la chaîne respiratoire mitochondriale. Elle présente donc une double fonction en conditions d'aérobie.

Dans le cycle de Krebs la SDH accompagnée de son cofacteur le FADH₂, **catalyse** la réaction **d'oxydation du succinate en fumarate** de la manière suivante :



Dans la chaîne respiratoire, la SDH permet le **transfert d'électrons** vers son cofacteur le coenzyme Q ou ubiquinone qui, une fois réduit en ubiquinol (QH₂) transporte en se mobilisant dans la membrane mitochondriale les électrons au complexe III.



Ce complexe possède une double fonction permettant d'aboutir à la formation d'ATP (20).

La structure de la SDH a été étudiée par cristallographie à rayons X au cours de ces dernières années. Il s'agit d'une enzyme composée de quatre sous-unités protéiques SDHA, B, C, D et de deux cofacteurs d'assemblage SDHA F1 et SDHA F2 (21). Les **sous-unités de la SDH sont toutes exclusivement codées par des gènes nucléaires**. L'assemblage des différentes sous-unités se réalise après migration dans la mitochondrie.

De par la double fonction il est aisé de concevoir que les différentes sous-unités de la SDH ont des fonctionnalités différentes. La sous-unité SDHA et SDHB sont hydrophiles et sont situées dans la matrice mitochondriale tandis que les sous-unités SDHC et SDHD sont hydrophobes et situées dans la membrane mitochondriale. Pour résumer très brièvement le fonctionnement de la SDH, les sous-unités SDHA et SDHB correspondent au site catalytique de l'enzyme et les sous-unités SDHC et SDHD au site de transfert des électrons vers le coenzyme Q.

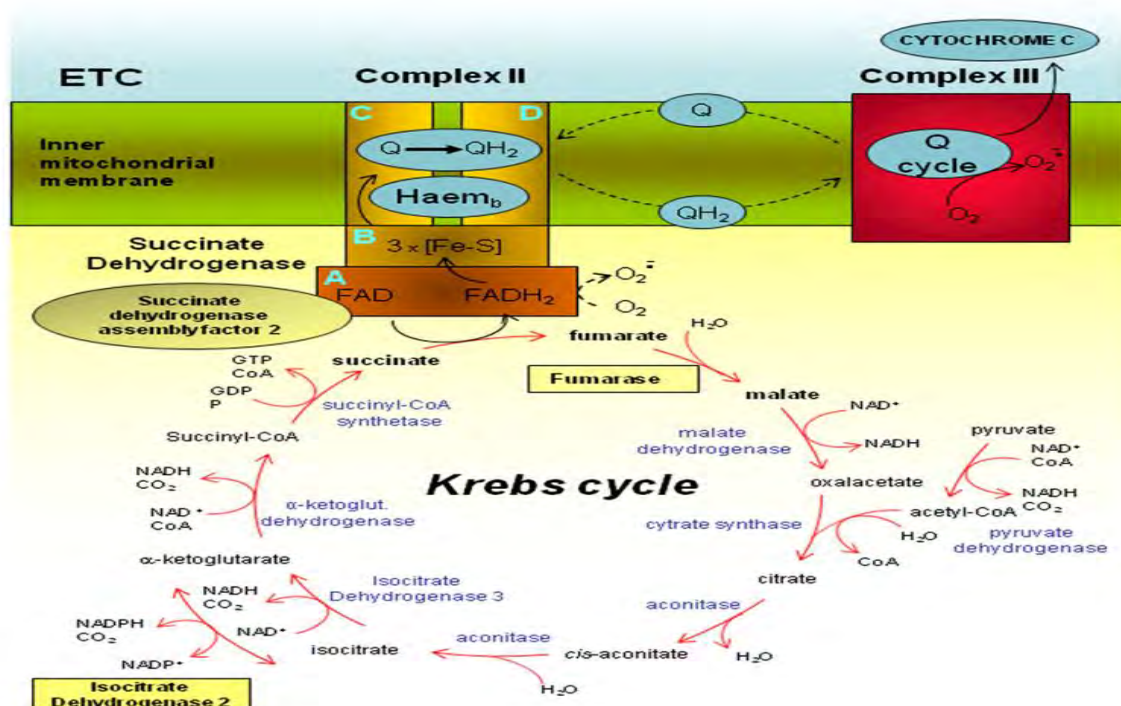


Figure 4 : Le complexe II mitochondriale (22)

2.3.2 Mutation des gènes SDHx et pathologies associées

SDHA

La sous-unité SDHA est composée par une *Flavoprotéine* de poids moléculaire de 73-60 kDa. On distingue un site de fixation du co-facteur FAD et de son substrat le succinate. Cette sous-unité apparaît similaire chez les eucaryotes et les mammifères. En effet la structure de la SDHA est très conservée parmi de nombreuses espèces suggérant un gène commun (23).

La première mutation de la SDH a été découverte en 1995 (24) chez deux sœurs présentant un **syndrome de Leigh** une maladie neurologique progressive caractérisée par une atteinte du tronc cérébral et des ganglions de la base (orphanet). Elles présentaient une mutation homozygote Arg554Trp de la SDHA. Il est également rapporté des cas de **cardiopathies** (25), leukodystrophie (26). Mais aussi des cas de **paragangliomes et phéochromocytomes** (27), (28) ainsi que des adénomes pituitaires (29) et **tumeurs gastro-intestinales** (30) des encéphalopathies (31).

SDH B, SDH C, SDH D

SDHB est composée d'ions fer-soufre de poids moléculaire 24-31 kDa. Les ions fer-soufre sont répartis en trois groupements [2Fe-2S], [4Fe-4S] et [3Fe-4S] pour permettre le transfert des électrons issus du FADH₂ vers le coenzyme Q (quinone). Tout comme la SDHA, la sous-unité SDHB est également similaire et conservée dans de nombreuses espèces.

SDHC et SDHD ont un poids moléculaire de 13-18 kDa et 11-16 kDa, respectivement. Elles forment le site de fixation du coenzyme Q (ubiquinone).

Les mutations germinales par perte d'hétérozygotie des gènes codants pour les sous unités SDHB, C, D sont les plus fréquentes et entraînent l'apparition de syndromes tumoraux héréditaires rares, les **paragangliomes** (32) et **phéochromocytomes** (11). Ils se transmettent de manière autosomique dominante, et ont une pénétrance incomplète mais peuvent également être sporadiques. On retrouve ces mutations également dans d'autres pathologies comme le syndrome de **Carney–Stratakis** (33) associant de multiples paragangliomes, phéochromocytomes et tumeurs gastro-intestinales, mais aussi dans des **tumeurs gastro-intestinales (GIST)**, des carcinomes rénaux (34), (35), (36) dans Triade de Carney (37) dans des cas de cancers papillaires thyroïdiens (38), (39) d'encéphalomyopathie (40).

Les **paragangliomes** (PGL) sont des tumeurs issues des cellules de la crête neurale localisées en regard des ganglions parasympathiques au niveau de la tête et du cou ou en regard des ganglions sympathiques du thorax, de l'abdomen, et du pelvis (41). Les **phéochromocytomes** (PCC) sont des tumeurs se développant dans la médullaire surrénalienne. Ces tumeurs rares, de pénétrance incomplète sont souvent associées et regroupées sous le terme de **syndrome PGL/PCC**. Dans 60% des cas, des mutations de nombreux gènes comme VHL (42), (43) RET et notamment SDHx sont retrouvées pour les tumeurs héréditaires (44). Des cas de leukodystrophies avec hypotonie cérébrale ont été rapportés (26), (45). La mutation du gène SDHB est très souvent associée à un pronostic plus grave (métastases) (46), (47), (48).

Actuellement, on peut classer ces syndromes en fonction de la mutation SDHx :

Succinate-déshydrogénase	SDHA	Adénome hypophysaire et paragangliome/ phéochromocytome Carcinome rénal	Syndrome de Leigh Atrophie optique et ataxie
	SDHB	Paragangliome, Phéochromocytome Carcinome du rein Tumeur gastro-intestinale Syndrome de Carney-Stratakis Syndrome de Cowden Cancer du rein à cellules claires	Leukodystrophie
	SDHC	Paragangliome, Phéochromocytome Syndrome de Carney-Stratakis	
	SDHD	Paragangliome, Phéochromocytome Syndrome de Carney-Stratakis Cancer du rein Syndrome de Cowden Paragangliome, Phéochromocytome	Encéphalomyopathie
	SDHAF1		Leukoencéphalopathie infantile
	SDHAF2		
	SDHAF3		
	SDHAF4		

Tableau 3 : les syndromes SDHx (1)

De plus il existe un test d'immunohistochimie sur pièce d'anatomopathologie recherchant un déficit en SDH qui est couramment utilisé dans la prise en charge diagnostique de nombreuses tumeurs, on parle de tumeur SDH-déficient. Actuellement deux tests sont disponibles, l'un

anti-SDHA signant la perte d'expression du gène SDHA par mutation germinale et un second, anti-SDHB moins spécifique, pouvant être retrouvé pour tout type de mutation SDHx. Ces tests permettent donc d'identifier les formes familiales (49), (50) par conséquent ils ne seront pas traités dans cette thèse car ils sont en lien avec des mécanismes génétiques.

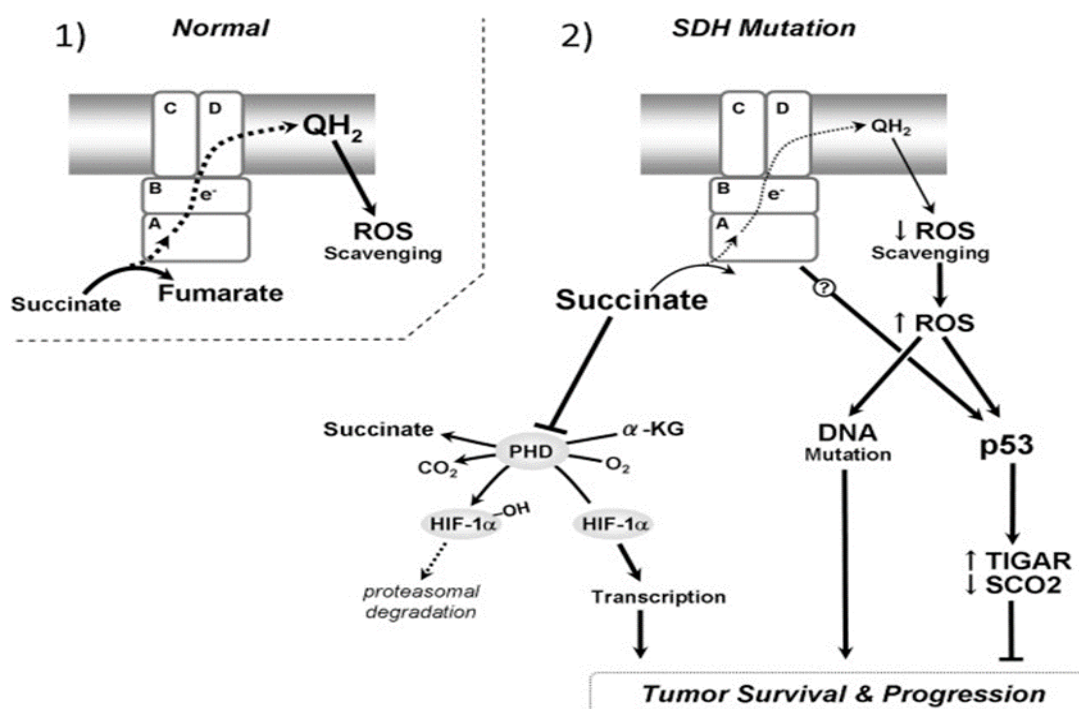


Figure 5 : Mécanismes d'actions génétiques de la SDH (50)

2.3.3 Hypothèses de mécanismes d'actions métaboliques et épigénétiques

Depuis ces dernières années, des études ont permise d'élucider une partie des mécanismes moléculaires impliqués dans la genèse de ces pathologies. L'hypothèse la plus admise est que dans des **conditions de normoxie, la mutation d'un ou plusieurs gènes SDHx** engendre une perte de fonction de l'enzyme. Ainsi chez les sujets présentant une mutation germinale avec perte d'hétérozygotie, la **SDH n'est plus fonctionnelle**. En conséquence son substrat, le **succinate s'accumule dans la mitochondrie** (51). Cependant, le succinate peut sortir de la mitochondrie vers le cytosol *via* un transporteur membranaire VDCA. Une fois dans le cytosol, le succinate va contribuer à la mise en place d'un phénotype de pseudo-hypoxie (13).

La fonction physiologique du facteur de transcription **HIF (Hypoxia Inducible Factor)** est de favoriser l'adaptation des cellules à la fluctuation du niveau d'oxygène. Dans des

conditions d'hypoxie (faible niveau d'oxygène) HIF induit la transcription de gènes codant des protéines impliquées dans la néovascularisation et la glycolyse. HIF est composé de deux sous-unités : HIF1 α dont l'expression est contrôlée par le niveau d'oxygène et HIF1 β dont l'expression est constitutive et non sensible à l'oxygène. En condition de normoxie, le facteur HIF 1 α est hydroxylé par la **propyl hydroxylase (PHD ou EglNs)**. Cette réaction nécessite des cofacteurs comme l'oxygène, les ions Fe²⁺ et l' α -cétoglutarate. L'hydroxylation de HIF 1 α permet sa reconnaissance par complexe enzymatique contenant le facteur pVHL et l'E3 ubiquitine ligase, qui va permettre son ubiquitinylation et entraîner sa rapide dégradation dans le protéasome. En condition d'hypoxie, la PHD est inhibée et en conséquence n'hydroxyle pas HIF1 α . Celui-ci ne peut donc pas être dégradé dans le protéasome comme précédemment décrit. **HIF1 α est alors stabilisé**. Or le facteur de transcription HIF1 α active la transcription de certains gènes afin de pallier à l'hypoxie, notamment en régulant positivement **l'expression de gènes codant des protéines impliquées dans la glycolyse et la vascularisation** (52). Il a été montré que le succinate est un inhibiteur connu de la PHD. Son accumulation lors d'un déficit en activité SDH peut entraîner une diminution de l'activité PHD avec pour conséquence, une stabilisation d'HIF1 même en normoxie, conduisant à la mise en place d'un **phénotype de pseudo-hypoxie**.

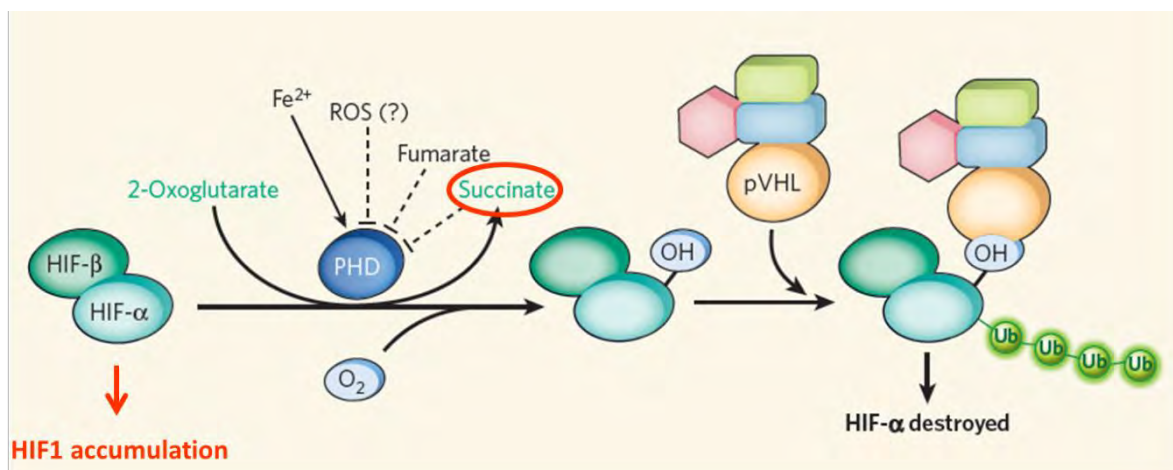


Figure 6 : Régulation des fonctions des Facteurs d'Induction de l'Hypoxie (HIF) (53)

Cette hypothèse est soutenue par plusieurs études qui ont montré qu'en condition de normoxie, dans plusieurs cas de **paragangliome-phéochromocytomes mutants SDHB** (54) et des **cellules (Hep3B et HeLa) avec mutation silencieuse SDHB** (55) mais également de **fibroblastes** homozygotes pour une **mutation de la SDHA** (51) l'absence d'hydroxylation de HIF α 1 induit sa stabilisation en ne permettant pas sa liaison avec VHL et ainsi sa dégradation

(56). En conséquence, HIF1 α est stabilisé en conditions de normoxie, et peut ensuite être transloqué dans le noyau et activer l'expression des facteurs d'angiogenèse notamment le VEGF (13), (57) , (58) et ainsi concourir à l'activation de processus favorables à la cancérogenèse notamment par la promotion d'une reprogrammation métabolique propice à la prolifération cellulaire. Depuis lors, les gènes SDHx sont qualifiés de **gènes suppresseurs de tumeur**.

Par ailleurs un **mécanisme épigénétique** a également été observé plus récemment, dans 16 cas de **paragangliomes (PGL) et de phéochromocytomes (PCC) avec mutations SDHx** (1 SDHA, 11 SDHB, 1 SDHC, 3 SDHD) et d'un cas sporadique présentant un phénotype d'**hyperméthylation des ilots CpG**. La méthylation des résidus cytosine en 5'méthylcytosine (5mC) est réalisée par les ADN méthyltransférase (DNMT) ou ten-eleven-translocation 5-méthylcytosine dioxygénases (TET) se produisant dans les ilots CpG des séquences répétées impliquées dans la régulation de l'expression des gènes. Ils peuvent être localisés au niveau des promoteurs ou ailleurs dans le génome de manière non-homogène chez les mammifères. L'hyperméthylation au niveau des promoteurs situés en amont des gènes aboutit à l'inhibition de leur expression. Ce mécanisme de répression d'une partie du génome contribue à la stabilité de l'identité cellulaire. Dans les PGL/PCC liés à des mutations dans les gènes codant la SDH, l'hyperméthylation du génome concerne les de promoteurs de 191 gènes (soit 11,5% du transcriptome). Les gènes impactés par l'hyperméthylation sont notamment impliqués dans le métabolisme des catécholamines (PNMT, DRD2, SULT1A1, SLC6A2, NPY) et la différenciation des cellules de la crête neurale (RET, NRP2), avec pour conséquence une diminution de leur expression. Les niveaux d'hyperméthylation sont plus élevés et la **régulation négative est corrélée chez les mutants SDHB** par rapport aux autres mutants SDHx ($p=0,0071$) (44), (59). L'hyperméthylation peut aussi se produire même au niveau des **histones**, en particulier sur les résidus lysine et arginine. Ces modifications post-traductionnelle des histones sont contrôlées par des histones méthyltransférases (HMT) et des histones déméthylases (JHDMs, JmjC-domain histone demethylases) entraînent un remodelage de la chromatine qui affecte positivement ou négativement l'expression des gènes (60). Les DNMT et HMT font partie de la grande famille des dioxygénases dépendant de cofacteurs tels que le Fe²⁺ et de l' α -acétoglutarate (Fe(II)/ α -KG-dependent dioxygenases), dont l'activité est également contrôlée par le succinate.

Ces mécanismes épigénétiques caractérisés par un remodelage de la chromatine (méthylation de l'ADN et/ou modifications post-traductionnelles des histones) sont transmissibles pendant les divisions cellulaires, ils sont dynamiques et réversibles.

Une autre hypothèse existe actuellement, selon laquelle l'inhibition de la SDH (par défaut de transfert d'électron et donc par perte d'expression de SDHB ou C ou D) avec une sous-unité SDHA fonctionnelle, pourrait entraîner la **production d'espèces actives de l'oxygène (EAO)** comme les anions superoxydes ($O_2^{\bullet-}$), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical d'hydroxyle ($OH^{\bullet}$) qui concourraient en s'accumulant à l'oxydation de l'ADN et ainsi à un potentiel effet mutagène.

La littérature apparaît assez contradictoire sur la question. Smith et al (60), ont cherché à évaluer l'effet de mutations dans les gènes SDHx sur l'accumulation de succinate et la production d'EAO dans une souche de **levure** *S.cerevisiae* mutée dans le gène Sdh2 (analogue SDHB chez les mammifères) comme modèle de PGL familiale. Les résultats montrent une augmentation de la génération d'EAO d'un facteur 3 par rapport au contrôle sans créer de dommages sur l'ADN. L'inhibition de la SDH et associée à une augmentation de succinate 8 fois supérieure au contrôle et a pour conséquences l'inhibition des enzymes α KG-dépendent, les histones déméthylases. Une autre étude (61) montra chez le **ver** *Caenorhabditis elegans* mev-1(kn1) portant une mutation dans la SDH3 affectant le site ubiquinone, une hypersensitivité à l'hyperoxie ou au stress oxydatif avec une augmentation de la génération d'anions superoxyde($O_2^{\bullet-}$).

L'équipe d'Ishi et al (62), montra dans un modèle de **fibroblastes de souris mutantes NIH3T3** (homologue de la SDHC humaine) une diminution de 40% de l'activité du complexe II, une augmentation du niveau de succinate, une augmentation de la production d'anion superoxyde d'un facteur 2 après un mois et d'un facteur 3 ($p < 0,001$) après 3 mois de culture, ainsi que des changements morphologiques. Pour Guzy et al (63), montrèrent pour des **modèles cellulaires humains in vitro** (cellule humaine hépatocytaires Hep3B, cellules épithéliales alvéolaires tumorales A549, cellules humaine d'ostéosarcome 143B) et pour un modèle de **souris nude avec xenogreffe**, une activation additionnelle induite par l'augmentation d'EAO dans les cellules avec des mutations SDHB, SDHC, SDHD est observé, amplifiant la réponse de pseudo-hypoxie mais pas pour les mutations de la sous-unité SDHA.

D'autres études ne montrent pas d'augmentation des EAO pour Selak et al (13) en 2005 dans le mécanisme d'induction de la pseudo-hypoxie après inhibition du gène SDHD de cellules embryonnaires humaines rénales **HEK293** et en 2006 (64) pour des mutants SDHC. Egalement Brière et al, montrèrent qu'une augmentation d'anions superoxydes n'est pas « en soi » suffisante pour induire la stabilisation des facteurs de l'hypoxie dans des fibroblastes mutants SDHA en conditions de normoxie. (51)

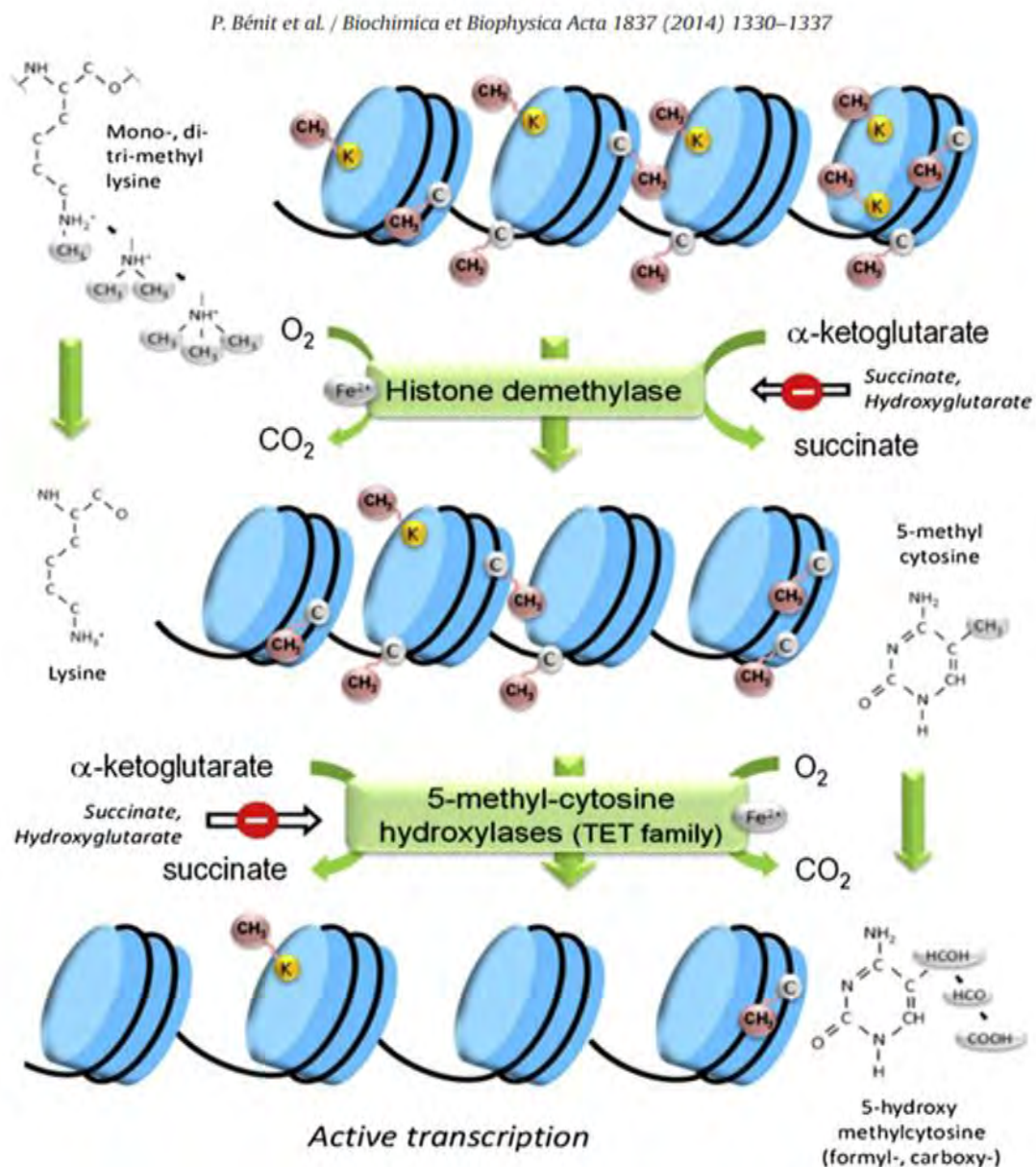


Figure 7 : mécanismes épigénétiques et succinate (12)

En résumé, plusieurs hypothèses et mécanismes d'action restent à élucider concernant l'implication et les conséquences de l'inhibition de la SDH et son lien avec la tumorigenèse chez l'humain et chez l'animal (22), (50). Tout en prenant en compte les difficultés inhérentes à la recherche expérimentale notamment, les différentes populations de cellules testées qui ont des niveaux de stress oxydant basal différents, et une dépendance métabolique à la SDH différente. Egalement le biais systématique entre *l'in vitro* et la clinique. Par ailleurs, le succinate apparaît alors comme un véritable messager intracellulaire capable d'induire une pseudo-hypoxie, mais aussi des changements métaboliques cellulaires et épigénétiques associées à la cancérogenèse (65).

2.4 Cadre légal : réglementation des pesticides et valeurs toxicologiques de référence (VTR)

Plusieurs instances sont chargées du suivi de l'utilisation et de la veille sanitaire des produits phytopharmaceutiques, toutes différentes en fonction de chaque pays et de son cadre réglementaire. En Europe, l'évaluation de l'approbation d'une substance active est délivrée par l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA), basée sur le règlement CE 1107/2009 et en France, c'est l'Autorité Nationale de Sécurité (ANSES) qui est chargée de leur autorisation de mise sur le marché et de la surveillance post-commercialisation (exemple : vérification du non dépassement des valeurs toxicologiques de référence, études sur l'alimentation totale pluriannuelles EAT) Il faut en moyenne une dizaine d'années aux industriels pour aboutir à la commercialisation d'un produit phytopharmaceutique. En effet des études précliniques *in vitro* et *in vivo* chez l'animal sont spécifiées dans le règlement UE n°283/2013 précisant les modalités d'évaluation de la toxicité des pesticides sans pour autant être exhaustive.

La toxicité d'un produit phytosanitaire dépend évidemment de la sensibilité de l'organisme à cette molécule qui peut varier selon l'âge, la dose, le temps d'exposition, la nature du contaminant et selon sa capacité à être absorbé et métabolisé. Ainsi des **études d'absorption, de diffusion, de métabolisme et d'excrétion (ADME)** sur substances actives, les métabolites, et les résidus *in vivo* chez plusieurs espèces animales sont réalisées.

Pour l'évaluation de la toxicité aigüe orale, cutanée et respiratoire des tests *in vivo* pendant 28 ou 90 jours d'exposition chez le rat, la souris ou le chien permettent de déterminer les **doses**

létales (DL50) d'une substance c'est-à-dire la dose qui engendre la mort de 50% des animaux testés.

L'effet génotoxique désigne l'ensemble des lésions des molécules d'ADN (modifications des paires de bases ou mutations, aberrations des chromosomes ou clastogène et de leur nombre ou aneugène) permanentes et transmissibles aux générations cellulaires suivantes. Ces lésions peuvent être générées directement par les substances ou être la conséquence de stress oxydatif. Généralement, les substances génotoxiques sont considérées à **priori sans effet seuil**, il est alors exprimé en **excès de risque unitaire (ERU)**.

La génotoxicité est évaluée par différents tests in vitro et in vivo décrits par l'ANSES (66). Les plus fréquemment utilisés sont le **test d'aberrations chromosomiques**, le **test des micronoyaux** qui permettent d'évaluer le nombre de fragments ou chromosomes entiers incorporés dans le noyau pendant la mitose ; mais également le **test UDS** pour synthèse non programmée de l'ADN qui permet de mesurer le nombre de bases incorporées à l'ADN par le système de répartition de celui-ci ; le **test des comètes** permettant de quantifier les cassures simples ou doubles des brins d'ADN.

Tous ces tests n'ont pas le même niveau de preuve ou « weight of evidence », toujours selon l'ANSES : *« les résultats du test d'Ames et ceux des tests du micronoyau, d'aberrations chromosomiques et de mutation géniques in vivo sont considérés comme ayant un poids élevé. Les tests ayant un poids modéré sont des tests in vivo : le test des comètes, l'induction de dommages oxydatifs et l'induction de la réparation de l'ADN et in vitro : les tests du micronoyau, aberrations chromosomiques et mutations géniques sur cellules de mammifère. »* Le test des comètes in vivo ayant une guideline émanant de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE) réglementaire, celui-ci devrait dans l'avenir acquérir un niveau de preuve plus élevé.

Pour la toxicité chronique c'est-à-dire notamment l'effet cancérigène, on recherche les effets sur l'apoptose, le stress oxydatif et la prolifération cellulaire ...) ces mécanismes pouvant être **génétiques ou non génétiques**. C'est après 18-24 mois d'exposition chez le rat ou la souris à des doses répétées de substance active que l'on peut déterminer la dose sans effet nocif observé (**NOAEL vie entière**) et quand cela est possible la dose minimale avec effet nocif observé (**LOAEL vie entière**) avec NOAEL < LOAEL. Bien évidemment l'élaboration de ces valeurs toxicologiques de référence mettent en évidence une association entre une dose et un effet ou un potentiel d'effet dans le contexte à priori supposé qu'il existe un effet seuil.

