

RAPPORT D'ÉTUDE
DRC-18-163633-00533B

24/09/2018

**Éléments pour l'établissement d'un guide sur
l'élaboration d'indicateurs de dose interne
sommant les expositions par la modélisation
toxicocinétique**

INERIS

maîtriser le risque |
pour un développement durable |

Éléments pour l'établissement d'un guide sur l'élaboration d'indicateurs de dose interne sommant les expositions par la modélisation toxicocinétique

Direction des Risques Chroniques (DRC)

Pôle Dangers et impact sur le vivant (VIVA)

Unité Modèles pour l'Écotoxicologie et la Toxicologie (METO)

Client : Ministère de la Transition Écologique et Solidaire

Liste des personnes ayant participé à l'étude : Céline BROCHOT

PRÉAMBULE

Le présent rapport a été établi sur la base des informations fournies à l'INERIS, des données (scientifiques ou techniques) disponibles et objectives et de la réglementation en vigueur.

La responsabilité de l'INERIS ne pourra être engagée si les informations qui lui ont été communiquées sont incomplètes ou erronées.

Les avis, recommandations, préconisations ou équivalent qui seraient portés par l'INERIS dans le cadre des prestations qui lui sont confiées, peuvent aider à la prise de décision. Etant donné la mission qui incombe à l'INERIS de par son décret de création, l'INERIS n'intervient pas dans la prise de décision proprement dite. La responsabilité de l'INERIS ne peut donc se substituer à celle du décideur.

Le destinataire utilisera les résultats inclus dans le présent rapport intégralement ou sinon de manière objective. Son utilisation sous forme d'extraits ou de notes de synthèse sera faite sous la seule et entière responsabilité du destinataire. Il en est de même pour toute modification qui y serait apportée.

L'INERIS dégage toute responsabilité pour chaque utilisation du rapport en dehors de la destination de la prestation.

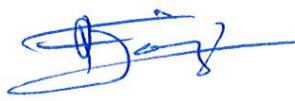
	Rédaction	Vérification	Approbation
NOM	Céline BROCHOT	Frédéric BOIS	Eric THYBAUD
Qualité	Responsable Unité Modèles pour l'Ecotoxicologie et la Toxicologie	Chercheur à l'unité Modèles pour l'Ecotoxicologie et la Toxicologie	Responsable du pôle Dangers et Impact sur le Vivant
Visa			

TABLE DES MATIÈRES

1. ABRÉVIATIONS	6
2. RÉSUMÉ	7
3. INTRODUCTION	8
4. MODÉLISATION TOXICOCINÉTIQUE À FONDEMENT PHYSIOLOGIQUE ..	9
4.1 Description des modèles PBPK	9
4.1.1 Les processus ADME	9
4.1.2 Structure d'un modèle.....	10
4.1.3 Paramétrisation.....	13
4.2 Intégration de plusieurs voies d'exposition.....	14
4.2.1 Méthode.....	14
4.2.2 Exemple : Exposition agrégée a la perméthrine	15
4.3 Utilisation dans un contexte réglementaire.....	18
5. INDICATEURS D'EXPOSITION INTERNE	21
5.1 Indicateurs en lien avec des biomarqueurs d'exposition	21
5.1.1 Biomarqueurs d'exposition et toxicocinétique.....	21
5.1.2 Interprétation des indicateurs	22
5.2 Indicateurs en lien avec le mode d'action.....	24
6. APPROCHE POUR DÉRIVER DES INDICATEURS D'EXPOSITION INTERNE	25
6.1 Définition des indicateurs	25
6.2 Sélection du modèle PBPK	27
6.3 Mise en œuvre	29
7. APPLICATION À UN CAS D'ÉTUDE : LE PLOMB	31
7.1 Définition des indicateurs d'exposition interne	31
7.2 Modèle PBPK pour le plomb chez l'enfant	32
7.3 Simulations des indicateurs d'exposition interne.....	35
7.3.1 Evolution temporelle des indicateurs	36
7.3.2 Cartographie du Nord-Pas-de-Calais.....	38
8. CONCLUSIONS	40
9. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	42
LISTE DES ANNEXES	46
ANNEXE 1 : VALEURS TOXICOLOGIQUES INTERNES	47

1. ABRÉVIATIONS

ADME	Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion
DJE	Doses journalières d'exposition
PBPK	Pharmacocinétique basée sur la physiologie
PNSE	Plan National Santé Environnement

2. RÉSUMÉ

Le Plan National Santé Environnement (PNSE) constitue un cadre de programmation et de planification de l'action gouvernementale à travers l'identification d'actions à engager visant à prendre en compte la santé environnementale dans les politiques publiques de façon pérenne. Le troisième PNSE publié en 2015 s'appuie sur la notion récente d'« exposome », à savoir l'ensemble des expositions couvrant la vie entière y compris incluant la période prénatale. Notamment, une des nouveautés du plan sera d'appliquer cette nouvelle notion « à l'atteinte au niveau des organes cibles ».

L'action 34 du PNSE 3 vise au développement d'indicateurs d'exposition notamment pour les expositions à une même substance par différentes voies. Deux objectifs sont mentionnés : la mise à disposition d'outils permettant de calculer les imprégnations des organes à partir de ces expositions, et la définition d'indicateurs agrégeant différentes voies. En évaluation quantitative des risques sanitaires, la méthodologie usuellement employée consiste à sommer les indicateurs de risque obtenus pour chacune des voies d'exposition pour calculer le risque agrégé. Dans ce rapport, nous proposons une approche alternative pour calculer les expositions agrégées par individu. Notre approche méthodologique se base sur **la modélisation toxicocinétique pour élaborer des indicateurs de dose interne sommant les expositions par plusieurs voies.**

Dans ce rapport, nous présentons la modélisation toxicocinétique et les différents indicateurs qui peuvent être prédits par ce type de modèle. Ensuite, la définition des indicateurs et leur interprétation est abordée en fonction du contexte dans lequel ils seront utilisés. Quelques exemples illustrent notre démarche, notamment le calcul d'indicateurs d'exposition et en lien avec les effets de l'exposition d'enfants au plomb. En particulier, ces derniers indicateurs permettent de produire des niveaux au sein des organes cibles, qui pourraient être ensuite mis en lien avec des effets néfastes sur les populations. Aujourd'hui, les données disponibles restent limitées pour évaluer le risque à partir des indicateurs présentés ici, qu'ils soient en lien avec l'exposition ou les effets. La détermination de valeurs limites reposant sur une dose interne permettrait d'améliorer l'évaluation des risques agrégés.

3. INTRODUCTION

Le Plan National Santé Environnement (PNSE) constitue un cadre de programmation et de planification de l'action gouvernementale à travers l'identification d'actions à engager visant à prendre en compte la santé environnementale dans les politiques publiques de façon pérenne. Le troisième PNSE (PNSE 3) publié en 2015 s'appuie en particulier sur la notion d'« exposome » apparue récemment. L'exposome représente l'ensemble des expositions couvrant la vie entière (incluant la période prénatale) qui peut influencer la santé humaine. Le PNSE3 indique que cette nouvelle notion « implique un changement de paradigme et de prendre en considération toutes les sources de pollution ou d'exposition susceptibles de concourir à l'altération de la santé des individus, à la fois en considérant la **totalité des voies d'exposition** à un polluant ou une nuisance et, quand c'est possible, leurs interactions entre polluants ». Notamment, la nouveauté sera d'appliquer cette nouvelle notion « **à l'atteinte au niveau des organes cibles** ».

L'action 34 du PNSE 3 vise au développement d'indicateurs d'exposition notamment pour les expositions à une même substance par différentes voies. Deux objectifs sont mentionnés : la mise à disposition d'outils permettant de calculer les imprégnations des organes à partir de ces expositions, et la définition d'indicateurs agrégeant différentes voies. La notion d'**exposition agrégée** est couramment utilisée pour définir l'exposition à une substance chimique via différentes sources (par exemple, les aliments, l'eau, air, produits de consommation) et voies d'exposition (ingestion, inhalation, cutanée). Ainsi le risque agrégé correspond au risque associé à l'exposition à une substance selon différentes voies (Crépet et al., 2012).

En évaluation quantitative des risques sanitaires, la méthode recommandée par plusieurs agences et instituts pour évaluer quantitativement le risque se base sur le calcul d'indicateurs exprimant quantitativement les risques potentiels encourus par les populations du fait de la contamination des milieux d'exposition : les quotients de danger pour les substances à effets à seuil, et les excès de risque individuels pour les substances à effets sans seuil. Les indicateurs de risque sont calculés pour chaque substance, chaque voie d'exposition et chaque sous-population identifiée à partir des expositions et de valeurs toxicologiques de référence. Lorsque plusieurs voies d'exposition interviennent, les indicateurs de risque obtenus pour chaque voie sont alors sommés pour calculer le risque agrégé (INERIS, 2013).

Cette approche utilisée communément suppose que l'ensemble des processus menant aux effets soient linéaires. Les effets néfastes relatifs à l'exposition à un contaminant environnemental ne sont pas uniquement liés à la dose externe reçue mais dépendent de la quantité de produit actif atteignant les tissus cibles. L'entrée et le devenir d'une substance dans un organisme (c'est-à-dire sa toxicocinétique) sont donc des éléments importants à prendre en considération lorsque l'on souhaite faire le lien entre exposition et effets sur la santé des populations. De par la complexité des processus mis en jeu, la relation liant la dose active dans les tissus cibles à celle d'exposition n'est pas forcément linéaire. Les modèles toxicocinétiques sont des outils mathématiques visant à faire ce lien. Un des avantages de tels modèles pour l'évaluation du risque est d'intégrer les expositions provenant de plusieurs voies d'entrée du corps (inhalation, ingestion et contact cutané). De plus ces modèles tiennent compte de caractéristiques individuelles

(poids, sexe, âge...) ce qui peut aider à identifier les populations à risque au sein d'une même zone géographique. Dans ce rapport, nous proposons de développer des indicateurs d'exposition interne calculés par la modélisation toxicocinétique pour rendre compte des expositions aux substances par des voies multiples.

Le présent rapport décrit l'approche méthodologique mise en œuvre pour élaborer des indicateurs de dose interne sommant les expositions par la modélisation toxicocinétique. Le rapport s'organise de la manière suivante :

- Introduction à la modélisation toxicocinétique,
- Présentation d'indicateurs d'exposition interne,
- Approche pour dériver ces indicateurs par modélisation toxicocinétique,
- Un exemple d'application sur les expositions au plomb de jeunes enfants.

4. MODÉLISATION TOXICOCINÉTIQUE À FONDEMENT PHYSIOLOGIQUE

Dans cette section, une introduction rapide à la modélisation PBPK est donnée. La première partie vise à décrire les modèles PBPK et donner des éléments sur leur construction. Ensuite la prise en compte des différentes voies d'exposition par ces modèles sera abordée et illustrée par un exemple. Enfin, la dernière partie fera le point sur les conditions nécessaires à l'utilisation des modèles PBPK en évaluation des risques.

4.1 DESCRIPTION DES MODÈLES PBPK

4.1.1 LES PROCESSUS ADME

Les processus d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion (processus ADME) déterminent la toxicocinétique d'une substance dans un organisme (Brochot et al., 2014).

L'**absorption** correspond à l'introduction du composé dans l'organisme à partir du site d'administration jusqu'à la circulation sanguine. L'absorption s'effectue par différentes voies : l'inhalation (voie pulmonaire), le contact cutané, l'ingestion (voie orale) ou l'injection par intraveineuse. Un ensemble de mécanismes complexes régit le passage de la substance entre le site d'administration et la circulation sanguine, que seule une fraction atteindra (à l'exception de l'injection par intraveineuse qui introduit directement le composé dans la circulation sanguine). La quantité de molécule absorbée dépend de la dose, de la voie d'administration, de la durée d'exposition, des propriétés physico-chimiques de la molécule (solubilité, vitesse de dissolution) et de la nature du transport emprunté par la molécule à travers les membranes cellulaires. Pour chaque voie d'exposition, la modélisation de ces mécanismes repose sur un nombre limité de paramètres spécifiques à la substance et sur la description physiologique des sites d'administration.

La **distribution** correspond à la répartition de la molécule dans les différents organes du corps. La molécule présente dans la circulation sanguine passe du sang vers les organes selon son affinité pour ces derniers. Le processus de distribution dépend de plusieurs facteurs : l'état d'ionisation de la molécule, son caractère lipophile, mais aussi la composition des organes, la perméabilité des membranes tissulaires ou encore la perfusion des tissus. Des modalités mineures de distribution existent (transport lymphatique, diffusion, ...) mais ne seront pas détaillées ici.

Le **métabolisme** correspond à la transformation de la molécule parente en un ou plusieurs autre(s) composé(s), appelé(s) métabolite(s), selon une suite de réactions biochimiques. La molécule parente peut être transformée en métabolites actifs ou bien être détoxifiée. Les réactions métaboliques sont catalysées par des enzymes, telles que les cytochromes P450 (CYP) pour le métabolisme de phase I (première série de transformations) ou les sulfotransférases ou glutathion transférases pour le métabolisme de phase II (deuxième série de transformations). Le métabolisme de phase II permet généralement d'aboutir à la formation de composés conjugués hydrosolubles facilement éliminés *via* les urines ou la bile. La quantité d'enzymes varie selon les organes, et le métabolisme a lieu de majoritairement dans le foie mais aussi dans les intestins, les poumons ou les reins.

L'**excrétion** correspond à l'élimination du composé (molécule parente et/ou métabolites) hors de l'organisme. Les voies d'élimination peuvent être la voie rénale, fécale, biliaire, pulmonaire, ou s'effectuer par le biais de la sueur ou du lait maternel. Le rein est un des sites majeurs de l'excrétion.

4.1.2 STRUCTURE D'UN MODÈLE

Un modèle PBPK a pour objectif de décrire de manière plus ou moins détaillée le devenir d'une substance dans un organisme vivant. La structure d'un modèle PBPK repose sur l'anatomie et la physiologie de cet organisme mais aussi sur les interactions entre les tissus et la substance. Chaque modèle PBPK subdivise l'organisme en compartiments représentant des tissus ou organes et les relie entre eux par l'intermédiaire d'un fluide circulant, le plus souvent le sang. Les échanges entre les organes, matérialisés par des compartiments, se basent sur des transports de masses, retranscrits en équations différentielles (Bois and Brochot, 2016).

Dans la majorité des cas, il n'est pas nécessaire de décrire de manière exhaustive l'ensemble des tissus et organes composant l'organisme. Seuls les organes ou tissus essentiels à la toxicocinétique et toxicodynamique (étude des effets engendrés suite à l'interaction avec le tissu cible) de la substance et aux scénarios potentiels de son entrée dans l'organisme sont inclus (Habka et al., 2010). De manière générale, un modèle PBPK est composé i) des tissus-sites d'exposition (les poumons pour l'inhalation, l'estomac pour l'ingestion ou la peau pour une exposition cutanée); ii) des organes et tissus responsables du métabolisme (le foie, les intestins, les reins et/ou les poumons) ; iii) des sites d'excrétion (par voie urinaire ou respiratoire); iv) des tissus dans lesquels la substance est susceptible de s'accumuler (par exemple les tissus adipeux); et v) des sites d'action de la substance parente ou du métabolite actif. Comme dans toute entreprise de modélisation, un compromis doit être trouvé entre l'exigence de décrire le plus finement possible l'organisme et la complexité mathématique du système d'équations résultant. Le nombre de compartiments peut donc être optimisé en fonction de la question toxicologique à laquelle l'exercice de modélisation doit

répondre, ce qui explique que des modèles PBPK avec des structures différentes ont été développés pour une même substance chez une même espèce, par exemple pour le composé volatile organique 1,3-butadiène (Brochot and Bois, 2005; Kohn and Melnick, 1993; Mezzetti et al., 2003). Les différences entre les modèles pour une même molécule se situent généralement au niveau de la description de l'anatomie (nombre de compartiments), ce qui peut par la suite affecter le nombre de sites de métabolisme ou de stockage en fonction de l'agrégation de certains tissus.

Chaque compartiment est spécifique d'un organe ou groupe d'organes. Il est caractérisé par le volume et le flux sanguin tissulaires et le coefficient de partage tissu:sang caractérisant l'affinité de la substance à ce tissu. La distribution de la substance dans un compartiment est souvent supposée instantanée et homogène. Pour certaines molécules, la perméabilité membranaire peut être un facteur limitant à leurs diffusions dans un tissu. Une description plus fine de la physiologie du tissu (par exemple, en espace vascularisé, interstitiel et intracellulaire) peut alors s'avérer nécessaire.