La reprotoxicité est évaluée par des études multigénérationnelles chez le rat et le lapin renseignant sur les anomalies de développement et permettent ainsi de déterminer la dose sans effet nocif observé (NOAEL parentales et pour la descendance). Enfin la neurotoxicité peut également être évaluée par exposition à des doses répétées.

Ainsi les valeurs toxicologiques de référence (VTR) sont établies (66). Elles sont associées à l'exposition alimentaire qui prend en compte la dose journalière acceptable (ADI pour Admissible Daily Intake) c'est-à-dire la dose maximale quotidienne d'une substance ingérée pendant la ***vie entière*** susceptible de ne pas être toxique s'exprimant en milligramme par kilogramme de poids corporel par jour. La dose de référence aiguë (ARfD pour Acute Reference Dose) est la quantité maximale de substance par poids corporel qui peut être ingéré pendant ***un repas ou une journée*** sans risque de toxicité aiguë. Elle s'exprime en milligramme par kilogramme de poids corporel par jour.

$$\text{ARfD (un jour ou un repas) ou ADI(vie entière)} = \text{NOAEL oral} / \text{FS}(100)$$

Types d'effets		Intitulé du test	Référence OCDE
Mutations géniques	In vitro	Test de mutation génique inverse sur procaryotes (<i>Salmonella typhimurium</i> ou <i>Escherichia coli</i>)	471
		Test de mutation génique sur cellules de mammifères (mouse lymphoma TK +/-)	476
		Test de mutation génique sur <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	480
		Test de recombinaison mitotique sur <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	481
	In vivo	Test de mutation létale récessive liée au sexe sur <i>Drosophila melanogaster</i>	477
		Spot test chez la souris	484
		Essais de mutations génétiques des cellules somatiques et germinales de rongeurs transgéniques	488
Mutations chromosomiques	In vitro	Test cytogénétique ou d'aberration chromosomique sur cellule de mammifères	473
		Test du micronoyau sur culture cellulaire	487
	In vivo	Test cytogénétique ou d'aberration chromosomique sur cellules de moelle osseuse de mammifères	475
		Test du micronoyau sur érythrocytes de mammifères	474
		Test de mutation dominante létale sur rongeurs	478
		Test d'aberration chromosomique sur spermatogonies de mammifères	483
		Test de la translocation héréditaire chez la souris	485
Altération primaire de l'ADN (lésions à l'ADN)	In vitro	SOS chromotest sur bactéries	
		Test de synthèse non programmée de l'ADN (UDS) sur cellules de mammifères	482
		Test d'échange de chromatides sœurs sur cellules de mammifères (SCE)	479
		Test des comètes (cassure des brins d'ADN) sur culture cellulaire	
		Mesure des adduits de l'ADN	
	In vivo	Test de synthèse non programmée de l'ADN (UDS) sur hépatocytes de mammifères	486
		Chez le rongeur : mesure des adduits de l'ADN	
Autres méthodes	In vitro	Test de transformation de cellules de mammifères	

Tableau 4 : Tests pour l'évaluation génotoxique d'une substance selon l'ANSES (66).

De plus, les limites maximales applicables aux résidus de substance active (LMR) ou maximal residu level (**MRL**), doivent être définies pour chaque *denrée alimentaire* selon le Règlement (CE) 396/2005. La somme des LMR doit être inférieure à l'ADI pour garantir la sécurité sanitaire des consommateurs :

$$\Sigma \text{MRL} < \text{ADI}$$

Pour l'exposition non alimentaire et notamment professionnelle on utilise le niveau acceptable d'exposition de l'opérateur (**AOEL pour Acceptable Operator Exposure Level**) (67) c'est-à-dire la quantité maximale de substance active à laquelle l'opérateur peut être exposé quotidiennement, sans effet dangereux pour sa santé et ce pour une exposition *sub-chronique* (une saison ou une année). Il est exprimé en milligrammes par kilogramme de poids corporel par jour soit en milligrammes de substance active par mètre cube soit en milligrammes de substance par litre pour les substances gazeuses selon la voie d'absorption orale, par inhalation ou par voie cutanée. C'est le NOAEL résultant d'une étude de 90 jours chez le rat/souris, soit la plus haute dose pour le modèle animal le plus sensible qui est nécessaire, pour calculer l'AOEL (en pondérant par un facteur de sécurité (FS) de 100 permettant de tenir compte des variabilités inter-espèces et intra-espèces) :

$$\text{AOEL oral} = \text{NAOEL oral} / 100 (\text{FS})$$

Le niveau acceptable d'exposition **aiguë** de l'opérateur (**AAOEL** pour Acute Acceptable Observed Exposure Level) désigne la quantité maximale de substance active à laquelle l'opérateur peut être exposé au cours *d'une journée*, sans effet dangereux pour sa santé pour une exposition aiguë, s'exprimant en milligrammes par kilogramme de poids corporel par jour (68).

Des modèles mathématiques sont utilisés pour prédire l'exposition cutanée, par inhalation et systémique des professionnels pour des scénarios « pire cas » pour les opérateurs, les travailleurs, mais également pour une exposition non professionnelle, pour les résidents et passants (niveau de prédiction au 75th percentile). Le risque aigu des pesticides possédants une **toxicité aiguë** est alors exprimé en pourcentage d'AOEL systémique avec et sans équipement de protection individuelle (EPI). L'**AOEL systémique** représente la **dose interne** quelle que soit la voie d'absorption qui est distribuée au niveau systémique exprimée en mg de substance active par kg de poids corporel par jour pour une saison ou une année. Certaines caractéristiques sont définies a priori, notamment le poids (adulte de 60kg, enfant de 10 kg), le débit respiratoire, la concentration d'air, le nombre d'hectares traités par jour, l'absorption (

Les **opérateurs** sont définis comme les agents réalisant la **préparation, l'application** sur tracteur attelé ou avec pulvérisateur manuel portatif et le **nettoyage du matériel** lors de l'utilisation des phytopharmaceutiques pendant différentes tâches : mélange, chargement, application pour le traitement des cultures (en extérieur) et pour une durée d'application de 8-10h/Jour sur maximum 3 mois par an. La référence pour les opérateurs utilisée depuis plus de 20 ans, sont les modèles UK POEM et German BBA qui ne prennent pas en compte le nettoyage du matériel. Plus récemment un nouveau modèle AOEMP permet de mieux évaluer les conditions et pratiques inhérentes à l'application. Pour le traitement des semences c'est le modèle SeedTropex qui est utilisé.

Les **travailleurs** sont définis comme ceux réalisant les **tâches de ré-entrée**, c'est-à-dire des tâches réalisées avec port d'équipement de protection après application du produit phytopharmaceutique pour une exposition maximum de 2-8h/jour. On peut citer, l'inspection, élagage, calibrage, désherbage, récolte, triage, manipulation pour le stockage...

Les **résidents** sont définis comme les personnes vivants, travaillant ou scolarisés dans le même périmètre alors que les **passants** sont définis comme les personnes à proximité de la zone en cours de pulvérisation, sans équipement de protection individuel pour une durée maximale de 24 heures. On utilise le modèle EUROPOEM II (69) ou encore Loyd and Bell (épandage à 8m) ou BREAM (épandage à 2 m et plus) comme résumé dans le **tableau 5** ci-dessous :

Professionnels exposés	Modèles publiés disponibles /date
Opérateurs	
-champ	German model (1992) UK POEM (1992) EURO POEM II (2002) AOEM agricultural operator exposure model (2013) PHED (1992)
-serre	Industrieverband Agrar (IVA)— Germany (1996)
-semences	SeedTropex (1996) Unpublished
Travailleurs réalisants des tâches de ré-entrée	German (2000) EURO POEM II (2002)
Résidents/ Passants	Loyd and Bell 1983 and 1987 (spray drift values) EURO POEM II (2002) BREAM Resident and Bystander Exposure Assessment Model (2010-2012) California EPA

Tableau 5 : Résumé non exhaustif des modèles utilisés pour le calcul de l'AOEL

Comme l'exposition professionnelle est majoritairement cutanée et respiratoire, il faut connaître le pourcentage d'absorption cutanée humain ou animale par des études *in vitro/in vivo*. Si cette dernière n'est pas accessible, on se base sur le pourcentage d'absorption orale.

$$AOEL_{\text{syst}}(\text{mg/kg/jour}) = NAOEL_{\text{oral}} \times A (\% \text{absorption orale}) / 100 \text{ (FS)}$$

Les données d'exposition sont alors comparées aux AOEL, si elles sont inférieures le produit peut être mis sur le marché (70). L'étiquetage doit mentionner les dangers et risques inhérents à la santé humaine selon le Règlement (CE) No 1272/2008 permet d'identifier les effets toxiques des produits industriels et notamment les produits classés cancérogènes, mutagènes et reprotoxiques (CMR) au travers du système de classification international harmonisé.

2.5 Toxicité des SDHi dans la littérature récente

Dans la littérature scientifique, plusieurs études encore assez rares ont souligné la toxicité de certains SDHi.

2.5.1 Toxicité chez les mammifères : la souris

A ce jour, deux études disponibles sur le fluopyram ont été réalisées par la firme elle-même.

En 2014 *Tinwell et al*(71) a étudié chez la **souris femelle** sauvage la **toxicité hépatique** non génotoxique du **fluopyram** pour des expositions de 28 jours, 90 jours et 12 mois à différentes doses 30, 150, 750 et 1500 ppm. L'activation des récepteurs CAR et PXR est notable à partir de 1500 ppm à 3, 7 et 28 jours d'exposition avec une augmentation dose dépendante de l'incidence de l'hypertrophie centrolobulaire en panlobulaire, réversible après cessation de l'exposition au fluopyram. La prolifération hépatocellulaire centro et périlobulaire mesurée à l'aide du marqueur histologique Ki67 montre une augmentation par sept significative, précoce après 3 jours d'exposition à 1500 ppm, qui se maintient par quatre et par trois à 7 et 28 jours respectivement. Pour une exposition chronique vie entière à 1500 ppm, l'incidence d'hépatocytes altérés (foci) était significative avec une augmentation de 81% contre 48% chez les contrôles, ainsi qu'une augmentation de l'incidence des adénome/carcinomes hépatiques 11/59 $p < 0,01$. L'auteur suggère donc un effet **dépendant de la dose non génotoxique du fluopyram liée à l'activation des récepteurs nucléaires CAR et PXR responsable d'une**

hypertrophie/hyperplasie hépatique et adénome/adénocarcinomes chez la souris, avec des différences entre mâles et femelles.

La même année, *Rouquié et al* (72), a étudié la **toxicité thyroïdienne** non génotoxique du **fluopyram** chez la **souris mâle** sauvage et invalidée pour les récepteurs CAR et PXR après une exposition de 3 et 28 jours à des doses différentes de : 0, 30, 150, 600, 750 et 2000 ppm (soit mg de SA/kg d'aliment/jour équivalentes à une dose 100-300 mg/kg pdc/jour) et vie entière soit 12 mois à 150 et 750 ppm. Il montra une augmentation de l'activation des récepteurs nucléaires CAR/PXR à partir de 30 ppm au travers de l'augmentation de l'activité enzymatique de ses gènes cibles CYP2b (activité protéine PROD 75 pmol/mn/mg) et CYP3a (activité protéine BQ 10 pmol/mn/mg) avec $p < 0,01$. Egalement une augmentation de la clairance de T4 à 600ppm de 2 fois supérieur (1,5 pmol/mn/mg) au contrôle (0,75 pmol/mn/mg) ainsi qu'une augmentation de la TSH par l'intermédiaire de l'augmentation du marqueur TSH β à 600 ppm de 1,5 fois le contrôle $p < 0,05$. De plus, après 28 jours d'exposition il montra une augmentation de la prolifération des cellules folliculaires thyroïdiennes à partir de 600 ppm (30), 750 ppm (35) et 1500 (50) $p < 0,01$ avec l'absence de prolifération dans les CAR/PXR KO ou les récepteurs CAR et PXR sont inactifs. Pour les études sur 12 mois, on note une faible incidence de l'hyperplasie de 20–22% soit 2/9 et 2/10 à 150 et 750 ppm et après 18 mois, une incidence de 42% (21/50 animals) et 64% (32/50 animals) à 150 et 750 ppm respectivement.

Ainsi ces études sur le **modèle murin suggèrent un mode d'action non génotoxique du fluopyram dépendant de la dose par l'activation des récepteurs nucléaires CAR/PXR induisant une prolifération cellulaire au niveau thyroïdien et hépatique.**

Les récepteurs constitutive androstane receptor (CAR) et Pregnane X receptor (PXR) sont des récepteurs nucléaires des hépatocytes et des cellules intestinales humaines impliqués dans la régulation de la transcription des gènes du métabolisme enzymatique des xénobiotiques (molécules chimiques polluantes comme les pesticides, médicaments, antibiotiques, drogues) ou drug-metabolizing enzymes (DMEs), mais également dans le métabolisme des acides biliaires, des hormones thyroïdiennes et stéroïdes. Ces mécanismes font intervenir le **cytochrome P450, et notamment CYP3A et CYP2B** pour PXR et CAR respectivement (73), (74).

2.5.2 Toxicité chez les organismes aquatiques : poisson zèbre et le xénope

En 2016 *Yang et al* (75), montra la toxicité du **thiﬂuzamide** (utilisé dans la culture du riz, , non autorisé en Union Européenne) sur le développement des embryons (mouvements spontanés, battements cardiaques, malformations), des larves (battements cardiaques, taille du corps) et adultes du poisson-zèbre(*Danio rerio*). Après 21 jours de traitement on note l'apparition de **lésions hépatiques à partir de 0.19 mg/L** (vacuoles dégénératives, nécrose) et **rénales à partir de 1.33 mg/L** (nécrose, congestion de l'interstitium rénal avec des vacuoles et tubules épithéliaux) chez l'adulte au travers d'un mécanisme d'action endommageant la SDH. En effet, le thiﬂuzamide **inhibe l'activité de la SDH à 0.19 et 1.90 mg/L $p < 0.05$** et engendre également des lésions structurelles des mitochondries. De plus, les gènes en lien avec l'expression de l'apoptose sont inhibés à 0.19 et 1.9 mg/L, pour p53, BCL2, caspases3-9 et APAF1. Cette étude suggère que la **toxicité aigue du thiﬂuzamide chez l'embryon, larve et adulte de zébra fish impliquant un mécanisme d'action via l'inhibition de la SDH et des mécanismes d'apoptose provoquant des lésions hépatiques à 0,19 mg/L.**

En 2018 *Qian et al* (76) ont évalué la toxicité du **boscalid** sur des embryons de poisson zèbre. Ce qui entraîne une augmentation du sac oedematié, oedème péricardique et une diminution des battements cardiaques avec les doses croissantes de boscalid de 1,7 à 3,20 mg/L. L'**apoptose** des cellules larvaires fut significativement observée à **0.6 et 1.2 mg/L** au niveau du corps entier et plus précisément autour du **cœur**. L'expression de plusieurs gènes impliqués dans l'apoptose fut augmentée à 1,2 mg/L de Boscalid : p53 multiplié par 2,45, bcl-2 associated X protein (bax) multipliée par 1,72, p53 upregulated modulator of apoptosis (puma) multipliée par 2,58, apoptosis protease activating factor 1 (apaf-1) multipliée par 2,91, cysteinyl aspartate specific proteinase 3 (caspase-3) multipliée par 1,84 et cysteinyl aspartate specific proteinase 9 (caspase-9) multipliée par 2,09 comparés au groupe contrôle.

Ces deux études suggèrent que **deux substances actives phytosanitaires ayant à priori un mode d'action commun par inhibition de la SDH, présentant des différences dans leur toxicité pour une même espèce. L'une inhibant l'apoptose pour le thiﬂuzamide tandis que l'autre l'induit pour le boscalid pour des doses de même ordre de grandeur.**

En 2018 *Wu et al* (77), ont étudié chez l'embryon d'amphibien *X. tropicalis*, les effets létaux et tératogènes pour une exposition de SDHi unique à différentes doses (**isopyrazam (IS)** à 4.73 22.39 105.93 501.19 2384.06 µg/L et **bixafen (BI)** à 5.17, 32.69, 188.36, 1070.01, 6120.08 µg/L) associée à la strobilurine, inhibiteur du complexe III de la chaîne respiratoire

des mitochondries. L'exposition aux SDHi et au mélange SDHi/strobilurine réduit significativement la survie des embryons et augmente le pourcentage de malformations de *Xenopus tropicalis* à partir de 300 µg/L pour isopyrazam et 100 µg/L pour le bixafen $p < 0,05$. La létalité et la tératotoxicité des 2 fongicides étaient dose dépendante. Les images morphologiques montrent de sévères malformations comme des microencéphalies et une hypopigmentation. **L'effet couplé des 2 SDHI à de hautes concentrations réduit significativement la survie**, groupe 4 (IS 501.19µg/L + BI 1070.01µg/L) survie de $82.5\% \pm 3.5$ $p < 0,01$ et groupe 5 (IS 2384.06µg/L + BI 6120.08µg/L) survie de $0.0\% \pm 0.0$ $p < 0,001$ (Table 2) et augmente le nombre de malformations selon un mode **dose dépendante**. De plus les résultats montrent que les concentrations couplées léthales (LC50) et les **concentrations tératogènes** (TC50s) étaient plus basses que celles pour chaque SDHI seul : avec LC50 IS couple 11303 < IS seul 28732.45 et BI couple 2600.08 < BI seul 18462.91. TC50 IS couple 31.98 < IS seul 314.36 et BI couple 27.90 < seul 143.43. Les valeurs des unités toxiques (UT) du mélange étaient plus basses <0.8 (UT létale 0,53 et UT toxicité 0,30) que pour les SDHI seuls **suggérant un effet synergique entre les 2 fongicides isopyrazam et bixafen**.

2.5.3 Toxicité chez l'humain : études in vitro

En 2014 Cayir *et al* (78), ont évalué la génotoxicité et la cytotoxicité potentielle du fongicide Signum et de ses substances actives (composé de 26,7% de **boscalid** et de 6,7% de pyraclostrobin) sur des cultures in vitro de **lymphocytes humains de sang périphérique sains** en phase G0 et en phase de prolifération. Les tests de génotoxicité utilisés sont les micronoyaux (MN), noyaux binuclés (BNMN), ponts nucléoplasmiques (NPB) et nuclear bud (NBUD). Pour le Boscalid, l'étude montre une **augmentation des fréquences de MN et BNMN dans les 2 protocoles comparés au contrôle**. En G0 : 2 µmol/ml $18,25\% \pm 2,39$ MN $p < 0,005$ et $16,50\% \pm 1,94$ $p < 0,05$ BNMN. En prolifération, le nombre des MN augmente à 0,25 µg/mL de $17,25\% \pm 3,07$ $p < 0,05$ et 0,5 µg/mL de $21,25\% \pm 4,85$ $p < 0,05$ tandis que le nombre des BNMN augmente à 0,5 µg/mL de $17,25\% \pm 2,04$ $p < 0,05$, 1 µg/mL de $14\% \pm 1$ $p < 0,05$ et 1,5 µg/mL de $14\% \pm 1,23$ $p < 0,05$. **La fréquence des MN et BNMN diminue avec les hautes doses de Boscalid** en G0 (6-75 µg/mL) et en prolifération (3-6 µg/mL). Pour les 2 phases, il n'y avait pas de différence de fréquences des NPB et NBUD. Les tests de cytotoxicité sont l'index de cytostase (CBPI) , pourcentage de cytostase. **Le CBPI est corrélé négativement avec l'augmentation des doses de boscalid**, avec un maximum de cytostase

de 50-60% aux doses de 75 µg/mL en Go et 6 µg/mL en prolifération. En G0, à 75 µg/mL de boscalid le CBPI est de 1,28+/-0,04 $p<0,05$ et en phase de prolifération, à 6 µg/mL de Boscalid le CBPI est de 1,19+/- 0,01 $p<0,001$. **Cette étude apparaît comme la seule retrouvée suggérant que le boscalid pourrait être un agent génotoxique sans effet dépendant de la dose chez des cellules lymphocytaires humaines de sang périphérique.**

En 2016 *Akyil et al* (79) ont traités in vitro, des **cellules humaines de lymphocytes de sang périphérique** avec 4 concentrations différentes de **Bénodanil** (250, 500, 750 et 1000 mg/ml) pendant 24h et 48 h et ont observé que le Bénodanil n'induisait pas une augmentation du nombre de micronoyaux (MN) mais une diminution de l'index de mitose nucléaire (NDI) ($p<0,05$) et apparaissait donc comme un **probable cytotoxique**. Le Bénodanil n'est plus autorisé en Europe depuis 2003.

En 2015, *Termopoli et al* (80) ont évalués la quantité de 24 pesticides par chromatographie chez 14 échantillons de **tissus cérébraux d'enfants, foetus décédés de mort inexpliquée** (mort intra utérine inexpliquée et/ou mort soudaine du nourrisson inexpliquée). Le **Boscalid n'a pas été retrouvé**, même à de très faibles concentrations ratio Q/q à 1,2 par rapport à la référence standard tolérée de 3, avec une limite de détection (LOD) de 0,03 ng/g et une limite de quantification (LOQ) de 0,17 ng/g. Les auteurs ont conclu que les composés détectés à de très faibles concentration par cette méthode suggèrent que **ces composés peuvent traverser la barrière méterno-fœtale, de plus cette méthode leur apparaît valide pour détecter le Boscalid.**

En 2018 *Zhan et al* (81), ont cherché à évaluer la cytotoxicité (viabilité cellulaire) de 2 pesticides dont un contenant un SDHI le **Fluopyroxad**, sur des **cellules humaines hépatiques** in vitro (cell HepG2 et Hepa RG). Les substances actives testées furent le fluxapyroxad, l'époxiconazole, un mélange des deux ainsi que le produit industriel Adexar (Taufkirchen, Germany) contenant des adjuvants. Les effets cytotoxiques d'Adexar (6% Fluopyroxad) étaient significatifs à de plus faibles concentrations : HepG2 75% cellules viables à 1.25 mg/L et 50% à 6,25 mg/L en comparaison avec les substances actives individuellement avec 75% cellules viables à 62.5 mg/L pour le fluopyoxad et époxiconazole. Le mélange d'époxiconazole et fluxapyroxad était le plus cytotoxique pour HepG2 et HepaRG à 62.5 mg/L et réduisant la viabilité cellulaire de 90%, tandis que le fluxapyroxad réduit la viabilité cellulaire HepG2 de 70% à la même concentration. Pour les cellules HepaRG : Adexar à 6.25 (50%) et 62.5 mg/L (5%). Le mélange epoxiconazole et

fluxapyroxad était cytotoxique à de plus hautes concentrations (62.5 mg/L) pour les cellules HepaRG, avec une viabilité de 5%, cependant aucune ne fut observée à 6.25 mg/L, comme pour le fluxapyroxad et l'époxiconazole testés séparément. Les auteurs ont conclu que les produits industriels induisent des effets cytotoxiques à des concentrations plus faibles que les substances actives seules ou en mélange, **suggérant que les effets cytotoxiques seraient associés à la présence d'adjuvants.**

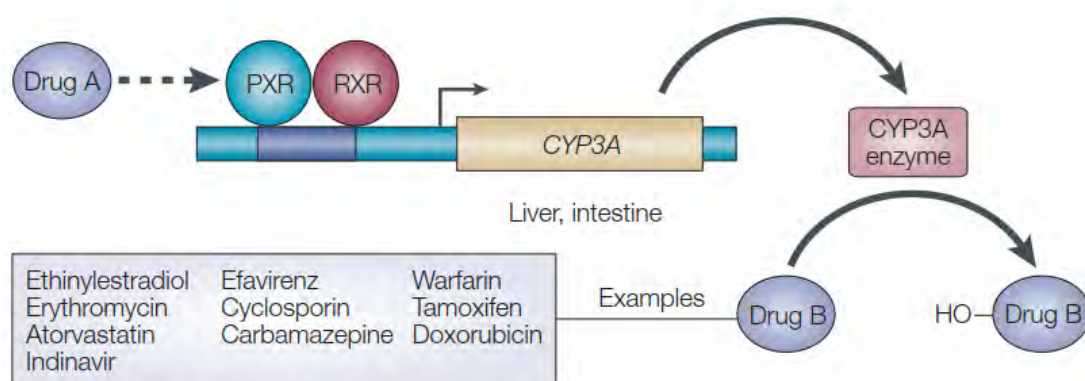


Figure 1 | **Drug-drug interactions.** The molecular basis of a drug-drug interaction. The orphan nuclear receptor PXR is a transcription factor that regulates the expression of the CYP3A gene (yellow) in the liver and intestine. It functions as a heterodimer with the nuclear receptor RXR. Drug A binds to PXR and induces expression of the CYP3A enzyme (pink), accelerating the metabolism of drug B, which is a substrate for CYP3A. CYP, cytochrome P450; OH, hydroxyl group; PXR, pregnane X receptor; RXR, retinoid X receptor.

Figure 8 : Mécanisme d'action recpeteur PXR régulant l'expression de CYP3A dans le métabolisme médicamenteux (74).

2.6 Exposition professionnelle aux pesticides

L'exposition professionnelle aux pesticides, c'est-à-dire « *du fait du travail* » fait partie plus largement de l'exposition aux produits chimiques et notamment aux produits **cancérigènes, mutagènes et reprotoxiques (CMR)**. En France, le législateur impose l'évaluation du risque chimique à l'employeur selon les *articles L. 4412-1 et R. 4412-1 à R. 4412-160 du code du travail*. Les pesticides sont principalement utilisés en **agriculture** et dans de nombreuses industries, notamment l'agro-alimentaire mais aussi pour l'entretien des espaces verts (espaces routiers, espaces ferrovières, parcs et jardins, forêts...) etc...(82) mentionnaient que

« Au total, seuls 10 % des pesticides commercialisés actuellement ont été évalués par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) ».

Plusieurs classifications des pesticides sont disponibles, rendant encore plus complexe la compréhension des effets sur la santé des pesticides. De manière non exhaustive, on peut citer en France l'INRS où malheureusement aucun SDHi n'est à ce jour évalué. La classification CLP utilisée par l'ANSES (83) comme présentée ci-dessous :

Catégories de substances CMR et définition de ces catégories au sens de la réglementation européenne CLP		
Effets / Classe de danger	Catégories	Définitions des catégories
Cancérogènes	Catégorie 1A	Substances dont le potentiel cancérigène pour l'être humain est avéré.
	Catégorie 1B	Substances dont le potentiel cancérogène pour l'être humain est supposé.
	Catégorie 2	Substances suspectées d'être cancérogènes pour l'homme.
Mutagènes	Catégorie 1A	Substances dont la capacité d'induire des mutations héréditaires dans les cellules germinales des êtres humains est avérée.
	Catégorie 1B	Substances dont la capacité d'induire des mutations héréditaires dans les cellules germinales des êtres humains est supposée.
	Catégorie 2	Substances préoccupantes du fait qu'elles pourraient induire des mutations héréditaires dans les cellules germinales des êtres humains.
Toxique pour la reproduction	Catégorie 1A	Substances dont la toxicité pour la reproduction humaine est avérée.
	Catégorie 1B	Substances présumées toxiques pour la reproduction humaine.
	Catégorie 2	Substances suspectées d'être toxiques pour la reproduction humaine.

Tableau 6 : Classification CMR utilisée par l'ANSES (83)

Aux Etats Unis, la classification de la WHO (World Health Organization) où le boscalid est référencé dans la catégorie U (84)

WHO Class		LD ₅₀ for the rat (mg/kg body weight)	
		Oral	Dermal
Ia	Extremely hazardous	< 5	< 50
Ib	Highly hazardous	5–50	50–200
II	Moderately hazardous	50–2000	200–2000
III	Slightly hazardous	Over 2000	Over 2000
U	Unlikely to present acute hazard	5000 or higher	

Details of how the WHO Classification has been aligned with the GHS Acute Toxicity Hazard Categories are presented in Part II.

Teableau 7: Classification CMR de la WHO (84)

Une troisième classification issue de l'International Agency for Research of Cancer (IARC) existe, elle prend en compte le niveau d'évidences pour classer les substances cancérigènes, selon le danger. Actuellement 1013 agents sont classés par l'IARC, aucun SDHi n'a encore été évalué à ce jour (85).

Classe d'agents	Critères de détermination du degré d'indication de risque pour l'homme et pour l'animal de laboratoire : principes généraux et particuliers de classement de l'agent dans le groupe	Nombre d'agents classés (au 26 Janvier 2018)
Agent cancérigène pour l'homme (groupe 1)	Principe général : Indications suffisantes de cancérogénicité pour l'homme. Exception : Indications pas tout à fait suffisantes pour l'homme associées à des indications suffisantes pour l'animal et à de fortes présomptions envers un mécanisme de cancérogénicité reconnu.	120 agents
Agent probablement cancérigène pour l'homme (groupe 2A)	Principe général : Indications limitées de cancérogénicité chez l'homme et suffisantes chez l'animal. Cas particulier : Indications insuffisantes pour l'homme et suffisantes pour l'animal associées à de fortes présomptions pour une cancérogénèse selon un mécanisme identique chez l'homme. Exceptions : - Seule base des indications limitées de cancérogénicité pour l'homme. - Appartenance de l'agent à une catégorie d'agents dont un ou plusieurs membres ont été classés dans le groupe 1 ou 2A.	82 agents
Agent peut-être cancérigène pour l'homme (groupe 2B)	Principe général (2 formes) : Forme 1 : Indications limitées de cancérogénicité chez l'homme et insuffisantes chez l'animal. Forme 2 : Indications insuffisantes chez l'homme et suffisantes chez l'animal. Cas particuliers : - Indications insuffisantes pour l'homme et insuffisantes pour l'animal cependant corroborées par des données sur les mécanismes notamment. - Seule base d'indications solides provenant de données sur les mécanismes.	311 agents

Agent inclassable quant à sa cancérogénicité pour l'homme (groupe 3)	Principe général : Indications insuffisantes chez l'homme et insuffisantes ou limitées chez l'animal Exception : Indications insuffisantes pour l'homme et suffisantes chez l'animal associés à de fortes présomptions pour un mécanisme de cancérogénicité chez l'animal ne fonctionnant pas chez l'homme.	499 agents
Agent n'est probablement pas cancérogène pour l'homme (groupe 4)	Principe général : Indications suggérant une absence de cancérogénicité chez l'homme et chez l'animal de laboratoire. Cas particulier : Indications insuffisantes pour l'homme associés à des indications suggérant une absence de cancérogénicité pour l'animal et fortement corroborées par des données mécanistiques et d'autres données pertinentes.	1 agent (caprolactame)

Tableau 8: Les critères de classement des agents selon le degré d'indication de cancérogénicité de l'IARC (85)

Une harmonisation des classifications à l'échelle mondiale permettrait de mieux appréhender le risque lié aux pesticides.

2.6.1 Population agricole

La population la plus exposée professionnellement aux pesticides est celle des salariés agricoles et des exploitants agricoles au sens large du terme. C'est-à-dire, des salariés saisonniers, les aidants familiaux des exploitants, mais également les salariés des industries productrices et intermédiaires de revente des phytosanitaires.

Concernant le domaine agricole, différents types de cultures existent, les grandes cultures ou monocultures de céréales, oléagineux, protéagineux, mais aussi l'arboriculture, la viticulture et également les polycultures/élevage. Elles peuvent être réalisées en plein air (en champs) ou être couvertes (serres). La France compte au **1^{er} janvier 2017** selon la Mutualité Sociale Agricole (MSA) **1,2 millions d'emplois agricoles** avec 680 000 (58%) salariés agricoles et 484 000 (42%) non salariés (chefs, collaborateur d'exploitation, chefs d'entreprises agricole ou aides familiaux) dont **110 327** soit **24% de femmes**. A noter que 80 000 soit 18% des non salariés sont dans le secteur des grandes cultures avec 64% des contrats en 2016 pour le secteur culture/élevage regroupant 143 000 établissements (74% des établissements employeurs en 2016) (86). Il existe donc une population de femmes exposées professionnellement alors qu'elles se situent dans des âges (moins de 25 ans à 49 ans) où **elles pourraient être enceintes ou désirant mener une grossesse. Cela représente 41 815 soit 38%** des 110 327 femmes exposées. Cette population vulnérable se trouvant dans la fenêtre

d'exposition périnatale, cette exposition aux pesticides pourrait avoir des conséquences pour le déroulement de la grossesse, sur le fœtus, puis l'enfant et l'adolescent à plus long terme.

2.6.2 Pesticides et cancers : données épidémiologiques

Plusieurs études épidémiologiques ont été réalisées et ont montrées une augmentation de l'incidence de cancers chez l'humain exposé aux pesticides (87), (88), (89) mais également une association avec des maladies chroniques (90) telles que la maladie de Parkinson, Alzheimer, sclérose latérale amyotrophique, diabète, maladies cardio-vasculaires et rénales.

Deux méta-analyses réalisées aux Etats Unis dans les années 90, de A. Blair en 1992 (91) et J. Acquavella en 1998 (92) dont les résultats ont été résumées par Baldi et al en 2007 (82) sont présentés ci-dessous.

Table 6 Associations between exposure to specific classes of pesticides and site-specific cancer reported by epidemiological studies		
Compounds/exposures	Cancer	Study population
Herbicides	Meningioma	Adults: women, herbicides users
Triazine	Ovary	Adults females: workers
Phenoxyacetic acids	Lymphoma, non-Hodgkin's lymphoma, soft tissue sarcomas	Adults males: sprayers, workers, manufacturers, farmers
	Breast	Adult females: husband's use and residential use
Chlorophenoxy	All cancers combined and lymphomas	Children: parental pesticide application practice
Glyphosate, carbamates	Non-Hodgkin's lymphoma	Adults: farmers
Insecticides		
Arsenical	Lung, skin	Adults: workers, farmers
Organophosphates	Lymphoma, non-Hodgkin's lymphoma, leukemias	Adults: workers, farmers
	Leukemia	Children
		Children: maternal exposure during pregnancy
	All cancers combined and lymphomas	Children: parental pesticide application practices
Methyl bromide	Prostate	Adult males: farmers, nursery workers
Organochlorines	Lymphomas, leukemia, soft tissue sarcomas, pancreas, breast, lung, neuroblastomas	Adult males and females: workers, farmers
	Brain	
	Brain	Children: lice infestations treatment
γ -Benzene hexachloride shampoo	Testicular germ cell tumors	Adults males: US armed forces
p,p'-DDE, chlordane	All cancers combined and lymphomas	Children: parental pesticide application practices
Pyrethroids, synthetic pyrethrins		Children: fleas and ticks home treatment
	Brain	Children: lice infestations treatment
Pyrethroid-based shampoo	Leukemia	
Parental use of insecticides and fungicides, indoor professional pest control services	Brain, bone, leukemia	Children: <i>in utero</i> exposure and during childhood

Tableau 9 : Associations entre exposition à des classes de pesticides et les types de cancers issus d'études épidémiologiques (88).

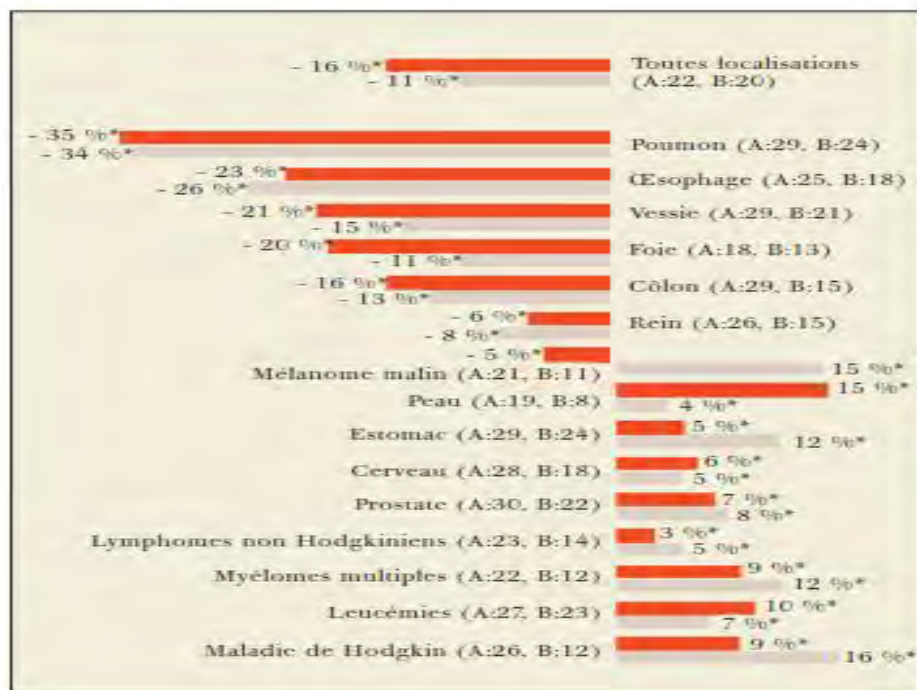


Figure 9 : synthèses des métaanalyses sur le risque de cancer en milieu agricole par A.Blair (1992) et J. Acquavella (1998) (82)

En France, on peut notamment citer les **études épidémiologiques Françaises AGRICAN** relatives aux questions de santé des professionnels agricoles, cohorte comptant plus de 180 000 participants suivis sur 5 ans. En 2017, *Lemarchand et al* (93) rapporte 11,067 cas incidents de cancers (7,304 hommes et 3,763 femmes). Les résultats montrent une diminution des cancers liés au tabac et une **augmentation des cancers hormonodépendants chez l'homme le cancer de la prostate** HR 1.20 [1.01–1.42] $p < 0,01$ en 2016 (94). Egalement d'autres pathologies sont représentées à la hausse avec notamment les hémopathies comme **le myélome multiple** RIS 1.49 [1.19-1.84], **le lymphome non Hodgkinien** RIS 1.09 [1.01-1.18] **et le mélanome** RIS 1.23 [1.05-1.43].

La même année, l'étude de *Piel et al* (95) a pour objectif d'évaluer l'incidence des tumeurs cérébrales chez les agriculteurs exposés aux pesticides de 13 cultures et 5 élevages. Sur les 180 000, 123,085 ont été exposés aux pesticides (soit 72 % des participants). Une **augmentation du risque de tumeur cérébrale est montrée pour les utilisateurs de pesticides (HR 1.96; IC 1.11–3.47)** surtout pour les méningiomes des éleveurs porcins avec 23/42 (54.8%) HR 2.282(1.14–4.58), pour les agriculteurs de tournesol avec 6/40 (15%) HR 3.562(1.44–8.82), betteraves avec 18/43 (41.9%) HR 2.542(1.31–4.90), pommes de terre

HR53.09 (1.06–9.03). En 2018 *Pouchieu et al* (96), chercha à évaluer l'association de la maladie de Parkinson et l'exposition des 149 810 participants exposés aux pesticides. (Insecticides : rotenone ; herbicides : paraquat, diquat ; fongicides : dithiocarbamates (cupreb, ferbam, cuprobam, mancopper, mancozeb, maneb, metiram, propineb, thiram, zineb, ziram) Il retrouva une **prévalence de 1732 cas (1.2%) de maladies de Parkinson avec une augmentation du risque pour tous les domaines** d'activités OR 1.31 blé/orge, OR 1,34 vigne, OR 1,45 colza et fruits, 1.79 pois avec $p < 0.05$. Une augmentation du risque avec l'exposition à la rotenone 42/4916 OR 1.57 [1.08, 2.29] ainsi que plusieurs dithiocarbamates.

Il existe bien évidemment en France, des **maladies professionnelles** associées à l'exposition de pesticides, notamment les **tableaux 8,11,13,23,58,59 du régime agricole** dont la maladie de Parkinson et les hémopathies malignes (97).

2.6.3 Pesticides et études de métrologie

Les pesticides sont manipulés par les professionnels au cours des tâches du **transport**, de **préparation de la bouille** pour l'isoproturon (herbicide) en grande culture céréalière (blé, orge) (98), également lors du **chargement de l'outil pulvérisateur, de l'application du pesticide (épandage) et pendant le nettoyage du matériel** utilisé (99). Mais ils peuvent également être exposés pendant les tâches dites de **ré-entrée (inspection, taille, récolte)** pour les thiocarbamates en viticulture (100), pour 15 substances actives en floriculture (101). L'exposition dépend également de nombreux facteurs comme **la durée, de la forme du produit utilisé** (liquide, granulés, en suspension) de la **concentration en substance active** (concentrée ou diluée), des **conditions météorologiques** (vent, température élevée). Sans compter la possibilité de **transformation d'une substance active d'une phase chimique en une autre, en fonction des conditions environnementales et des propriétés physicochimiques spécifiques** schématisés par Armenta et al en 2016 (102). Le tout rendant encore plus complexe la compréhension de l'exposition professionnelle aux pesticides en extérieur et en intérieur.

Il ne faut pas oublier que l'exposition dépend également **du matériel utilisé, du port ou non d'équipements de protection individuels (EPI) adaptés**. Afin de réaliser les tâches d'application des pesticides plusieurs matériels sont disponibles. Des pulvérisateurs à rampe qui projettent la substance, ils sont souvent attelés à un tracteur avec ou sans cabine. Horizontaux, ils sont très utilisés dans les grandes cultures et verticaux en arboriculture et

viticulture. Des pulvérisateurs portatifs en sac à dos pour l'application manuelle avec lance. Plusieurs études ont déjà évalué l'exposition professionnelle à différents pesticides montrant que la **voie cutanée est plus contaminantes que l'inhalation** (100). Par ailleurs pour l'exposition cutanée, les parties du corps les plus contaminées dépendent du type de tâche réalisée ainsi que la présence ou non du port d'équipement de protection individuel, mais également du type de pulvérisateur utilisé (98), (99) pendant l'application. A noter qu'il existe peu d'études ayant évalué l'absorption cutanée humaine des pesticides, on peut citer R.J. Feldmann (103) en 1974, qui montra une forte absorption cutanée au niveau génital, des creux axillaire, des canaux auditifs et du front, qui sont donc des zones à protéger en priorité. En effet, ces tests métrologiques quantitatifs évaluant l'exposition externe, reflètent plus précisément l'intensité d'exposition aux pesticides.

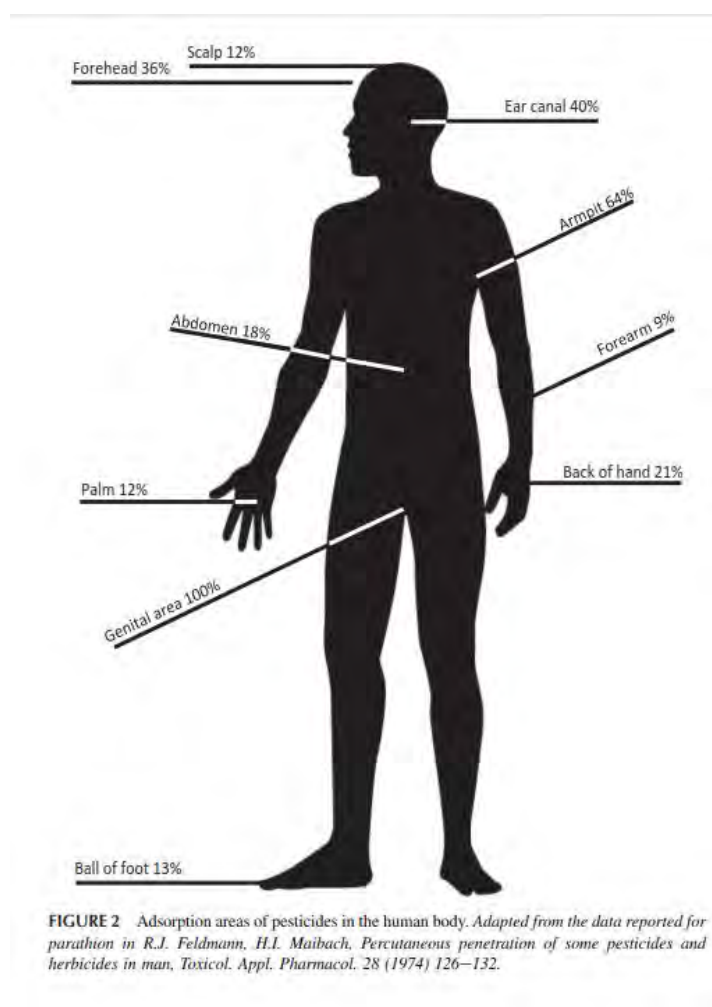


Figure 10 : Pourcentage d'absorption des pesticides selon les parties du corps humain issu de Armental et al (102).

L'évaluation directe de la dose interne n'est pas encore généralisée au niveau professionnel pour les pesticides, très probablement en raison de la difficulté de choix d'un test de **biométrie** (urinaire, sanguine, phanères) encore à identifier comme valide, reproductible et fiable (sensibilité, spécificité, limite de détection) pour le diagnostic et le suivi des professionnels. Compte tenu de la complexité de leur exposition multimodale aux pesticides et des propriétés physicochimiques très diverses (demi-vie, lipo ou hydrosoluble, métabolisme...) de ces derniers. Cette évaluation semble une des priorités à mettre en œuvre dans un futur proche du fait que les substances actives sont pour la plupart des pesticides diluées et mélangées aux autres additifs et adjuvants à de l'eau. On retrouve cependant plusieurs études ayant estimé l'exposition interne par des tests de biométrie, notamment récemment dans les urines : paraquat (104), organophosphates et métabolites (105), (106), (107), par inhalation pour les organophosphates (108). Aucune étude d'exposition professionnelle utilisant les tests capillaires n'est disponible actuellement.

2.6.4 Evaluation et moyens de prévention du risque lié aux pesticides

L'ensemble des caractéristiques chimiques et toxicologiques de chaque pesticides est disponible sur la base de données de l'UPA, la Pesticide Property Data Base (109) ou encore sur l'EU Pesticide Data Base (110). On peut également utiliser en France, le site E phy (111) permettant de connaître le nom des produits commerciaux contenant une substance active. Enfin, les fiches de données de sécurité (FDS) obligatoirement transmises par le fournisseur, permettent notamment de connaître les effets sur la santé, l'environnement mais également les équipements de protection individuels (EPI) adaptés (112) Majoritairement, les tâches de manipulation des pesticides nécessitent au minimum le port de gants en nitrile (réutilisables EN 374-3 ou à usage unique EN 374-2) jusqu'au port d'une combinaison intégrale de protection chimique de type III 3 ou 4 (EN 14605+A1) avec bottes (EN 13832-3) et masque avec filtre (EN 166) pendant les tâches de pulvérisation manuelle. Ces préconisations sont déjà largement diffusées en France, au travers des campagnes de prévention, des formations et du suivi médical réalisé par les SST de la MSA. A noter que les outils de prévention collective sont bien évidemment plus efficaces mais beaucoup moins mis en place.

Par ailleurs les efforts en matière d'information et prévention des professionnels agricoles sont toujours au cœur des préoccupations des professionnels de la santé au travail. Que ce soit au travers de sensibilisations répétées, de la multiplicité des supports d'information, des

formations dispensées et bien évidemment d'études de terrain qualitatives et quantitatives permettant d'appréhender les conditions de travail réelles. Elles sont nécessaires et doivent être poursuivies avec assiduité de manière perenne, seuls véritables outils de prévention primaire.

3. METHODE

3.1 Définition du sujet

Un travail en collaboration a été établi, réunissant deux toxicologues de l'INRA et moi-même médecin issue de la spécialité de médecine du travail pendant le premier semestre de l'année 2019. La méthodologie choisie pour réaliser cette revue systématique de la littérature a été validée par le directeur de thèse. Nous avons donc utilisé la **méthodologie PRISMA** traduite en Français (113) présentée en **Annexe 1**.

Pour la première étape essentielle de définition du sujet de cette revue de la littérature, nous avons utilisé le **modèle PICO** pour Population Intervention Comparaison Outcomes permettant de définir précisément les axes de notre travail. Les mots clés, synonymes et termes associés après recherche dans le **CISMEf**, mais également les termes synonymes et les MeSH en rapport avec chaque élément du PICO a été recherché en français et en anglais comme présentée en **Annexe 2**.

3.2 Organisation de la recherche

Pour la réalisation de ce travail de revue de la littérature, nous avons choisi les trois principales bases de données électroniques d'articles scientifiques publiés : **Pubmed, Sciences direct et Cochrane review**, Les équations de recherche utilisées étaient constituées d'une combinaison de deux ou trois blocs de mots clés et synonymes prédéfinis antérieurement, en rapport avec notre sujet : « succinate dehydrogenase », « SDH », « succinate dehydrogenase coenzyme q reductase », « electron transport complex II », « inhibition », « deficien* », succinate accumulation », succinic acid », « DNA methylation », « histone methylation », « epigenetic », « pseudohypoxia », « Bixafen », « Boscalid »,

« Benodanil », « Fenfuram », « Furametpyr », « Flutolanil », « Fluopyram », « Fluxapyroxad », « Isopyrazam », « Isofetamid », « Mepronil », « oxycarboxin », « Penthipyrad », « Pydiflumetofen », « Penflufen », « Sedaxane », « thifluzamide », « occupational », «human toxicity », « acute exposure », « protracted exposure » (**Annexe 3**).

Pour la recherche de documents dans la **littérature grise**, nous avons recherché sur les sites internet, les rapports officiels de plusieurs grandes instances publiques nationales et internationales : **Mutualité Sociale et Agricole (MSA)**, **ANSES**, **Eurostat**, **US EPA**, **FRAC**, **Assemblée Nationale**.

La recherche bibliographique a été effectuée pendant 3 mois, de Février à Avril 2019 par une seule opératrice, la rédactrice de cette thèse. Nous avons utilisé le logiciel de gestion de ressources bibliographiques **ZOTERO**.

3.3 Sélection des études

Une fois les articles éligibles identifiés, les doublons ont été supprimés au moyen du logiciel de gestion bibliographique ZOTERO. La première étape de la sélection a consisté à rechercher les critères d'inclusion et d'exclusion dans le titre et le résumé. Nous avons pu ensuite entamer la deuxième phase de sélection des articles après recherche et lecture complète du texte intégral par un seul opérateur. Nous avons pour chaque article veillé à ce qu'il remplisse les critères d'inclusion présentés ci-dessous.

Critères d'inclusion

- Inhibition de la SDH chez les hommes et animaux et ses conséquences métaboliques et épigénétiques
- Etudes d'exposition professionnelle aux pesticides incluant au moins un SDHi
- Type d'étude : épidémiologiques et expérimentales (in vivo ou in vitro)

Critères d'exclusion

- Article en langue autre que français et anglais
- Mode d'action d'inhibition de la SDH chez les végétaux
- Etudes toxicologiques issues des entreprises productrices
- Mécanisme d'action portant sur les autres complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale

- Mécanisme génétique d'inhibition de la SDH par mutation d'un ou plusieurs gènes de la SDH
- Traitements et chimiothérapies
- Texte intégral non disponible
- Etude produite par l'industrie des pesticides

Cette démarche de sélection des articles est décrite au moyen du diagramme de flux issu de la méthodologie PRISMA (**Figure 11**) présentée dans les Résultats p52.

L'extraction des données a été réalisée en utilisant une grille préétablie ou fiche de lecture validée par le directeur de thèse et les collaboratrices, présentant les informations suivantes : nom de l'auteur, année de publication, nom de la revue, référence bibliographique, type d'étude et objectifs, description de la population ou modèle utilisé, résultats principaux, échelle d'évaluation méthodologique utilisée et score associé. Cette extraction des données a été réalisée par un seul opérateur, le rédacteur de cette thèse.

3.4 Analyse des données

3.4.1 Types de données analysées

Nous avons recherché dans les articles sélectionnés concernant la première problématique sur le mécanisme d'action les différentes données qualitatives (Western Blot) ou/et quantitatives (moyenne +/- dérivation standard, pourcentages, ratios) avec les précisions correspondantes (p) suivantes : activité enzymatique de la SDH, de la PHD, niveau de concentration de succinate, du facteur HIF1 α et niveaux de déméthylation ou hyperméthylation des Histone et/ou de l'ADN.

Pour la seconde problématique concernant l'utilisation et la toxicité chez l'homme dans un contexte d'exposition professionnelle aux SDHi nous avons recherché les données qualitatives et quantitatives suivantes : données de ventes des SDHi en tonnage/an, fréquences professionnelles d'exposition aux SDHi, niveau d'exposition professionnelle cutanée et respiratoire en mg/jour ; AOEL en mg de SA/kg de poids du corps/jour.

3.4.2 Evaluation de la qualité méthodologique des études

Le contrôle de la qualité des études sélectionnées a été réalisé en double lecture à partir de plusieurs grilles d'évaluation standardisées en fonction du type d'étude. Pour les études observationnelles : transversale pour avons utilisé la grille **STROBE** (114). Pour les 3 études de séries de cas nous avons utilisés **CARE** checklist (115). Pour les études expérimentales in vitro cellules nous avons utilisé Science in Risk Assessment and Policy **SciRap** (116). Reporting checklist (Exemple en **Annexe 6**) et enfin pour les rapports officiels issus de la littérature grise nous avons utilisé la chacklist **RIGHT** (117) pour les avis d'ANSES et les rapport d'expert , présentées dans le **tableau 10** ci-dessous.

Nous avons additionné les items retrouvés à la lecture des différents types de documents analysés aboutissant à un score final (**Annexe 4**). Après consensus entre la rédactrice de cette thèse et la seconde lectrice, une des toxicologues de l'INRA de Toulouse nous avons inclus tous les documents.

Design de l'étude	Outil d'évaluation de la qualité méthodologique	Score qualitatif
Expérimentale in vitro	SciRap reporting checklist	/50
Avis d'expert	RIGHT check list	/35
Transversale	STROBE	/22
Série de cas	CARE checklist	/30

Tableau 10 : Outils d'évaluation méthodologiques utilisés par type d'étude

4. RESULTATS

4.1 Sélection des articles

Au terme de la recherche dans les trois principales bases de données bibliographiques PUBMED, Science Direct et Cochrane Review, nous avons identifié 461 articles. 36 doublons ont été exclus par l'intermédiaire du logiciel ZOTERO. Au travers de recherches issues de la littérature grise comme MSA, ANSES, EFSA, US EPA nous avons identifié 24 rapports. Les critères d'inclusion et d'exclusion ont été recherchés parmi les 451 articles éligibles dans le titre et résumé. A l'issue de cette première sélection, 438 Articles ont été exclus car ne remplissant pas les critères d'inclusion et/ou remplissaient les critères d'exclusion. 25 documents sélectionnés dont 8 études expérimentales in vitro (**Annexe 5**), 13 rapports d'experts ; 1 étude transversale et 3 études de cas ont été analysés. Les 25 documents ont ainsi été inclus après consensus entre les deux lectrices.

Le diagramme de Flux ci-dessous résume l'ensemble de la démarche de sélection des articles : (**figure 11**)

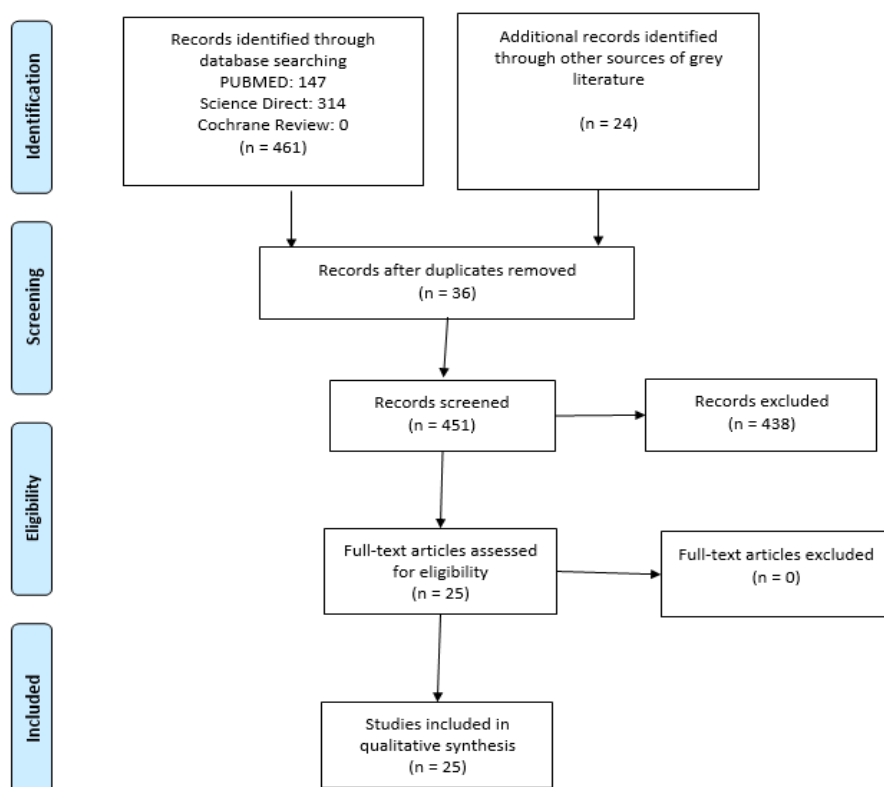


Figure 11 : Diagramme de flux représentant la méthodologie et les résultats de la sélection des articles inclus dans la revue de la littérature

4.2 Mécanismes d'inhibition de la SDH chez l'animal et l'homme

Nous avons retrouvé 8 études expérimentales in vitro :

En 2007 MacKenzie et al (118), ont montré chez des **cellules humaines HeLA** (lignée cancéreuse) in vitro après mesure de l'activité de la PHD en conditions de normoxie, par quantification de l'hydroxylation de *HA-ODD* (en présence de Fe²⁺ et ascorbate), que la présence de succinate à une concentration constante de **1 mM** causait l'inhibition de l'activité de la PHD par une baisse de l'hydroxylation HA-ODD. L'augmentation des doses d' α ketoglutarate, de 0.1 à 1 mM stimulerait selon un mode concentration dépendante l'activité de la PHD par augmentation de HA-ODD hydroxylées visibles au Western Blot. Ces résultats démontrent que le succinate inhibe la PHD et que l' α ketoglutarate peut réverser cette inhibition in vitro. **Le succinate apparaît donc comme un inhibiteur compétitif de la PHD à une haute concentration de 1mM. (Annexe 6)**

En 2009 Cervera et al(119), chercha à déterminer dans son étude expérimentale in vitro comment les histones pouvaient être modifiées dans les conditions normoxiques d'inactivation de la SDH chez plusieurs **modèles humains : Hep3B** (issues de carcinome hépatocellulaire) et **HT1080** (issues de fibrosarcome) et **animal : cellules PC12 de rat** (atteint de phéochromocytome). Après exposition à un inhibiteur pharmacologique de la SDH : 500 μ M de 2-thenoyltrifluoroacetone (TTFA) pendant 24h, l'analyse par Western Blot de la méthylation des histones H3 sur les résidus K9, K27, K36 a été réalisée. On remarque une augmentation de la méthylation des résidus d'histone 3 pour toutes les lignées testées, de plus l'augmentation est dépendante du type de cellules : Hep3B : H3K9me3 **x1,5**, H2K27me3 **x1,9**, H3K36me2 **x4,5** . Pour HT1080 : H3K9me3 **x1,2**, H2K27me3 **x1,3** , H3K36me2 **x2**. Pour PC12 : H3K9me3 **x2**, H2K27me3 **x1,9**, H3K36me2 **x2**. Ainsi **l'inhibition aigue pharmacologique de la SDH entraine une hyperméthylation des histones H3 (K9,K27,K36) chez l'homme et l'animal avec des profils différents selon les types cellulaires**. Ces résultats ont ensuite été comparés avec le profile d'hyperméthylation des histones de cellules humaines HEK293 (cellules embryonnaires rénales) avec mutation silencieuse s'exprimant par une inhibition transitoire de la SDHD et de la SDHB après plus de 72h-96h. Ainsi on constate également une **augmentation de la méthylation des résidus K27 par 1,8 pour le mutant SDHD et par 1,4 pour le mutant SDHB ; pour les résidus K36, par 4 pour le mutant SDHD et par 2,5 pour le mutant SDHB** par rapport au contrôle

positif. L'étude montra également **la réversibilité du phénomène d'hyperméthylation des histones H3K27 pour les cellules Hep3B** par l'augmentation de l'activité des histones déméthylases jmjd3 chez les mutants SDHB par diminution de l'hyperméthylation des résidus H3K27 au western blot. (Annexe 7)

En 2012 Xiao et al (120), tenta de comprendre comment le succinate engendrait des modifications épigénétiques. Ils exposèrent à des doses croissantes de succinate : 0,5 mM (physiologique), puis 1 mM et 3 mM (hautes concentrations). Les niveaux d'activité d'histones déméthylases ont été mesurés chez deux **modèles cellulaires humain et animal (ver de terre *Caenorhabditis elegans*)**. Pour le modèle animal, l'histone déméthylase CeKDM7A qui reconnaît les résidus H3K9me1 et pour le modèle humain, l'histone déméthylase HsKDM4A qui reconnaît résidus H3K36me3. Il apparaît que le **succinate inhibe l'activité des KDMs α -KG-dependent in vitro**. Pour KDMA7 on note une diminution de >80% de la déméthylation pour les doses de succinate à de hautes concentrations : 1 mM, 3 mM et 10 mM. Pour KDMA4, l'addition de succinate à 1 mM l'inhibe à 43%, à 3 mM à 68% et à 10 mM à 85%. Les résultats montrent que le succinate est plus puissant que le fumarate pour inhiber HsKDM4A avec une concentration inhibitrice à 50% maximale (IC50) de 0.8 mM contre 1,5 mM pour le fumarate.