Une fois la structure définie, le modèle PBPK se traduit sous la forme d'un système d'équations. L'évolution temporelle de la quantité de substance dans le compartiment j (Q_j) est exprimée par une équation différentielle de premier ordre :

$$\frac{dQ_j(t)}{dt} = F_j \times \left(C_s(t) - \frac{Q_j(t)}{V_j \times CP_{j:Sang}} \right) + R_{in}(t) - R_{out}(t) \quad (1)$$

où F , V et CP correspondent respectivement au flux sanguin tissulaire, au volume tissulaire et au coefficient de partage tissu j :sang. La fonction R_{in} rend compte des processus apportant de la substance autrement que par la distribution sanguine (par exemple, par une voie d'administration). Cette fonction peut aussi représenter l'apparition d'un métabolite dans un organe de biotransformation. Les équations mathématiques décrivant R_{in} sont très variées en raison des différentes voies d'exposition possibles. Une injection par intraveineuse sera simplement représentée par une apparition immédiate (bolus) dans le compartiment sang veineux, tandis que l'inhalation d'une substance nécessite la modélisation des échanges gazeux au niveau de l'espace alvéolaire pulmonaire. La fonction R_{out} correspond à l'élimination ou l'excrétion de la substance (par exemple par métabolisme ou excrétion urinaire) et se modélise généralement par des équations d'ordre 1 ou par des processus saturables non-linéaires (par exemple, de type Michaelis-Menten).

Un modèle PBPK générique est représenté Figure 1. Il comprend plusieurs compartiments représentant les poumons, la peau, les tissus adipeux, les reins, le tractus gastro-intestinal (incluant l'estomac, les intestins et le côlon), le pancréas, la rate, le foie, les tissus bien perfusés et les tissus peu perfusés. L'entrée de la substance dans l'organisme peut se faire par inhalation, exposition cutanée, injection intraveineuse et ingestion. L'élimination de la molécule se fait par excrétion et métabolisme. L'excrétion est réalisée *via* les poumons (exhalation), les reins (urine) ou les intestins (fèces). Le principal site de métabolisme est le foie mais d'autres tissus, tels que les poumons, les reins ou les intestins possèdent des enzymes responsables du métabolisme. De par sa description étendue des différents tissus ou organes impliqués dans la toxicocinétique, ce modèle est adapté à la simulation d'un large panel de substances chimiques.

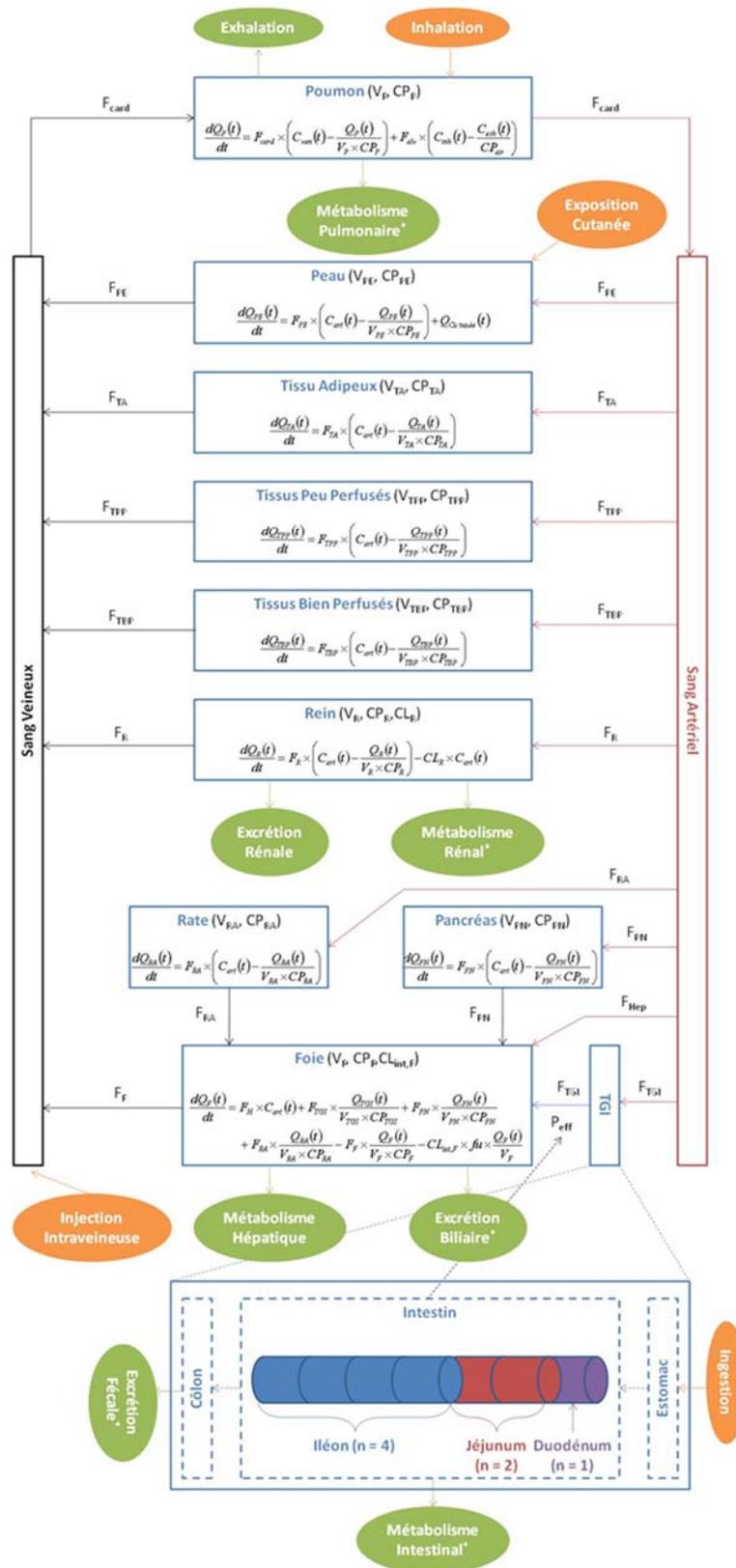


Figure 1 : Représentation graphique d'un modèle PBPK adapté à de nombreuses substances chimiques. Les équations différentielles régissant le comportement de la substance au sein d'un compartiment sont indiquées. Ce modèle est tiré de Habka et al. (2010).

4.1.3 PARAMÉTRISATION

La construction d'un modèle PBPK dépend directement de l'organisme étudié, mais aussi de la substance. En conséquence, les paramètres du modèle correspondent à des entités physiologiques et biochimiques spécifiques à l'organisme et à la substance étudiés, telles que les volumes des organes, les flux sanguins tissulaires, les affinités de la substance pour les tissus ou encore les vitesses de métabolisme.

Les valeurs des paramètres physiologiques sont bien connues et référencées dans la littérature (International Commission on Radiological Protection, 2002). Cet ensemble de paramètres comprend le poids du corps, les volumes des organes, les flux sanguins mais aussi les paramètres relatifs aux voies d'exposition, par exemple le taux de ventilation alvéolaire pour l'inhalation. Les paramètres physiologiques évoluent avec l'âge et peuvent varier en fonction du sexe et de l'ethnie. Ces évolutions temporelles peuvent être intégrées dans les modèles PBPK lorsque des expositions sur la vie entière sont considérées (Beaudouin et al., 2010).

L'ensemble des paramètres spécifiques à la substance inclut les propriétés physicochimiques (masse molaire, lipophilie...) et les paramètres décrivant son interaction avec le milieu biologique. Cet ensemble inclut notamment les affinités de la substance pour les tissus, les vitesses d'élimination (métabolisme et excrétion), et les paramètres liés au franchissement des barrières biologiques (perméabilité membranaire). Les valeurs pour ces paramètres peuvent être renseignées par des expérimentations *in vivo*, des systèmes d'exposition *in vitro* ou encore des modèles QSAR (Habka et al., 2010).

Aujourd'hui, les expérimentations *in vivo* chez l'animal, et plus rarement chez des volontaires humains, restent le moyen le plus répandu pour caractériser la toxicocinétique d'une substance chimique et y associer le développement d'un modèle. Dès lors qu'il s'agit de modifier les valeurs de paramètres d'un modèle existant dans le cadre d'extrapolations entre espèces, doses ou voies d'exposition par exemple, les méthodes alternatives à l'expérimentation animale (expérimentations *in vitro* et modélisation QSAR) constituent un moyen rapide et souvent fiable. L'expérimentation *in vitro* permet d'estimer les paramètres ADME à partir du matériel cellulaire humain (par exemple des cellules ou des micro-coups du tissu) et offre la possibilité de s'intéresser à certains organes ou à certaines fonctions de manière sélective. Quant à la modélisation QSAR, elle établit une relation mathématique entre une activité biologique à prédire, par exemple une propriété physicochimique ou un effet, et un ensemble de descripteurs caractérisant la structure chimique de la substance. Ces descripteurs peuvent être topologiques (informations sur la structure de la molécule telles que le nombre d'atomes d'hydrogène ou le nombre de liaisons doubles entre deux atomes de carbone), électroniques (informations sur la charge de la molécule), géométriques (par exemple la surface et le volume de la molécule...) ou des propriétés physicochimiques telle la lipophilie et la masse molaire de la substance. La robustesse de ces modèles dépend principalement de la quantité et de la qualité des données disponibles pour leur construction.

4.2 INTÉGRATION DE PLUSIEURS VOIES D'EXPOSITION

4.2.1 MÉTHODE

Un modèle PBPK, tel que celui présenté Figure 1, peut inclure l'ensemble des voies d'exposition environnementale, à savoir l'inhalation, l'ingestion et le contact cutané. L'injection de la substance directement dans la circulation sanguine (par exemple, intra-veineuse) ou dans un tissu (par exemple, intra-musculaire) est généralement réservée aux substances thérapeutiques. La modélisation toxicocinétique suppose qu'une fois la substance absorbée et ayant atteint la circulation systémique, elle se comportera de façon similaire qu'elle ait été ingérée, inhalée ou pénétrée par la peau.

Les facteurs physiologiques et biochimiques contrôlant l'entrée de la substance dans l'organisme sont d'importance capitale pour estimer la biodisponibilité par chacune des voies. La modélisation de l'absorption permettra ainsi de mettre à l'échelle chacune des voies.

La quantité ou concentration de la substance dans le milieu considéré (air, aliments, poussière...) et la durée de contact déterminent le scénario d'exposition. Pour chaque voie d'exposition, la modélisation de ces mécanismes repose sur un nombre limité de paramètres spécifiques à la substance et sur la description physiologique des sites d'administration. Par exemple, les autres principaux facteurs à inclure dans la modélisation de l'absorption sont pour chacune des voies d'exposition :

- Ingestion orale : la vitesse d'absorption, la biodisponibilité, le temps de résidence dans les différentes parties de l'intestin...
- Inhalation : la partition de la substance entre le sang et l'air, la perfusion pulmonaire, l'activité physique...
- Contact cutané : la surface de peau exposée, la perméabilité cutanée...

Cette liste n'est cependant pas exhaustive car les paramètres requis dépendent bien sûr du niveau de détail des modèles d'absorption. La Figure 2 résume les principaux facteurs et présente des cinétiques généralement observées dans le sang après exposition par chacune des trois voies d'exposition. Plusieurs caractéristiques toxicocinétiques des substances rapidement éliminées (soit par métabolisme ou excrétion) sont observées sur cette figure. Par exemple, l'absorption cutanée est généralement très lente, alors que celle par l'inhalation est quasiment instantanée et un état d'équilibre est rapidement atteint dans le sang. De plus, on observe des différences lors de l'arrêt de l'exposition : la concentration sanguine après inhalation décroît très rapidement, alors que pour le contact cutané et l'ingestion, elle est plus lente.

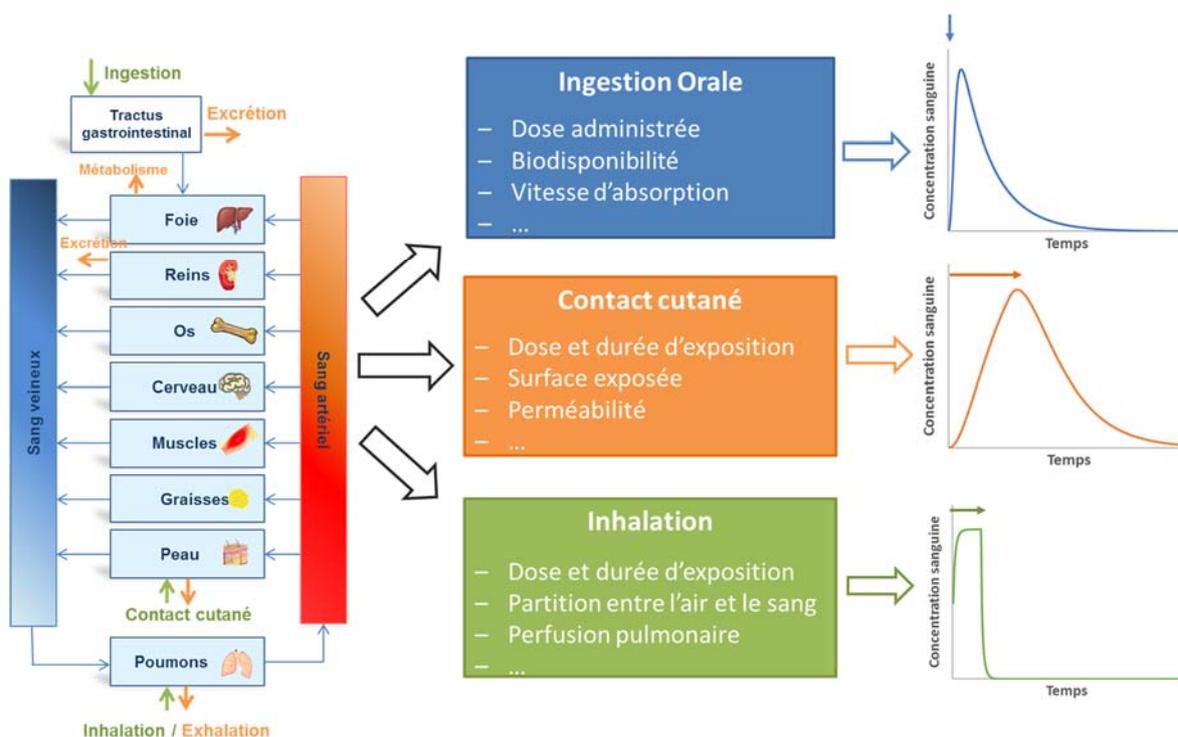


Figure 2 : Exemples de cinétiques observées dans le sang après une exposition suivant les trois voies d'absorption, c'est-à-dire l'ingestion orale, le contact cutané, et l'inhalation. Cette figure est inspirée de (International Programme on Chemical Safety (IPCS), 2010).

4.2.2 EXEMPLE : EXPOSITION AGRÉGÉE A LA PERMÉTHRINE

Pour illustrer l'agrégation des expositions par la modélisation PBPK, prenons l'exemple de la perméthrine, un composé de la famille des pyréthriinoïdes. Ces derniers sont des insecticides ubiquitaires utilisés dans de nombreux domaines tels que l'agriculture, l'entretien des logements et la médecine humaine ou vétérinaire. De ce fait, les populations humaines sont susceptibles d'être exposées aux pyréthriinoïdes par plusieurs médias environnementaux (air, sol, aliments, produits...) et donc plusieurs voies d'exposition.

Deux scénarios incluant les trois voies d'exposition ont été simulés pour observer leurs contributions sur la concentration veineuse. Dans le premier scénario, des expositions courtes sur quelques heures ont été simulées pour évaluer les contributions lors des phases d'exposition et après son arrêt. Pour ce faire, les doses d'exposition ont été fixées pour aboutir à des niveaux similaires de concentration veineuse pour chacune des trois voies. Le second scénario implique des expositions continues sur plusieurs semaines afin d'atteindre un état d'équilibre. Des niveaux de doses d'exposition similaires ont été fixés pour les trois voies. La Table 1 présente les deux scénarios.