De plus, l'étude montra que l'exposition à des doses de 5 mM de méthylsuccinate (capable de rentrer dans les cellules) chez **l'homme : HeLa (cellules cancéreuses) et HEK293T(embryonnaire rénale)** entraînait une **augmentation de la méthylation des histones**. En effet, les ratios de succinate / α KG étaient tous élevés. Pour HEK293T on note une augmentation de la monométhylation d'H3K4 par 4, pour H3K27 par 4 et pour la diméthylation d'H3K79 par 3, pour la triméthylation d'H3K4 par 2. Pour HeLa, les résultats étaient similaires. Enfin, l'étude montra que pour les cellules perméables au succinate, avec accumulation de ce dernier, **HIF1 α était augmenté**, tandis que **l'endostatine diminuait** dans les deux types de cellules humaines via l'inhibition de l'activité enzymatique de la PHD2 et de la C-P4H, respectivement. Ces résultats ont été comparés à l'inhibition des gènes FH et SDHA/SDHB par micro ARN montrant des résultats similaires : une augmentation de la méthylation des histones H3K4, H3K9 et H3K79 (par 3 à 5); une accumulation d'HIF1 α (par 5) et une diminution d'endostatine (par 7). Ces résultats motrent que le **succinate et le fumarate à de hautes concentrations agissent comme des inhibiteurs compétitifs des**

dioxygénases α -KG dependents, incluant KDMs, PHDs et C-P4Hs. Cette inhibition est responsable d'une augmentation d'HIF1, hyperméthylation des histones et diminution d'endostatine pour les cellules humaines HeLa et HEK293T. (Annexe 8)

En 2013 *Sciavelli et al* (121), montra dans un premier temps que l'inhibition de la chaperone TRAP1 chez plusieurs modèles de cellules cancéreuses humaines (shTRAP1) dans lesquelles elle s'exprime **diminue la prolifération des cellules SAOS-2 (osteosarcome), HCT116 (cancer colorectal) et HeLa (cancer du col utérin) à 1 au** par rapport au contrôle de 12 au. De plus, la faculté de former des masses chez les cellules SAOS-2 après injection de shTRAP1 chez des souris saines, est largement diminuée avec des tumeurs de 2mm de diamètre après 21 jours d'inhibition de TRAP1 contre 10 mm de diamètre pour le contrôle. (Figure 2D). Parallèlement, l'expression de TRAP1 chez deux types cellulaires humains que sont cellules épithéliales prostatiques RWPE1 (1 au) et fibroblastes MF (8 au) montrent l'acquisition de la capacité à former des colonies. L'inhibition de l'expression de TRAP1 chez les cellules prostatiques RWPE2 abolit leur prolifération (4 contre <1 au).

Par ailleurs, la **technique d'immunoprécipitation (IPCI et DTBP) montre que TRAP1 se fixe sur la sous-unité SDHA et inhibe ainsi l'activité enzymatique de la SDH** (diminution de la concentration de DCPIP) sur plusieurs modèles humains **SAOS-2 Figure 4AB, MEFs figure 4C et cancer colorectal** stade I-III Figure 4 montrant une diminution de l'activité du complexe II de manière **réversible**. De plus, le niveau de succinate intracellulaire a été retrouvé augmenté seulement chez les cellules surexprimant TRAP1 démontrant que les conditions de pseudo-hypoxie générées par la présence de TRAP1 suffisent à stabiliser HIF1. **Ces résultats attestent que TRAP1 inhibe la SDH engendrant l'accumulation de succinate permettant la stabilisation d'HIF1 α , concourant à la tumorigénèse(Annexe 9).**

En 2014 *Guzzo et al* (122), montra que l'inhibition de la TRAP1 chez des cellules humaines l'exprimant : **SAOS-2 (osteosarcome) et HeLa (cancer du col utérin) causait une augmentation intracellulaire de la génération d'espèces actives de l'oxygène (EAO) de plus de 1,4 et 1,6 fois $p<0,05$ respectivement et d'anions superoxydes de 225 a.u et 240 a.u $p<0,05$ respectivement.** Alors que chez l'animal, la surexpression de TRAP1 chez les **fibroblastes d'embryons de souris MEFs diminue le niveau de ROS et d'anions superoxydes de 30% $p<0,05$.** L'étude montra que l'inhibition par TTFA se fixant sur les su B/D de la SDH, engendrait une diminution de la viabilité cellulaire chez les cellules avec de

bas niveaux de TRAP1 (shTRAP1 cancer cells de 50% et mock MEFs de 25% $p < 0,05$), même protégées par NAC. De plus en inhibant par une cyclosporine (CsA) le PTP avec un niveau bas de TRAP1, l'étude montra une abolition de la mort cellulaire. Les niveaux de TRAP1 étaient inversement corrélés avec l'ouverture du PTP. En conséquence, **l'inhibition de TRAP1 augmente la sensibilité de PTP au Ca^{2+} chez les cellules cancéreuses TRAP1 mais inhibe son ouverture chez les cellules MEF**. Les niveaux élevés de EAO étaient visibles chez les cellules shTRAP1 surtout à 15 jours de 100 à 170 ua $p < 0,05$. En miroir, la sur expression de TRAP1 chez cellules MEF entraîna une abolition des EAO à 80 ua $p < 0,05$. A noter que les cellules avec de bas niveaux de TRAP1 étaient incapables de former des colonies. Les auteurs montrèrent que **l'activité anti-oxydante de TRAP1 est causée par l'inhibition de la SDH au niveau de la sous-unité SDHA entraînant une diminution de la formation d'espèces actives de l'oxygène dépendant de l'ouverture du pore perméable de transition (PTP) et ainsi cette activité antioxydante concoure à la tumorigenèse in vitro (Annexe 10).**

En 2016 *Laukka et al* (123), montrèrent l'habileté du succinate et fumarate en conditions in vitro et in vivo dans l'inhibition de l'activité catalytique des enzymes TETs chez l'homme des cellules issues de **neuroblastome SK-N-BE(2)**. In vitro, il apparaît que le succinate inhibe à 50% (IC_{50}) l'activité de TET1 à $540 \pm 100 \mu\text{mol}$ et TET2 à $570 \pm 190 \mu\text{mol}$ et apparaît efficace en deuxième place après le fumarate. In vivo, après exposition des cellules SK-N-BE(2) à du diméthylsuccinate (DMS) on nota une **augmentation** nucléaire et cytosolique de **succinate** à 285 ± 65 $p < 0,001$ et à 255 ± 15 $p < 0,001$ respectivement ; **soit une augmentation de 3 fois dans le cytosol et le noyau** (contrôle 100 ± 10). Après exposition des cellules à des niveaux croissants de succinate de 200 à 5000 μM , on note une diminution de 5-hmC de 10% en conditions de normoxie pour 5000 μM de succinate $p < 0,05$. On note également une légère augmentation de l'induction d'HIF2 α , mais pas d'HIF1, pas de modification des TET1-3 et une diminution de l'expression de VEGF à 30% à 5000 μM de DMS. Les auteurs concluent que le **fumarate et succinate peuvent réguler les niveaux globaux des 5-hmC et ainsi induire des facteurs d'induction de l'hypoxie via l'inhibition des enzymes TETs (Annexe 11).**

En 2017 *Wentzel et al* (124), voulurent démontrer les effets de hautes concentrations de succinate et fumarate sur la viabilité cellulaire, génotoxicité, l'apoptose/nécrose et sur la méthylation de l'ADN sur des cultures **cellulaires humaines in vitro HepG2** (carcinome hépatocellulaire). La **viabilité cellulaire** à 0,5 mM de succinate diminue de 15% $P < 0.01$ est

reste stable jusqu'à 3mM diminue à puis **20% à 5mM** de succinate avec $P < 0.001$. Pour la **génotoxicité** (Quantification de l'ADN endommagé avec test Comet : % train d'ADN) on note une augmentation à partir de 3mM de succinate à 20% et **à 5mM de succinate à 35% avec $P < 0.001$** . De plus la morphologie des cellules à 0.5 mM de succinate était comparable au contrôle alors que les membranes cellulaires exposés à des concentrations de **5 mM de succinate semblaient présenter des élongations, et différer des contrôles**. L'évaluation de l'apoptose par fluorescence rouge et verte montre que **plus d'un quart (27.2%)** des cellules exposées à 5 mM de succinate montrent des marqueurs d'**apoptose** tandis que **8.79% semblent être en apoptose retardée ou en nécrose**.

De plus, une **augmentation de l'activité des caspase 3 et 7 de 25,8% après exposition à 5 mM de succinate pourrait induire un mécanisme d'apoptose**. L'analyse de la méthylation par test comet des îlots CpG montre qu'à 0.5 mM et 3 mM de succinate pendant 24 h, montre qu'aucune différence n'est observée avec le contrôle. Alors **qu'à 5 mM de succinate on observe une significative hyperméthylation de l'ADN (~82%) $p < 0,001$, comparé au control (57%)**. Les auteurs concluent qu'une **exposition à de hautes concentrations de succinate à 5mM chez HepG2 entraine une activation du mécanisme d'apoptose et des modifications épigénétiques par hyperméthylation de l'ADN (Annexe 12)**.

En 2019 *Fuhrmann et al* (125), montra que chez l'homme sur des cellules THP1 (monocyte issus d'une leucémie monocyte aigue) l'inhibition de l'activité de la SDH par l'atpenin A5 (AA5), de 0,18 à 0,005 mmol/min/ μ L (**70% d'inhibition de l'activité de la SDH**) engendre une **augmentation de succinate**. L'analyse au Western Blot d'HIF-1 α montre en conséquence une **accumulation temps dépendant d'HIF-1 α** , dès 1 h d'exposition avec une intensité d'activité 200 $p < 0,05$ et pendant les 2–4 h suivantes avec 400 à 3h et 500 à 4h $p < 0,05$. Les résultats montrent que **chez les cellules humaines THP1 l'inhibition de la SDH par AA5 stabilise HIF-1 α et augmente l'expression des gènes cibles d'HIF1 α à savoir Glut1, BNIP3, and IL-1 β (Annexe 13)**.

Auteur Date publi	Modèle cellulaire	Résultats	Score SciRAP
MacKenzie 2007 [118]	Humain : HeLa (carcinome col utérin)	-Le succinate inhibe la PHD de manière compétitive à une haute concentration 1mM.	35/50
Cervera 2009 [119]	Humain : -Hep3B (carcinome hépatocellulaire) -HT1080 (fibrosarcome) -HEK293 (cellules embryonnaires rénales) Animal : -Rat cellules PC12 (phéochromocytome)	-Augmentation de la méthylation de toutes les histones de tous les types cellulaires dans les conditions d'inhibition de la SDH : <u>Pour Hep3B :</u> H3K9me3 x1,5 , H2K27me3 x1,9, H3K36me2 x4,5 . <u>Pour HT1080 :</u> H3K9me3 x1,2 , H2K27me3 x1,3 , H3K36me2 x2. <u>Pour le rat PC12 :</u> H3K9me3 x2, H2K27me3 x1,9 , H3K36me2 x2. -Pour <u>HEK293 avec mutations silencieuses</u> : Mutation SDHD après 72h : H3K27me3 x 1,8, H3K36me2 x 4 Mutation SDHB après 96h : H3K27me3 x1,4 , H3K36me2 x2,5 -Réversibilité des profils d'hyperméthylation des histones H3K27me3 pour cellules Hep3B avec mutation SDHB par augmentation de l'activité des histones déméthylases Jmjd3.	32/50
Xiao 2012 [120]	Animal : ver de terre <i>Caenorhabditis elegans</i> ; histone déméthylase CeKDM7A qui reconnaît résidus H3K9me1 Hmain : HeLa (cellules cancéreuses) et HEK293T(embryonnaire rénale) histone déméthylase HsKDM4A qui reconnaît résidus H3K36me3	-le succinate inhibe les déméthylases KDM α KG dépendantes in vitro : Pour KDMA7 on note une diminution de >80% de la déméthylation pour les doses de succinate à 1 mM, 3 mM et 10 mM . Pour KDMA4 , l'addition de succinate à 1 mM l'inhibe à 43% , à 3 mM à 68% et à 10 mM à 85% - les ratios de succinate / α KG étaient tous élevés . Pour <u>HEK293T</u> on note une augmentation de la monométhylation d'H3K4 par 4, pour H3K27 par 4 et pour la diméthylation d'H3K79 par 3, pour la triméthylation d'H3K4 par 2. Pour <u>HeLa</u> : les résultats étaient similaires - <u>Methylsuccinate</u> : augmentation d'HIF1 α , diminution d'endostatine. - résultats similaires à l'inhibition des gènes de la SDHA/B pour les 2 types cellulaires.	40/50
Sciacovelli 2013 [121]	Humain : SAOS-2 (ostéo-sarcome) HCT116 (Carcinome colorectal ou CCR) RWPE1/RWPE2 (Carcinome prostatique) HeLa (carcinome col utérin)	-inhibition de TRAP1 chez HeLa et SAOS-2 diminue la prolifération cellulaire (1 ua contre 12 ua pour le contrôle) -TRAP1 inhibe l'activité du complexe II chez SAOS-2, MEFs et CRC - TRAP1 induit une augmentation du succinate intracellulaire et la stabilisation d'HIF1 et ainsi promouvoit la tumorigénèse	35/50

	Animal : MEFs(Fibroblastes d'embryons de souris)		
Guzzo 2014 [122]	Humain : SAOS-2 (ostéo-sarcome) HeLa (carcinome col utérin) Animal : MEFs(Fibroblastes d'embryons de souris)	l'activité anti-oxydante de la chaperone TRAP1 est causée par son inhibition de la SDH au niveau de la sous-unité SDHA entraînant une diminution de la formation d'espèces actives de l'oxygène dépendant de l'ouverture du pore perméable de transition (PTP) et ainsi cette activité antioxydante concourt à la tumorigenèse in vitro.	34/50
Laukka 2016 [123]	Humain : SK-N-BE(2) (Neuroblastome)	-inhibition par succinate : IC50 TET1 540 +/-100 µmol TET2 570 +/- 190 µmol Et une augmentation nucléaire et cytosolique de succinate, 285 +/- 65 p<0,001 et 255 +/-15 p<0,001 respectivement soit une augmentation de 3 fois dans cytosol et le noyau (contrôle 100 +/- 10). -succinate à 5000 µM inhibe 10% 5 hmC, pas les TETs, n'augmente pas HIF1α mais légèrement HIF2α.	38/50
Wentzel 2017 [124]	Humain : Hep2G (carcinome hépatocellulaire)	- Succinate à 5 mM entraîne 20% mort cellulaire et une augmentation de 25,8% de l'expression des caspases 3-7 et 27% d'apoptose. - Succinate à 5 mM entraîne une hyperméthylation des îlots CpG 82% p<0,001 comparé au contrôle 57%	37/50
Fuhrmann 2019 [125]	Humain : THP1 (monocyte issus d'une leucémie monocytaire aigüe)	-inhibition de l'activité pharmacologique (AA5) de la SDH de 70% entraîne une accumulation temps dépendant d'HIF-1α, dès 1 h d'exposition avec une intensité d'activité 200 p<0,05 et pendant les 2-4 h suivantes avec 400 à 3h et 500 à 4h p<0,05 . Les résultats montrent que l'inhibition de la SDH par AA5 stabilise HIF-1α et augmente l'expression des gènes cibles d'HIF1α à savoir Glut1, BNIP3, and IL-1β	37/50

Tableau 11 : Résumé des 8 études in vitro sur les mécanismes d'actions métaboliques et épigénétiques

3.3. Exposition professionnelle aux SDHI et toxicité pour les expositions aiguës et chroniques aux SDHi

Phyt'attitude 1997 à 2014 (126),(127), (128)

En France, le suivi professionnel de l'état de santé des agriculteurs et des salariés agricoles est du ressort de la Mutualité Sociale et Agricole (MSA). Le réseau phyt'attitude de la MSA existant en France depuis 1991, a pour objectif « *recenser et d'analyser toutes les informations sur les accidents, incidents ainsi que les effets sur la santé survenus lors de l'utilisation de produits chimiques* ». Par produits chimiques on entend « **produits phytopharmaceutiques, biocides, médicaments vétérinaires** ». Le principe de recueil d'informations est le suivant : « *déclaration volontaire d'évènements indésirables au décours immédiat de leur survenue par l'intermédiaire d'un numéro vert gratuit, ouvert depuis 2004, ou au décours d'une visite médicale avec le médecin du travail* » (129). La **déclaration des incidents d'expositions aiguës n'est donc pas exhaustive et la population étudiée, varie chaque année**, mais la MSA se déclare « *indépendante de groupe pharmaceutique et des pouvoirs publics* » et les dossiers sont anonymisés. Les **données recueillies sont médicales** et informent sur la/les **substances actives** mises en cause ainsi que les **circonstances de l'accident**. Le score d'imputabilité est établi par le toxicologue selon le couple substance/symptômes en I0-I4, seuls les dossiers cotés I2 à I4 sont inclus dans l'analyse. « *Les chiffres présentés ne sont donc pas des indicateurs mais plus des marqueurs de l'activité du réseaux* ».

I0	exclu
I1	douteux
I2	plausible
I3	vraisemblable
I4	très vraisemblable

Tableau 12 : Score d'imputabilité selon méthodologie phyt'attitude (128)

On remarque une **augmentation des signalements d'expositions aiguës** après 2007 puis une stabilisation jusqu'en 2014 pour les incidents avec symptômes aigus/subaigus et une augmentation majeure de ceux en lien avec une exposition chronique avec 124 entre 1997-2007, 101 entre 2008-2010 et 220 entre 2011-2014. La **population** reste comparable entre

1997 et 2014, **majoritairement masculine**, avec une **notable augmentation du nombre de femmes, 14,5% en 1997 contre 21% en 2014**. Les signalements proviennent à plus de 60% des salariés agricoles contre 30% des exploitants dans les **cultures spécialisées, la viticulture et la polyculture** dans 70-80% des cas. On constate qu'un grand nombre de pesticides sont **recencés avec plus de 300 produits**, dont plus de **30% concernent la famille des fongicides**. La durée d'exposition est inférieure à 40h pour 40% des cas, tandis que les 60% sont exposés entre 40-120h et plus par an. Les **accidents concernent majoritairement 1 seul produit à plus de 60%**, l'utilisation multiple lors des accidents reste stable depuis 1997-2014, représentée par 40% des cas. La **forme liquide** est incriminée dans 70% des cas, les granulés dans 13 à 18% des cas. A noter une régression des accidents incriminant les poudres, 14% en 1997-2007, 10% en 2008-2010 et 8% en 2011-2014. Au niveau de la symptomatologie clinique aigue/sub aigue décrite en lien avec une exposition aux fongicides, les **signes cutanés sont majoritaires à 25-38%**, les signes digestifs sont stables à 16-20%, tandis que les **signes neurosensoriels sont en légère augmentation depuis 1997 avec 13%, en 2008-2010 avec 15% et en 2011-2014 avec 16%**. Un nombre très limité de cas (seulement 4) incriminant les SDHI ont été retrouvés pour le **Boscalid, le pyriméthanil et le flutolanil**. Les tâches les plus accidentogènes sont réalisées en extérieur à plus de 70% **majoritairement lors de l'application mécanisée et manuelle de la bouillie** semblent tout de même diminuer depuis 1997 avec 40%, en 2008-2010 avec 32,2% et en 2011-2014 avec 19%. Le matériel utilisé lors de l'épandage joue également un rôle, les pulvérisateurs montés sont majoritairement représentés à plus de 45% ainsi que la présence d'un tracteur muni de cabine dans 50% des cas ou celle-ci est fermée dans 70% des cas. Deuxièmement, la **préparation de la bouillie et le remplissage du matériel** représentent toujours 14-18% des tâches exposantes respectivement de 1997 à 2014. Enfin, on note une augmentation de l'exposition du fait du **nettoyage du matériel**, 7% en 1997, 9,4% en 2008-2011 et 10% en 2012-2014. L'accidentologie est représentée par les projections accidentelles en régression depuis 1997 à 46,4%, 37,7% en 2008-2011 et 12% en 2012-2014, de même que pour les ruptures ou fuite de tuyaux avec 25,6%, 23% et 20% en 1997, 2008-2011 et 2012-2014 respectivement. Cependant les tâches de débouchage de buses ont quant à elles augmentées de 13% en 1997, 19% en 2008-2011. **La déficience des EPI reste stable à 14% depuis 2008-2014 pour 50% de la population déclarant porter des gants**. Les principaux résultats sont résumés dans le **tableau 13** ci-dessous.

Phyt'attitude study	1997-2007	2008-2010	2011-2014
Reference	[94]	[95]	[96]
Score CARE checklist /30 items	12/30	14/30	14/30
Total Signalements	1909	657	782
Exposition aigue inclus	1554	397	409
Exposition chronique exclus	124	101	220
Imputables I2-I4 N	1067	245	224
Population N(%)			
Femmes	ND(14,5%)	53 (21,6%)	48 (21%)
Hommes	ND(85,5%)	192 (78,4%)	178 (79%)
Age (25-59 ans)	ND (93%)	ND (94,5%)	ND (92%)
Statut %			
Employer	67,5%	60,8%	66%
Exploitant	23,4%	34,3%	31%
Secteur agricole %			
Cultures épécialisées	ND	39,2 %	35%
viticulture	ND	19,6%	22%
polyculture	ND	18,4%	10%
total des 3	71,5%	77%	67%
Nombre de produits utilisés N	ND	369	381
Famille pesticide N(%)			
Fongicide	1/3 (33%)	118 (32%)	ND (35%)
Insecticide	<1/3(<33%)	116 (31,4%)	ND (33%)
Herbicide	1/5 (20%)	74 (20,1%)	ND (19%)
Nombre de produits incriminés %			
Un seul	65%	71,8%	60%
Plus de deux	35%	28,2%	40%
Formulation N(%)			
Liquide	ND (68,1%)	257 (69,6%)	280 (71%)
Granule	ND (13,2%)	65 (17,6%)	71 (18%)
Poudre	ND (14%)	38 (10,3%)	30 (8%)
Symptomes cliniques aigus après exposition à un Fongicide %			
Cutanés	38%	35,4%	25%
Digestifs	20%	16,5%	18%
Neurosensoriels	13%	15,2%	16%
SDHi incriminé	ND	Boscalid 2 dossier Pyrimethanyl 1 dossier	Flutolanil 1 dossier
Localisation des tâches professionnelles			
Extérieur	71 %	71,3 %	77%
Intérieur	27,3%	27,9%	16%
Tâches exposantes			
Application manuelle	40,1 %	20,8%	7%

Application mécanisée	ND	11,4%	12%
Préparation de la mixture	16%,	18%,	14%
Chargement du matériel	14%	18,4%	13%
Nettoyage du matériel	7%.	9,4%.	10%
Type de pulvérisateur			
Attelé	50%	34,7%	46%
A dos	20%	12,7%	13%
Période d'exposition			
<40 h / an	37,9%,	38,6 %	43%
40-120h / an	33,3%	28%	31%
>120h / an	28,8%	33,5%	27%
Accidentology			
Projections	46,4%	37,7 %	12%
Rupture ou écoulement de tuyau	25,6%	23,0%	20%
Déficiences des EPI	ND	14,8%	14%
EPI utilisés %			
Tracteur avec cabine	ND	58,8 %	56%
Cabine fermée	ND	73,3%	71%
Port de gants	52,8 %	56,2%	50%

Tableau 13 : principaux résultats réseau phyt'attitude 1997-2014

Etude transversale de métrologie professionnelle :

En 2013 Lesme et al(130) , ont réalisé une étude transversale visant à estimer une méthode d'évaluation de l'exposition professionnelle cutanée et respiratoire par métrologie de 8 pesticides (mancozeb, carbendazim, **carboxine**, dimethomorph, mandipropamide, propamocarb chlorhydrate, and thiram) chez 3 salariés agricoles d'une culture florale en Colombie. Dans une Roseraie, pendant 6 semaines, et pendant 8h/jour les tâches de préparation, application des pesticides et nettoyage ont été étudiées avec le port des équipements de protection (gants, combinaison, bottes, masque). L'estimation de l'exposition (cutanée et respiratoire) représentée par l'absorption de chaque pesticide par jour a été comparée à l'OAEL. Pour la **carboxine** (utilisation de 447g/jour), la quantité appliquée de 716 ml/jour avec une exposition cutanée de $29,2 \pm 21.0$ mg/jour et une exposition par inhalation de 0.05 ± 0.03 mg/jour (Absorption dermale de 5%). L'estimation de l'absorption de la carboxine est de 1.5 ± 2.1 mg/jour, qui apparaît **inférieure à la quantité quotidienne considérée sans effet sur la santé pour une exposition vie entière (AOEL) de 3.85 mg/jour de référence**. Par ailleurs, l'étude renseigne sur les tâches les plus exposantes : **Application 99,9% puis la préparation 0,07% et enfin le nettoyage 0,03%**. Les parties du

corps les plus exposées dans cette étude sont à mettre en lien avec le matériel utilisé (un **pulvérisateur vertical à 5 entrées**) et les conditions spatiales exigues (rangées de 60 cm de large) de réalisation des tâches exposantes. Ainsi, dans ce contexte on constate que le tronc est le plus exposé à 19,5%, les bras à 17,7% puis les jambes à 15,9% et les avant-bras à 15,7% et enfin les cuisses à 15,2%, les mains à 3% (table 3) montrant **une exposition caractérisée par les auteurs d'homogène**. En parallèle, cette étude permet de connaître le **niveau de protection des équipements de protection individuelles** selon la partie du corps concernée : **mains 95% et corps 99,2-99,8%**. Ces résultats sont résumés dans le **tableau 14** ci-dessous.

Etude Référence Design	Résultats	Score STROBE /29
Lesme et al [130] Etude transversale de métrologie cutanée et respiratoire de plusieurs pesticides	Estimation de l'exposition totale (cutanée et respiratoire) à la carboxine dans une exploitation colombienne de culture florale pour les tâches de préparation, application de la bouille et nettoyage en serre : Exposition cutanée actuelle = de $29,2 \pm 21.0$ mg/jour Absorption cutanée : 5% Exposition par inhalation : 0.05 ± 0.03 mg/jour Dose interne : 1.5 ± 2.1 mg/jour < AOEL : de 3.85 mg/jour Parties du corps les plus exposées en fonction de l'exigüité des locaux et utilisation du pulvérisateur manuel vertical à 5 entrées : tronc 19,5% > les bras 17,7% > jambes 15,9% > avant-bras 15,7% > cuisses 15,2% > mains 3%	18/29

Tableau 14 : Résumé résultats étude transversale (130)

GECU de l'ANSES (3) et 12 rapports EFSA (131), (132), (133), (134), (135), (136) (137), (138), (139) (140), (141), (142)

En 2019 l'ANSES, au travers d'un groupe d'expertise collective d'urgence (GECU) conduit de Juin à Décembre 2018 rendit son avis sur la question des SDHi.

Utilisation agricole et données de vente

Premièrement, **11 substances actives inhibitrices de la succinate déshydrogénase autorisées en Europe** furent recensées (benzovindiflupyr, bixafène, boscalid, carboxine, fluopyram, flutolanil, fluxapyroxad, isofétamid, isopyrazam, penthiopyrad, sedaxane). Les données de vente de ces SDHi issues de la BNVD entre 2008 et 2017 montrent que le

boscalid est le plus utilisé encore à l'heure actuelle bien que son utilisation diminue depuis 2008 passant de 600 tonnes annuelles à moins de 200 tonnes annuelles en 2017, cependant il faut ajouter la **multiplicité d'utilisation de SDHi depuis 2012 (6 substances actives différentes)**. En 2017, on constate l'utilisation dans l'ordre décroissant du boscalid, fluxapyroxad, fluopyram, bixafène, carboxine, sedaxane. Les anciennes molécules régressent tandis que les plus récentes progressent. Pour l'isofetamid et l'isopyrazam, il n'est pas à priori enregistré de données de vente. Les utilisations selon le type de culture varient également pour le **boscalid** avec près de 80% des surfaces de colza (données 2014), 51% des surfaces en carottes (données 2013), environ 30% des surfaces en fraises, salades (données 2013) et pommes (données 2012), environ 20% des surfaces en vigne (données 2014), melons et poireaux (données 2013) et 30% pour le blé tendre et l'orge, en 2011. Pour le **fluopyroxad**, c'est 38% des surfaces en blé tendre traitées au moins une fois en 2014 et 24% des surfaces en orge. Pour le **bixafène**, c'est 38% des surfaces en orge traitées au moins une fois en 2014 et 22% des surfaces en blé tendre. Aucune notion d'efficacité sur le rendement des culture n'est mentionnée.

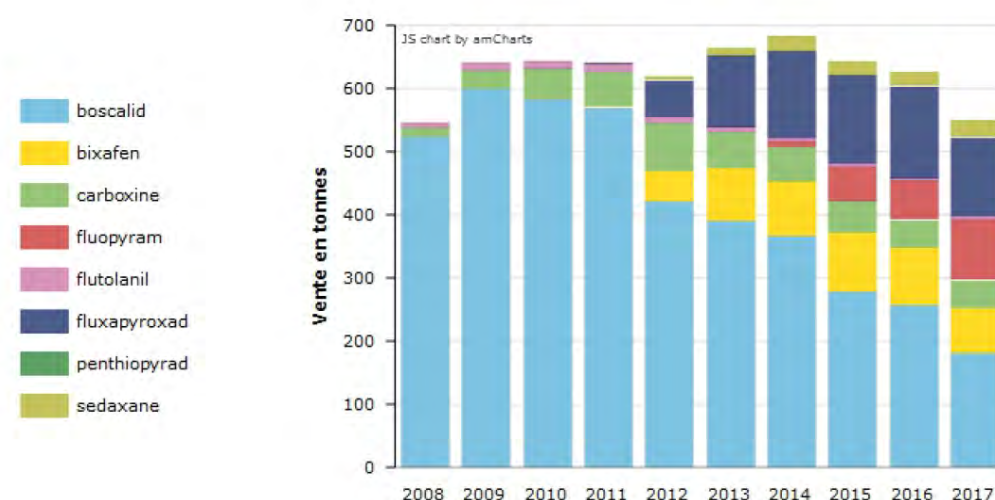


Figure 12: Evolution des ventes de SDHi entre 2008 et 2017 en tonnage par année en France
(3)

Les 12 rapports d'expert de l'EFSA sur les SDHi autorisés, renseignent sur leur utilisation agricole de manière non exhaustive qui a été évaluée. **L'omniprésence des SDHi** notamment

pour les cultures céréalières de blé, orge, avoine et seigle est résumé dans le **tableau 15** ci-dessous.