Table 1 : Scénarios d'exposition pour la perméthrine

	Ingestion orale	Inhalation	Contact cutané
Scénario 1	7 µg/kg	0.05 µg/L sur 4 h	2000 µg sur 4 h
Scénario 2	1 µg/kg/jour	0.006 µg/L	70 µg/jour

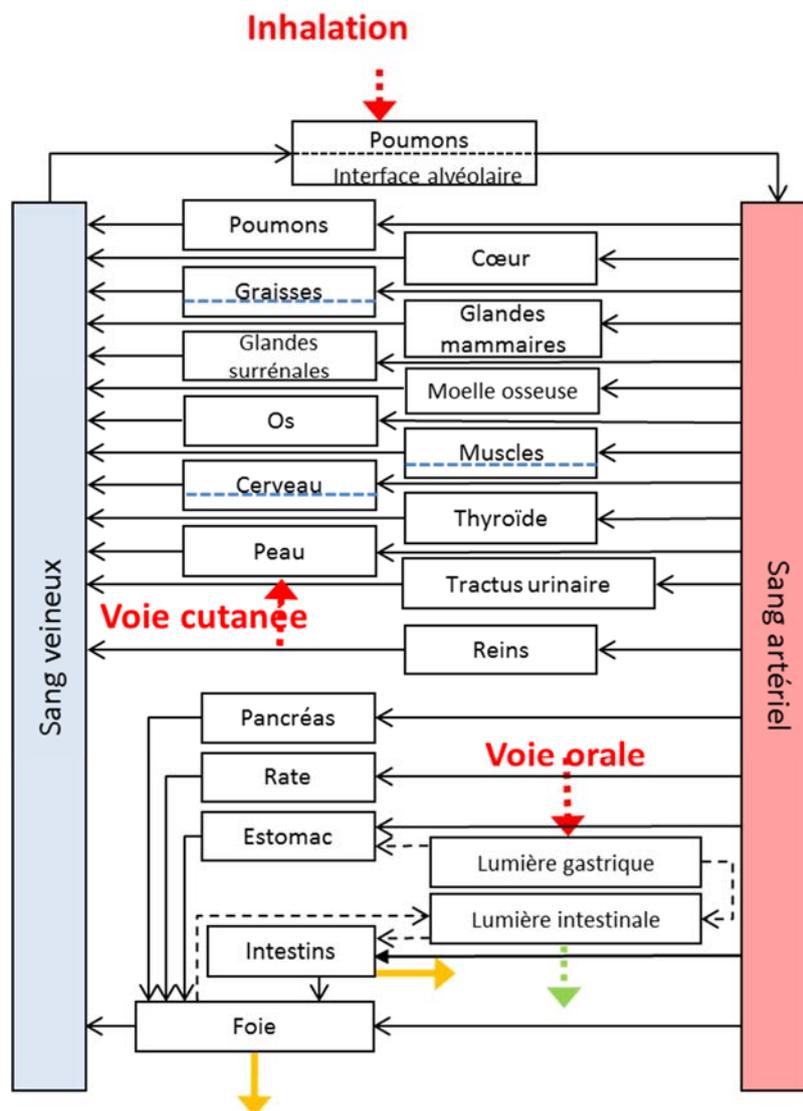


Figure 3 : Représentation graphique du modèle PBPK utilisée pour la perméthrine. Les flèches rouges représentent l'absorption, les flèches orange le métabolisme et les flèches vertes l'excrétion. Les traits pleins sont utilisés pour le flux sanguin, et les traits en pointillés pour les autres transferts (exemple, les diffusions).

Les scénarios d'exposition ont été utilisés en entrée d'un modèle PBPK pour la perméthrine (Figure 3). Ce modèle pour l'homme a été développé par l'INERIS à partir d'un modèle développé chez l'animal et extrapolé à l'aide d'expérimentations *in vitro* réalisées sur du matériel cellulaire humain (Willemin et al., 2015; Willemin et al., 2016).

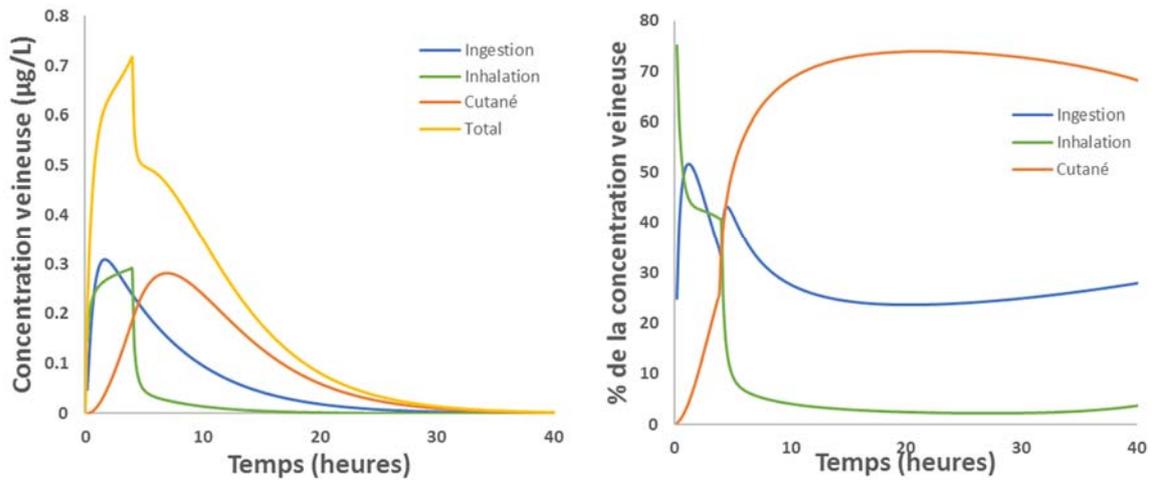


Figure 4 : Evolution de la concentration veineuse en perméthrine (panel de gauche) et du pourcentage attribuable à chacune des voies d'exposition par rapport à la concentration totale veineuse (panel de droite) pour le scénario 1. Les expositions débutent au temps 0. Le scénario d'exposition 1 a été fixé pour obtenir des concentrations maximales similaires pour chacune des trois voies.

La Figure 4 présente l'évolution de la concentration veineuse en perméthrine en fonction des voies considérées ainsi que le pourcentage attribuable à chacune des trois voies pour le scénario 1. On observe que les contributions varient en fonction du temps et de l'éloignement de l'arrêt des expositions. En particulier, les temps auxquels sont atteintes les concentrations maximales diffèrent : juste après l'exposition pour l'ingestion, juste avant l'arrêt de l'exposition pour l'inhalation, et quelques heures après l'exposition pour la voie cutanée. L'absorption par voie cutanée est souvent beaucoup plus lente en raison des différentes couches de la peau à traverser avant de rejoindre la circulation sanguine. Cela explique aussi la forte contribution de cette voie à des temps très éloignés de l'exposition. Il est à rappeler que ces concentrations ne représentent pas des niveaux d'exposition réels, et que généralement, pour des expositions environnementales, la dose par la voie cutanée est souvent très faible en comparaison des deux autres voies.

Le scénario 2 représente quant à lui des expositions à des niveaux similaires pour les trois voies. La Figure 5 présente la contribution relative des 3 voies d'exposition pour la concentration veineuse après atteinte d'un état d'équilibre, environ 1 mois après le début d'expositions continues. On observe que l'inhalation a un impact important, qui est expliquée par une plus grande biodisponibilité par cette voie. L'inverse est observé pour la voie cutanée en raison de la faible proportion de substance qui passe dans la circulation sanguine par cette voie.

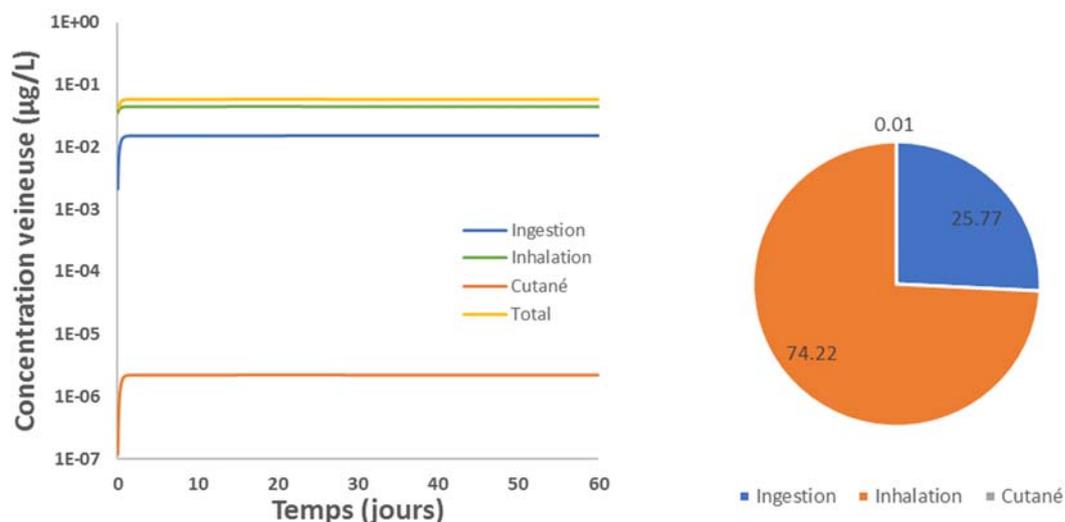


Figure 5 : Evolution de la concentration veineuse en perméthrine (panel de gauche) et du pourcentage attribuable à chacune des voies d'exposition par rapport à la concentration totale veineuse à l'état d'équilibre (panel de droite) pour le scénario 2. Les expositions débutent au temps 0. Le scénario d'exposition 2 a été fixé pour obtenir des niveaux d'exposition similaires pour chacune des trois voies.

Cet exemple permet d'illustrer la prise en compte des expositions par des voies multiples par la modélisation PBPK pour quantifier l'exposition interne. L'application de cette méthode requiert la caractérisation du processus d'absorption pour chacune des voies que l'on souhaite étudier, en particulier d'identifier les paramètres influant sur l'absorption par une voie et d'affecter des valeurs aux paramètres physiologiques et biochimiques impliqués. Dans ce type de modèle, la modélisation des autres processus ADME (*i.e.*, distribution, métabolisme et excrétion) n'est pas impactée par la voie d'entrée de la substance dans l'organisme.

4.3 UTILISATION DANS UN CONTEXTE RÉGLEMENTAIRE

La modélisation PBPK est utilisée depuis environ 30 ans par les agences ou instances internationales pour évaluer les risques liés aux substances chimiques. Les modèles PBPK peuvent intervenir à différentes étapes d'une évaluation de risques, par exemple pour aider à une meilleure caractérisation des différences inter-espèces ou entre des scénarios d'exposition, ou encore pour fournir une mesure de la dose biologiquement efficace, c'est-à-dire la dose en lien direct avec l'effet toxique induit. Aujourd'hui des modèles PBPK existent pour de nombreuses substances notamment chez des espèces de mammifères (pour une revue relativement récente, consulter Reddy et al. (2005)). Dans la majorité des cas, ces modèles ont été développés à des fins de recherche pour répondre à une question précise. Avant leur utilisation dans un autre contexte, il est nécessaire de procéder à leur évaluation et de démontrer leur pertinence pour répondre à la nouvelle question posée.

Le processus d'évaluation est nécessaire pour démontrer objectivement la fiabilité et la pertinence du modèle et ainsi permettre son utilisation par d'autres utilisateurs. Plusieurs groupes de travail ont édicté des règles de bonnes pratiques afin de promouvoir un cadre de développement commun aux modèles PBPK et ainsi accroître la confiance d'utilisateurs potentiels (Chiu et al., 2007; International Programme on Chemical Safety (IPCS), 2010; Loizou et al., 2008; McLanahan et al., 2012). Un des points cruciaux reste la documentation de ces modèles (Clewell and Clewell, 2008). Ces derniers peuvent être relativement complexes, et sans une bonne documentation, il s'avérera impossible de pouvoir les reproduire de manière adéquate.

Généralement au moins un ensemble de données expérimentales est utilisé pour vérifier le comportement du modèle. Ces données permettent de s'assurer que le modèle est capable de reproduire la cinétique de la molécule, comme les variations des concentrations internes. Cependant, l'évaluation ne se limite pas à cette confrontation entre les prédictions du modèle et les données mais nécessite aussi de s'assurer de la vraisemblance de la structure du modèle, de sa paramétrisation et de la justesse mathématique des équations (e.g. conservation du bilan massique et des flux sanguins). En raison de la description mécanistique des processus ADME, la structure du modèle et les valeurs prises par les paramètres doivent être en accord avec la réalité biologique. En conséquence un modèle paramétré avec des valeurs incohérentes au regard des connaissances physiologiques et biologiques ne pourra pas être considéré dans un autre cadre que celui de son développement et nécessitera l'acquisition de nouvelles données afin d'expliquer ces valeurs incohérentes. Clark et al. (2004) ont proposé une approche en six étapes pour l'évaluation d'un modèle PBPK (Table 2). Elle s'attache à évaluer les aspects biologiques, toxicologiques, mathématiques, et statistiques du modèle et de son utilisation future en évaluation des risques.

Dans le cadre des modèles PBPK, le terme évaluation est souvent associé à un objectif prédéfini, à savoir une mesure de dosimétrie interne pertinente pour le mode d'action de la substance. Il est rarement possible de valider un modèle dans sa globalité. Ceci nécessiterait un nombre important de données expérimentales, c'est-à-dire pour l'ensemble des variables d'état (évolution temporelle de la concentration dans tous les compartiments) et des paramètres du modèle pour divers scénarios d'exposition. L'acquisition de telles données est inenvisageable en raison des coûts financiers et éthiques qu'elle engendrerait. A l'issue de l'étape d'évaluation, le domaine de validité du modèle PBPK pourra être défini. L'objectif ici reste donc d'établir de la confiance dans les prédictions du modèle pour un nombre restreint de variables en se basant sur une description réaliste des processus ADME, sur la qualité des valeurs des paramètres ainsi que sur la capacité du modèle à reproduire des données expérimentales indépendantes.

Table 2 : Processus d'évaluation d'un modèle PBPK proposé par Clark et al. (2004).

Six étapes d'évaluation

1. Objectif du modèle

La première étape consiste à définir clairement le cadre de l'utilisation du modèle ainsi que les questions auxquelles il devra répondre. Cette étape est essentielle et fournit des perspectives critiques sur les étapes suivantes.

2. Structure du modèle et réalité biologique

La deuxième étape consiste à évaluer la vraisemblance de la réalité biologique décrite par la structure du modèle. Cette évaluation se fait en fonction des utilisations prévues du modèle (identifiées lors de l'étape 1) et des informations disponibles sur le composé ou les composés apparentés (par exemple, les métabolites).

3. Description mathématique

Cette étape évalue la justesse mathématique des équations (par exemple, la conservation du bilan massique et des flux sanguins).

4. Implémentation du modèle sous un logiciel

Cette étape vise à s'assurer de la bonne implémentation du modèle dans un programme informatique approprié.

5. Analyses des paramètres et de l'ajustement du modèle aux données

La cinquième étape consiste à évaluer la paramétrisation du modèle par rapport aux données disponibles et à évaluer l'incertitude dans les résultats du modèle. À ce stade, les valeurs sélectionnées pour les paramètres du modèle doivent être évaluées.

6. Analyses statistiques

La dernière étape consiste à évaluer les analyses statistiques effectuées à l'aide du modèle, comme la modélisation statistique de distributions de probabilité pour rendre compte de la variabilité inter-individuelle ou encore les analyses de sensibilité.

5. INDICATEURS D'EXPOSITION INTERNE

Dans cette section, des indicateurs d'exposition interne calculables par la modélisation PBPK sont présentés. Ces indicateurs peuvent se classer en deux catégories : les indicateurs en lien avec des biomarqueurs d'exposition, et ceux en lien avec les effets des substances chimiques. La Figure 6 présente les relations entre ces types d'indicateurs et la toxicocinétique d'une substance.

Le terme biomarqueur renvoie à différents types d'indicateurs biologiques mesurables. Les biomarqueurs peuvent être révélateurs d'expositions environnementales, ils sont alors appelés « biomarqueurs d'exposition » ; d'une réponse biologique vis-à-vis de ces expositions, ils sont dans ce cas appelés « biomarqueurs d'effet » ; ou encore ils peuvent traduire des variations de sensibilité, comme un phénomène de résistance, et sont alors appelés « biomarqueurs de sensibilité ».