Substance active	Utilisation agricole évaluée
Benzovindiflupyr	Blé, seigle, orge, avoine, soja, canne à sucre en spray feuilles
Bixafen	Blé, avoine, seigle en spray feuilles
Boscalid	Raisin, pois, légumineuses,
Carboxin	Traitement des semences de blé, orge, seigle, avoine
Fluopyram	Spray sur tomate, fraise, raisin, vin
Flutolanil	Traitement des semences, tubercules de pomme de terre
Fluxapyroxad	Blé, orge
Isofetamid	Epannage Fruits : pêche, prune, abricot, cerise, raisin, fraise, légumes : salade, épinards, herbes fraîches Graines : de Colza, lin, pavot, moutarde,
Isoprazam	Blé, orge, avoine, seigle en pulvérisation foliaire
Penflufen	Traitement des semences pomme de terre, orge
Penthiopyrad	Fruits : pomme, poire, Légumes : tomates, aubergines, concombre, courgette Céréales : blé, orge, seigle, avoine
Sedaxane	Céréales : blé, soja, Colza pulvérisation

Tableau 15 : Résumé non exhaustif des utilisations agricoles des SDHi

Maladie professionnelle et accidentologie

Plusieurs sources citées dans le rapport de l'ANSES mentionnent des données relatives à la santé humaine et l'exposition aux SDHi. Dans la base du **RN3PV**, **il n'existe pas selon les auteurs de cas de paragangliomes et de phéochromocytomes chez des salariés exposés aux pesticides**. Dans la base du **CAP** entre **1999-2018** seulement **29 cas d'exposition accidentelle aigue** sont rapportés avec **seulement 4 impliquant uniquement les SDHi** (boscalid et flutolanil) avec une symptomatologie bénigne sans séquelles selon les auteurs pour une exposition respiratoire (toux, céphalées, vomissement, douleur abdominale) et cutanée (paresthésie des lèvres). Les données du réseau **Phyt'attitude** de **1997 à 2018**, révèlent selon les auteurs que **12 signalements impliquant un produit commercial à base SDHi seule ou associée** avec au total 7 produits (6 mélanges et 1 SA seule) **comprenant 3**

SDHi (boscalid, carboxine, flutolanil). Parmi ces 7 produits, 4 sont non autorisées actuellement.

Etudes toxicologiques chez l'animal

Dans une seconde partie du rapport de l'ANSES, les hypothèses des scientifiques ayant donné l'alerte sanitaire ont également été reprises et argumentées. **Les modèles d'évaluation toxicologiques utilisés ne sont pas adaptés au mécanisme d'action non génétique des SDHi.** De plus ils rassurent faussement sur leur absence de potentiel cancérogène génétique sans pouvoir évaluer la part métabolique et épigénétique. L'utilisation de l'argument des niveaux inférieurs des limites maximales de résidus suggère un effet seuil non démontré à l'heure actuelle encore en questionnement.

Par ailleurs, on remarque, que tous les SDHi ont **une toxicité aigue sur le foie** (augmentation du poids, hypertrophie) sauf la carboxine qui possède plutôt une toxicité aigue rénale (Rat oral NOAEL 5.5 mg/kg bw/day et Rat dermal NOAEL 30 mg/kg bw/day). Le bixafen, boscalid, fluopyram, flutolanil, fluxapyroxad, pydifumetofen ont des **effets toxiques aigus sur le foie et la thyroïde** (hypertrophie, hyperplasie, hormones thyroïdiennes) avec des valeurs de NAOEL orales comprises entre 7,5 et 30 mg/kg pc/jour et NOAEL dermal comprise entre 300-1000 mg/kg pc/jour (sauf pour le flutolanil 80-680 mg/kg pc/j). Cependant l'ANSES, invalide ces effets chez le modèle murin en invoquant le même argument pour pas moins de 7 SDHi autorisés, un mécanisme d'activation des récepteurs nucléaires CAR considéré comme non pertinent chez l'humain. En conséquence, **3 substances actives sont classées carcinogènes cat 3 R40** par l'ANSES, le fluopyram (foie, thyroïde), la carboxine (rein, parathyroïde), isopyrazam (foie, utérus) et un en **catégorie 2 (H351)** le penthiopyrad (foie, thyroïde). Pour le fluxapyroxad on remarque deux classements, selon la Directive 67/548/EEC : R40 Carcinogenicity category 3 "limited evidence of a carcinogenic effect" et selon Regulation (EC) 1272/2008 : H351 Carcinogenicity category 2 "suspected of causing cancer". Seul, l'isopyrazam est classé comme **reprotoxique Cat. 3 R63** pour des NOAEL pour le rat et lapin comprise entre 20-150 mg/kg poids corps/jour. Ces résultats sont résumés dans le **tableau 16** ci-dessous.

La **Neurotoxicité** aigue ou/et chronique est retrouvée pour quelques SDHI, fluopyram, fluopyroxad, penthiopyrad, pydiflumetofen et sedaxane pour de hautes doses mais ne sont pas classés comme neurotoxiques.

Substance active	Classement EFSA	NOAEL (mg/kg poids corps/jour)
carboxine	Carcinogènes cat 3 R40	0.82 (rat male)
fluopyram	carcinogènes cat 3 R40 Liver cell adenoma and carcinoma Follicular cell adenoma in thyroid	89 (rat female) 105 (souris male)
fluopyroxad	Carcinogènes cat 2 H351 liver tumours	2.1 (rat)
isopyrazam	carcinogènes cat 3 R40 liver hepatocellular adenomas, uterine endometrial adenocarcinomas	35 (rat)
penthiopyrad	Carcinogènes cat 3 R40 Carcinogènes cat 2 H351 Liver tumors Thyroid tumors	20 (souris) 27 (rat)

Tableau 16 : Liste des SDHi cancérigènes selon la Classification de l'EFSA

Concernant le dernier point sur **le risque pour la santé chez l'homme**, les auteurs argumentent les **différences de sensibilité inter-espèces d'affinité et donc de capacité d'inhibition de la SDH**. Egalement, que les études ADMEE montreraient chez le rat « 99% de la dose administrée s'est retrouvée éliminée 7 jours après l'administration » et ainsi concluant « *métabolisation rapide et importante des SA et l'absence de bioaccumulation chez le rongeur* ».

Exposition professionnelle, AOEL et EPI (131), (132), (133), (134), (135), (136) (137), (138), (139) (140), (141), (142)

Pour chaque SDHi autorisé les AOEL sont établis allant de 0,04 mg/kg/j pour le Benzovindiflupyr et le Fluopyroxad jusqu'à 0,56 mg/kg/j pour le flutolanil. Pour ce faire plusieurs scénarios sont réalisés pour trois catégories : les applicateurs, les travailleurs effectuant les tâches de ré-entrée et les passants et résidents. Pour chaque population pré-citée, des modèles matriciels extrapolent les expositions professionnelles en pourcentage de l'AOEL avec et sans EPI adapté pour chaque pesticide. Ainsi, on constate que les **applicateurs apparaissent comme les plus exposés entre 3 et 90% de l'AOEL sans EPI**, devant les **travailleurs réalisant les tâches de ré-entrée entre 2 et 5% de l'AOEL**, suivit par les **passants et résidents avec 0,1 à 3% de l'AOEL** pour 8 SDHi autorisés dont le Boscalid. Cependant pour les 3 restants notamment Fluopyroxad, Isofetamid, et penthiopyrad

les données sont préoccupantes notamment pour le Fluopyroxad pendant les tâches de mélange et chargement ou le UK model prédit 450% AOEL sans EPI et 350% AOEL avec EPI. Pour l'Isofetamid, les models sont multiples et fournissent des résultats très disparates. A titre d'exemple, pour les applicateurs en serres de culture de fraises/laitues, le modèle allemand conclu à 27840 % AOEL sans et 2784% AOEL avec EPI tandis que le modèle SE conclu à 21%AOEL et 8%AOEL respectivement avec et sans EPI. Rappelons qu'aucun ne modèle validé n'est disponible actuellement pour évaluer l'exposition en intérieur (serre). Par ailleurs, la comparaison des différentes valeurs toxicologiques de référence pose question. Prenons l'exemple du Benzovindiflupyr son AOEL systémique de 0,04 mg/kg/j pour une exposition professionnelle subchronique saisonnière ou d'une année est très proche de l'ADI de 0,05 mg/kg/j dose orale maximale sans effet pour les consommateurs pendant la vie entière. Tandis que pour le Bixafen avec un AOEL de 0,13 mg/kg/j son ADI est de 0,02 mg/kg/j soit 10 fois inférieur. De même pour le Boscalid avec un AOEL 0,1 mg/kg pdc/j et ADI de 0,04 mg/kg pdc/j. Ces chiffres attestent de la nette surexposition des travailleurs qui est cependant considérée comme aigue et subchronique mais qui dans les faits est bien chronique soit pendant tout leur exercice professionnel. Laquelle vient se surajouter à l'exposition orale inhérente à la consommation de leur propre production. Faisant ainsi de la population agricole **une population doublement exposée au risque des pesticides**. Par ailleurs, les conclusions de ces différents rapports attestent et rassurent sur les VTR inférieures aux limites fixées (en % de l'AOEL) pour de nombreux SDHI, Benzovindiflupyr, bixafène, Carboxine, Fluopyram, isopyrazam sans EPI et d'autre part attestent de l'efficacité des EPI à utiliser systématiquement pour le flutolanil, fluxapyroxad, Isofetamid, penflufen, penthiopyrad, sedaxane. Leur recommandation principale va dans le sens de la prévention individuelle en prônant le port d'EPI comme véritable bouclier contre les pesticides pendant les tâches de préparation, application, tâches de ré-entrée et de nettoyage.

Enfin, les conclusions du GECU sont donc au regard des hypothèses soulevées par les donneurs d'alerte *« n'apportent pas d'éléments en faveur d'une exposition qui n'auraient pas été pris en compte dans l'évaluation des substances actives concernées, et mettent en évidence des incertitudes résiduelles sur des risques qui auraient pu ne pas être pris en compte dans l'évaluation des substances actives concernées. »* Ils concluent également à la **nécessité d'étayer la recherche sur les SDHI concernant les questions restantes sans réponses actuellement tout en rejetant** la demande du groupe de scientifiques ayant donné l'alerte et

quant à la nécessité d'**appliquer le principe de précaution de suspendre temporairement l'utilisation des SDHi.**

DISCUSSION

Résultats principaux et cohérence externe

- *Résultats des études in vitro*

Au travers des 8 expérimentations in vitro on retrouve des mécanismes analogues de modifications métaboliques et épigénétiques pour différentes populations cellulaires animales et cancéreuses humaines comme présentés dans le **tableau 11**. La diminution de l'activité de la SDH où le **succinate** apparaît comme un acteur central de la compréhension de ces multiples mécanismes, de par son accumulation à court terme est retrouvé dans les divers mécanismes métaboliques et épigénétiques. Il pose ainsi la question de son **accumulation chronique**.

Le mécanisme métabolique d'induction de la **pseudo-hypoxie par accumulation de succinate** (1mM), inhibition de la PHD et stabilisation d'HIF1 α retrouvé pour les cellules HeLa (118) apparaît comparable au mécanisme génétique, retrouvé dans des cellules embryonnaires humaines rénales (HEK293) avec mutation SDHD (13) après une inhibition d'au moins 48h de la SDH par le diméthylsuccinate (25 mM) dans des conditions de normoxie et d'hypoxie (3% d'oxygène). Pour Astrom et al (143) les conditions environnementales et notamment le niveau d'oxygène (plus faible) pourraient expliquer la pénétrance incomplète des formes familiales de certains phénotypes de PGL/PCC avec mutations SDHD. En effet, l'altitude (plus élevée) à laquelle vivent les patients avec mutations SDHD serait associée à un âge plus précoce de PGL/PCC et des localisations multiples. De ce fait, l'évaluation procarcinogénique de l'inhibition pharmacologiques de la SDH par les SDHi (et accumulation de succinate) devrait être réalisée après un délai minimum d'exposition de 48h, dans des conditions suboptimales d'oxygénation cellulaire à définir.

D'autre part, dans les cellules humaines HeLA et THP1 l'accumulation de succinate induit l'inhibition de la PHD, également chez les cellules SAOS-2, CRC et MEFs de souris par **l'expression de TRAP1 modulant l'action du PTP**.

Pour les cellules humaines Hep3B, HT1080, HeLA et HEK293T et animales de rat PC12 et *Caenorhabditis elegans* l'inhibition de la SDH et l'accumulation de succinate entraîne une diminution de la déméthylation à haute concentration pour SK-N-BE(2) et HepG2 et une **augmentation de la méthylation des histones**. En effet, l'inhibition pharmacologique de la SDH par le 2-thenoyltrifluoroacetone (TTFA) à 500µM après 24h d'exposition pour les modèles Hep3B (carcinome hépatocellulaire) et HT1080 (fibrosarcome) et animal PC12 (phéochromocytome du rat), montrent une hyperméthylation des histone 3 (H3) sur les résidus lysine K9, K27 et K36 différente selon le type cellulaire (119). Ces résultats suggèrent une **susceptibilité d'hyperméthylation des histones dépendant et spécifique du type cellulaire**. De plus, cette inhibition pharmacologique de la SDH déclenche le même profil d'hyperméthylation des histones H3 pour des cellules avec mutations silencieuses transitoires des gènes de la sous-unité SDHD et SDHB après 72h et 96h respectivement. Ces résultats sont donc bien en faveur de notre hypothèse de l'existence de fortes similitudes entre les mécanismes d'inhibition génétiques par mutation des sous-unités de la SDH et ceux non génétiques (métaboliques par pseudo hypoxie et épigénétiques par hyperméthylation des histones) résultant de l'inhibition environnementale pharmacologique de cette enzyme.

Nous sommes tout de même force est de constater **qu'aucun modèle animal n'est entièrement extrapolable à l'humain**, que la variabilité intrinsèque de chaque population cellulaire humaine est également un facteur à prendre en considération dans la compréhension de ces modes d'actions complexes et surtout de l'exposition chronique des populations professionnelles et de la population générale.

D'autres études montrèrent une association entre **la diminution de l'activité de la SDH** et certaines pathologies notamment suite à un traitement avec le Triptolide un composé issu de la « *liane du dieu du tonnerre* » étudiée comme co-traitement contre le cancer des testicules (144) Il apparait efficace via la production d'EAO et l'activation de JNK. Egalement, Nonaka et al (145) ont identifié que la streptozotocine utilisée pour le traitement des insulinomes, induit un diabète mellitus dans les cellules musculaires de rat et diminue l'activité de la SDH de 48% ($p<0,01$) comparé au contrôle sain et apparait réversible 72% ($p<0,01$) après stress thermique.

De plus, Ju et al (146) dans son étude de cas/témoins chinoise, évaluèrent l'exposition respiratoire de 67 travailleurs industriels au **toluène diisocyanate** (TDI) qui montra une diminution significative de l'activité de la SDH où dans le groupe exposé l'activité de la SDH est négativement corrélée avec la longueur de l'exposition $r=-0.319$, $p<0.05$. (article original en langue chinoise) . En 2014, Myung et al (147) posaient même la question dans son article sur la possibilité d'utiliser les mécanismes des fongicides industriels et notamment celui des SDHi afin d'élargir le nombre de traitements antifongiques à visée thérapeutique pour l'être humain, car ceux-ci ne comprennent que 12 molécules (les azolés, l'amphotéricine B, échinocandine et la 5-fluorocytosine) pour les 4 entités responsables des pathologies humaines à savoir Candida, Aspergillus, Cryptococcus et Pneumocystis.

Concernant les **effets épigénétiques**, Van der Plaat et al (148) montrèrent qu'il n'y avait pas d'association significative avec l'exposition professionnelle aux pesticides et la méthylation de l'ADN (ilots CpG) sanguin de 2802 sujets testés avec seulement 31 dont 20 dans les cas d'obstruction respiratoire avec une exposition élevée. Cependant, Zhang et al (149), montra des similarités de méthylation de l'ADN des promoteurs CpG de 712 gènes, in vitro de cellules hématopoïétiques K562 pour 3 organophosphates : fonofos, parathion, and terbufos. Egalement, Collotta et al (150) dans sa revue regroupa plusieurs études montrant des effets épigénétiques notamment de méthylation de l'ADN et des histones de pusieurs pesticides Methoxychlor, Vinclozin, Dichlorodiphenyl-trichloroethane (DDT), Organochlorine, Paraquat ayants des implications et mécanismes différents des SDHi, dans l'état actuel de nos connaissances.

Ces résultats issus d'études expérimentales rigoureuses et accessibles sont en contradiction avec les conclusions du rapport de l'ANSES, se basant sur des études toxicologiques anciennes, non publiées et inaccessibles à la critique de la communauté scientifique. En utilisant notamment plusieurs arguments comme l'absence d'effet cancérigène des SDHi secondaire à des tests toxicologiques évaluant leur génotoxicité sans prendre en considération leur mécanisme d'action métabolique et épigénétique, et rassurer sur les VTR inférieures en supposant que l'effet soit dose dépendant ce qui n'est pas encore prouvé actuellement. De plus, l'absence d'effet seuil fait écho aux potentiels effets de perturbateurs endocriniens des SDHi, Young Jin Oh et al (151) en 2007, et Medjakovic et al (152) en 2013 étudièrent la question. Young Jin Oh et al, dans son étude expérimentale in vitro chercha à évaluer 9 pesticides retrouvés dans un réservoir d'eau potable entre 2000 et 2004 à de très faibles concentration $\mu\text{g/L}$ en dessous des LMR du NIER (national intitut of environmental

research) dont le Flutolanil un SDHi, et leur potentiel **effet perturbateur endocrinien sur les récepteurs oestrogéniques (ER) des lignées cellulaires humaines de cancer du sein (MCF-7 BUS)** par test E screen comparatif avec les cellules MDA MB 231 comme contrôle négatif après 48h d'exposition et 6 jours de culture. Ses résultats montrent que le flutolanil apparaît augmenter la croissance par plus de 2 fois, diminue le niveau d'expression des récepteurs oestrogéniques α protéine visible au Western Blot et augmente l'expression des gènes des récepteurs de la progestérone et PS2 mRNA au RT-PCR à une concentration de 10^{-4} M de la même manière que le contrôle positif 17β oestradiol. Enfin, Béranger et al (153), dans leur étude transversale parmi la cohorte Française multicentrique **ELFE** réalisée en 2011, composée de 18,040 femmes enceintes, les auteurs cherchèrent à évaluer les concentrations de 140 pesticides et métabolites par **test capillaire**. 2866 furent testées avec des échantillons capillaires de 9 cm de longueur représentant la période de grossesse, pour les 140 substances les plus utilisées : 111 pesticides et 29 métabolites de 25 familles chimiques différentes. 122 substances utilisées détectées au total, une moyenne de 43 substances détectées par femme (38-47), avec 28 substances utilisées pour 70-100% des échantillons. Le Boscalid a été détecté chez 195 femmes (soit 63%) à 0.3 pg/mg pour une limite de détection de 0.079 pg/mg. Cette étude montre que les femmes enceintes dans la population générale, sont exposées simultanément à plusieurs classes chimiques de pesticides et de ce fait subissent « l'effet cocktail » pendant toute la durée de la grossesse. Par ailleurs, cette étude de biométrie relative à l'exposition chronique chez la femme enceinte interpelle quant à l'élimination rapide en 24h du boscalid revendiqué par les études ADME in vitro et in vivo chez l'animal issue d'études toxicologiques fournies par les firmes. Sans oublier que les SDHi ne représentent que le sommet de l'iceberg, devant la grande diversité de pesticides utilisés concourant à **l'effet cocktail** aussi bien alimentaire qu'environnemental auquel au final chacun et chacune d'entre nous est soumis.

Par ailleurs, les conclusions de l'ANSES déclarent invalider les effets toxiques hépatiques et thyroïdiens sur les modèles animaux par : « *induction enzymatique de l'UDPGT (Uridine 5'-diphospho-glucuronyltransférase) via une activation du récepteur nucléaire CAR/PXR considéré suffisamment étayé pas les études mécanistiques dédiées* ». Ce mécanisme est bien montré dans 2 études issues des industriels BAYER par Tinwell et al (71) et Rouquié et al (72) pour le fluopyram. Ce **mécanisme non reconnu valide pour l'humain, engendre ainsi pour l'ANSES la non classification CMR de plusieurs SDHi** comme le Benzovendiflupyr, Boscalid, Fluopyroxad, Penflufen, Penthiopyrad, Pydiflumetofen et le Sedaxane car le mode

d'action considéré comme « *non pertinent pour l'homme.* » Par ailleurs, le caractère universel du complexe II mitochondrial chez tous les êtres vivants explique son impact sur les organismes non cibles des SDHi notamment les abeilles, les espèces aquatiques. Sans oublier les pathologies humaines ayant un mécanisme génétique mettant en cause directement le complexe II et son non fonctionnement dans les cas de syndromes SDHx héréditaires de paragangliomes, phéochromocytomes mais également dans de nombreux cancers où les modèles murins ne semblent pas reproduire les mêmes pathologies que l'être humain. En ce sens le modèle murin ne semblant pas le plus adapté reste tout de même nécessaire pour l'ANSES le qualifiant d'incontournable et conclut en encourageant la recherche sur celui-ci bien que non extrapolable à l'humain. Ces conclusions semblent quelque peu contradictoires.

Enfin, les **maladies mitochondriales ne sont pas prises en compte** pour l'évaluation du risque des pesticides dans la population générale avec des sous groupes plus vulnérable et susceptibles de développer ces pathologies. Il est à noter que **la composition du groupe d'experts** comprend uniquement de toxicologues réglementaires sans aucun spécialiste des mitochondries et de ses pathologies chez l'être humain.

- *Exposition professionnelle : utilisation, tâches exposantes et toxicité aigüe/chronique*

L'utilisation des SDHi depuis 1960 compte malheureusement très peu d'études sur le sujet, actuellement **11 substances actives autorisées en Europe** furent recensées (benzovindiflupyr, bixafène, boscalid, carboxine, fluopyram, flutolanil, fluxapyroxad, isofétamid, isopyrazam, penthiopyrad, sedaxane). Utilisées pour le traitement antifongique des cultures agricoles céréalières, viticoles, et maraîchères (**Tableau 14**) avec le Boscalid comme leader depuis sa mise sur le marché en 2003 et l'augmentation du nombre de nouvelles molécules utilisées actuellement démontre leur omniprésence dans le paysage agricole. Concernant l'exposition professionnelle à ces derniers, une seule étude de mérologie a été retrouvée dans la littérature attestant que les salariés étaient exposés à **1.5 ± 2.1 mg/jour de carboxine** par voie cutanée et respiratoire, valeur inférieure à la quantité quotidienne considérée sans effet sur la santé pour une exposition vie entière (AOEL) de 3.85 mg/jour de référence. Par ailleurs, l'étude renseigne sur les tâches les plus exposantes : **Application 99,9% puis la préparation 0,07% et enfin le nettoyage 0,03%**. Cependant ces résultats ne sont pas extrapolables en raison des conditions très spécifiques d'exercice professionnel en

serre de culture florale en Colombie. Ils apparaissent tout de même cohérents avec les autres études de métrologies réalisées sur les pesticides : l'isoproturon (herbicide) en grande culture céréalière (blé, orge) (98) où ce sont les tâches de préparation qui sont les plus exposantes pour les mains et les avant-bras, tandis que pour les thiocarbamates en viticultures où les mains sont les plus exposées avec 49% et 56.2% pour la préparation et la pulvérisation respectivement. La contamination cutanée en tracteur par tâche est de 2,85 mg pour le nettoyage, 4,20 mg pour la préparation et 6,13 mg pour la pulvérisation (100). Des résultats similaires sont rapportés pour 15 substances actives en floriculture (101) attestant de la diversité des modalités d'exercices et des pratiques professionnelles.

Concernant les effets toxiques en lien avec l'exposition professionnelle aigüe et chronique, le réseau Phyt'attitude de la MSA renseigne sur les caractéristiques accidentelles des signalements des salariés et exploitants agricoles avec plus de 1536 signalement aigus/sub aigus inclus imputables. Leur symptomatologie apparaît bénigne avec des signes cutanés (25-38%), digestifs (16,5-20%) et neurosensoriels (13-16%). **Seulement 4 signalements concernent 3 SDHi : deux pour le Boscalid, un pour le Flutolanil et pour le Pyriméthanil ont été rapportés et identifiés comme plausibles à vraisemblables entre 1997-2018** comme rapporté par l'ANSES, aucun cas de maladie professionnelle de pragangliome/phéochromocytome n'a été rapporté également. Cette très faible représentation des SDHi en contradiction avec leur très large utilisation est à questionner. En effet on constate par ailleurs une augmentation des signalements en lien avec une exposition chronique exclus dans l'analyse de la MSA, avec 124, 101 et 220 signalements pour les périodes 1997-2007, 2008-2010 et 2011-2014 respectivement, restent encore à investiguer. Par ailleurs de nombreux facteurs accidentels interviennent dans l'exposition aigüe professionnelle aux pesticides comme le type de culture avec 71,5-80% des cultures spécialisées, viticulture et polyculture, sur les 369-380 produits incriminés 32-35% concernant les fongicides. Les tâches les plus exposantes sont réalisées en extérieur à 71-77%, l'application mécanique et manuelle apparaît dans 19-40% des cas devant, la préparation de la bouillie 14-16% et le nettoyage des outils qui semble augmenter avec 7-10% entre 2011-2014 (**tableau 13**). Par ailleurs on constate une faible observance du port des EPI et notamment des gants avec 50% de la population déclarant les utiliser, à noter que cette proportion est en stagnation depuis 1997. Ce chiffre est à mettre en lumière avec plusieurs hypothèses comme le manque d'information des salariés/exploitants, le manque de confort des EPI, leur entretien la contrainte temporelle de production souvent avancée et leur coût financier mais également

la déficience de ces derniers. En effet, l'EFSA préconise essentiellement le **port EPI efficaces pour 6/11 SDHi autorisés**, ce qui est tout de même la dernière ligne de prévention en santé travail lorsque les mesures de protections collectives ont été ou non mises en place. A noter que Garrigou et al (154), étudia en 2001-2002, l'efficacité des EPI utilisés en viticulture. En utilisant une méthode transdisciplinaire d'ergotoxicologie par 72 jours observations du travail réel et métrologies cutanées (patch), 67 observations ont été réalisées pendant les tâches de préparation, application automatique sur tracteur et nettoyage des équipements, pour le dithiocarbamate. La comparaison de l'appliication avec applicateur à dos dans deux situations sans et avec port d'EPI a permis d'estimer l'efficacité des EPI classe 4 EN 374-3: 2004.. Il apparait que les agents portants les EPI correctement, bien entretenus sont plus exposés pendant les tâches d'application 7,7mg [2,8-21,6] et de nettoyage 9,3 mg [1,9-28,9] que ceux n'en portant aucun respectivement 4 mg [2,2-18,8], 2,3 mg [1,4-10,8]. Les EPI classe 4 ont par la suite été re testé et ont été retrouvé tous perméables à 5 herbicides purs et dilués en moins de 10 mn, tandis que les classe 3 sont plus efficaces, de part leur épaisseur plus importante et la chaleur engendrée, ils ne permettraient pas l'observance des utilisateurs. Ces résultats s'expliquent en partie par le fait que **les EPI sont testées à des fins industrielles et non pas dans les conditions d'utilisation agricoles (très variées et en extérieur)**. Encore un exemple qui démontre bien comme conclue l'auteur que les évaluations métrologiques doivent tenir compte des conditions de travail réelles multiples, diverses et souvent très spécifiques voir uniques. Dans le même sens, s'ajoute l'évaluation de l'exposition professionnelle aux pesticides par les modèles mathématiques divers et variés ne prenant pas en compte la diversité des situations d'exercice professionnel, ajouté à la réalisation de peu de mesures, souvent inférieures aux AOEL, même pour les scénarios qualifiés de « pire cas ». Cela engendre un biais qui apparait faussement rassurant quant au degré de protection des professionnels au risque lié aux pesticides (155).

Il apparait urgent de mettre au cœur des priorités gouvernementales des moyens aussi bien financiers, qu'en terme de ressource intellectuelle pluridisciplinaire médicale, technique, toxicologique, épidémiologique afin d'assurer une évaluation du risque professionnel aux SDHi plus poussée. Réfléchir in finé aux moyens préventifs les plus efficaces à mettre en place comme proposé par le groupe de scientifiques nouvellement constitué, à savoir le principe de précaution avec la suspension de la commercialisation de ces substances dans un premier temps. Et ainsi, étudier les pistes d'alternatives possibles afin de ne pas subir de manière fataliste cette situation, qui nous est présentée sans solution. Et devant la nécessité

paradoxalement avancée de l'utilisation des pesticides comme garant de notre sécurité agro-alimentaire. Comme disait Einstein, « *un problème sans solution est un problème mal posé* ».

- *Cohérence interne de l'étude*

Les points forts de notre étude sont premièrement, le contexte sensible et la justification de sa réalisation aux vues des préoccupations aussi bien scientifique, que médiatique et politique. A noter le caractère singulier de ce travail en effet, il s'agit d'un des premiers faisant le lien entre mécanismes d'actions métaboliques et épigénétiques des SDHI, utilisation agricole et exposition professionnelle par des auteurs compétents dans des domaines différents, médecin universitaire, médecin du travail et toxicologues de l'INRA proposant ainsi un nouvel angle de vision venant compléter et mettre en lien les connaissances sur le sujet, bien que d'autres scientifiques aient déjà posés les bases de cette problématique. Deuxièmement la méthodologie PRISMA employée pour ce travail validée pour la réalisation des revues de la littérature, donne du poids à notre recherche. Nous avons pu satisfaire la plupart des critères de qualité de cette méthode avec un score de 20/27 items soit 74% (**Annexe 14**) après double lecture. D'autre part, notre travail présente bien évidemment des limites, tout d'abord le faible nombre d'articles inclus, mais il s'agit plus d'un état de fait, voire une constatation flagrante du nombre très limité d'études sur le sujet ce qui en soit pose déjà matière à réflexion. Par ailleurs nous n'avons pas pu éluder le biais de publications malgré notre effort de recherche et d'inclusion de documents issus de la littérature grise. Par là même, la nature des documents inclus et leur méthodologie de réalisation a posé également des contraintes, notamment les références citées d'études non publiées, le manque de données brutes permettant une analyse statistique plus rigoureuse, et enfin une certaine opacité rendant la recherche de documents publics européens et internationaux difficile.