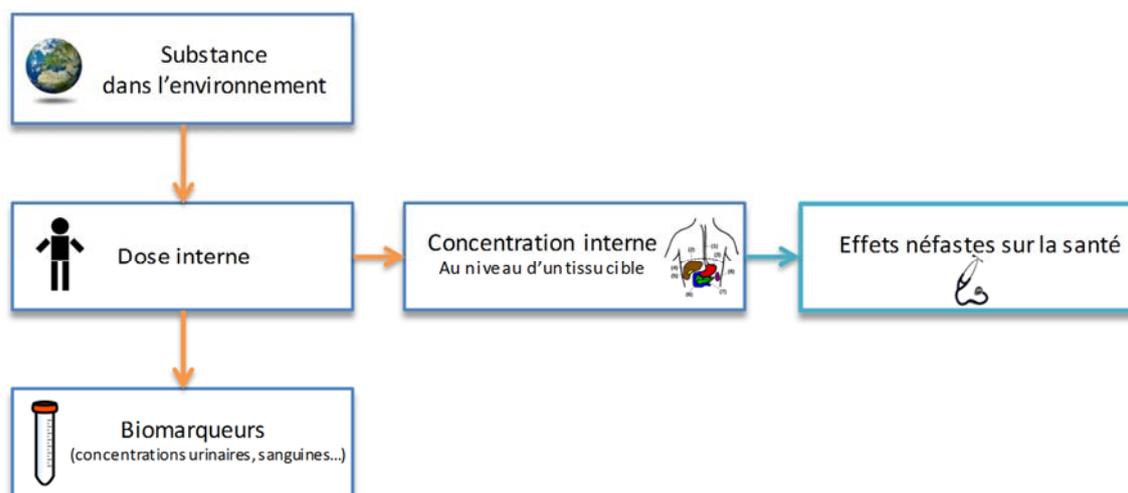


Figure 6 : Description schématique de la relation entre une concentration d'une substance chimique dans l'environnement, une dose interne, une concentration interne au niveau d'un tissu cible, des mesures de biomarqueurs d'exposition et des effets potentiellement néfastes pour la santé. Les relations toxicocinétiques sont représentées par des flèches orange et les relations dose-effet par une flèche bleue.

5.1 INDICATEURS EN LIEN AVEC DES BIOMARQUEURS D'EXPOSITION

5.1.1 BIOMARQUEURS D'EXPOSITION ET TOXICOCINÉTIQUE

Les biomarqueurs d'exposition à une substance ou famille chimique prennent généralement la forme de leurs concentrations mesurées dans différentes matrices biologiques comme le sang, l'urine, le lait maternel et l'air exhalé, ou encore des fragments de cheveux, d'ongles, de tissu lipidique voire d'autres tissus. L'échantillon sanguin présente l'avantage de fournir le niveau de substance circulant dans le corps et au contact des organes, tandis que les autres milieux représentent les niveaux de substance excrétés ou stockés. La Figure 7 présente les relations entre ces mesures d'exposition interne et la toxicocinétique des substances (processus ADME).

L'interprétation de la valeur du biomarqueur dépendra de la nature de la matrice biologique et de celle de la substance.

Les matrices dans lesquelles sont mesurés les biomarqueurs d'exposition dépendent souvent de la persistance des substances dans l'organisme. Les composés persistants sont couramment mesurés dans le sang. Du fait de leur temps de résidence assez long dans les organismes (ils sont peu métabolisés et excrétés lentement), ces composés ont tendance à s'y accumuler. Leurs demi-vies (c'est-à-dire la durée pour éliminer la moitié de la substance) pouvant atteindre plusieurs années. Les biomarqueurs mesurés sont donc généralement représentatifs d'une exposition longue moyenne puisque leur longue demi-vie tend à lisser les variations de l'exposition.

Les composés peu persistants ont par définition des demi-vies de l'ordre de quelques heures ou jours. Du fait de leur dégradation rapide, ce sont le plus souvent leurs métabolites qui sont mesurés dans les urines. Les mesures de substances non persistantes sont le plus souvent très largement influencées par les expositions les plus récentes.

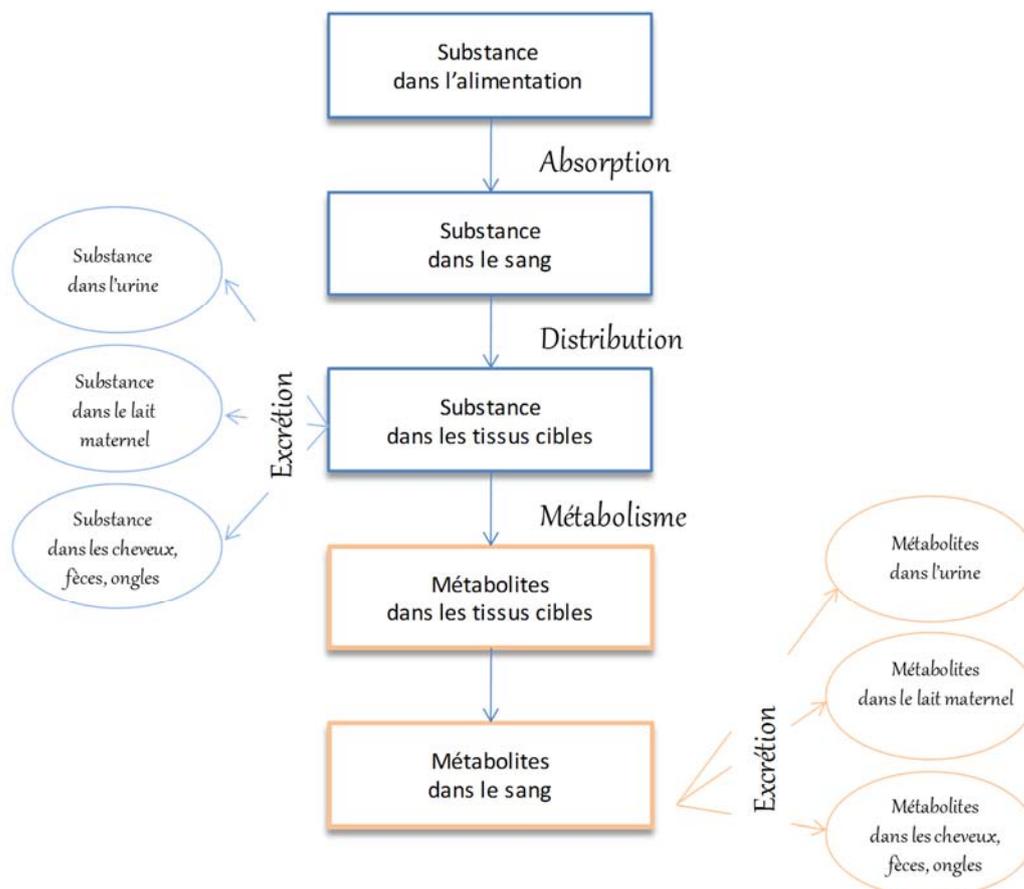


Figure 7 : Représentation schématique des liens entre la dose d'exposition et les concentrations dans les différents milieux biologiques comme le sang, les urines, les fèces, le lait, les cheveux, les ongles (adapté de Hays et al. (2007))

5.1.2 INTERPRÉTATION DES INDICATEURS

Classiquement, l'évaluation du risque de substances chimiques se base sur la comparaison d'un niveau d'exposition externe (par exemple, une dose journalière d'exposition) et d'une valeur de référence, telle que les valeurs toxicologiques de

référence ou une dose admissible journalière. Depuis quelques années, il y a une volonté internationale de dériver des valeurs de référence toxicologiques en lien avec l'exposition interne (souvent une valeur de biomarqueur d'exposition) afin, notamment, d'aider à l'interprétation des imprégnations mesurées lors d'études de biosurveillance. Ces valeurs sont dérivées à partir de connaissances en matière d'exposition, de toxicité et de cinétique des substances.

Deux types de valeurs internes sont actuellement utilisées : les valeurs de biosurveillance humaine (human biomonitoring values ou valeurs HBM) et les équivalents de biosurveillance (Biomonitoring Equivalent ou BE) (Angerer et al., 2011).

Valeurs HBM

Les valeurs de biosurveillance humaine HBM sont élaborées par la commission HBM de l'Agence fédérale allemande de l'environnement (Umweltbundesamt ou UBA) (Schulz et al., 2007). La dérivation de ces valeurs se base sur des informations toxicologiques et épidémiologiques afin d'évaluer des associations potentielles entre exposition interne et altérations de paramètres biologiques ou de santé. Il existe deux types de valeurs : HBM-I et HBM-II.

Le niveau HBM-I décrit la concentration interne d'une substance en dessous de laquelle aucun effet néfaste pour la santé n'est attendu. La valeur HBM-I doit être considérée comme une valeur de vérification ou de contrôle. Le niveau HBM-II indique une concentration au-delà de laquelle les risques pour la santé ne peuvent pas être exclus, et est considéré comme un niveau d'intervention. En Annexe 1, les substances pour lesquelles la commission allemande a proposé des valeurs HBM-I et HBM-II sont présentées. Pour une majorité de substances aucune valeur HBM-II n'a encore été proposée.

En Allemagne, les valeurs HBM sont utilisées pour interpréter les mesures réalisées lors d'études de biosurveillance humaine. Si les biomarqueurs d'exposition mesurés se situent à une concentration supérieure au niveau HBM-I et en dessous du niveau HBM-II, des mesures complémentaires sont demandées. Si les mesures confirment le résultat initial, une recherche des sources potentielles d'exposition doit être mise en œuvre. L'exposition aux sources principales doit être réduite ou supprimée afin d'atteindre un niveau acceptable d'exposition.

Équivalents de biosurveillance

Les équivalents de biosurveillance (appelés aussi biomonitoring equivalent ou BE), tels que définis par Hays et al. (2008), sont des valeurs de référence internes définies comme la concentration d'une substance chimique ou d'un métabolite dans une matrice biologique (sang, urine, lait maternel...) qui résulterait d'une exposition continue à une dose externe correspondant à une valeur guide de toxicité définie ou un critère de toxicité. Ces derniers incluent, entre autres, les doses de référence et les concentrations de référence (reference dose RfD et reference concentrations RfCs), les niveaux de risque minimum (minimal risks level MRLs), les doses journalières admissibles (tolerable daily intake TDI). Actuellement, des équivalents de biosurveillance ont été dérivés pour plus de 80 substances (une liste est fournie en Annexe 1).

L'Institut National de Santé Publique du Québec (2014) met en garde sur la possibilité d'une interprétation erronée des valeurs d'équivalents de biosurveillance. De manière générale, la détermination d'un équivalent de biosurveillance repose sur un processus d'extrapolation à partir d'une dose externe chez l'animal ou l'humain en fonction de la toxicocinétique de cette substance chez l'espèce concernée. Les équivalents de biosurveillance ne sont donc pas déterminés sur la base d'une relation dose-effets néfastes où la dose est établie directement par un biomarqueur. L'Institut National de Santé Publique du Québec (2014) recommande alors d'employer principalement ces valeurs dans un contexte de priorisation de substances.

5.2 INDICATEURS EN LIEN AVEC LE MODE D'ACTION

Il n'existe que peu de substances pour lesquelles des relations directes entre un niveau de biomarqueur d'exposition et un effet sur la santé ont été établies. Ainsi d'autres indicateurs d'exposition interne sont utilisés dans l'optique de lier la survenue d'un effet toxique à une dose interne dans les tissus cibles. Dans ce contexte, l'indicateur ou la métrique de dose sélectionné doit être étroitement lié à l'apparition des effets indésirables et au mode d'action de la substance. La définition des voies de toxicité est en cours d'harmonisation au niveau international sous la forme d'« adverse outcome pathways » (AOP). Un AOP décrit la cascade d'évènements déclenchés par l'interaction d'une substance toxique avec une ou plusieurs cibles moléculaires et pouvant mener à un effet néfaste au niveau de l'organisme ou de la population. Un évènement initiateur ou une interaction moléculaire ou cellulaire d'un AOP pourrait se traduire sous la forme d'un indicateur d'exposition interne.

Les indicateurs en lien avec le mode d'action d'une substance sont généralement déterminés à partir d'informations toxicologiques obtenues par des études expérimentales. En raison de la diversité des situations possibles tant au niveau des substances que des expositions ou des types d'effets, différentes métriques ont été proposées (Andersen and Dennison, 2001). La définition d'une métrique est liée à la forme chimique active (substance parente ou métabolite), à son niveau (concentration ou quantité), à sa durée (instantanée ou chronique), son intensité (pic, moyenne, ou intégrale) et à la matrice biologique (sang ou tissu cible) (USEPA, 2006).

De nombreux travaux ont utilisé la modélisation PBPK pour calculer un d'indicateur d'exposition lié au mode d'action d'une substance. Par exemple, les effets chroniques non-cancérogènes ont été liés à l'aire sous la courbe (AUC) quotidienne dans les tissus cibles ou dans le sang (Voisin et al., 1990). Pour les substances cancérogènes induisant des métabolites intermédiaires réactifs, la dose interne efficace sera la quantité de métabolites produits par unité de temps ou la quantité de métabolites dans les tissus cibles sur une période donnée (Sasso et al., 2013; Sweeney et al., 2012). Enfin, il est à noter que les modèles PBPK peuvent aussi être utilisés pour tester des hypothèses et en particulier choisir parmi plusieurs doses internes actives.

6. APPROCHE POUR DÉRIVER DES INDICATEURS D'EXPOSITION INTERNE

Dans cette section, nous présentons une approche pour dériver des indicateurs d'exposition interne à partir de la modélisation PBPK. En particulier, sont recensés les points critiques intervenant dans la définition de (ou des) l'indicateur(s) et dans le choix du modèle PBPK.

6.1 DÉFINITION DES INDICATEURS

Dans la section précédente, deux types d'indicateurs ont été présentés : ceux en lien avec des biomarqueurs d'exposition, et ceux en lien avec des effets toxiques. Le choix d'un indicateur d'exposition interne se fait toujours en fonction des besoins de l'analyse à mener c'est-à-dire de la question à laquelle il doit contribuer de répondre. Bien souvent, la question aidera à déterminer les caractéristiques de l'indicateur le plus adéquat, c'est-à-dire la substance, la matrice biologique, le niveau et la fenêtre d'exposition (International Programme on Chemical Safety (IPCS), 2010).

❖ Substance

Le choix de la substance se fera en fonction de la nature de l'indicateur voulu. Pour un indicateur en lien avec un biomarqueur d'exposition, il s'agira de sélectionner la substance qui est mesurée, souvent la substance parente pour les composés persistants (par exemple, les dioxines ou composés perfluorés), ou un ou plusieurs métabolites pour une substance non-persistante (par exemple, les phtalates ou certains pesticides).

Pour les indicateurs en lien avec un effet toxique, il est important de déterminer la forme toxicologiquement active de la substance chimique, c'est-à-dire le parent ou métabolite. Certaines substances peuvent engendrer un effet toxique directement (par exemple le plomb ou la dioxine), mais dans de nombreuses situations c'est une substance issue du métabolisme qui produira l'effet toxique. Par exemple, les métabolites réactifs sont fréquemment associés à des effets cancérigènes ou génotoxiques. La toxicité peut résulter principalement des intermédiaires réactifs produits par le métabolisme (par exemple le chlorovinylépoxyde produit par le métabolisme du chlorure de vinyle ou des métabolites des hydrocarbures aromatiques polycycliques) ou des effets toxiques de métabolites stables (par exemple l'acide trichloroacétique produit par le métabolisme du trichloréthylène) (Clewell et al., 2002). Le manque de connaissance toxicologique sur de nombreuses substances chimiques fait qu'il n'est pas possible de déterminer laquelle des formes du composé est active dans de certains cas. La substance parente est alors souvent choisie. Plusieurs formes chimiques (parent ou métabolites) peuvent contribuer à la toxicité. Ici il sera possible de construire l'indicateur en combinant les différentes formes de la substance (Gentry et al., 2002).

❖ Matrice biologique

Le choix de la matrice biologique des indicateurs liés à des biomarqueurs d'exposition est dicté par le biomarqueur considéré. Généralement, le sang est considéré pour les composés persistants, alors que les urines sont privilégiées pour les composés non-persistants. Plus rarement d'autres matrices biologiques considérées comme des lieux de stockage peuvent être utilisés, telles que le lait maternel ou les cheveux.