CONCLUSION

Notre travail de revue systématique est le premier dans la littérature à faire le lien entre mécanismes d'actions cellulaires des SDHi et exposition professionnelle. En effet, nous avons montré au travers de plusieurs études expérimentales *in vitro* l'existence de mécanismes épigénétiques et métaboliques (accumulation de succinate, pseudo-hypoxie et hyperméthylation des histones/ADN) secondaires à l'inhibition pharmacologique de la SDH pour des modèles cellulaires humains et animaux. Ces mécanismes d'actions apparaissent similaires à ceux d'origine génétique par mutation des sous-unités de la SDH décrits dans plusieurs pathologies humaines comme les PGL/PCC et certains cancers. Ces données appuient notre hypothèse de l'effet non cible des SDHi sur les mitochondries de nombreux êtres vivants dont fait partie l'humain. Cet état de fait est à opposer avec l'utilisation majeure des SDHi dans la plupart des secteurs agricoles et le manque criant d'études toxicologiques humaines et épidémiologiques sur l'exposition professionnelle à ces derniers. Des interrogations restent encore sans réponses concernant leur mode d'action sur le modèle humain et notamment les lignées cellulaires non pathologiques. Il apparaît urgent d'y pallier au plus tôt afin de mieux appréhender leur futur impact sanitaire et apprendre des expériences passées. Pour se faire, il conviendrait en premier lieu **d'engager la recherche scientifique** sur le mode d'action des SDHi sur des **populations cellulaires humaines saines** afin d'en comprendre les mécanismes métaboliques et épigénétiques sous-jacents tout en s'intégrant dans une démarche de recherche globale sur le sujet avec un collectif de travail pluridisciplinaire (médecins spécialistes des maladies mitochondriales, des médecins du travail, toxicologues, ergonomes, agronomes, économistes, sociologues). Le récent **projet SOHO** (156) dont le protocole a été élaboré en 2019, basé sur un réseau interdisciplinaire de partenaires scientifiques, propose une évaluation intégrée des SDHi selon le **concept EcoHealth**, en estimant les bénéfices pour les agriculteurs en termes de contrôle des cultures, et en apportant des connaissances sur les expositions et les mécanismes de toxicité pour l'être humain. Ainsi il devrait permettre de développer de nouveaux outils d'évaluation du risque, adaptés au mode d'action, en les confrontant aux tests classiques de toxicologie, et de proposer une nouvelle approche d'évaluation du risque basée sur l'interdisciplinarité et la co-construction des savoirs.

Vu permis d'imprimer
Le Doyen de la Faculté
De Médecine Rangueil
19.09.2019
E. SERRANO

Professeur Jean-Marc SOULAT
Coordonnateur Interrégional
DES de Médecine du Travail
SMPE - Pavillon Turiat
CHU TOULOUSE - HOPITAL PURPAN
TSA 40031 - 31059 TOULOUSE Cedex

BIBLIOGRAPHIE

1. Bénit P, Bortoli S, Chrétien D, Rak M, Rustin P. Pathologies liées aux déficits du cycle de Krebs. *Rev Francoph Lab.* 1 avr 2018;2018(501):49-57.
2. Bénit P., Chrétien D., Rak M. et al. Une révolution urgente semble nécessaire dans l'usage des antifongiques. *Libération* [Internet]. 15 avr 2018 [cité 23 févr 2019]; Disponible sur: https://www.liberation.fr/debats/2018/04/15/une-revolution-urgente-semble-necessaire-dans-l-usage-des-antifongiques_1643539
3. ANSES. AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à « l'évaluation du signal concernant la toxicité des fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase (SDHI) ».
4. Atwood D., Paisley-Jones C. Pesticides Industry Sales and Usage 2008 - 2012 Market Estimates [Internet]. US EPA; 2017 [cité 1 avr 2019] p. 1-32. Disponible sur: <https://www.epa.gov/pesticides/pesticides-industry-sales-and-usage-2008-2012-market-estimates>
5. Ministère de l'agriculture et de l'alimentation - agreste - La statistique, l'évaluation et la prospective agricole - Mémentos [Internet]. Agreste France; 2018 [cité 8 juill 2019] p. 1-35. Disponible sur: <http://agreste.agriculture.gouv.fr/publications/mementos-951/article/memento-de-la-statistique-agricole-15005>
6. Eurostat. Ventes de pesticides [Internet]. [cité 15 juill 2019]. Disponible sur: https://ec.europa.eu/eurostat/fr/web/products-datasets/-/AEI_FM_SALPEST09
7. Pratiques culturales en grandes cultures 2017 : IFT et nombre de traitements [Internet]. Ministère de l'agriculture et de l'alimentation-Agreste; 2019 juin [cité 11 août 2019] p. 1-22. Report No.: n° 2019-3. Disponible sur: <http://agreste.agriculture.gouv.fr/publications/chiffres-et-donnees/article/pratiques-culturales-en-grandes>
8. Agreste. Données de ventes produits phytopharmaceutiques 2011-2017 [Internet]. ministère de l'alimentation et de l'agriculture; [cité 14 mars 2019]. Disponible sur: <http://agreste.agriculture.gouv.fr/publications/chiffres-et-donnees/article/donnees-de-ventes-produits>
9. Huang S, Millar AH. Succinate dehydrogenase: the complex roles of a simple enzyme. *Curr Opin Plant Biol.* 1 juin 2013;16(3):344-9.
10. Sierotzki H, Scalliet G. A review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. *Phytopathology.* sept 2013;103(9):880-7.
11. Allibhai Z, Rodrigues G, Brecevic ED, Neumann HPH, Winkquist E. MALIGNANT PHEOCHROMOCYTOMA ASSOCIATED WITH GERMLINE MUTATION OF THE SDHB GENE. *J Urol.* 1 oct 2004;172(4, Part 1):1409-10.
12. Bénit P, Letouzé E, Rak M, Aubry L, Burnichon N, Favier J, et al. Unsuspected task for an old team: succinate, fumarate and other Krebs cycle acids in metabolic remodeling. *Biochim Biophys Acta.* août 2014;1837(8):1330-7.

13. Selak MA, Armour SM, MacKenzie ED, Boulahbel H, Watson DG, Mansfield KD, et al. Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF- α prolyl hydroxylase. *Cancer Cell*. janv 2005;7(1):77-85.
14. Slane BG, Aykin-Burns N, Smith BJ, Kalen AL, Goswami PC, Domann FE, et al. Mutation of succinate dehydrogenase subunit C results in increased O₂·, oxidative stress, and genomic instability. *Cancer Res*. 1 août 2006;66(15):7615-20.
15. Szeto SSW, Reinke SN, Sykes BD, Lemire BD. Ubiquinone-binding site mutations in the *Saccharomyces cerevisiae* succinate dehydrogenase generate superoxide and lead to the accumulation of succinate. *J Biol Chem*. 14 sept 2007;282(37):27518-26.
16. Rustin P., Benit P., Bortoli S., Prud'homme L., Toutut-Picard E. Assemblée nationale ~ Compte rendu de réunion de la commission d'enquête sur l'alimentation industrielle : qualité nutritionnelle, rôle dans l'émergence de pathologies chroniques, impact social et environnemental de sa provenance [Internet]. Assemblée nationale; 2018 mai [cité 14 mars 2019] p. 1-15. Report No.: Séance de 11 heures Compte rendu n° 5. Disponible sur: http://www.assemblee-nationale.fr/15/cr-cealimindu/17-18/c1718005.asp#P3_197
17. FRAC MoA Poster 2019 Final v2 [Internet]. [cité 28 juill 2019]. Disponible sur: <https://www.frac.info/publications/downloads>
18. Walker ASAS. Fongicides. Les SDHI : une nouvelle famille pour protéger les céréales. *Perspect Agric*. 2011;384:38-9.
19. FRAC | Introduction and General Information [Internet]. Fungicide Resistance Action Committee. [cité 1 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.frac.info/working-group/sdhi-fungicides>
20. Horsefield R, Yankovskaya V, Sexton G, Whittingham W, Shiomi K, Omura S, et al. Structural and computational analysis of the quinone-binding site of complex II (succinate-ubiquinone oxidoreductase): a mechanism of electron transfer and proton conduction during ubiquinone reduction. *J Biol Chem*. 17 mars 2006;281(11):7309-16.
21. Ackrell BA. Progress in understanding structure-function relationships in respiratory chain complex II. *FEBS Lett*. 21 janv 2000;466(1):1-5.
22. Bardella C, Pollard PJ, Tomlinson I. SDH mutations in cancer. *Biochim Biophys Acta BBA - Bioenerg*. 1 nov 2011;1807(11):1432-43.
23. Yankovskaya V, Horsefield R, Törnroth S, Luna-Chavez C, Miyoshi H, Léger C, et al. Architecture of succinate dehydrogenase and reactive oxygen species generation. *Science*. 31 janv 2003;299(5607):700-4.
24. Bourgeron T, Rustin P, Chretien D, Birch-Machin M, Bourgeois M, Viegas-Péquignot E, et al. Mutation of a nuclear succinate dehydrogenase gene results in mitochondrial respiratory chain deficiency. *Nat Genet*. oct 1995;11(2):144-9.
25. Courage C, Jackson CB, Hahn D, Euro L, Nuoffer J-M, Gallati S, et al. SDHA mutation with dominant transmission results in complex II deficiency with ocular, cardiac, and neurologic involvement. *Am J Med Genet A*. janv 2017;173(1):225-30.

26. Alston CL, Davison JE, Meloni F, van der Westhuizen FH, He L, Hornig-Do H-T, et al. Recessive germline SDHA and SDHB mutations causing leukodystrophy and isolated mitochondrial complex II deficiency. *J Med Genet.* sept 2012;49(9):569-77.
27. Bausch B, Schiavi F, Ni Y, Welander J, Patocs A, Ngeow J, et al. Clinical Characterization of the Pheochromocytoma and Paraganglioma Susceptibility Genes SDHA, TMEM127, MAX, and SDHAF2 for Gene-Informed Prevention. *JAMA Oncol.* 1 sept 2017;3(9):1204-12.
28. Bayley J-P, Kunst HPM, Cascon A, Sampietro ML, Gaal J, Korpershoek E, et al. SDHAF2 mutations in familial and sporadic paraganglioma and pheochromocytoma. *Lancet Oncol.* avr 2010;11(4):366-72.
29. Dwight T, Mann K, Benn DE, Robinson BG, McKelvie P, Gill AJ, et al. Familial SDHA mutation associated with pituitary adenoma and pheochromocytoma/paraganglioma. *J Clin Endocrinol Metab.* juin 2013;98(6):E1103-1108.
30. Dwight T, Benn DE, Clarkson A, Vilain R, Lipton L, Robinson BG, et al. Loss of SDHA expression identifies SDHA mutations in succinate dehydrogenase-deficient gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg Pathol.* févr 2013;37(2):226-33.
31. Ma Y-Y, Wu T-F, Liu Y-P, Wang Q, Li X-Y, Ding Y, et al. Two compound frame-shift mutations in succinate dehydrogenase gene of a Chinese boy with encephalopathy. *Brain Dev.* mai 2014;36(5):394-8.
32. Baysal BE, Ferrell RE, Willett-Brozick JE, Lawrence EC, Myssiorek D, Bosch A, et al. Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. *Science.* 4 févr 2000;287(5454):848-51.
33. Ayala-Ramirez M, Callender GG, Kupferman ME, Rich TA, Chuang HH, Trent J, et al. Paraganglioma syndrome type 1 in a patient with Carney-Stratakis syndrome. *Nat Rev Endocrinol.* févr 2010;6(2):110-5.
34. Malinoc A, Sullivan M, Wiech T, Schmid KW, Jilg C, Straeter J, et al. Biallelic inactivation of the SDHC gene in renal carcinoma associated with paraganglioma syndrome type 3. *Endocr Relat Cancer.* juin 2012;19(3):283-90.
35. Cali6 A, Grignon DJ, Stohr BA, Williamson SR, Eble JN, Cheng L. Renal cell carcinoma with TFE3 translocation and succinate dehydrogenase B mutation. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc.* 2017;30(3):407-15.
36. Bersang AB, Bube S, Fode M, Azawi NH. Hand-Assisted Laparoscopic Partial Nephrectomy for Large Renal Carcinoma with Succinate Dehydrogenase Deficiency. *J Endourol Case Rep.* 2018;4(1):12-4.
37. Boikos SA, Pappo AS, Killian JK, LaQuaglia MP, Weldon CB, George S, et al. Molecular Subtypes of KIT/PDGFRA Wild-Type Gastrointestinal Stromal Tumors: A Report From the National Institutes of Health Gastrointestinal Stromal Tumor Clinic. *JAMA Oncol.* 1 juill 2016;2(7):922-8.
38. Ngeow J, Mester J, Rybicki LA, Ni Y, Milas M, Eng C. Incidence and clinical characteristics of thyroid cancer in prospective series of individuals with Cowden and Cowden-like syndrome characterized by germline PTEN, SDH, or KLLN alterations. *J Clin Endocrinol Metab.* déc 2011;96(12):E2063-2071.

39. Ni Y, Seballos S, Ganapathi S, Gurin D, Fletcher B, Ngeow J, et al. Germline and somatic SDHx alterations in apparently sporadic differentiated thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer*. avr 2015;22(2):121-30.
40. Jackson CB, Nuoffer J-M, Hahn D, Prokisch H, Haberberger B, Gautschi M, et al. Mutations in SDHD lead to autosomal recessive encephalomyopathy and isolated mitochondrial complex II deficiency. *J Med Genet*. mars 2014;51(3):170-5.
41. Antonello M, Piazza M, Menegolo M, Opocher G, Deriu GP, Grego F. Role of the genetic study in the management of carotid body tumor in paraganglioma syndrome. *Eur J Vasc Endovasc Surg Off J Eur Soc Vasc Surg*. nov 2008;36(5):517-9.
42. Dahia PLM, Ross KN, Wright ME, Hayashida CY, Santagata S, Barontini M, et al. A HIF1alpha regulatory loop links hypoxia and mitochondrial signals in pheochromocytomas. *PLoS Genet*. juill 2005;1(1):72-80.
43. Pollard PJ, El-Bahrawy M, Poulson R, Elia G, Killick P, Kelly G, et al. Expression of HIF-1alpha, HIF-2alpha (EPAS1), and their target genes in paraganglioma and pheochromocytoma with VHL and SDH mutations. *J Clin Endocrinol Metab*. nov 2006;91(11):4593-8.
44. Letouzé E, Martinelli C, Loriot C, Burnichon N, Abermil N, Ottolenghi C, et al. SDH mutations establish a hypermethylator phenotype in paraganglioma. *Cancer Cell*. 10 juin 2013;23(6):739-52.
45. Ardisson A, Invernizzi F, Nasca A, Moroni I, Farina L, Ghezzi D. Mitochondrial leukoencephalopathy and complex II deficiency associated with a recessive SDHB mutation with reduced penetrance. *Mol Genet Metab Rep*. déc 2015;5:51-4.
46. Amar L, Baudin E, Burnichon N, Peyrard S, Silvera S, Bertherat J, et al. Succinate dehydrogenase B gene mutations predict survival in patients with malignant pheochromocytomas or paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab*. oct 2007;92(10):3822-8.
47. Boedeker CC, Neumann HPH, Maier W, Bausch B, Schipper J, Ridder GJ. Malignant head and neck paragangliomas in SDHB mutation carriers. *Otolaryngol--Head Neck Surg Off J Am Acad Otolaryngol-Head Neck Surg*. juill 2007;137(1):126-9.
48. Andrews KA, Ascher DB, Pires DEV, Barnes DR, Vialard L, Casey RT, et al. Tumour risks and genotype-phenotype correlations associated with germline variants in succinate dehydrogenase subunit genes SDHB, SDHC and SDHD. *J Med Genet*. 2018;55(6):384-94.
49. van Nederveen FH, Gaal J, Favier J, Korpershoek E, Oldenburg RA, de Bruyn EMCA, et al. An immunohistochemical procedure to detect patients with paraganglioma and phaeochromocytoma with germline SDHB, SDHC, or SDHD gene mutations: a retrospective and prospective analysis. *Lancet Oncol*. août 2009;10(8):764-71.
50. Wojtovich AP, Smith CO, Haynes CM, Nehrke KW, Brookes PS. Physiological consequences of complex II inhibition for aging, disease, and the mKATP channel. *Biochim Biophys Acta*. mai 2013;1827(5):598-611.
51. Brière J-J, Favier J, Bénit P, El Ghouzzi V, Lorenzato A, Rabier D, et al. Mitochondrial succinate is instrumental for HIF1alpha nuclear translocation in SDHA-mutant fibroblasts under normoxic conditions. *Hum Mol Genet*. 1 nov 2005;14(21):3263-9.

52. Bernaudin M, Nedelec A-S, Divoux D, MacKenzie ET, Petit E, Schumann-Bard P. Normobaric hypoxia induces tolerance to focal permanent cerebral ischemia in association with an increased expression of hypoxia-inducible factor-1 and its target genes, erythropoietin and VEGF, in the adult mouse brain. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* avr 2002;22(4):393-403.
53. Kaelin WG. SDH5 Mutations and Familial Paraganglioma: Somewhere Warburg is Smiling. *Cancer Cell.* 8 sept 2009;16(3):180-2.
54. Pollard PJ, Brière JJ, Alam NA, Barwell J, Barclay E, Wortham NC, et al. Accumulation of Krebs cycle intermediates and over-expression of HIF1alpha in tumours which result from germline FH and SDH mutations. *Hum Mol Genet.* 1 août 2005;14(15):2231-9.
55. Cervera AM, Apostolova N, Crespo FL, Mata M, McCreath KJ. Cells silenced for SDHB expression display characteristic features of the tumor phenotype. *Cancer Res.* 1 juin 2008;68(11):4058-67.
56. Brière J-J, Favier J, Gimenez-Roqueplo A-P, Rustin P. Tricarboxylic acid cycle dysfunction as a cause of human diseases and tumor formation. *Am J Physiol Cell Physiol.* déc 2006;291(6):C1114-1120.
57. Gimenez-Roqueplo A-P, Favier J, Rustin P, Rieubland C, Kerlan V, Plouin P-F, et al. Functional consequences of a SDHB gene mutation in an apparently sporadic pheochromocytoma. *J Clin Endocrinol Metab.* oct 2002;87(10):4771-4.
58. Gimenez-Roqueplo AP, Favier J, Rustin P, Mourad JJ, Plouin PF, Corvol P, et al. The R22X mutation of the SDHD gene in hereditary paraganglioma abolishes the enzymatic activity of complex II in the mitochondrial respiratory chain and activates the hypoxia pathway. *Am J Hum Genet.* déc 2001;69(6):1186-97.
59. Favier J, Letouzé E. [Mutations in succinate dehydrogenase and DNA methylation]. *Med Sci MS.* déc 2013;29(12):1092-4.
60. Smith EH, Janknecht R, Maher LJ. Succinate inhibition of alpha-ketoglutarate-dependent enzymes in a yeast model of paraganglioma. *Hum Mol Genet.* 15 déc 2007;16(24):3136-48.
61. Guo J, Lemire BD. The ubiquinone-binding site of the *Saccharomyces cerevisiae* succinate-ubiquinone oxidoreductase is a source of superoxide. *J Biol Chem.* 28 nov 2003;278(48):47629-35.
62. Ishii T, Yasuda K, Akatsuka A, Hino O, Hartman PS, Ishii N. A mutation in the SDHC gene of complex II increases oxidative stress, resulting in apoptosis and tumorigenesis. *Cancer Res.* 1 janv 2005;65(1):203-9.
63. Guzy RD, Sharma B, Bell E, Chandel NS, Schumacker PT. Loss of the SdhB, but Not the SdhA, subunit of complex II triggers reactive oxygen species-dependent hypoxia-inducible factor activation and tumorigenesis. *Mol Cell Biol.* janv 2008;28(2):718-31.
64. Selak MA, Durán RV, Gottlieb E. Redox stress is not essential for the pseudo-hypoxic phenotype of succinate dehydrogenase deficient cells. *Biochim Biophys Acta.* juin 2006;1757(5-6):567-72.
65. Lee S, Nakamura E, Yang H, Wei W, Linggi MS, Sajan MP, et al. Neuronal apoptosis linked to EglN3 prolyl hydroxylase and familial pheochromocytoma genes: developmental culling and cancer. *Cancer Cell.* août 2005;8(2):155-67.

66. GUERBET M,, LAFON D., BARIL M. et al. RAPPORT de l'Anses relatif aux Valeurs toxicologiques de référence - Guide d'élaboration de VTR | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail [Internet]. ANSES; 2017 nov [cité 6 avr 2019] p. p1-186. Report No.: n° 2017-SA-0016. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/content/rapport-de-l-anses-relatif-aux-valeurs-toxicologiques-de-r%C3%A9f%C3%A9rence-guide-d%C3%A9laboration-de-vtr>
67. Draft Guidance for the setting and application of acceptable operator exposure levels (AOELs) [Internet]. European commission; 2006 juill [cité 19 avr 2019] p. p1-28. Report No.: SANCO 7531-rev.10. Disponible sur: https://ec.europa.eu/search/?queryText=pesticide+AOEL&query_source=europa_default&filterSource=europa_default&swlang=en&more_options_language=en&more_options_f_formats=pdf&more_options_date=*
68. ANSES. Guide AGRITOX [Internet]. agritox.anses.fr. 2012 [cité 6 avr 2019]. Disponible sur: <http://www.agritox.anses.fr/guides/guide-agritox.html>
69. Guidance on pesticides exposure assessment of operators, workers, residents and bystanders [Internet]. European Food Safety Authority; 2014 oct [cité 19 avr 2019] p. 1-55. Disponible sur: <https://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/3874>
70. Le Borgne C. Etude de la cohérence entre les modèles d'autorisation de mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques et les pratiques agricoles de la France métropolitaine de 2010 : vers une caractérisation pertinente de l'exposition de l'opérateur [mémoire]. Ecole Haute Etudes en Santé Publique (EHESP); 2009.
71. Tinwell H, Rouquié D, Schorsch F, Geter D, Wason S, Bars R. Liver tumor formation in female rat induced by fluopyram is mediated by CAR/PXR nuclear receptor activation. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1 déc 2014;70(3):648-58.
72. Rouquié D, Tinwell H, Blanck O, Schorsch F, Geter D, Wason S, et al. Thyroid tumor formation in the male mouse induced by fluopyram is mediated by activation of hepatic CAR/PXR nuclear receptors. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1 déc 2014;70(3):673-80.
73. Buchman CD, Chai SC, Chen T. A current structural perspective on PXR and CAR in drug metabolism. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. juin 2018;14(6):635-47.
74. Willson TM, Kliewer SA. PXR, CAR and drug metabolism. *Nat Rev Drug Discov*. avr 2002;1(4):259-66.
75. Yang Y, Qi S, Wang D, Wang K, Zhu L, Chai T, et al. Toxic effects of thifluzamide on zebrafish (*Danio rerio*). *J Hazard Mater*. 15 avr 2016;307:127-36.
76. Qian L, Cui F, Yang Y, Liu Y, Qi S, Wang C. Mechanisms of developmental toxicity in zebrafish embryos (*Danio rerio*) induced by boscalid. *Sci Total Environ*. 1 sept 2018;634:478-87.
77. Wu S, Lei L, Liu M, Song Y, Lu S, Li D, et al. Single and mixture toxicity of strobilurin and SDHI fungicides to *Xenopus tropicalis* embryos. *Ecotoxicol Environ Saf*. 30 mai 2018;153:8-15.
78. Çayır A, Coskun M, Coskun M. Micronuclei, nucleoplasmic bridges, and nuclear buds induced in human lymphocytes by the fungicide signum and its active ingredients (boscalid and pyraclostrobin). *Environ Toxicol*. mai 2014;29(7):723-32.

79. Akyıl D, Özkara A, Erdoğan SF, Eren Y, Konuk M, Sağlam E. Evaluation of cytotoxic and genotoxic effects of Benodanil by using Allium and Micronucleus assays. *Drug Chem Toxicol.* 2016;39(1):35-40.
80. Termopoli V, Famiglini G, Palma P, Magrini L, Cappiello A. Occurrence of specific environmental risk factors in brain tissues of sudden infant death and sudden intrauterine unexpected death victims assessed with gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* mars 2015;407(9):2463-72.
81. Zahn E, Wolfrum J, Knebel C, Heise T, Weiß F, Poetz O, et al. Mixture effects of two plant protection products in liver cell lines. *Food Chem Toxicol.* 1 févr 2018;112:299-309.
82. Baldi I., Le Bailly P.,. Monographie cancers et pesticides. *Rev Prat.* juin 2007;57(supplément 11):40-4.
83. Substances cancérigènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction (CMR) | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail [Internet]. [cité 19 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/content/substances-canc%C3%A9rog%C3%A8nes-mutag%C3%A8nes-et-toxiques-pour-la-reproduction-cmr>
84. Organization WH, Safety IP on C. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2009 [Internet]. World Health Organization; 2010 [cité 19 avr 2019]. Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44271>
85. IARC. Agents Classés par les Monographies du CIRC, Volumes 1–124 – IARC [Internet]. 2019 [cité 19 avr 2019]. Disponible sur: <https://monographs.iarc.fr/fr/agents-classes-par-les-monographies-du-circ-2/>
86. MSA - Les chiffres utiles de la MSA 2018 (national) [Internet]. France: Mutualité Sociale et Agricole; 2018 [cité 19 avr 2019] p. 1-42. Disponible sur: <https://www.msa.fr/lfy/chiffres-utiles-msa>
87. Gangemi S, Miozzi E, Teodoro M, Briguglio G, De Luca A, Alibrando C, et al. Occupational exposure to pesticides as a possible risk factor for the development of chronic diseases in humans (Review). *Mol Med Rep.* nov 2016;14(5):4475-88.
88. Bolognesi C, Merlo FD. Pesticides: Human Health Effects. In: Nriagu JO, éditeur. *Encyclopedia of Environmental Health* [Internet]. Burlington: Elsevier; 2011 [cité 8 mars 2019]. p. 438-53. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444522726005924>
89. Weichenthal S, Moase C, Chan P. A review of pesticide exposure and cancer incidence in the agricultural health study cohort. *Cienc Saude Coletiva.* janv 2012;17(1):255-70.
90. Mostafalou S, Abdollahi M. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicol Appl Pharmacol.* 15 avr 2013;268(2):157-77.
91. Blair A, Zahm SH, Pearce NE, Heineman EF, Fraumeni JF. Clues to cancer etiology from studies of farmers. *Scand J Work Environ Health.* août 1992;18(4):209-15.
92. Acquavella J, Olsen G, Cole P, Ireland B, Kaneene J, Schuman S, et al. Cancer among farmers: a meta-analysis. *Ann Epidemiol.* janv 1998;8(1):64-74.

93. Lemarchand C, Tual S, Levêque-Morlais N, Perrier S, Belot A, Velten M, et al. Cancer incidence in the AGRICAN cohort study (2005-2011). *Cancer Epidemiol.* 2017;49:175-85.
94. Lemarchand C, Tual S, Boulanger M, Levêque-Morlais N, Perrier S, Clin B, et al. Prostate cancer risk among French farmers in the AGRICAN cohort. *Scand J Work Environ Health.* mars 2016;42(2):144-52.
95. Piel C, Pouchieu C, Tual S, Migault L, Lemarchand C, Carles C, et al. Central nervous system tumors and agricultural exposures in the prospective cohort AGRICAN. *Int J Cancer.* 01 2017;141(9):1771-82.
96. Pouchieu C, Piel C, Carles C, Gruber A, Helmer C, Tual S, et al. Pesticide use in agriculture and Parkinson's disease in the AGRICAN cohort study. *Int J Epidemiol.* 01 2018;47(1):299-310.
97. tableaux de maladies professionnelles du régime agricole en lien avec les pesticides [Internet]. Recherche des tableaux - Publications et outils - INRS. [cité 4 août 2019]. Disponible sur: <http://www.inrs.fr/publications/bdd/mp/recherche.html?typeRegime=RA&motsCles=pesticides>
98. Lebailly P, Bouchart V, Baldi I, Lecluse Y, Heutte N, Gislard A, et al. Exposure to pesticides in open-field farming in France. *Ann Occup Hyg.* janv 2009;53(1):69-81.
99. Ramwell CT, Johnson PD, Boxall ABA, Rimmer DA. Pesticide residues on the external surfaces of field crop sprayers: occupational exposure. *Ann Occup Hyg.* juin 2005;49(4):345-50.
100. Baldi I, Lebailly P, Jean S, Rougetet L, Dulaurent S, Marquet P. Pesticide contamination of workers in vineyards in France. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* mars 2006;16(2):115-24.
101. Tielemans E, Bretveld R, Schinkel J, Van Wendel De Joode B, Kromhout H, Gerritsen-Ebben R, et al. Exposure profiles of pesticides among greenhouse workers: implications for epidemiological studies. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* sept 2007;17(6):501-9.
102. Armenta S, de la Guardia M. Chapter 24 - Pesticide Industries Air Quality. In: de la Guardia M, Armenta S, éditeurs. *Comprehensive Analytical Chemistry* [Internet]. Elsevier; 2016 [cité 8 mars 2019]. p. 655-82. (The Quality of Air; vol. 73). Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166526X16300356>
103. Feldmann RJ, Maibach HI. Percutaneous penetration of some pesticides and herbicides in man. *Toxicol Appl Pharmacol.* avr 1974;28(1):126-32.
104. Díaz-Criollo S, Palma M, Monroy-García AA, Idrovo AJ, Combariza D, Varona-Urbe ME. Chronic pesticide mixture exposure including paraquat and respiratory outcomes among Colombian farmers. *Ind Health.* 18 avr 2019;
105. Aguilar-Garduño C, Blanco-Muñoz J, Roxana Antonio K, Escamilla-Nuñez C, Juárez-Pérez CA, Schilman A, et al. Occupational predictors of urinary dialkyl phosphate concentrations in Mexican flower growers. *Int J Occup Environ Health.* 2017;23(2):151-9.
106. Arcury TA, Laurienti PJ, Talton JW, Chen H, Howard TD, Barr DB, et al. Pesticide Urinary Metabolites Among Latina Farmworkers and Nonfarmworkers in North Carolina. *J Occup Environ Med.* 2018;60(1):e63-71.
107. Lee KM, Park S-Y, Lee K, Oh S-S, Ko SB. Pesticide metabolite and oxidative stress in male farmers exposed to pesticide. *Ann Occup Environ Med.* 2017;29:5.