Pour le second type d'indicateur, le tissu dans lequel la substance chimique est active est souvent le même tissu dans lequel se produisent les effets toxiques (tissu cible). La matrice d'intérêt se réfère ainsi au tissu cible ou à une matrice se substituant au tissu cible. Par exemple, dans le cas du plomb il a été montré que la concentration sanguine est un indicateur adéquat des effets néfastes. Pour d'autres substances, ces tissus peuvent différer : par exemple, des effets sur le cerveau peuvent altérer la signalisation hormonale observée dans un organe reproducteur. Les connaissances toxicologiques (études expérimentales, AOP...) permettent d'identifier les tissus cibles. Certaines substances chimiques, telles que le trichloroéthylène, peuvent présenter des toxicités à différents niveaux (comprenant à la fois effets cancérogènes ou non). Dans ces cas, plusieurs indicateurs devraient être calculés (Barton and Clewell, 2000).

❖ Niveau

Les métriques de dose fréquemment utilisées en lien avec la survenue d'effets toxiques sont la concentration maximale (C_{max}), la concentration ou la quantité moyenne quotidienne, ou l'aire sous la courbe de concentration (AUC) de la substance chimique ou d'un métabolite dans le sang ou dans un tissu cible (Andersen and Dennison, 2001; Clark et al., 2004). Les effets toxiques à court terme sont généralement caractérisés par la concentration maximale ou moyenne de la substance chimique dans le tissu cible ou dans le sang (Valcke and Krishnan, 2011), tandis que les effets à plus long terme ont tendance à être bien décrits par des mesures cumulatives de la dose tissulaire. Pour certains composés, les métriques basées sur les concentrations libres de substance sont plus appropriées que celles fondées sur les concentrations totales (Kalvass and Maurer, 2002).

❖ Fenêtre de temps

La période considérée pour le calcul de l'indicateur peut dépendre de la persistance de la substance dans l'organisme, et aussi des effets qu'elle engendre.

Selon la persistance d'une substance dans l'organisme, l'indicateur en lien avec un biomarqueur d'exposition reflétera une exposition plus ou moins récente et plus ou moins longue. Les biomarqueurs des substances persistantes représentent des expositions cumulées sur plusieurs années alors que ceux des substances non-persistantes représentent des expositions très courtes et récentes par rapport à l'échantillonnage du biomarqueur. Les biomarqueurs des substances persistantes tendent à lisser les variations de l'exposition, alors qu'un biomarqueur d'une substance non-persistante sera très corrélé aux expositions récentes et pourra être extrêmement variable selon les expositions considérées.

Concernant les indicateurs liés aux effets, il s'agira de déterminer si la survenue du ou des effets est due à des expositions chroniques ou aiguës, ou si elle relève d'expositions passées, telles que lors de la période prénatale ou de la petite enfance pour les effets développementaux. Les fenêtres d'exposition les plus appropriées sont généralement identifiées lors d'études toxicologiques sur des animaux et doivent être extrapolées à l'humain.

6.2 SÉLECTION DU MODÈLE PBPK

Dans cette section, nous présentons les différents aspects à considérer pour sélectionner le modèle PBPK adéquat pour prédire un indicateur d'exposition interne, tel que défini précédemment. L'existence d'un modèle et son évaluation générale (présentée à la section 4.3) ne suffisent pas à elles seules à justifier son utilisation. Il est important de rappeler que chaque modèle est uniquement valide sur un certain domaine, appelé domaine de validité. Lorsque l'on souhaite appliquer un modèle, il faut s'assurer que les conditions d'exposition et de populations appartiennent bien à ce domaine. Ici nous rapportons les éléments à prendre en considération lors du choix du modèle PBPK, et indiquons les précautions à prendre lorsque le modèle doit être adapté pour permettre son utilisation. En particulier, l'adéquation du modèle PBPK à l'objectif visé est grandement dépendant de ou des indicateur(s) d'exposition interne sélectionné(s), des scénarios d'exposition (voies et niveaux de dose) et de la population visée. Ces éléments doivent aider aussi l'utilisateur à sélectionner un modèle PBPK lorsque plusieurs modèles existent pour une même substance chez une même espèce.

❖ Indicateur d'exposition interne

Un des premiers prérequis est que l'indicateur d'exposition interne choisi doit pouvoir être estimé par le modèle PBPK. À cet égard, il est important d'évaluer dans quelle mesure le modèle est fiable pour prédire cet indicateur. Le degré de confiance dans les prédictions de l'indicateur par un modèle PBPK dépend de la façon dont ces prédictions ont pu être testées par rapport à des données expérimentales. Différents cas de figure se présentent :

- Des données chez l'humain sont disponibles (typiquement pour des biomarqueurs d'exposition) : la comparaison est alors aisée.
- Des données chez une autre espèce de mammifère sont disponibles : Il s'agira de vérifier si un modèle PBPK existe pour cette espèce et de l'utiliser pour la comparaison. Les modèles humain et animal devraient être semblables aux différences inter-espèces près, et idéalement le modèle humain aurait dû être issu de ce modèle animal. Cette situation peut se produire pour les indicateurs d'effet notamment.
- Aucune donnée sur l'indicateur n'est disponible : Pour évaluer la fiabilité du modèle, on pourra se baser sur d'autres variables du modèle pour lesquelles des données seraient disponibles. Le résultat de cet exercice permettrait d'établir un indice de confiance acceptable si l'ensemble des données disponibles est correctement prédit par le modèle. La validité biologique de la structure du modèle serait un élément en plus pour s'assurer d'un indice de confiance acceptable.

L'objectif ici reste de quantifier l'incertitude et la déviance des prédictions par rapport aux données. La seule comparaison n'est pas suffisante et l'utilisation de méthodes statistiques plus sophistiquées est recommandée dans la mesure du possible. Parmi ces méthodes, on peut citer l'analyse d'incertitude et l'analyse de sensibilité (Clark et al., 2004). L'analyse d'incertitude permet de caractériser la gamme de valeurs possibles de l'indicateur selon les connaissances actuelle plus ou moins précises sur les valeurs des paramètres. L'analyse de sensibilité est utilisée pour comprendre et évaluer l'impact de la structure du modèle et des paramètres sur les prédictions.

Lorsque que plusieurs modèles existent, cette étape devrait permettre de sélectionner le modèle le plus adéquat pour prédire l'indicateur choisi.

❖ Voies d'exposition

Le scénario d'exposition qui sera considéré influe aussi sur la sélection du modèle. Les sources produisant la substance et les voies d'exposition associées devraient idéalement être intégrées initialement au modèle et avoir été testées individuellement. Cette évaluation comme expliquée au paragraphe précédent peut prendre la forme de comparaison entre données expérimentales et prédictions du modèle et de résultats d'analyses statistiques plus sophistiquées.

Il est possible que des voies d'exposition n'aient pas été testées expérimentalement pour des substances. Ceci est particulièrement le cas pour la voie cutanée qui est peu étudiée pour les substances environnementales. Dans ce cas, il s'agira d'intégrer la voie d'exposition manquante au modèle PBPK et d'informer les valeurs des paramètres d'absorption à l'aide d'expérimentations *in vivo* chez l'animal, *in vitro* sur des systèmes spécialement développés, ou *in silico* par modélisation QSAR par exemple. Seule l'évaluation de la nouvelle voie d'absorption et notamment de la dose de substance atteignant système sanguin sera nécessaire puisque, une fois dans le corps, la substance se distribuera selon les mêmes mécanismes indépendamment de la voie d'administration.

❖ Niveau de dose

Les modèles PBPK sont généralement développés avec des données humaines obtenues à partir d'expositions contrôlées de volontaires humains, ou avec des données animales obtenus sur des expérimentations en laboratoire. Les niveaux de doses utilisées lors d'expériences avec des humains sont faibles et comparables avec des niveaux observés dans l'environnement. Les modèles développés avec de telles données sont applicables sans précaution supplémentaire à des conditions environnementales, c'est-à-dire des doses assez faibles.

Les niveaux doses utilisées lors d'expérimentations animales sont rarement comparables aux niveaux environnementaux mais bien plus élevés. Dans cette situation, il faudra s'assurer de tenir compte des différences entre faibles et fortes doses avant d'appliquer le modèle PBPK. En particulier, il est nécessaire de s'assurer que la modélisation de certains phénomènes, tels que le métabolisme et l'élimination, soit en accord avec les nouvelles conditions expérimentales.

❖ Population

La population d'intérêt est un facteur déterminant d'un modèle PBPK. La population générale adulte est la plus représentée dans ces modèles. Quelques modèles existent pour des substances préoccupantes chez des populations telles que les femmes enceintes ou les enfants.

Lorsque le modèle PBPK n'a pas été développé et testé pour la population d'intérêt, il est possible de le transposer à partir d'une autre population. Le principe est similaire aux autres transpositions, il faut assigner aux paramètres du modèle des valeurs tenant compte des caractéristiques particulières de ces populations. Ces caractéristiques peuvent inclure des modifications anatomiques, physiologiques ou biochimiques.

6.3 MISE EN ŒUVRE

La Figure 8 présente l'approche mise en œuvre pour élaborer des indicateurs d'exposition interne à partir de la modélisation PBPK. Cette approche se décompose en quatre étapes : la définition de l'étude, la définition du ou des indicateurs d'exposition, le choix du modèle PBPK, et la réalisation des simulations et obtention des résultats.

La définition de l'étude permet de poser le contexte de travail et d'identifier les objectifs. Comme indiqué dans les sections précédentes, cette étape est essentielle pour mener à bien le reste de l'analyse puisque des choix effectués en aval en dépendront directement. On peut distinguer trois aspects : (i) le cadrage qui vise à rendre explicite le contexte de l'évaluation et de l'utilisation prévue des résultats (par exemple, l'identification de populations à risque), (ii) la formulation de la question qui a pour objectif de transposer la question initialement posée en termes adaptés à la méthodologie employée, et (iii) la définition des scénarios d'exposition à traiter, notamment en termes de population, de lieux et de temporalité.

La définition des indicateurs d'exposition découle directement des besoins de l'analyse et de la question à laquelle ils doivent contribuer à répondre. Dans cette seconde étape, il s'agira donc de déterminer les caractéristiques de l'indicateur le plus pertinent. La substance, la matrice biologique, le niveau et la fenêtre d'exposition sont autant d'éléments qu'il faudra définir. La section 6.1 détaille ces différents aspects.

En fonction des indicateurs définis et du contexte de l'étude, il sera possible de sélectionner un modèle PBPK adéquat. Le premier prérequis est bien sûr la disponibilité d'un modèle PBPK pour la substance d'intérêt. Dans le cas où aucun modèle ne serait disponible, une étape préliminaire sera le développement d'un modèle et sera indispensable pour appliquer la méthodologie présentée ici. Le modèle PBPK retenu devra avoir été évalué pour le type d'indicateur, les voies d'exposition, les niveaux et les populations choisis. Dans la section 6.2, ces différents points ont été abordés et la Table 2 présente un processus d'évaluation proposé par Clark et al. (2004).

L'étape finale concerne la réalisation des simulations en fonction des scénarios d'exposition, des indicateurs et du modèle PBPK choisis. De nombreux logiciels sont disponibles pour coder des modèles PBPK tout en y associant des analyses statistiques. Par exemple, on peut citer les logiciels *MCSim* et *R CRAN*. Les résultats fournis devront répondre directement à la question formulée lors de la première étape.

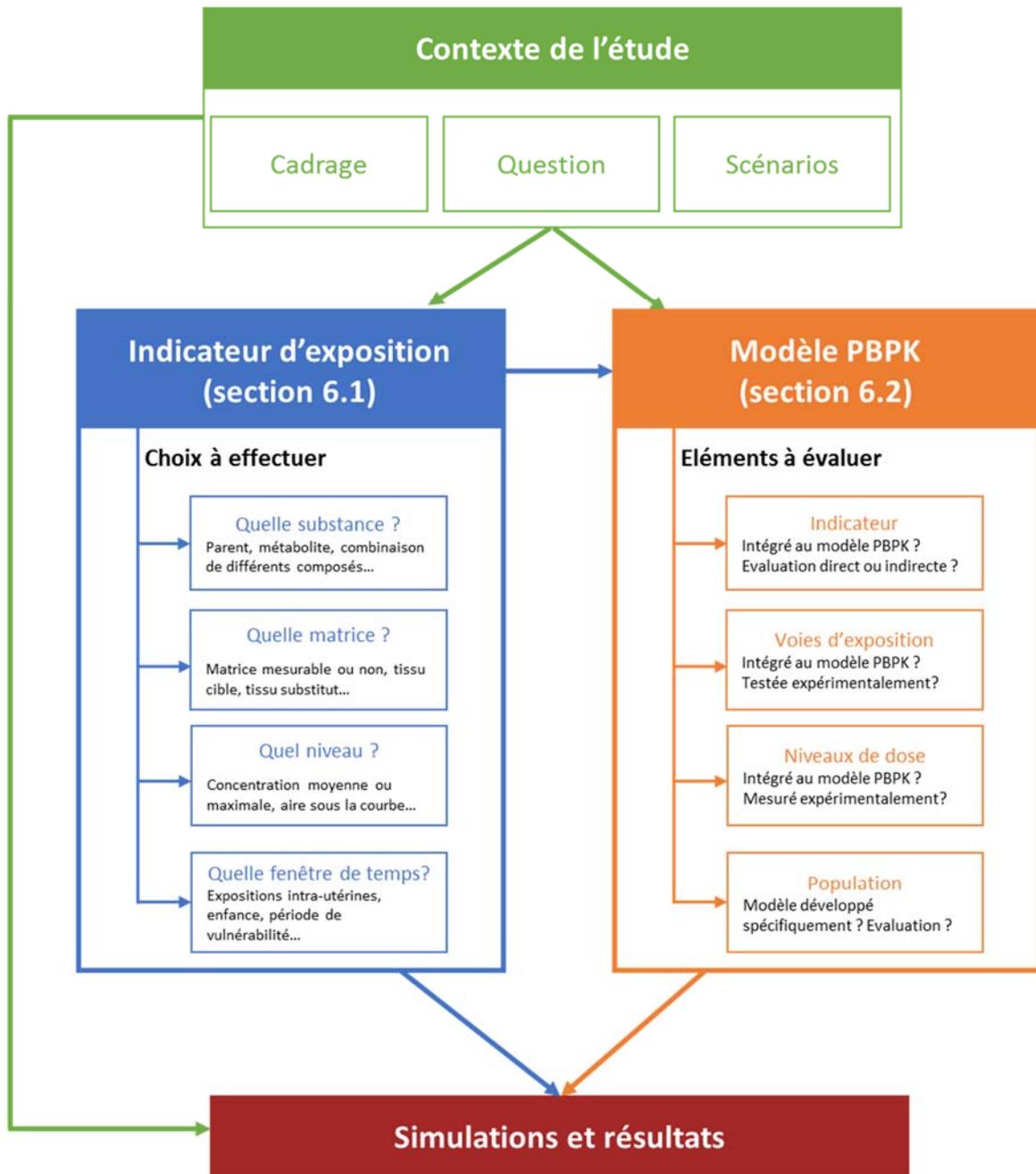


Figure 8: Approche mise en œuvre pour élaborer des indicateurs d'exposition interne à partir de la modélisation PBPK.

7. APPLICATION À UN CAS D'ÉTUDE : LE PLOMB

Dans cette section, nous proposons illustrer la dérivation d'indicateurs d'exposition interne sur une étude de cas. Cette étude concerne l'exposition au plomb de jeunes enfants par deux voies d'exposition, l'inhalation et l'ingestion. Ces travaux s'inscrivent dans une démarche appliquée à l'INERIS sur le couplage de deux types de modélisation (multi-média et toxicocinétique) afin de lier la contamination des milieux environnementaux (air, eau, sol) et de l'alimentation aux concentrations de polluants dans l'organisme des individus (INERIS, 2016a).

Nous présentons la sélection des indicateurs et du modèle PBPK. Ensuite les expositions prédites par la modélisation multimédia à partir des concentrations dans l'environnement seront mises en entrée du modèle PBPK pour simuler les valeurs prises par les indicateurs.

7.1 DÉFINITION DES INDICATEURS D'EXPOSITION INTERNE

Pour sélectionner les indicateurs, il est indispensable d'avoir des connaissances sur la toxicocinétique et les effets du plomb. La fiche de données toxicologiques et environnementales éditée par l'INERIS recense ces différents aspects (INERIS, 2016b).