108. Jaipieam S, Visuthismajarn P, Siriwong W, Borjan M, Robson MG. Inhalation exposure of organophosphate pesticides by vegetable growers in the Bang-Rieng subdistrict in Thailand. *J Environ Public Health*. 2009;2009:452373.
109. PPDB A to Z Index [Internet]. [cité 4 août 2019]. Disponible sur: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>
110. EU Pesticides database - European Commission [Internet]. [cité 4 août 2019]. Disponible sur: <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.selection&language=EN>
111. ephy | [Internet]. [cité 4 août 2019]. Disponible sur: <https://ephy.anses.fr/>
112. Personal protective equipment for applicators of plant protection products: ANSES's findings and recommendations | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail [Internet]. [cité 4 août 2019]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/en/content/personal-protective-equipment-applicators-plant-protection-products-anses-findings-and>
113. Gedda M. Traduction française des lignes directrices PRISMA pour l'écriture et la lecture des revues systématiques et des méta-analyses. *Rev Francoph Int Rech Infirm*. 1 mars 2017;3(1):19-24.
114. Gedda M. Traduction française des lignes directrices STROBE pour l'écriture et la lecture des études observationnelles. *Rev Francoph Int Rech Infirm*. 1 mars 2017;3(1):13-7.
115. Gagnier JJ, Kienle G, Altman DG, Moher D, Sox H, Riley D. The CARE guidelines: consensus-based clinical case report guideline development. *J Clin Epidemiol*. 1 janv 2014;67(1):46-51.
116. Samuel GO, Hoffmann S, Wright RA, Lalu MM, Patlewicz G, Becker RA, et al. Guidance on assessing the methodological and reporting quality of toxicologically relevant studies: A scoping review. *Environ Int*. 1 juill 2016;92-93:630-46.
117. Chen Y, Yang K, Marušić A, Qaseem A, Meerpohl JJ, Flottorp S, et al. A Reporting Tool for Practice Guidelines in Health Care: The RIGHT Statement. *Ann Intern Med*. 17 janv 2017;166(2):128-32.
118. MacKenzie ED, Selak MA, Tennant DA, Payne LJ, Crosby S, Frederiksen CM, et al. Cell-permeating alpha-ketoglutarate derivatives alleviate pseudohypoxia in succinate dehydrogenase-deficient cells. *Mol Cell Biol*. mai 2007;27(9):3282-9.
119. Cervera AM, Bayley J-P, Devilee P, McCreath KJ. Inhibition of succinate dehydrogenase dysregulates histone modification in mammalian cells. *Mol Cancer*. 22 oct 2009;8:89.
120. Xiao M, Yang H, Xu W, Ma S, Lin H, Zhu H, et al. Inhibition of α -KG-dependent histone and DNA demethylases by fumarate and succinate that are accumulated in mutations of FH and SDH tumor suppressors. *Genes Dev*. 15 juin 2012;26(12):1326-38.
121. Sciacovelli M, Guzzo G, Morello V, Frezza C, Zheng L, Nannini N, et al. The mitochondrial chaperone TRAP1 promotes neoplastic growth by inhibiting succinate dehydrogenase. *Cell Metab*. 4 juin 2013;17(6):988-99.

122. Guzzo G, Sciacovelli M, Bernardi P, Rasola A. Inhibition of succinate dehydrogenase by the mitochondrial chaperone TRAP1 has anti-oxidant and anti-apoptotic effects on tumor cells. *Oncotarget*. 15 déc 2014;5(23):11897-908.
123. Laukka T, Mariani CJ, Ihtantola T, Cao JZ, Hokkanen J, Kaelin WG, et al. Fumarate and Succinate Regulate Expression of Hypoxia-inducible Genes via TET Enzymes. *J Biol Chem*. 19 févr 2016;291(8):4256-65.
124. Wentzel JF, Lewies A, Bronkhorst AJ, van Dyk E, du Plessis LH, Pretorius PJ. Exposure to high levels of fumarate and succinate leads to apoptotic cytotoxicity and altered global DNA methylation profiles in vitro. *Biochimie*. avr 2017;135:28-34.
125. Fuhrmann DC, Wittig I, Brüne B. TMEM126B deficiency reduces mitochondrial SDH oxidation by LPS, attenuating HIF-1 α stabilization and IL-1 β expression. *Redox Biol*. 1 janv 2019;20:204-16.
126. Brochure « Phytosanitaires et pratiques agricoles : Phyt'attitude au coeur de la prévention (10 années de bilan) » - Terre saine - Votre commune sans pesticides [Internet]. France: MSA - Santé Sécurité en Agriculture; [cité 14 avr 2019] p. 1-28. Disponible sur: <http://www.terresaine-poitou-charentes.fr/Brochure-Phytosanitaires-et.html>
127. MSA. Bilan des observations du réseau Phyt'Attitude 2008 à 2010 [Internet]. France: MSA; 2010 janv [cité 14 avr 2019] p. 1-83. Disponible sur: <https://ssa.msa.fr/document/bilan-des-observations-du-reseau-phytattitude/>
128. Bilan des observations du réseau Phyt'Attitude 2011 à 2014 [Internet]. France: MSA - Santé Sécurité en Agriculture; 2014 janv [cité 14 avr 2019] p. 1-99. Disponible sur: <https://ssa.msa.fr/document/bilan-des-observations-du-reseau-phytattitude-2011-a-2014/>
129. Rambourg MO. La toxicovigilance en milieu agricole : le réseau phyt'attitude. *Bull Vigil L'Anses*. févr 2018;(4):p15-18.
130. Lesmes-Fabian C, Binder CR. Pesticide flow analysis to assess human exposure in greenhouse flower production in Colombia. *Int J Environ Res Public Health*. 25 mars 2013;10(4):1168-85.
131. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance benzovindiflupyr [Internet]. European Food Safety Authority; 2015 mars [cité 20 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/4043>
132. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance bixafen. *EFSA J*. 2012;10(11):2917.
133. Review report for the active substance boscalid [Internet]. European commission; 2008 janv [cité 14 avr 2019] p. 1-23. Disponible sur: <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1040>
134. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance carboxin. *EFSA J*. 2010;8(10):1857.
135. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fluopyram. *EFSA J*. 2013;11(4):3052.
136. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fluxapyroxad (BAS 700 F). *EFSA J*. 2012;10(1):2522.

137. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance flutolanil - - 2008 - EFSA Journal - Wiley Online Library [Internet]. [cité 4 août 2019]. Disponible sur: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2008.126r>
138. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance isofetamid. EFSA J. 2015;13(11):4265.
139. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance isopyrazam - - 2012 - EFSA Journal - Wiley Online Library [Internet]. [cité 4 août 2019]. Disponible sur: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2012.2600>
140. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance penflufen - - 2016 - EFSA Journal - Wiley Online Library [Internet]. [cité 4 août 2019]. Disponible sur: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2016.4604>
141. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance penthiopyrad. EFSA J. 2013;11(2):3111.
142. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance sedaxane - - 2012 - EFSA Journal - Wiley Online Library [Internet]. [cité 4 août 2019]. Disponible sur: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2012.2823>
143. Astrom K, Cohen JE, Willett-Brozick JE, Aston CE, Baysal BE. Altitude is a phenotypic modifier in hereditary paraganglioma type 1: evidence for an oxygen-sensing defect. Hum Genet. août 2003;113(3):228-37.
144. Wang Y, Guo S-H, Shang X-J, Yu L-S, Zhu J-W, Zhao A, et al. Triptolide induces Sertoli cell apoptosis in mice via ROS/JNK-dependent activation of the mitochondrial pathway and inhibition of Nrf2-mediated antioxidant response. Acta Pharmacol Sin. févr 2018;39(2):311-27.
145. Nonaka K, Une S, Komatsu M, Yamaji R, Akiyama J. Heat stress prevents the decrease in succinate dehydrogenase activity in the extensor digitorum longus of streptozotocin-induced diabetic rats. Physiol Res. 16 2018;67(1):117-26.
146. Ju R, Jia Q, Meng T, Wang C, Chen X, Niu Y, et al. [Effect of occupational exposure to toluene diisocyanate on workers' health]. Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi Zhonghua Laodong Weisheng Zhiyebing Zazhi Chin J Ind Hyg Occup Dis. janv 2016;34(1):23-6.
147. Myung K, Klittich CJR. Can agricultural fungicides accelerate the discovery of human antifungal drugs? Drug Discov Today. janv 2015;20(1):7-10.
148. van der Plaat DA, de Jong K, de Vries M, van Diemen CC, Nedeljković I, Amin N, et al. Occupational exposure to pesticides is associated with differential DNA methylation. Occup Environ Med. 2018;75(6):427-35.
149. Zhang X, Wallace AD, Du P, Kibbe WA, Jafari N, Xie H, et al. DNA methylation alterations in response to pesticide exposure in vitro. Environ Mol Mutagen. août 2012;53(7):542-9.
150. Collotta M, Bertazzi PA, Bollati V. Epigenetics and pesticides. Toxicology. 10 mai 2013;307:35-41.
151. Oh YJ, Jung YJ, Kang J-W, Yoo YS. Investigation of the estrogenic activities of pesticides from Pal-dang reservoir by in vitro assay. Sci Total Environ. 15 déc 2007;388(1-3):8-15.

152. Medjakovic S, Zoechling A, Gerster P, Ivanova MM, Teng Y, Klinge CM, et al. Effect of nonpersistent pesticides on estrogen receptor, androgen receptor, and aryl hydrocarbon receptor. *Environ Toxicol.* oct 2014;29(10):1201-16.
153. Béranger R, Hardy EM, Dexet C, Guldner L, Zaros C, Nougadère A, et al. Multiple pesticide analysis in hair samples of pregnant French women: Results from the ELFE national birth cohort. *Environ Int.* 1 nov 2018;120:43-53.
154. Garrigou A, Baldi I, Le Frious P, Anselm R, Vallier M. Ergonomics contribution to chemical risks prevention: An ergotoxicological investigation of the effectiveness of coverall against plant pest risk in viticulture. *Appl Ergon.* 1 janv 2011;42(2):321-30.
155. Pouzou JG, Cullen AC, Yost MG, Kissel JC, Fenske RA. Comparative Probabilistic Assessment of Occupational Pesticide Exposures Based on Regulatory Assessments. *Risk Anal Off Publ Soc Risk Anal.* 2018;38(6):1223-38.
156. L. HUC. Impacts of SDHi fungicides on health and biodiversity: a toxicological and socioeconomic EcoHealth evaluation. Toulouse: TOXALIM (Institut National de Recherche en Agronomie); 2019 p. 1-20.

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Figures

Figure 1 : Nombre moyen de traitement par espèces y compris adjuvants p13

Figure 2 : Poster du FRAC résumant les différents modes d'action des fongicides p19

Figure 3 : Historique des SDHi p 20

Figure 4 : Le complexe II mitochondriale p23

Figure 5 : Mécanismes d'actions génétiques de la SDH p26

Figure 6 : Régulation des fonctions des Facteurs d'Induction de l'Hypoxie (HIF) p27

Figure 7 : Mécanismes épigénétiques et succinate p30

Figure 8 : Mécanisme d'action recpeteur PXR régulant l'expression de CYP3A dans le métabolisme médicamenteux p41

Figure 9 : Synthèses des métaanalyses sur le risque de cancer en milieu agricole par A.Blair (1992) et J. Acquavella (1998) p45

Figure 10 : Pourcentage d'absorption des pesticides selon les parties du corps humain issu de Armenta et al p48

Figure 11 : Diagramme de flux représentant la méthodologie et les résultats de la sélection des articles inclus dans la revue de la littérature p54

Figure 12 : Evolution des ventes de SDHi entre 2008 et 2017 en tonnage par année en France p67

Tableaux

Tableau 1 : Les différents SDHI selon le FRAC p21

Tableau 2 : Les 11 SDHi autorisés en Europe en Janvier 2019 et leur utilisation agricole p22

Tableau 3 : Les syndromes SDHx p23

Tableau 4 : Tests pour l'évaluation génotoxique d'une substance selon l'ANSES	p34
Tableau 5 : Résumé non exhaustif des models utilisés pour le calcul de l'AOEL	p36
Tableau 6 : Classification CMR de l'ANSES	p43
Tableau 7 : Classification CMR de la WHO	p43
Tableau 8 : Classification CMR de IARC	p44
Tableau 9 : Associations entre exposition à des classes de pesticides et les types de cancers issus d'études épidémiologiques	p46
Tableau 10 : Outils d'évaluation méthodologiques utilisés par type d'étude	p55
Tableau 11 : Résumé des 8 études in vitro sur les mécanismes d'actions métaboliques et épigénétiques	p60-61
Tableau 12 : Score d'imputabilité selon méthodologie phyt'attitude	p 62
Tableau 13 : Principaux résultats réseau phyt'attitude 1997-2014	p63-64
Tableau 14 : Résumé résultats étude transversale Lesme et al	p67
Tableau 15 : Résmé non exhaustif des utilisations agricoles des SDHi	p68
Tableau 16 : Liste des SDHi cancérigènes selon la Classification de l'EFSA	p70

ANNEXES

Annexe 1 : Grille PRISMA [113]

Section/sujet	N°	Critères de contrôle	Page N°
TITRE	1	Identifier le rapport comme une revue systématique, une méta-analyse, ou les deux.	
RÉSUMÉ	2	Fournir un résumé structuré incluant, si applicable : contexte ; objectifs ; sources des données ; critères d'éligibilité des études, populations, et interventions ; évaluation des études et méthodes de synthèse ; résultats ; limites ; conclusions et impacts des principaux résultats ; numéros d'enregistrement de la revue systématique.	
INTRODUCTION	3	Justifier la pertinence de la revue par rapport à l'état actuel des connaissances.	
Contexte	4	Déclarer explicitement les questions traitées en se référant aux participants, interventions, comparaisons, résultats, et à la conception de l'étude (PICOS*).	
Objectifs	5	Indiquer si un protocole de revue de la littérature existe, s'il peut être consulté et où (par exemple, l'adresse web), et, le cas échéant, fournir des informations d'identification, y compris le numéro d'enregistrement.	
MÉTHODE	6	Spécifier les caractéristiques du rapport (par exemple, PICOS, durée de suivi) et les caractéristiques du rapport (par exemple, années considérées, langues, statuts de publication) utilisées comme critères d'éligibilité, et justifier ce choix.	
Protocole et enregistrement	7	Décrire toutes les sources d'information (par exemple : bases de données avec la période couverte, échange avec les auteurs pour identifier des études complémentaires) de recherche et la date de la dernière recherche.	
Critères d'éligibilité	8	Présenter la stratégie complète de recherche automatisée d'au moins une base de données, y compris les limites décidées, de sorte qu'elle puisse être reproduite.	
Sources d'information	9	Indiquer le processus de sélection des études (c.-à-d. : triage, éligibilité, inclusion dans la revue systématique, et, le cas échéant, inclusion dans la méta-analyse).	
Recherche	10	Décrire la méthode d'extraction de données contenues dans les rapports (par exemple : formulaires pré-établis, librement, en double lecture) et tous les processus d'obtention et de vérification des données auprès des investigateurs.	
Sélection des études	11	Lister et définir toutes les variables pour lesquelles des données ont été recherchées (par exemple : PICOS, sources de financement) et les suppositions et simplifications réalisées.	
Extraction des données	12	Décrire les méthodes utilisées pour évaluer le risque de biais de chaque étude (en spécifiant si celui-ci se situe au niveau de l'étude ou du résultat), et comment cette information est utilisée dans la synthèse des données.	
Données	13	Indiquer les principales métriques de quantification des résultats (par exemple : risk ratio, différence entre les moyennes).	
Risque de biais inhérent à chacune des études	14	Décrire les méthodes de traitement des données et de combinaison des résultats des études, si effectué, y compris les tests d'hétérogénéité (par exemple : I ²) pour chaque méta-analyse.	
Quantification des résultats	15	Spécifier toute quantification du risque de biais pouvant altérer le niveau de preuve global (par exemple : biais de publication, rapport sélectif au sein des études).	
Synthèse des résultats	16	Décrire les méthodes des analyses complémentaires (par exemple : analyses de sensibilité ou en sous-groupes, méta-régression), si effectuées, en indiquant celles qui étaient prévues a priori.	
Risque de biais transversal aux études			
Analyses complémentaires			

Section/sujet	N°	Critères de contrôle	Page N°
RÉSULTATS			
Sélection des études	17	Indiquer le nombre d'études triées, examinées en vue de l'éligibilité, et incluses dans la revue, avec les raisons d'exclusion à chaque étape, de préférence sous forme d'un diagramme de flux.	
Caractéristiques des études sélectionnées	18	Pour chaque étude, présenter les caractéristiques pour lesquelles des données ont été extraites (par exemple : taille de l'étude, PICOS, période de suivi) et fournir les références.	
Risque de biais relatif aux études	19	Présenter les éléments sur le risque de biais de chaque étude et, si possible, toute évaluation des conséquences sur les résultats (voir item 12).	
Résultats de chaque étude	20	Pour tous les résultats considérés (positifs ou négatifs), présenter, pour chaque étude : (a) une brève synthèse des données pour chaque groupe d'intervention ; (b) les amplitudes d'effets estimés et leurs intervalles de confiance, idéalement avec un graphique en forêt (forest plot).	
Synthèse des résultats	21	Présenter les principaux résultats de chaque méta-analyse réalisée, incluant les intervalles de confiance et les tests d'hétérogénéité.	
Risque de biais transversal aux études	22	Présenter les résultats de l'évaluation du risque de biais transversal aux études (voir item 15).	
Analyse complémentaire	23	Le cas échéant, donner les résultats des analyses complémentaires (par exemple : analyses de sensibilité ou en sous-groupes, méta-régression) (voir item 16).	
DISCUSSION			
Synthèse des niveaux de preuve	24	Résumer les principaux résultats, ainsi que leur niveau de preuve pour chacun des principaux critères de résultat ; examiner leur pertinence selon les publics concernés (par exemple : établissements ou professionnels de santé, usagers et décideurs).	
Limites	25	Discuter des limites au niveau des études et de leurs résultats (par exemple : risque de biais), ainsi qu'au niveau de la revue (par exemple : récupération incomplète de travaux identifiés, biais de notification).	
Conclusions	26	Fournir une interprétation générale des résultats dans le contexte des autres connaissances établies, et les impacts pour de futures études.	
FINANCEMENT			
Financement	27	Indiquer les sources de financement de la revue systématique et toute autre forme d'aide (par exemple : fourniture de données) ; rôle des financeurs pour la revue systématique.	

*Note du traducteur : Patient, problem or population, Intervention, Comparison, control or comparator, Outcomes, Study design

Annexe 2 : tableau PICO

Question 1

PICO	explication	Termes-synonymes/MeSH
Population	Homme (Cellules, tissus) Animal de tout types	Human Animals
Intervention	Inhibition SDH Epigénétique Accumulation de succinate Pseudo-hypoxie Hypermethylation ADN ou histones Succinate deshydrogenase synonymes	SDH inhibition, SDH-deficient, Loss of function Epigenetic Succinate , succinic acide accumulation Pseudohypoxia DNA or histone Methylation Succinate deshydrogénase electron transport complex II succinic dehydrogenase succinate coenzyme q reductase
Outcoms= Résultats	Hypothèse	Mécanisme de carcinogenèse non génétique mais métabolique et épigénétique

Question 2

PICO	explication	Termes / MeSH
Population	Salariés agricoles Agriculteurs Exposition professionnelle SDHI (nom molécules)	Agrecultural workers Farmers / growers / Farm workers Occupational exposure antifungal agents, fungicides (industrial), Carboxamide Benzamide SDHI , SDH inhibithors Carboxin 5,6-dihydro-2-methyl-n-phenyl-1,4-oxathiin-3-carboxamide Oxycarboxin 2,3-dihydro-6 methyl-5 phenylcarbamoyl-1,4-oxathin-4,4-dioxide Benodanil 2-iodobenzanilide Mepronil, Flutalonil Boscalid 2-chloro-N-(4-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamide Fenfuram Fuopyram N-(2-(3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2-pyridyl)ethyl)-alpha,alpha,alpha-trifluoro-o-toluamide Thifluzamide 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide Isoptazam 3-(difluoromethyl)-1-methyl-N-(1,2,3,4-tetrahydro-9-isopropyl-1,4-methanonaphthalen-5-yl)pyrazole-4-carboxamide Furametpyr N-(1,3-dihydro-1,1,3-trimethylisobenzofuran-4-yl)5-chloro-1,3-dimethylpyrazole-4-carboxamide Penflufen Sedaxane N-(2-(1,1'-bicyclopropyl)-2-ylphenyl)-3-(difluoromethyl)-1-methyl-1H-pyrazole-4-carboxamide Bixafen, Penthopyrad, Fluxapyroxad Isofetamid, Pydiflumetofen
Intervention	Effets sur la santé Utilisation	Chronic protracted /acute effects /Toxicity utilization / usage / purpose/ application/uptake/sells
Résultats		Données existantes ou non sur ces problématiques

Annexe 3 : Equations de recherche

PUB MED	Q1 ("succinate"OR"succinic acid"OR"SDH"OR"succinate dehydrogenase"OR"succinate coenzyme q reductase"OR"electron transport complex II")AND ("histone methylation"OR"DNA methylation"OR"epigenetic"OR"pseudohypoxia") Filtres : Spices human, other animals / Language english, french Q2 ("SDHI"OR"succinate dehydrogenase inhibitors"OR"SDH inhibitors"OR"isofetamid"OR"pydiflumetofen"OR"carboxin"OR"5,6-dihydro-2-methyl-n-phenyl-1,4-oxathiin-3-carboxamide"OR"oxycarboxine"OR"Plantvax"OR"2,3-dihydro-6 methyl-5 phenylcarbamoyl-1,4-oxathin-4,4-
------------	---

	dioxide"OR"Benodanil"OR"2-iodobenzanilide"OR"Mepronil"OR"Flutolanil"OR"Boscalid"OR"2-chloro-N-(4-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamide"OR"Fenfuram"OR"Fluopyram"OR"N-(2-(3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2-pyridyl)ethyl)-alpha,alpha,alpha-trifluoro-o-toluamide"OR"Thifluzamide"OR"2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide"OR"Isopyrazam"OR"3-(difluoromethyl)-1-methyl-N-(1,2,3,4-tetrahydro-9-isopropyl-1,4-methanonaphthalen-5-yl)pyrazole-4-carboxamide"OR"Furamethpyr"OR"N-(1,3-dihydro-1,1,3-trimethylisobenzofuran-4-yl)5-chloro-1,3-dimethylpyrazole-4-carboxamide"OR"Penflufen"OR"Sedaxane"OR"N-(2-(1,1'-bicyclopropyl)-2-ylphenyl)-3-(difluoromethyl)-1-methyl-1H-pyrazole-4-carboxamide"OR"Bixafen"OR"Penthiopyrad"OR"Fluxapyroxad"OR"Benzovindiflupyr") AND ("occupational expos*"OR"human expos*"OR"farmer"OR"grower"OR"farm worker"OR"agr?cultural worker") Filter : human idem AND("toxicity"OR"health effect"OR"acute expos*"OR"protracted expos*")
Science direct	Q1 ("succinate"OR"succinic acid"OR"succinate dehydrogenase"OR"SDH"OR"succinate coenzyme q oxidoreductase"OR"electron transport complex II")AND("histone hypermethylation"OR"DNA hypermethylation"OR"pseudohypoxia")NOT("plant") Q2 ("Carboxin"OR"Mepronil"OR"Boscalid"OR"Fenfuram"OR"Fluopyram")AND("occupational"OR"human toxicity"OR"occupational exposure") ("Thifluzamid"OR"Penflufen"OR"Sedaxan"OR"Penthiopyrad"OR"Fluxapyroxad"OR"Isfetamid"OR"Pydiflumetofen")AND("occupational"OR"toxicity") ("Benodanil"OR"Isopyrazam"OR"furamethpyr"OR"Bixafen"OR"Pydiflumetofen"OR"Flutolanil"OR"Benzovindiflupyr")AND("occupational"AND"human toxicity"OR"occupational exposure")
Cochrane	Q1 ("succinate"OR"succinate dehydrogenase"OR"succinate coenzyme q reductase"OR"electron transport complex II")AND("histone demethylation"OR"histone methylation"OR"pseudohypoxia")NOT("plant") Q2 ("SDHI"OR"succinate dehydrogenase inhibitors"OR"SDH inhibitors"OR"isofetamid"OR"pydiflumetofen"OR"carboxin"OR"5,6-dihydro-2-methyl-n-phenyl-1,4-oxathiin-3-carboxamide"OR"oxycarboxine"OR"Plantvax"OR"2,3-dihydro-6-methyl-5-phenylcarbamoyl-1,4-oxathin-4,4-dioxide"OR"Benodanil"OR"2-iodobenzanilide"OR"Mepronil"OR"Flutolanil"OR"Boscalid"OR"2-chloro-N-(4-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamide"OR"Fenfuram"OR"Fluopyram"OR"N-(2-(3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2-pyridyl)ethyl)-alpha,alpha,alpha-trifluoro-o-toluamide"OR"Thifluzamide"OR"2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide"OR"Isopyrazam"OR"3-(difluoromethyl)-1-methyl-N-(1,2,3,4-tetrahydro-9-isopropyl-1,4-methanonaphthalen-5-yl)pyrazole-4-carboxamide"OR"Furamethpyr"OR"N-(1,3-dihydro-1,1,3-trimethylisobenzofuran-4-yl)5-chloro-1,3-dimethylpyrazole-4-carboxamide"OR"Penflufen"OR"Sedaxane"OR"N-(2-(1,1'-bicyclopropyl)-2-ylphenyl)-3-(difluoromethyl)-1-methyl-1H-pyrazole-4-carboxamide"OR"Bixafen"OR"Penthiopyrad"OR"Fluxapyroxad"OR"Benzovindiflupyr")

Annexe 4: Tableaux résumant les scores d'évaluation méthodologique des études incluses

Etude	Deign	Checklist	score
Fuhrmann	Experimentation in vitro	SciRAP	37/50
Cervera	Experimentation in vitro	SciRAP	31/50
Xiao	Experimentation in vitro	SciRAP	39/50
Leukka	Experimentation in vitro	SciRAP	38/50
Wentzel	Experimentation in vitro	SciRAP	37/50
Guzzo	Experimentation in vitro	SciRAP	34/50
MacKenzie	Experimentation in vitro	SciRAP	35/50
Sciacovelli	Experimentation in vitro	SciRAP	35/50
MSA 1997-2007	Série de cas	CARE checklist	12/30
MSA 2008-2011	Séfie de cas	CARE checklist	14/30

MSA 2012-2014	Série de cas	CARE checklist	14/30
ANSES 2019	Rapport de paires/expert	RIGHT checklist	32/35
Benzovindiflupyr EFSA Journal 2015;13(3):4043	Rapport de paires/expert	RIGHT Checklist	28/35
bixafen EFSA Journal 2012;10(11):2917	Rapport de paires/expert	RIGHT Checklist	28/35
boscalid	Rapport de paires/expert	RIGHT Checklist	28/35
Carboxine EFSA Journal 2010;8(10):1857	Rapport de paires/expert	RIGHT Checklist	28/35
fluopyram EFSA Journal 2013;11(4):3052	Rapport de paires/expert	RIGHT Checklist	28/35
flutolanil	Rapport de paires/expert	RIGHT Checklist	28/35
fluxapyroxad	Rapport de paires/expert	RIGHT Checklist	28/35
isofetamid	Rapport de paires/expert	RIGHT Checklist	28/35
isopyrazam	Rapport de paires/expert	RIGHT Checklist	28/35
Penthopyrad EFSA Journal 2013;11(2):3111	Rapport de paires/expert	RIGHT Checklist	28/35
pydimetofen	Rapport de paires/expert	RIGHT Checklist	28/35
Sedaxane EFSA Journal 2012;10(7):2823	Rapport de paires/expert	RIGHT Checklist	28/35
Lesme	Etude transversale	STROBE	18/29

Annexe 5 : Exemple remplissage grille évaluation sciRap

SciRAP checklist

Category	Items to be described	laukka	Cervera	Xiao	Wentzel	Mac Kenzie	Guzzo	sciakovelli	fuhrmann
Purpose and aim	Purpose and/or aim of the study.	x	x	x	x	x	x	x	x
Endpoints	Endpoints included in the investigation.	x	x	x	x	x	x	x	x
Test compound	Name, ID and/or CAS-number.	x	x	x	x	x	x	x	x
	Source, i.e. manufacturer and batch/lot number.	x	x	x	x	x	x	x	x
	Purity, including information on contaminants, isomers, etc.			x					
	Other relevant information, e.g. radiolabelled.								
	Stability and homogeneity of the compound in the vehicle under the conditions of use and storage.	x	x	x	x	x	x	x	x
	Stability in the medium, i.e. sensitivity of the test compound to hydrolysis and/or photolysis.								
	Solubility.			x					
	Temperature for storage.	x		x	x	x	x	x	x
Vehicle	Type/characteristics.	x	x	x	x	x	x	x	x
	Justification for choice of vehicle if other than ethanol or DMSO.	x	x	x	x	x	x	x	x
Ethical statement	Ethical review permissions, licenses and national or institutional guidelines, as relevant.	x	x	x	x	x	x	x	x
Test system	Type of system, e.g. cell line, primary cells, tissue, organ, embryo.	x	x	x	x	x	x	x	x
	Species and strain (as relevant) of the origin of the cells/tissue/organ.	x	x	x	x	x	x	x	x

Annexe 6 : Mac Kenzie et al (2007)

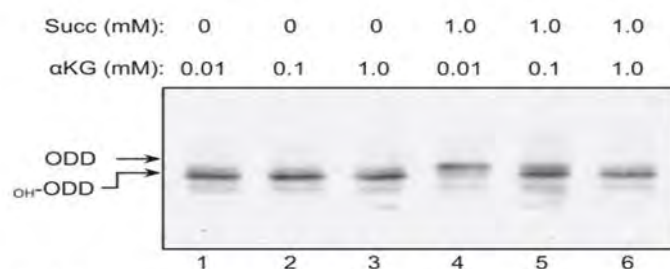


FIG. 1. Succinate-mediated inhibition of PHD can be overcome by increasing α -ketoglutarate levels in vitro. A hydroxylation reaction of the ODD domain was carried out in vitro with the indicated amounts of succinate and α -ketoglutarate (α KG). Hydroxylation of ODD (OH -ODD) resulted in a faster-migrating band on SDS-PAGE.