Le plomb pénètre dans l'organisme essentiellement par voie digestive et voie pulmonaire. L'absorption cutanée a été démontrée négligeable, sauf pour le plomb organique qui est très liposoluble. Après absorption, le plomb passe dans le sang où il se répartit entre une forme fixée aux hématies non diffusible et une forme plasmatique fixée sur l'albumine qui sera stockable dans les tissus ou éliminée dans les urines. Le plomb sanguin représente environ 2 % du stock total de l'organisme et sa demi-vie chez l'adulte est en moyenne de 20 à 30 jours. Les sels de plomb se fixent dans les différents tissus et en particulier au niveau de l'os où ils sont majoritairement stockés (80 à 90 % du plomb total). La demi-vie du plomb osseux est très différente selon qu'il est présent dans l'os trabéculaire (2,4 ans) ou l'os cortical (en moyenne 9,5 ans) et est très variable selon les os. Dans la mesure où 75 % du plomb se retrouvent dans l'os cortical, le relargage du plomb dans le sang et les tissus mous est un phénomène très lent, essentiellement lié à la résorption osseuse physiologique. Les échanges pour le plomb fixé sur les tissus mous (reins, moelle osseuse, foie, rate, cerveau) sont plus rapides, et sa demi-vie y est d'environ 40 à 60 jours. La principale voie d'excrétion est urinaire, environ 75 % du plomb absorbé y serait éliminé.

De nombreux effets néfastes sont associées à une intoxication chronique ou aiguë au plomb (maladie communément appelée saturnisme). Parmi ces effets, on peut noter une diminution du quotient intellectuel (QI), des retards développementaux, l'anémie, des douleurs abdominales des carences en vitamine D ou encore des néphropathies. L'intoxication au plomb touche donc de nombreux organes. La toxicité du plomb ne se manifeste qu'au-delà d'un certain seuil, individu-dépendant. Afin de diagnostiquer une intoxication au plomb, le meilleur marqueur reste la concentration sanguine, appelée aussi **plombémie**, exprimée en µg/L ou µmol/L.

Avec ses informations, nous pouvons définir des indicateurs. La Table 3 présente les caractéristiques des indicateurs.

Table 3 : Indicateurs d'exposition interne pour le plomb chez les enfants

Caractéristiques	
Substance	Plomb
Matrice biologique	Sang, os (accumulation)
Niveau	Concentration à un âge donné
Fenêtre de temps	Toute la période de l'enfance

7.2 MODÈLE PBPK POUR LE PLOMB CHEZ L'ENFANT

Pour modéliser la toxicocinétique du plomb chez les enfants, nous avons sélectionné le modèle PBPK développé par O'Flaherty. Le développement de ce modèle est issu de nombreuses années de recherche et a fait l'objet de plusieurs publications (O'Flaherty, 1998; Oflaherty, 1991; Oflaherty, 1993; Oflaherty, 1995). Il a d'abord été construit pour étudier la distribution du plomb chez le rat et a ensuite été extrapolé à l'homme. La dernière version du modèle vise à estimer l'accumulation du plomb chez l'homme tout au long de sa vie à partir de deux voies d'exposition : l'inhalation et l'ingestion orale.

La Figure 9 donne une représentation graphique du modèle, obtenu dans un rapport de l'U.S. Environmental Protection Agency (2001). Les principales caractéristiques de ce modèle sont reportées ci-dessous.

Le modèle divise l'organisme en plusieurs compartiments : le plasma, le foie, les reins, l'os cortical, l'os trabéculaire, et les tissus bien et peu perfusés. Les poumons et le tractus gastro-intestinal complètent cette description comme voies d'entrée de la substance dans l'organisme.

Il s'agit d'un modèle flux-limité, c'est-à-dire que la distribution du plomb dans les organes dépend de leur perfusion et de l'affinité du plomb pour les tissus. Le plomb se distribue rapidement dans le sang où il se fixe à 90% aux érythrocytes. Une des particularités du modèle se situe au niveau de la modélisation de l'accumulation dans les os. Des études expérimentales ont montré que le système osseux humain agit comme un accumulateur : une proportion importante du plomb entrant dans le corps humain y sera stockée pour une période de temps plus longue que dans les autres organes. La représentation de l'os en deux sous-compartiments vise aussi à tenir compte des différences importantes dans la structure et le métabolisme des os entre les enfants et les adultes. L'échange du plomb entre le plasma sanguin et l'os est régi par la diffusion de plomb à l'intérieur de l'os cortical mais cet échange est aussi un processus limité par le flux pour l'os trabéculaire.

Le modèle PBPK tient compte de l'âge et des changements des paramètres physiologiques qui y sont liés tels que le poids et le volume des organes.

L'absorption du plomb se fait par inhalation et ingestion. Ce processus est représenté par les coefficients d'absorption gastro-intestinal et pulmonaire du plomb. L'absorption du plomb par ingestion étant dépendante de l'âge de l'enfant, elle décroît exponentiellement en fonction de l'âge (O'Flaherty, 1998).

La clairance totale d'élimination du plomb est supposée à 70% par voie urinaire et à 30 % par voie fécale (Oflaherty, 1993). La demi-vie est de l'ordre d'un mois dans le sang, alors qu'elle se compte en dizaines d'année dans les os. L'élimination est modélisée par les clairances du foie et des reins.

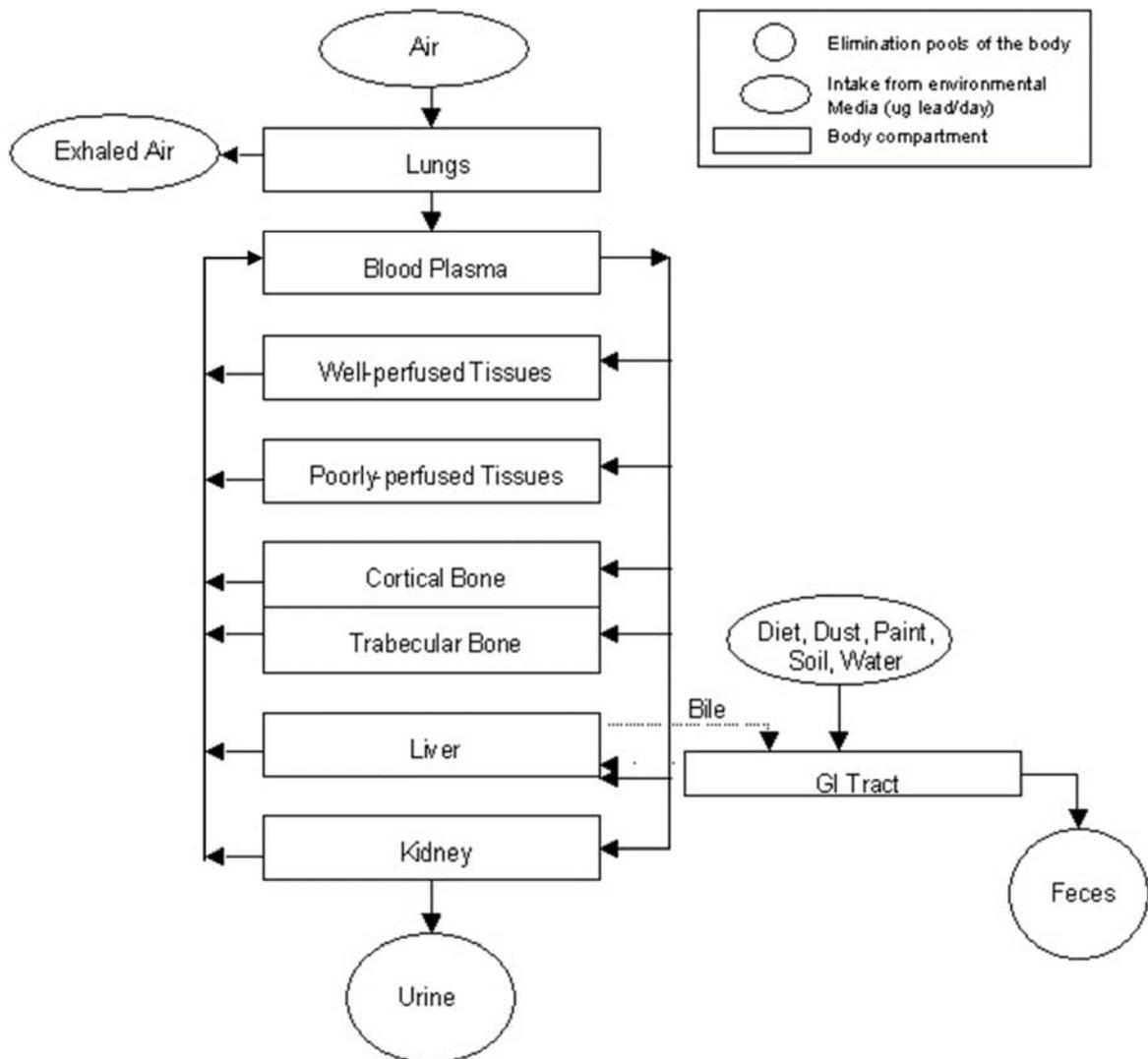


Figure 9 : Représentation graphique du modèle PBPK développé par O'Flaherty (1998) et obtenu de (U.S. Environmental Protection Agency, 2001).

Le modèle a été codé sous le logiciel R et une première évaluation a été menée pour s'assurer du bon codage du modèle. Cette évaluation a consisté à reproduire des cinétiques publiées dans les différents articles de O'Flaherty (1998; 1991; 1993; 1995). Ensuite nous avons comparé les prédictions du modèle avec celles obtenues par le modèle IEUBK¹ qui a été développé par l'agence de protection de l'environnement américaine (US EPA) pour prédire la plombémie près de sites pollués. Ce modèle est devenu au fil du temps un outil de référence pour prédire la plombémie, il est de ce fait très utilisé dans des contextes réglementaires notamment. La Figure 10 présente les prédictions de la concentration sanguine (plombémie) obtenues par les 2 modèles avec des expositions identiques par ingestion orale et inhalation. On constate qu'elles sont très proches et suivent les mêmes tendances (forte exposition avant 2 ans, puis une baisse). Cette étape montre que le modèle O'Flaherty est adapté et offre des performances similaires à un outil de référence. L'avantage du modèle O'Flaherty est de pouvoir prédire d'autres matrices biologiques telles que les os où le plomb s'accumule.

La Table 4 présente les différentes étapes pour la sélection du modèle telles que présentées dans la section 6.2. Les éléments du modèle qui ont ou pas été évalués dans des études précédentes y sont indiqués.

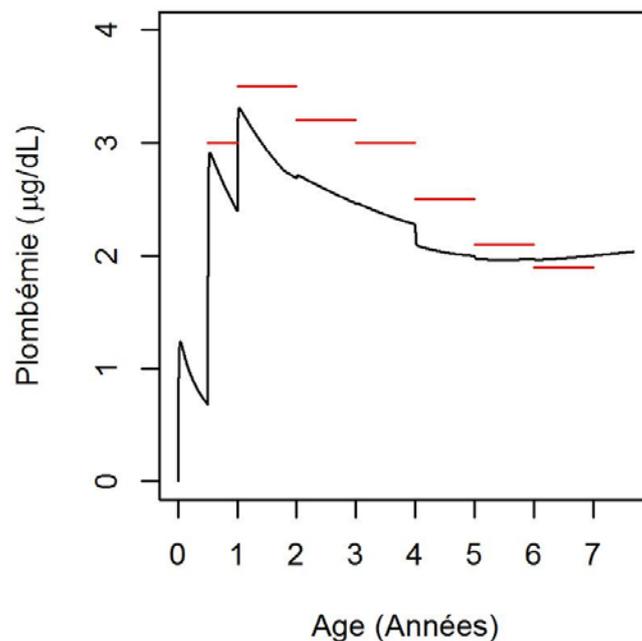


Figure 10 : Prédictions de la plombémie chez l'enfant entre 0 et 7 ans par le modèle de O'Flaherty (courbe noire) et le logiciel IEUBK (trait rouge).

¹ <https://www.epa.gov/superfund/lead-superfund-sites-software-and-users-manuals>

Table 4 : Evaluation du modèle PBPK pour le plomb

Caractéristiques	Evaluation
Indicateurs d'exposition	
Concentration dans le sang	Adultes et enfants
Concentration dans les os	Non évalué
Voies d'exposition	
Inhalation	Adultes
Ingestion	Adultes
Cutané	Non inclus
Niveau	
Exposition environnementale	Evalué
Population	
Enfance	Evalué avec des données de surveillance des populations

7.3 SIMULATIONS DES INDICATEURS D'EXPOSITION INTERNE

Le plomb s'accumulant dans l'organisme (en particulier dans les os), il est nécessaire de reconstruire l'exposition des enfants depuis leur naissance afin de prédire leur imprégnation à un instant de leur vie. Les concentrations dans les milieux environnementaux évoluent au cours du temps en raison de nombreux processus physico-chimiques, phénomènes naturels ou activités humaines (par exemple, émission atmosphérique dans l'air, lixiviation, érosion ou ruissellement). Les premiers relevés des mesures du plomb dans l'air datant de 2004, cette année sera notre année de référence.

A partir de 2004, la concentration atmosphérique et les doses journalières d'exposition (DJE) en plomb ont donc été calculées avec un modèle spatialisé multi-média pour l'ancienne région Nord-Pas-de-Calais (plateforme PLAINE intégrant le logiciel MODUL'ERS). Les hypothèses pour dériver ses scénarios sont présentées dans des rapports précédents rapports (INERIS, 2014; INERIS, 2016a). La DJE correspond à la dose externe de substance reçue par ingestion orale jour par un individu rapportée à sa masse corporelle. Afin de former des groupes d'enfants ayant des comportements alimentaires homogènes (consommation et fréquence des différents groupes d'aliments), quatre classes d'âge ont été définies ([0 - 1], [1 - 2], [2 - 7] et [7 - 12] ans). Pour prendre en compte la variabilité et l'incertitude affectant certains paramètres du modèle multi-média, les prédictions de DJE se présentent sous la forme d'une distribution de probabilité. Ainsi, différents percentiles ont été prédits. Dans la suite seule, la médiane est représentée sur les cartes et figures.

A partir de cartes annuelles de la concentration atmosphérique et des DJE par classes d'âge, nous avons reconstruit l'exposition des enfants en supposant qu'ils ont toujours résidé au même endroit depuis leur naissance, c'est-à-dire dans la même maille de la carte.

7.3.1 EVOLUTION TEMPORELLE DES INDICATEURS

La Figure 11 présente l'évolution de la DJE au cours du temps pour deux enfants nés en 2004 dans des zones peu et fortement exposées. Ces zones ont été sélectionnées car elles correspondent aux mailles dans lesquelles les 20^{ème} et 80^{ème} percentiles de la distribution de la valeur médiane de la DJE sont observés. L'exposition est beaucoup plus importante au cours des deux premières années de vie puis diminue pour atteindre une stabilité jusqu'à sept ans. Les fortes variations du profil d'exposition marquent les changements de régime alimentaire et de classe d'âge.

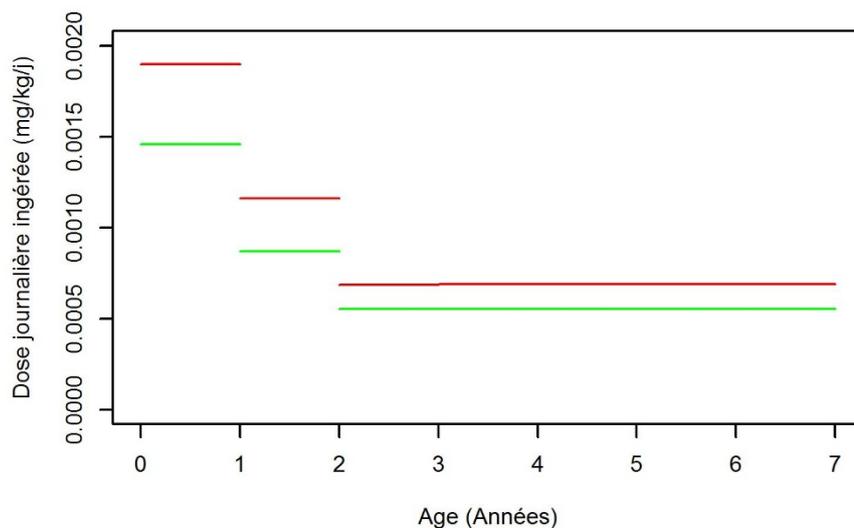


Figure 11 : Evolution au cours du temps de la DJE (mg/kg/jour) d'un enfant né en 2004 dans une zone peu exposée (20^{ème} percentile, en vert) et d'une zone fortement exposée (80^{ème} percentile, en rouge).

Les concentrations atmosphériques et les DJE ont été mises en entrée du modèle PBPK pour prédire la plombémie (Figure 12) et la concentration dans les os (Figure 13). On observe que les profils de la plombémie suivent les variations des DJE. La plombémie atteint un pic après la naissance puis la concentration diminue. Ce phénomène s'explique par la diminution de la dose absorbée relativement au poids de l'enfant et de sa croissance qui entraîne une dilution de la concentration. Sur la Figure 13, on observe bien l'accumulation dans l'os cortical avec des niveaux plus de 100 fois supérieurs à la plombémie (Figure 12). La concentration dans les os semble atteindre un état d'équilibre vers les 7 ans de l'enfant. Le changement de classe d'âge à cet âge-là ([7-12] ans) modifiera cet équilibre par la suite.

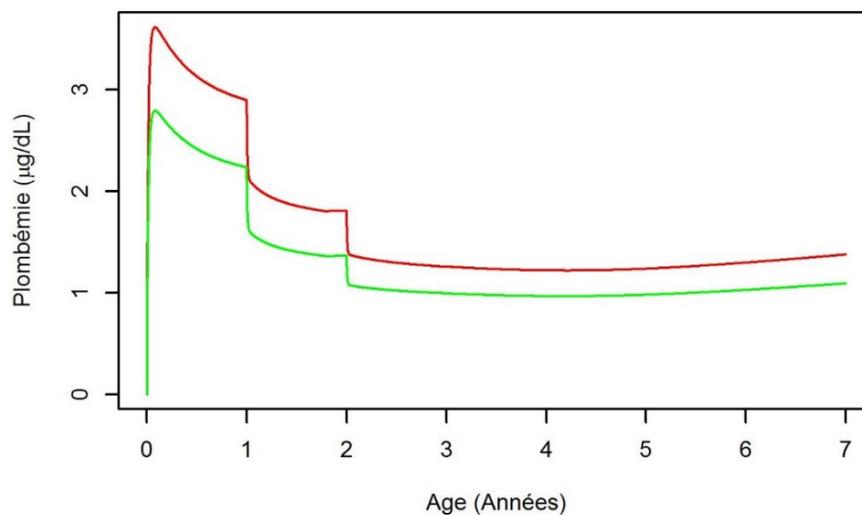


Figure 12 : Evolution au cours du temps de la DJE d'un enfant né en 2004 dans une zone peu exposée (20^{ème} percentile, en vert) et d'une zone fortement exposée (80^{ème} percentile, en rouge).

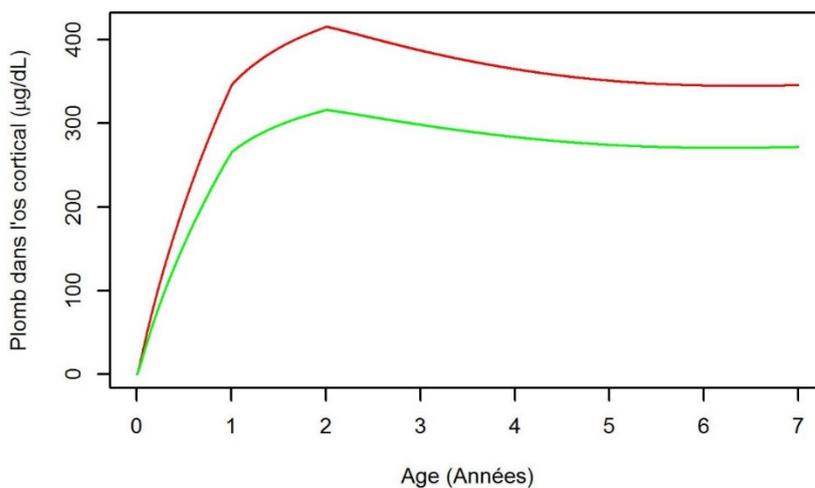


Figure 13 : Evolution au cours du temps de la concentration en plomb dans les os d'un enfant né en 2004 dans une zone peu exposée (20^{ème} percentile, en vert) et d'une zone fortement exposée (80^{ème} percentile, en rouge).

7.3.2 CARTOGRAPHIE DU NORD-PAS-DE-CALAIS

La Figure 14 présente des exemples de cartes obtenues pour l'année 2004. Il s'agit de la concentration atmosphérique en plomb (ng.m^{-3}) et de la médiane des DJE ($\text{mg.kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$) pour deux classes d'âge [0-1] et [2-7] ans. Pour toutes les années, on observe que les DJE sont inversement proportionnelles à l'âge, à savoir que plus l'enfant est jeune plus sa dose ingérée sera importante relativement à son poids corporel.

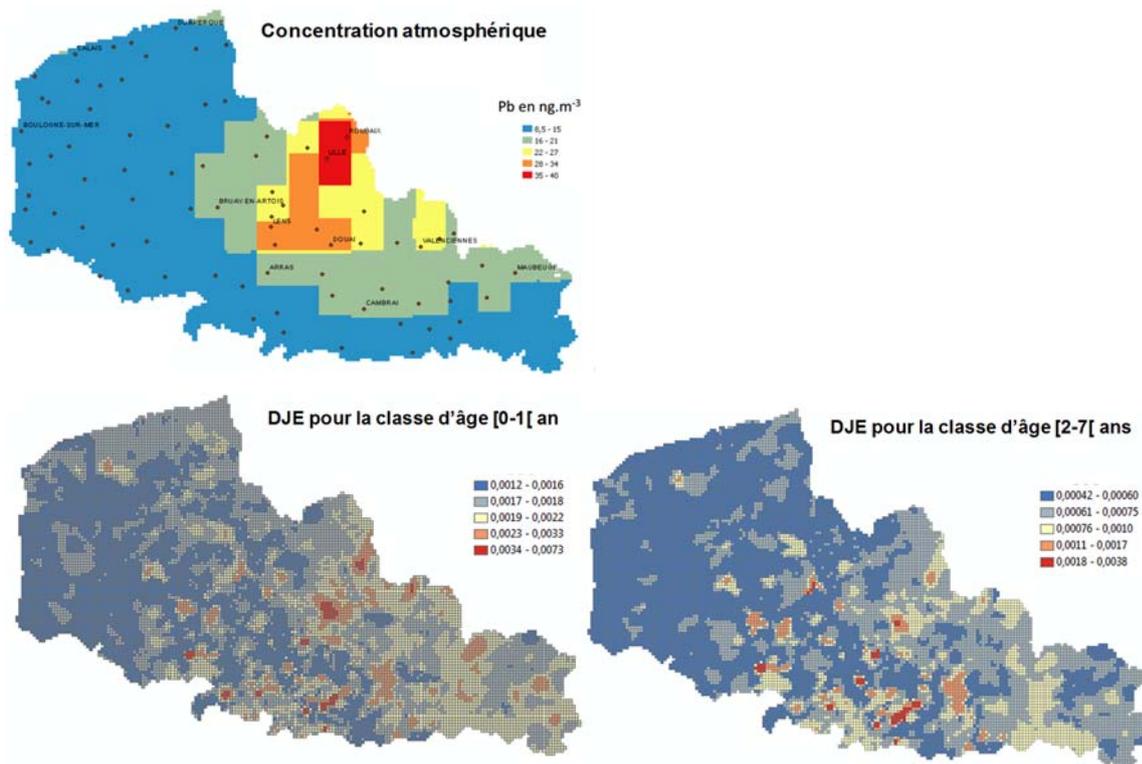


Figure 14 : Cartes des concentrations atmosphériques en plomb (ng.m^{-3}) et de la médiane des doses journalières d'exposition (DJE en $\text{mg.kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$) pour deux classes d'âge sur le territoire du Nord-Pas-de-Calais pour l'année 2004.

A partir des cartes annuelles, nous avons reconstruit l'exposition des enfants appartenant aux quatre classes d'âge [0 - 1], [1 - 2], [2 - 7] et [7 - 12] en supposant que les enfants ont toujours résidé au même endroit depuis leur naissance, c'est-à-dire dans la même maille de la carte. Nous avons ensuite calculé les indicateurs pour les enfants. La Figure 15 présente la cartographie de la médiane de la plombémie pour des enfants de 5 ans nés en 2004, et la concentration dans l'os cortical. On observe que les zones les plus exposées sont identiques pour les indicateurs. L'ensemble de ces cartes permet d'identifier les zones dans lesquelles les prédictions de plombémie des enfants sont les plus importantes quelle que soit la classe d'âge. En particulier, ressortent les zones correspondant aux alentours de Cambrai et Béthune, et les environs d'un ancien site industriel. L'ensemble de ces résultats sont en accord avec ceux obtenus avec la cartographie de niveaux dans les milieux environnementaux et des DJE, à savoir une forte exposition externe et interne des jeunes enfants (INERIS, 2014).

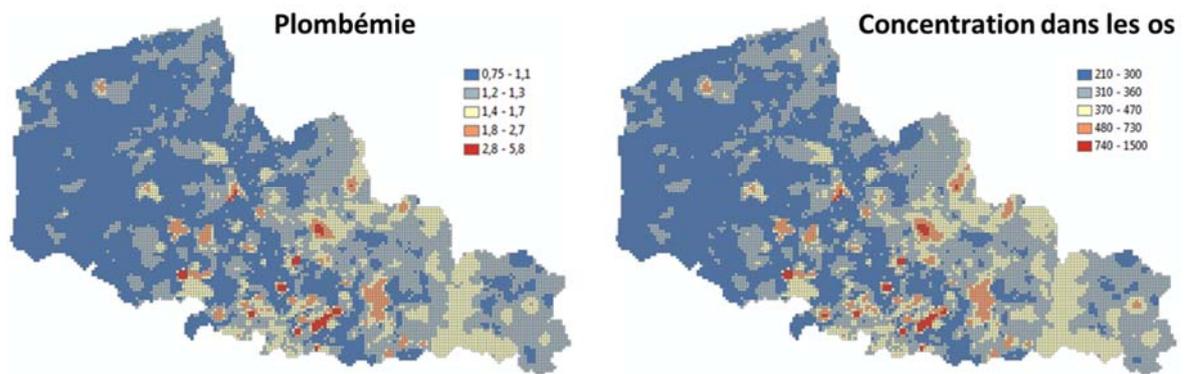


Figure 15 : Cartes de la médiane des plombémie ($\mu\text{g}/\text{dL}$) et de la concentration en plomb dans l'os cortical ($\mu\text{g}/\text{dL}$) pour des enfants de 5 ans (nés en 2004) sur le territoire du Nord-Pas-de-Calais pour l'année 2015.

8. CONCLUSIONS

Dans ce rapport, nous avons présenté une démarche permettant d'élaborer des nouveaux indicateurs d'exposition interne intégrant l'ensemble des voies d'exposition. L'approche employée ici se base sur la modélisation toxicocinétique en tant qu'outil intégrateur des expositions provenant de plusieurs voies. Ce rapport permet aussi de faire le point sur les différents types d'indicateurs estimables par notre approche, et des prérequis nécessaires à son application. Quelques exemples sont fournis, dont le plus abouti est l'imprégnation des enfants au plomb.

Notre démarche s'inscrit dans le développement de méthodologies appuyé par le troisième PNSE, notamment les nouvelles actions relatives à l'atteinte au niveau des organes (Action 34 : Identifier et analyser les méthodes de construction d'indicateurs d'exposition spatialisés et intégrés). La modélisation PBPK telle que présentée dans ce rapport permet de calculer les niveaux de substances actives dans les organes à partir de scénarios réels d'exposition environnementale. L'INERIS a montré la faisabilité de coupler ce type de modèle avec les modèles spatialisés multi-média afin de simuler les niveaux de substances dans l'environnement et les populations humaines, et ce afin d'identifier des disparités spatiales ou populationnelles. Les résultats obtenus par ce couplage permettent notamment de produire des cartographies du niveau de substances chimiques au sein d'organes cibles.

Plusieurs problématiques de l'évaluation des risques actuelle sont abordées par l'approche que nous proposons. En particulier, la modélisation PBPK peut s'utiliser comme intégrateur des contaminations des différents milieux environnementaux et ainsi permettre leur comparaison directe. Il peut s'avérer compliqué de comparer ces différentes contaminations en raison du manque de métrique commune. Par exemple, les expositions par la voie alimentaire sont typiquement rapportées en quantité par unité de temps, alors que l'exposition atmosphérique l'est en unité de volume. Pour les comparer, il est indispensable de considérer les différents processus physiologiques et physicochimiques intervenant dans l'absorption d'un xénobiotique : un même niveau de dose externe pourra produire des niveaux internes différents en fonction de la voie d'administration. Comme présenté dans ce rapport, le modèle PBPK peut intégrer les contaminations par les différentes voies d'absorption et tenir compte de tous les processus qui peuvent affecter la substance avant qu'elle n'atteigne la circulation systémique ou un organe cible. Au final, le modèle unifiera ces différentes contaminations par une mesure commune, qui pourrait être la concentration sanguine par exemple. La comparaison des diverses voies d'exposition sera ainsi simplifiée de même que l'évaluation de leur impact sur les niveaux d'exposition interne. La modélisation PBPK est aussi adaptée pour extrapoler entre les voies d'administration. En effet, une fois dans le corps, la substance se distribue selon les mêmes mécanismes indépendamment de la voie d'administration. Aussi, pour extrapoler à une autre voie d'administration, il est simplement nécessaire de modéliser la nouvelle phase d'absorption pour quantifier la dose de substance atteignant le fluide biologique la véhiculant dans les différents organes du corps (le réseau sanguin, par exemple).

Notre démarche s'inscrit aussi dans les nouveaux développements au niveau de la relation dose-réponse. Classiquement la relation dose-réponse se définissait en fonction d'une dose d'exposition par une seule voie et d'un effet. Aujourd'hui, la toxicologie s'oriente vers une description mécanistique par la caractérisation

détaillée des voies de toxicité conduisant à des effets néfastes. Mieux connaître les mécanismes biologiques et leurs étapes successives vers la survenue d'une pathologie permettrait d'anticiper les éventuelles perturbations liées à des expositions aux substances chimiques. La définition de ces voies de toxicité est en cours d'harmonisation au niveau international (OCDE, EFSA, US EPA...) sous la forme de chemins des effets néfastes, appelés aussi AOP pour « adverse outcome pathways » (Ankley et al., 2010). Un AOP décrit la cascade d'évènements déclenchés par l'interaction d'une substance toxique avec une ou plusieurs cibles moléculaires et pouvant mener à un effet néfaste au niveau de l'organisme ou de la population. Encore à ces premiers stades de développement il y a quelques années, les AOP ont connus ces 5 derniers années un essor important en raison notamment du soutien fort des autorités et parties prenantes pour leur développement (par exemple, commission européenne et OCDE). Aujourd'hui de nombreux AOP d'effets néfastes ou maladies sont aux étapes finales de leur développement, et sont recensés sur un site internet (<https://aopwiki.org/>). Notre approche de modélisation mécanistique s'inscrit parfaitement dans ce cadre, par la prédiction des niveaux tissulaires ou cellulaires des niveaux de substance. Il sera intéressant d'envisager par la suite d'ajouter un modèle d'AOP à notre approche afin d'aller jusqu'à la prédiction d'effet ou d'incidence de maladies dans les populations relatives à des expositions à des substances chimiques.

L'orientation vers des modèles mécanistiques permettra aussi de combler le manque actuel de données pour évaluer le risque à partir des indicateurs présentés ici, qu'ils soient en lien avec l'exposition ou les effets. Les valeurs limites au-dessous desquelles les expositions ne présentent pas de risque sont généralement définies pour une substance, sur la base de doses administrées et pour une durée, une voie d'exposition, une population et un type d'effet (Crépet et al., 2012). La détermination de valeurs limites reposant sur une dose interne semble donc indispensable pour évaluer les risques agrégés. De nombreuses initiatives ont été lancées au niveau européen sur ce sujet. En 2017, la commission européenne a initié un projet de grande envergure sur la biosurveillance humaine, le projet HBM4EU, auquel l'INERIS participe. Un des aspects de ce projet sera de développer des valeurs de référence d'exposition interne en lien avec des effets toxiques pour améliorer l'interprétation de données de biosurveillance humaine reflétant les expositions internes.