Annexe 7 : Cervera et al (2009)

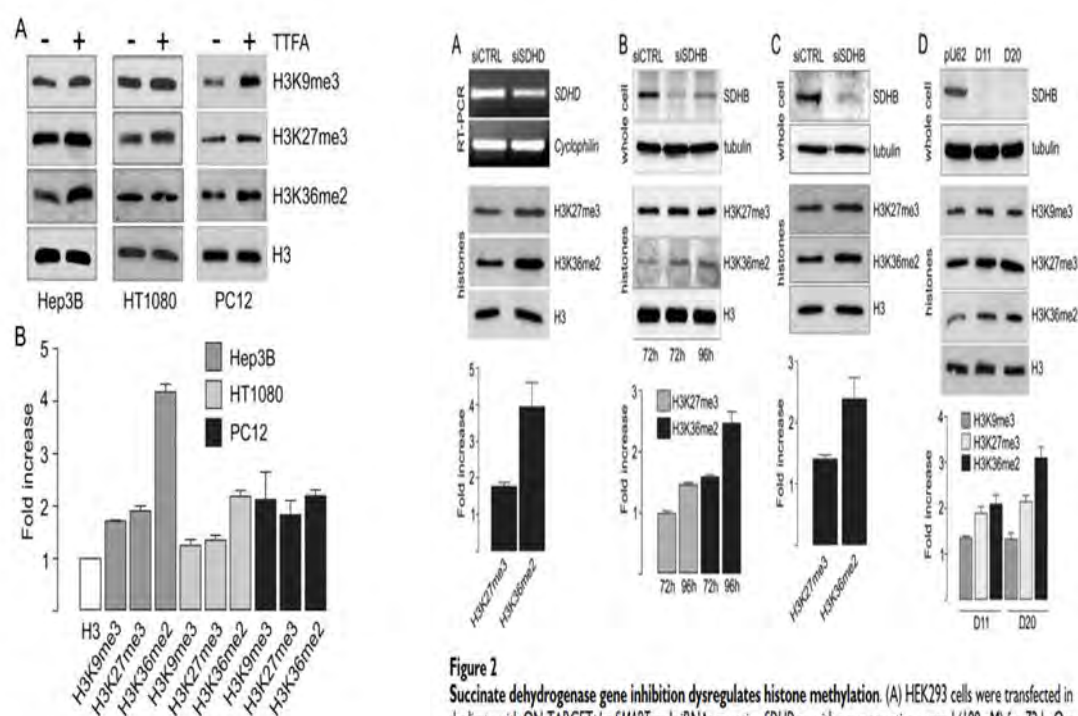


Figure 1
Pharmacological SDH inhibition increases histone methylation. (A) Immunoblot analysis of histone methylation in Hep3B, HT1080 and PC12 cells treated for 24 h with 500 μ M 2-thenoyltrifluoroacetone (TTFA). In all cases lanes were loaded with 5 μ g histone extract, and blots were analysed with the indicated antibodies. Histone H3 total expression was analysed as a loading control. (B) Densitometric analysis of three independent experiments. Fold increase was calculated as the ratio of methylated lysine to H3 control, between treatments.

Figure 2
Succinate dehydrogenase gene inhibition dysregulates histone methylation. (A) HEK293 cells were transfected in duplicate with ON-TARGETplus SMARTpool siRNAs targeting SDHD or with a non-targeting control (100 nM) for 72 h. One half of the sample was used to prepare RNA and the other half was processed for histone extraction. The silencing efficiency of SDHD was analysed by RT-PCR (top panel). Gel lanes were loaded with 5 μ g histone extract (bottom panel), and immuno blotting carried out with the antibodies indicated. Histone H3 was used as a loading control. Graph shows densitometric analysis of two independent experiments. (B) Hep3B cells were transfected in duplicate with ON-TARGETplus SMARTpool siRNAs targeting SDHB or with a non-targeting control (100 nM) for 72 and 96 h. One half of the sample was used to prepare whole cell extracts and the other half was processed for histone extraction. Gel lanes were loaded with 20 μ g total cell extract (top panel) or 5 μ g histone extract (bottom panel), and immuno blotting carried out with the antibodies indicated. Tubulin and histone H3 were analysed as loading controls for whole cell and histone extracts, respectively. Graph shows densitometric analysis of three independent experiments. (C) HEK293 cells were transfected as in (B) and processed for analysis after 96 h. Graph shows densitometric analysis of two independent experiments. (D) Immunoblot analysis of wild-type pU6, and SDHB-silenced D11 and D20 cell lines. Samples were processed as described above. Graph shows densitometric analysis of three independent experiments.

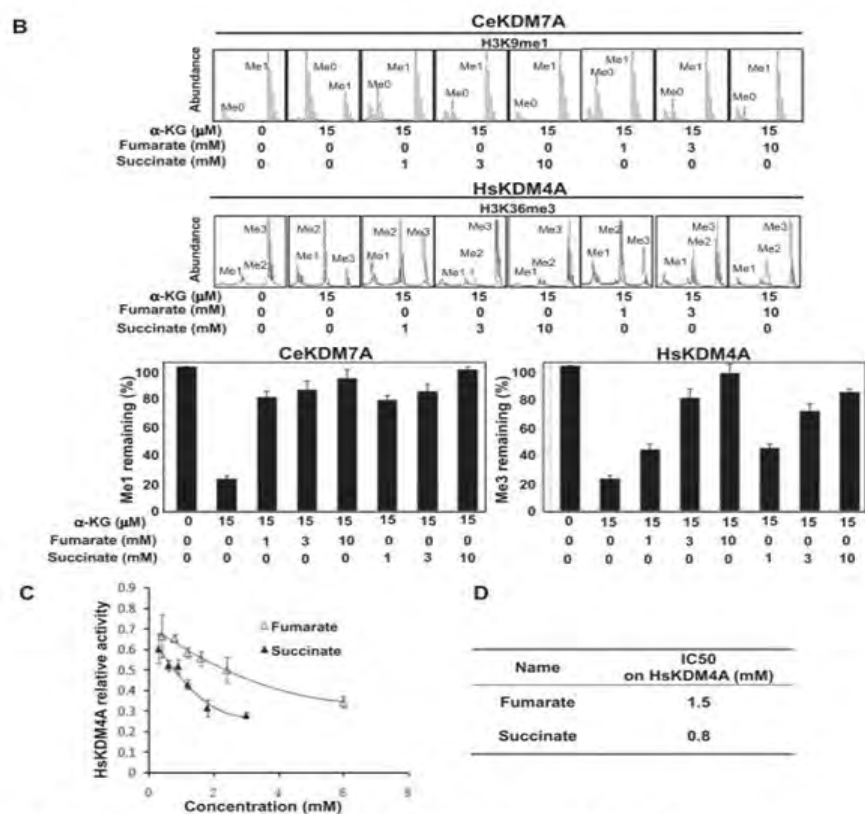


Figure 1. Fumarate and succinate inhibit the activity of α -KG-dependent KDMs in vitro. (A) Structural comparison among fumarate, succinate, α -KG, and 2-HG. (B) Fumarate and succinate inhibit the demethylase activity of *C. elegans* KDM7A [CeKDM7A]. CeKDM7A activity toward monomethylated H3K9 was assayed in the presence or absence of 15 μ M α -KG with increasing concentrations of either fumarate or succinate as indicated. The demethylated products were analyzed by mass spectrometry (MS), and mean activity values of duplicated assays, represented by percentage of remaining methylated peptides, are shown. (C) Fumarate and succinate inhibit the demethylase activity of human KDM4A (HsKDM4A) toward trimethylated H3K36, determined by mass spectrometry (MS) assay as in B. Error bars represent standard deviation (SD) for triplicate experiments. (D) Succinate is more potent to inhibit HsKDM4A than fumarate. The half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of fumarate and succinate on HsKDM4A was determined by MS assay as in C. Error bars represent standard deviation (SD) for triplicate experiments. Additional MS results are shown in Supplemental Figure S1.

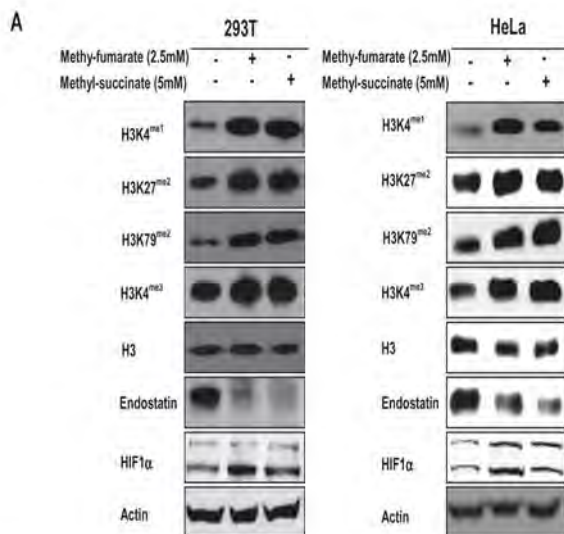


Figure 2. Fumarate and succinate increase genome-wide histone methylations, accumulate HIF1 α , and reduce endostatin in cultured cells. (A) Cell-permeable fumarate (2.5 mM) or succinate (5 mM) increases histone methylation and HIF1 α and reduces endostatin in HEK293T cells (left) and HeLa cells (right), as determined by Western-blot. (B) Cell-permeable octyl- α -KG (5mM) diminishes the effect of FH or SDH suppression on increasing histone methylations, accumulating HIF1 α , and decreasing endostatin in HEK293T cells with knockdown of FH (left panel), SDHA (middle panel), and SDHB (right panel), as determined by Western blot. See also Supplemental Figure S3.

Annexe 9 : Sciavelli et al(2013)

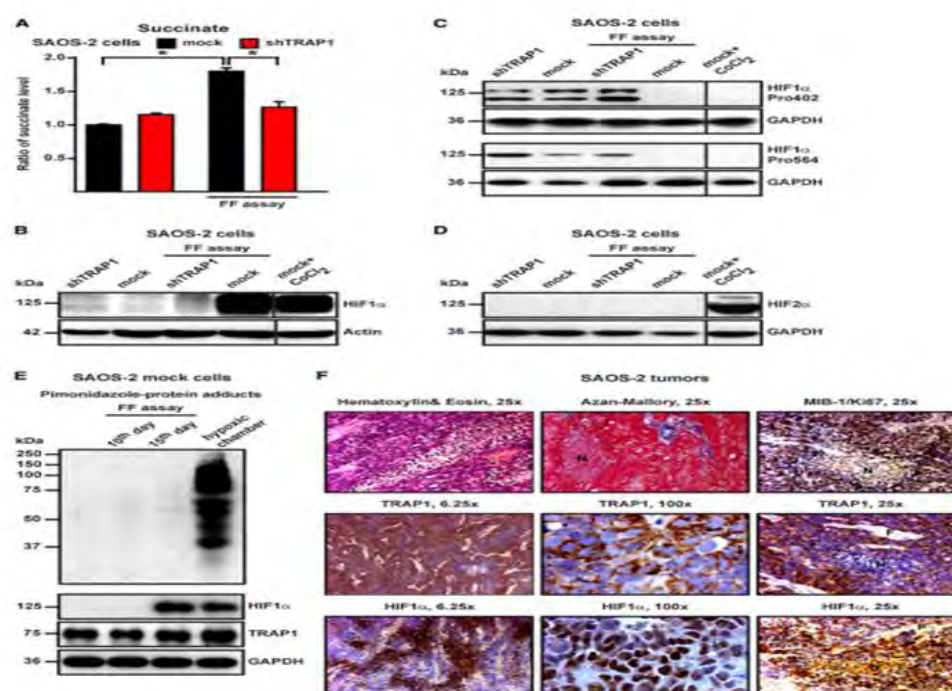


Figure 6. TRAP1 increases intracellular succinate concentration and stabilizes HIF1 α in a hypoxia-independent way
 (A) Bar graphs showing liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) measurements of intracellular succinate level. Values are compared with cultured mock SAOS-2 cells.
 (B–D) Western immunoblots showing HIF1 α expression (B), HIF1 α hydroxylation of the Pro402 and Pro564 residues (C), and HIF2 α expression in cultured cells and on extracts from focus-forming assays obtained at the 15th experimental day (i.e., 1–2 days before cells that did not form foci massively underwent death). CoCl₂ is used as a positive control for HIF1 α and HIF2 α stabilization. Blots were probed with an anti-actin (B) or an anti-GAPDH (C and D) antibody to check for protein load.
 (E) Detection of pimonidazole-protein adducts in SAOS-2 mock cells kept in either normal culture or focus-forming conditions for 10 or 15 days. Pimonidazole (200 μ M) was added on the focus-forming plate 2 hr before lysis. As a positive control, cells were kept for 24 hr in a hypoxic chamber (0.5% O₂). On (legend continued on next page)
 Cell Metabolism 17, 988–999, June 4, 2013 ©2013 Elsevier Inc. 995

Annexe 10 : Guzzo et al(2014)

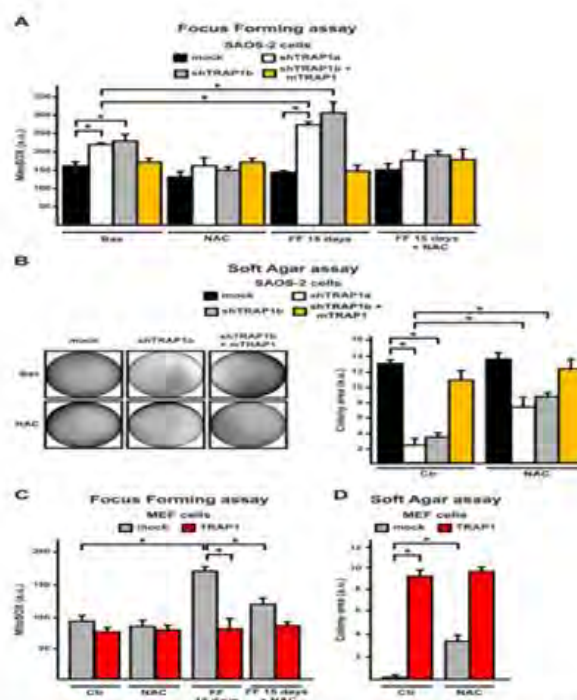
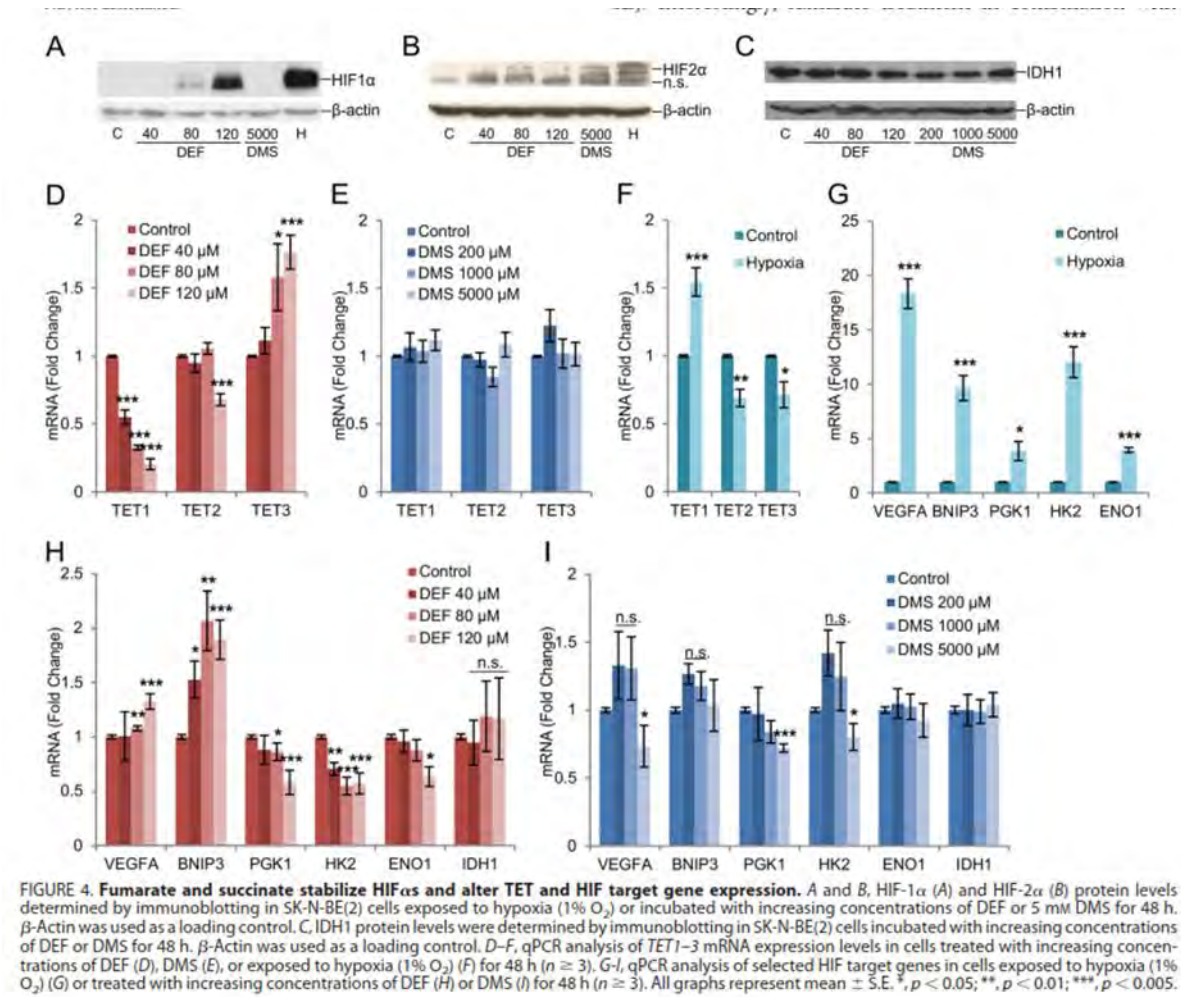
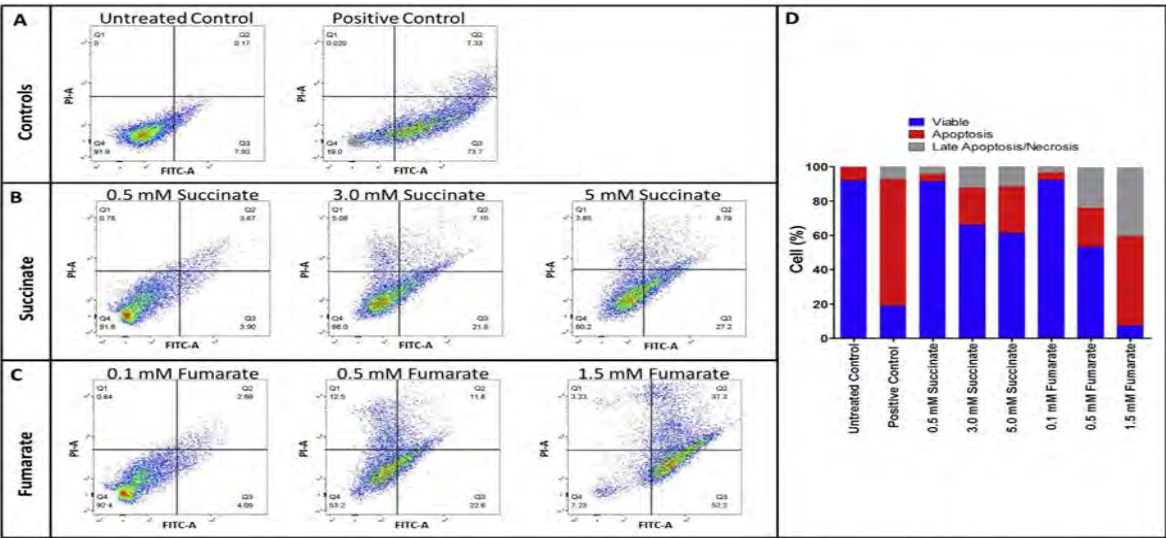


Figure 5. ROS inhibition enhances tumorigenicity in cells with low TRAP1 expression levels. (A, C) Cytofluorimetric measurements of mitochondrial superoxide levels with the MitoSOX probe in SAOS-2 (A) or MEF (C) cells. Measurements were performed either in standard culture conditions (Basal) or after 15 days of a focus forming assay, i.e., 1–2 days before SAOS-2 shTRAP1 and MEF mock cells undergo plate detachment and massive death, without forming any foci. (B, D) Soft agar assays in SAOS-2 or MEF cells. Bar graphs indicate the total colony area at the 26th experimental day. Where indicated, experiments were carried out in the presence of NAC (± 2.5 mM). All along the Figures, SAOS-2 and MEF cells are dubbed as in Figure 1, and data are reported as mean $\pm$ SD values (n = 3, *P < 0.05 in a Student's *t* test).

Annexe 11 : Laukka et al(2016)



Annexe 12 : Wentzel et al (2017)



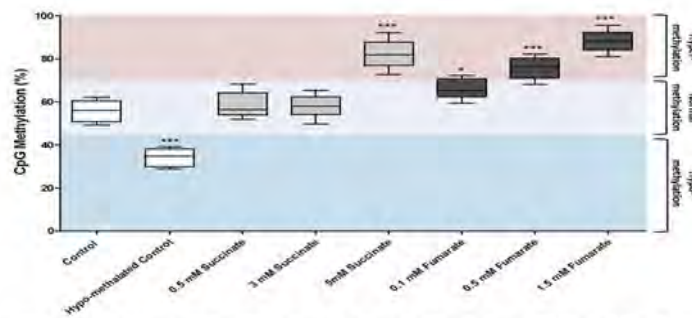


Fig. 4. Global CpG DNA methylation of HepG2 cells exposed to different succinate and fumarate concentrations for a period of 24 h. The control represents the global DNA methylation of unexposed cells while cells treated with the demethylation agent 5-azacytidine acts as a hypomethylated control. Results represent the average of three experiments where * $p < 0.05$ and *** $p < 0.001$ relative to control.

Annexe 13 : Fuhrmann et al(2019)

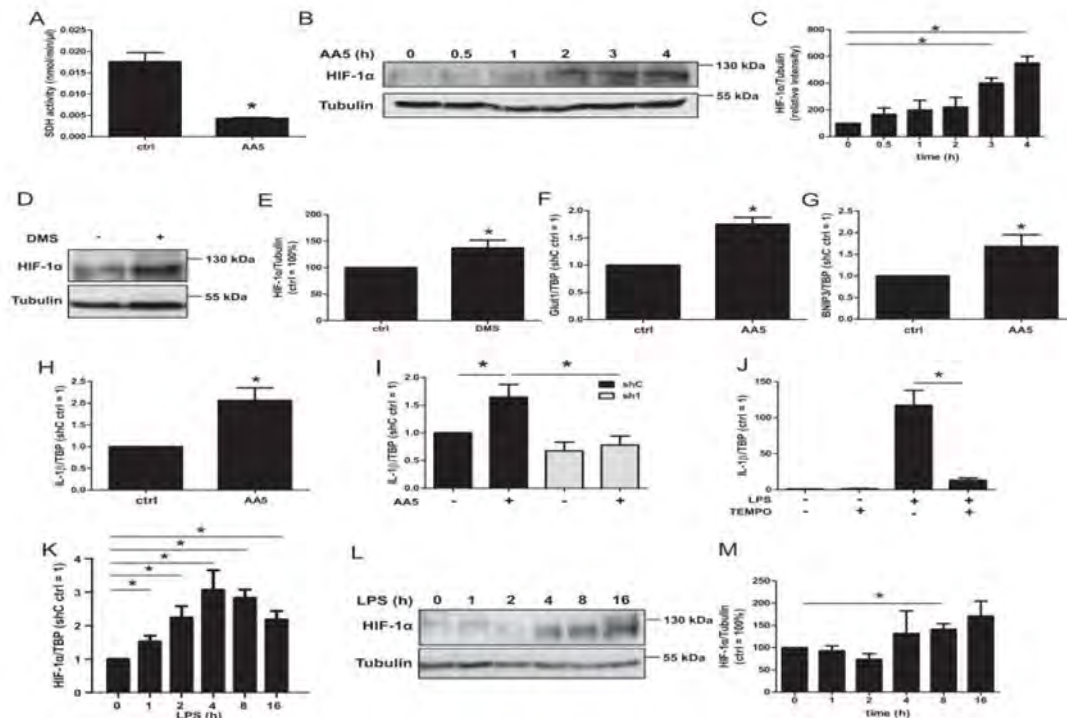


Fig. 4. HIF-1 α induction after SDH inhibition. A. Succinate dehydrogenase (SDH) activity assay in THP-1 cells treated with the SDH inhibitor apigenin A5 (AA5). B. Time-dependent Western analysis of hypoxia inducible factor (HIF)-1 α and tubulin in AA5-treated cells. C. Quantification of B ($n = 4$). D. THP-1 cells incubated for 6 h with dimethyl succinate (DMS) followed by Western analysis of HIF-1 α and tubulin. E. Quantification of D ($n = 5$). F-H. mRNA expression of glucose transporter 1 (Glut1, F), CL2/adrenovirus E1B 19 kDa protein-interacting protein 3 (BNIP3, G), and interleukin-1 β (IL-1 β , H) normalized to the TATA Box binding protein (TBP) after AA5-treatment (4 h) ($n = 7$). I. IL-1 β mRNA analysis of AA5-treated control (shC, black bars) and HIF-1 α knockdown (sh1, grey bars) cells ($n = 4$). J. THP-1 cells were incubated with LPS and TEMPO followed by IL-1 β mRNA detection ($n = 5$). K. THP-1 cells were time-dependently treated with LPS followed by HIF-1 α mRNA analysis ($n = 7$). L. Cells were time-dependently treated with LPS, followed by Western analysis of HIF-1 α and tubulin. M. Quantification of L ($n = 5$). Data are mean values $\pm$ SEM, * $p < 0.05$.

Annexe 14 : Evaluation méthodologique de cette thèse avec la grille PRISMA

Item PRISMA	Thèse	Item PRISMA	Thèse	Item PRISMA	Thèse	Item PRISMA	Thèse	Item PRISMA	Thèse	Item PRISMA	Thèse
Item 1	x	Item 6	x	Item 11	x	Item 16		Item 21	x	Item 26	x
Item 2	x	Item 7	x	Item 12		Item 17	x	Item 22		Item 27	x
Item 3	x	Item 8	x	Item 13	x	Item 18	x	Item 23		TOTAL	20/27
Item 4	x	Item 9	x	Item 14		Item 19	x	Item 24	x	Soit %	74%
Item 5		Item 10	x	Item 15		Item 20	x	Item 25	x		

ABSTRACT

Occupational exposure to Succinate dehydrogenase inhibitors (acute and chronic toxicity) : a systematic review

Introduction: SDHi fungicides used for treatment of multiples agriculturale corps, inhibit the universal SDH enzyme well conserved in all living beings and responsible of mitochondriale respiratory. Non-target organisms may be impacted like humans, and neuroendocrine tumors have already been described with a genetic mecanismes of SDH inhibition. The aims of this study are first, to collect datas about similar non-genetic mode of action thus epigenetic and metabolic resulting from SDH inhibition in humans and animals and secondary investigate occupational exposure of SDHi, by identifying high risk tasks and human toxicity for acute and protracted exposure.

Method: We realised a systematic review using PRISMA method, the search took place during February to April 2019 using the 3 mains data bases Pubmed, Science Direct and Cochrane Review, also grey littérature was investigated for principal authorities MSA, EFSA, ANSES. 487 papers were found, 25 were methodologically analysed in double lecture and included. 13 peer reviews, 3 case series, 8 experimental in vitro studies, 1 cross-sectional study.

Results: The eight experimental in vitro studies on animal and human models found showed existence of metabolic and epigenetic mecanismes of SDH decreasing activity (accumulation of succinate, pseudo-hypoxia, histone/DNA hypermethylation, activation of chaperone TRAP1) and their similarity with those genetic involved in tumorigenesis. Occupational exposure to SDHi despite their major use in many agricultural crops is pourly documented. Only one metrology study was found, but could not permit to know acuratly specific exposant tasks relative to SDHi use. French Phyt'attitude network provided only four rappinging concerning SDHi between 1997-2018 two cases for Boscalid, one case for Fluopyroxad and Flutolanil relative to acute accidentale occupational exposure caraterized by a benign cutaneous, digestive and neurosensoriale symptomatology. No occupational disease were described either.

Conclusion: This review is the first to show existence of similarities regarding genetic and non-genetic modes of actions (metabolic and epigenetic) of SDHi in different animals and humans cells models. The occupational exposure of SDHi and their human toxicity for acute and chronic exposure is currently, poorly evaluated. It seems urgent to initiate an overall resaerch, in this contexte SOHO project with EcoHealth concept provid a new approch based on interdisplanrity and co-construction knowledge regarding SDHi questionnings.

Key words: succinate dehydrogenase; SDHi; boscalid, occupational exposure, human toxicity, pesticides

**Exposition professionnelle aux Inhibiteurs de la Succinate Déshydrogénase
(toxicité aigue et chronique) : une revue systématique de la littérature**

Introduction : Des fongicides, les SDHi utilisés pour le traitement de nombreuses cultures agricoles, inhibent la SDH, une enzyme universelle conservée chez toutes les espèces vivantes concourant à la respiration cellulaire mitochondriale. Les objectifs de cette étude sont de rassembler les données existantes sur premièrement les mécanismes d'action analogues non génétiques (métaboliques et épigénétiques) résultant de l'inhibition de la SDH et secondairement sur l'exposition professionnelle aigue/chronique aux SDHi concernant leur utilisation, les tâches exposantes et leur toxicité humaine. Nous avons réalisé une revue systématique de la littérature selon la méthodologie PRISMA de Février à Mars 2019 dans les 3 principales bases de données Pubmed, Sciences direct, Cochrane Review et dans la littérature grise. 487 documents ont été retrouvés, 25 ont été inclus et évalués méthodologiquement en double lecture.

Résultats : Les 8 études expérimentales *in vitro* retrouvées sur divers modèles cellulaires animaux et humains montrent que les mécanismes métaboliques et épigénétiques de diminution de l'activité de la SDH (accumulation de succinate, pseudo-hypoxie, méthylation des histones/ADN, activation de TRAP1) sont comparables aux mécanismes génétiques par mutations des sous-unités de la SDH concourant chez l'homme au processus de cancérogenèse. Concernant l'exposition professionnelle aux SDHi, malgré leur utilisation très répandue en agriculture, notamment en France, il existe actuellement très peu d'études épidémiologiques disponibles. Le réseau Phyt'attitude 1997-2018 n'a recensé que 4 signalements imputables aux SDHi : 2 pour le Boscalid, 1 pour le Fluopyroxad et le Flutolanil pour une exposition aigüe caractérisée par une symptomatologie bénigne cutanée, digestive et neurosensorielle.

Conclusion : Cette revue systématique de la littérature a permis de montrer l'existence de mécanismes épigénétiques et métaboliques secondaires à l'inhibition de la SDH pour plusieurs modèles animaux et humains. La toxicité aigüe et chronique des SDHi dans le cadre d'une exposition professionnelle reste actuellement peu documentée et à évaluer de manière pluridisciplinaire.

TITRE EN ANGLAIS : Occupational exposure to Succinate dehydrogenase inhibitors (acute and chronic toxicity) : a systematic review

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Spécialité de Médecine du Travail

MOTS-CLÉS : succinate déshydrogénase ; SDHi ; Boscalid ; exposition professionnelle, toxicité humaine, pesticides

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'UFR : Université Toulouse III-Paul Sabatier Faculté de médecine Toulouse-Purpan, 37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Fabrice HERIN

Lieu et date de Soutenance : Université de Bordeaux, le 10/10/2019