Enfin dans un contexte de gestion des risques, la mise en œuvre du couplage modèles spatialisés multi-média et PBPK peut aider à définir des priorités d'action au niveau des sources d'exposition. Il sera ainsi possible, par le moyen d'analyses statistiques poussées telles que l'analyse de sensibilité, de connaître la contribution de chaque voie à l'exposition interne (par exemple, concentration sanguine ou dans un organe cible) et d'identifier les voies les plus contributrices afin d'identifier des leviers d'actions pour une réduction avisée des expositions. Le suivi de l'exposition des populations sur de longues périodes pourra informer sur les populations les plus à risques. En particulier, le développement de modèles prédictifs serait utile pour déterminer les âges pour lesquels des actions de gestion auraient le plus d'impact, que ce soit au niveau de l'exposition comme proposé ici ou ultérieurement lorsque que des modèles d'effet auront été intégrés au niveau des maladies ou d'effets néfastes.

9. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Andersen, M.E., Dennison, J.E., 2001. Mode of action and tissue dosimetry in current and future risk assessments. *Science of the Total Environment*, 274(1-3): 3-14.
- Angerer, J. et al., 2011. Human biomonitoring assessment values: Approaches and data requirements. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 214(5): 348-360.
- Ankley, G.T. et al., 2010. ADVERSE OUTCOME PATHWAYS: A CONCEPTUAL FRAMEWORK TO SUPPORT ECOTOXICOLOGY RESEARCH AND RISK ASSESSMENT. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(3): 730-741.
- Barton, H.A., Clewell, H.J., 2000. Evaluating noncancer effects of trichloroethylene: Dosimetry, mode of action, and risk assessment. *Environmental Health Perspectives*, 108: 323-334.
- Beaudouin, R., Micallef, S., Brochot, C., 2010. A stochastic whole-body physiologically based pharmacokinetic model to assess the impact of inter-individual variability on tissue dosimetry over the human lifespan *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 57(1): 103-116.
- Bois, F.Y., Brochot, C., 2016. Modeling Pharmacokinetics. In: Benfenati, E. (Ed.), *In Silico Methods for Predicting Drug Toxicity Methods in Molecular Biology*. Springer New York, pp. 37-62.
- Brochot, C., Bois, F.Y., 2005. Use of a chemical probe to increase safety for human volunteers in toxicokinetic studies. *Risk Analysis*, 25(6): 1559-1571.
- Brochot, C., Willemin, M.-E., Zeman, F., 2014. La modélisation toxico/pharmacocinétique à fondement physiologique : son rôle en évaluation du risque et en pharmacologie. In: Varenne, F., Silberstein, M., Dutreuil, S., Huneman, P. (Eds.), *Modéliser & simuler Epistémologies et pratiques de la modélisation et de la simulation Tome 2. Collection « Modélisations, Simulations, Systèmes complexes »*, pp. 455-492.
- Chiu, W.A. et al., 2007. Evaluation of physiologically based pharmacokinetic models for use in risk assessment. *Journal of Applied Toxicology*, 27(3): 218-237.
- Clark, L.H., Setzer, R.W., Barton, H.A., 2004. Framework for evaluation of physiologically-based pharmacokinetic models for use in safety or risk assessment. *Risk Analysis*, 24(6): 1697-1717.
- Clewell, H.J., Andersen, M.E., Barton, H.A., 2002. A consistent approach for the application of pharmacokinetic modeling in cancer and noncancer risk assessment. *Environmental Health Perspectives*, 110(1): 85-93.
- Clewell, R.A., Clewell, H.J., 2008. Development and specification of physiologically based pharmacokinetic models for use in risk assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 50(1): 129-143.
- Crépet, A., Denys, S., Hulin, M., 2012. Exposition agrégée, combinée, cumulée à des substances chimiques et risques associés. *Environnement Risques & Sante*, 11(5): 424-425.
- Gentry, P.R., Covington, T.R., Andersen, M.E., Clewell, H.J., 2002. Application of a physiologically based pharmacokinetic model for isopropanol in the derivation of a reference dose and reference concentration. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 36(1): 51-68.

- Habka, D., Pery, A.R.R., Legallais, C., Brochot, C., 2010. Predicting in vivo toxicokinetics of chemicals from in vitro data and QSAR models. *Environnement Risques & Sante*, 9(6): 489-501.
- Hays, S.M. et al., 2008. Guidelines for the derivation of Biomonitoring Equivalents: Report from the Biomonitoring Equivalents Expert Workshop. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 51(3): S4-S15.
- Hays, S.M., Becker, R.A., Leung, H.-W., Aylward, L.L., Pyatt, D.W., 2007. Biomonitoring equivalents: A screening approach for interpreting biomonitoring results from a public health risk perspective. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 47(1): 96-109.
- INERIS, 2013. Evaluation de l'état des milieux et des risques sanitaires. Démarche intégrée pour la gestion des émissions de substances chimiques par les installations classées. , Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques.
- INERIS, 2014. Atlas régional d'inégalités environnementales. . DRC-14-142495-07142A, Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, Verneuil-en-Halatte.
- INERIS, 2016a. Elaboration de cartographies de l'imprégnation des populations en contaminants environnementaux: Application à l'imprégnation au plomb des enfants résidant dans les départements Nord et Pas-de-Calais pour l'année 2015. DRC-16-156196-12238A, Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, Verneuil-en-Halatte.
- INERIS, 2016b. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques: plomb et ses dérivés inorganiques. DRC-09-103112-08910C, Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, Verneuil-en-Halatte.
- Institut National de Santé Publique du Québec, 2014. Réflexions sur l'élaboration d'une stratégie de biosurveillance en appui aux actions de santé publique au Québec, Institut National de Santé Publique du Québec, Quebec.
- International Commission on Radiological Protection, 2002. Basic Anatomical and Physiological Data for Use in Radiological Protection: Reference Values. *Annals of the ICRP*, 32. J. Valentin, Stockholm, 265 pp.
- International Programme on Chemical Safety (IPCS), 2010. Characterization and application of physiologically based pharmacokinetic models in risk assessment, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Kalvass, J.C., Maurer, T.S., 2002. Influence of nonspecific brain and plasma binding on CNS exposure: Implications for rational drug discovery. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 23(8): 327-338.
- Kohn, M.C., Melnick, R.L., 1993. Species differences in the production and clearance of 1,3-butadiene metabolites: a mechanistic model indicates predominantly physiological, not biochemical, control. *Carcinogenesis*, 14: 619-628.
- Loizou, G. et al., 2008. Development of good modelling practice for physiologically based pharmacokinetic models for use in risk assessment: The first steps. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 50(3): 400-411.

- McLanahan, E.D. et al., 2012. Physiologically Based Pharmacokinetic Model Use in Risk Assessment-Why Being Published Is Not Enough. *Toxicological Sciences*, 126(1): 5-15.
- Mezzetti, M. et al., 2003. A Bayesian compartmental model for the evaluation of 1,3-butadiene metabolism. *Journal of the Royal Statistical Society Series C-Applied Statistics*, 52: 291-305.
- O'Flaherty, E.J., 1998. A physiologically based kinetic model for lead in children and adults. *Environmental Health Perspectives*, 106: 1495-1503.
- Oflaherty, E.J., 1991. PHYSIOLOGICALLY BASED MODELS FOR BONE-SEEKING ELEMENTS .2. KINETICS OF LEAD DISPOSITION IN RATS. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 111(2): 313-331.
- Oflaherty, E.J., 1993. PHYSIOLOGICALLY BASED MODELS FOR BONE-SEEKING ELEMENTS .4. KINETICS OF LEAD DISPOSITION IN HUMANS. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 118(1): 16-29.
- Oflaherty, E.J., 1995. PHYSIOLOGICALLY-BASED MODELS FOR BONE-SEEKING ELEMENTS .5. LEAD ABSORPTION AND DISPOSITION IN CHILDHOOD. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 131(2): 297-308.
- Reddy, M.B., Yang, R.S.H., Clewell III, H.J., Andersen, M.E., 2005. Physiologically based pharmacokinetic modelling: science and applications. John Wiley & Sons, Hoboken, 420 pp.
- Sasso, A.F. et al., 2013. Application of an Updated Physiologically Based Pharmacokinetic Model for Chloroform to Evaluate CYP2E1-Mediated Renal Toxicity in Rats and Mice. *Toxicological Sciences*, 131(2): 360-374.
- Schulz, C., Angerer, J., Ewers, U., Kolossa-Gehring, M., 2007. The German Human Biomonitoring Commission. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 210(3-4): 373-382.
- Sweeney, L.M., Okolica, M.R., Gut, C.P., Gargas, M.L., 2012. Cancer mode of action, weight of evidence, and proposed cancer reference value for hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 64(2): 205-224.
- U.S. Environmental Protection Agency, 2001. Review of adult lead models: evaluation of models for assessing human health risks associated with lead exposures at non-residential areas of superfund and other hazardous waste sites, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC 20460
- USEPA, 2006. Approaches for the application of physiologically based pharmacokinetic (PBPK) models and supporting data in risk assessment (final report), United States Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- Valcke, M., Krishnan, K., 2011. Assessing the impact of the duration and intensity of inhalation exposure on the magnitude of the variability of internal dose metrics in children and adults. *Inhalation Toxicology*, 23(14): 863-877.
- Voisin, E.M., Ruthsatz, M., Collins, J.M., Hoyle, P.C., 1990. Extrapolation of Animal Toxicity to Humans - Interspecies Comparisons in Drug Development. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 12(2): 107-116.
- Willemin, M.E. et al., 2015. In vitro human metabolism of permethrin isomers alone or as a mixture and the formation of the major metabolites in cryopreserved primary hepatocytes. *Toxicology in Vitro*, 29(4): 803-812.

Willemin, M.E. et al., 2016. PBPK modeling of the cis- and trans-permethrin isomers and their major urinary metabolites in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 294: 65-77.

LISTE DES ANNEXES

Repère	Désignation	Nombre de pages
Annexe 1	Valeurs toxicologiques internes	2

ANNEXE 1 : VALEURS TOXICOLOGIQUES INTERNES

Tableau 1 : Liste de substances pour lesquelles des HBM-I et HBM-II ont été proposées par la commission HBM allemande (UBA)

Composés	Numéro CAS	HBM-I	HBM-II	Année
Plomb	7439-92-1	en cours de révision	en cours de révision	-
Cadmium	7440-43-9	x	x	1998, 2011
Mercure	7439-97-6	x	x	1999
Thallium	7440-28-0	x	-	2011
Pentachlorophénol (PCP)	131-52-2	x	x	1997
Diethylhexyl phtalate (DEHP)	117-81-7	x	-	2007
Bisphénol A	80-057	x	-	2012, 2015
Polychlorobiphényles (PCBs)	1336-36-3	x	x	2012
Ethers de glycol	109-86-4, 110-49-6, 110-71-4	x	x	2014
1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid diisononyl ester (DINCH®)	474919-59-0	x	-	2015
Dipropylheptyl phthalate (DPHP)	53306-54-0	x	-	2015
Hexabromcyclododécane (HBCD(D))	3194-55-6	x	-	2015
Triclosan	3380-34-5	x	-	2015
2-Mercaptobenzothiazole (MBT)	149-30-4	x	-	2015
1-Méthyl-2-pyrrolidone	872-50-4	x	-	2015
N-ethyl-2-pyrrolidone (NEP)	2687-91- 4	x	x	2015

Tableau 2 : Liste de substances pour lesquelles des BE ont été proposées, modifiée d'après (Angerer et al., 2011)

Composés	Numéro CAS	Références
DDT/DDE/DDD	50-29-3; 72-55-9; 53-19-0	Kirman et al. (2011)
Tétrachlorométhane	56-23-5	Aylward et al. (2010b)
Chloroforme	67-66-3	Aylward et al. (2008b)
Hexachloroéthane	67-72-1	Aylward et al. (2010b)
1,1,1-Trichloroéthane	71-55-6	Aylward et al. (2010b)
Benzène	71-43-2	Hays et al. (2012)
Dibromométhane	74-95-3	Aylward et al. (2010b)
Bromoforme	75-25-2	Aylward et al. (2008b)
Bromodichlorométhane	75-27-4	Aylward et al. (2008b)
Dichlorométhane	75-09-2	Aylward et al. (2010b)
1,1-Dichloroéthane	75-34-3	Aylward et al. (2010b)
1,1-Dichloroéthylène	75-35-4	Aylward et al. (2010b)
Acrylamide	79-06-1	Hays and Aylward (2008)
1,1,2-Trichloroéthane	79-00-5	Aylward et al. (2010b)
1,1,2,2-Tétrachloroéthane	79-34-5	Aylward et al. (2010b)
Trichloréthylène	79-01-6	Aylward et al. (2010b)
Bisphénol A	80-05-7	Krishnan et al. (2010a)
Diéthyl phtalate	84-66-2	Aylward et al. (2009a)
Dibutyl phtalate	84-74-2	Aylward et al. (2009a)
Benzyl butyl phtalate	85-68-7	Aylward et al. (2009a)
Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique	94-75-7	Aylward and Hays (2008)
1,2,3-Trichloropropane	96-18-4	Aylward et al. (2010b)
Styrène	100-42-5	Aylward et al. (2010b)
Ethylbenzène	100-41-4	Aylward et al. (2010b)
1,2-Dibromoéthane	106-93-4	Aylward et al. (2010b)
1,2-Dichloroéthane	107-06-2	Aylward et al. (2010b)
Acrylonitrile	107-13-1	Aylward et al. (2010b)
Toluène	108-88-3	Aylward et al. (2008a)
Méthyl isobutyl cétone (MIBK)	108-10-1	Aylward et al. (2010b)
Tétrahydrofurane	109-99-9	Aylward et al. (2010b)
n-Hexane	110-54-3	Aylward et al. (2010b)
Furane	110-00-9	Aylward et al. (2010b)
n-Octane	111-65-9	Aylward et al. (2010b)
n-Nonane	111-84-2	Aylward et al. (2010b)
Di(2-ethylhexyl)phtalate	117-81-7	Aylward et al. (2009b)
Hexachlorobenzène	118-74-1	Aylward et al. (2010a)
1,4-Dioxane	123-91-1	Aylward et al. (2010b)
Dibromochlorométhane	124-48-1	Aylward et al. (2008b)
n-Décane	124-18-5	Aylward et al. (2010b)
Tétrachloroéthylène	127-18-4	Aylward et al. (2010b)
cis-1,2-Dichloroéthylène	156-59-2	Aylward et al. (2010b)
trans-1,2-Dichloroéthylène	156-60-5	Aylward et al. (2010b)
n-Heptane	590-35-2	Aylward et al. (2010b)
1,1,1,2-Tétrachloroéthane	630-20-6	Aylward et al. (2010b)
Xylènes, mélanges	1330-20-7	Aylward et al. (2010b)
Méthyl-tert-butyl ether (MTBE)	1634-04-4	Aylward et al. (2010b)
Dioxin TEQ (29 dioxines, furanes et PCBs)	1746-01-6	Aylward et al. (2008c)
Triclosan	3380-34-5	Krishnan et al. (2010b)
Cadmium	7440-43-9	Hays et al. (2008a, 2008b)
Arsenic, inorganique	7440-38-2	Hays et al. (2010)
Sélénium	7782-49-2	Hays et al. (2014)
Fluoride	16984-48-8	Aylward et al., (2015)
Hexabromocyclododécane	25637-99-4	Aylward and Hays (2011)
Di-isononylphtalate	28553-12-0	Hays et al. (2011)
Deltaméthrine	52918-63-5	Aylward et al. (2011)
Cyfluthrine	68359-37-5	Hays et al. (2009)
PBDE 99	81397-99-1	Krishnan et al. (2011)



INERIS

*maîtriser le risque
pour un développement durable*

Institut national de l'environnement industriel et des risques

Parc Technologique Alata
BP 2 - 60550 Verneuil-en-Halatte

Tél. : +33 (0)3 44 55 66 77 - Fax : +33 (0)3 44 55 66 99

E-mail : ineris@ineris.fr - **Internet** : <http://www.ineris.fr>