

Valeurs Toxicologiques de Référence (VTR) : méthodes d'élaboration et nouvelles approches

Interprétation de la mesure biologique de l'exposition pour la construction de « VTR internes » : le concept des équivalents de biomonitoring

Période : décembre 2008 à mars 2009

Nathalie BONVALLOT

EHESP – Département Santé Environnement Travail – Rennes

Mots clés : Biomarqueurs, Toxicocinétique, Valeurs toxicologiques de référence

Les valeurs toxicologiques de référence (VTR) sont des outils utiles à la caractérisation des risques sanitaires. Elles sont construites à partir des relations dose-effet ou dose-réponse provenant d'études épidémiologiques ou toxicologiques. Utilisées dans un contexte d'incertitude scientifique, elles nécessitent l'usage des dernières données scientifiques disponibles et la mise en œuvre de choix décisionnels clairs. Elles se situent donc à la frontière entre l'évaluation et la gestion des risques. Comme les méthodes de construction de VTR évoluent largement avec les connaissances scientifiques, la mise à disposition de revues bibliographiques régulières sur différents aspects méthodologiques et d'usage apparaît nécessaire.

Jusqu'à récemment, les VTR étaient exprimées comme des doses/concentrations ou excès de risque exprimés en dose externe, c'est-à-dire correspondant à ce qui est en contact avec l'organisme (en mg/m³ ou en mg/kg de poids corporel). Mais l'étude des expositions des populations est de plus en plus réalisée par la mesure biologique, pour prendre en compte les quantités de substances qui atteignent réellement la circulation systémique ou qui parviennent réellement jusqu'aux organes cibles et dans un but d'évaluation intégrée et cumulée des risques sanitaires (c'est-à-dire la prise en compte de toutes les voies d'exposition et de tous les agents ayant un impact commun sur la santé des populations). Une nouvelle question méthodologique a donc été posée à la communauté scientifique : comment interpréter les résultats de mesures biologiques dans le cadre de l'évaluation des risques sanitaires ? En d'autres termes, est-on capable d'établir un lien entre les VTR et la mesure interne ? Pour répondre à cette question, le concept d'« équivalent de biomonitoring¹ » (BE) a été proposé. Il s'agit d'une approche utilisant les données de toxicocinétique et de dosimétrie dans le but d'estimer des niveaux de biomarqueurs associés à des expositions externes correspondant aux VTR. En d'autres termes, il s'agit de « VTR internes ».

Concepts clés et méthodes de construction des équivalents de biomonitoring

Analyse

Hays et Aylward (2008) ont publié récemment les propositions méthodologiques pour la construction de BE. La première étape concerne l'identification des organes cibles, le choix des hypothèses mécanistiques associées au mode d'action de la substance et le choix d'un biomarqueur pertinent : elle inclut la définition de la distribution et des biotransformations des substances dans l'organisme. La disponibilité de modèles toxicocinétique basés sur la physiologie (PBPK) est particulièrement utile pour établir un lien quantitatif entre l'exposition à la substance, sa concentration systémique et au niveau des organes cibles et l'effet néfaste associé. L'analyse de la spécificité des différents métabolites et de leur stabilité dans le temps, ainsi que la recherche sur les techniques d'échantillonnage

et d'analyse existantes (techniques invasives, choix des matrices, limites de détection...) permet d'orienter *in fine* le choix de la molécule d'intérêt (substance mère, métabolites associés à l'effet néfaste), le tissu ou le fluide biologique pertinent (organe cible, circulation sanguine, urine...) ainsi que la métrique de dose adaptée (concentration maximale *versus* aire sous la courbe).

La seconde étape concerne l'estimation du BE. Plusieurs cas de figure ont été envisagés en fonction des données disponibles :

- il existe des données humaines permettant d'associer une concentration biologique de biomarqueur à un effet néfaste. Dans ce cas, le BE peut être directement estimé à partir des études épidémiologiques disponibles. Ce cas de figure est rare (il s'agit par exemple du plomb) ;
- il existe des données de toxicologie animale et des données de toxicocinétique humaine. Une VTR peut être directement transformée en dose interne en tenant compte des facteurs de biodisponibilité et des connaissances sur la biotransformation de la substance chez l'Homme ;

Interprétation de la mesure biologique de l'exposition pour la construction de « VTR internes » : le concept des équivalents de biomonitoring – Nathalie BONVALLOT

- il existe des données de toxicologie et de toxicocinétique animales. Dans ce cas, c'est le descripteur de dose chez l'animal (NOAEL⁽²⁾ ou BMD⁽³⁾) qui peut être transformé en dose interne chez l'animal. Ensuite, la relation « dose interne »-réponse peut être directement exploitée pour fournir une VTR interne chez l'Homme de la même manière que les approches traditionnelles (application de facteurs d'incertitude par exemple). On peut noter qu'un modèle PBPK validé peut également permettre, en fonction de ses objectifs, d'estimer une dose interne chez l'Homme à partir de données toxicologiques animales.

Enfin, la discussion sur le niveau de confiance associé au BE doit comprendre, en plus d'une VTR classique, des analyses de la pertinence du biomarqueur choisi au regard de la métrique de dose et de la robustesse des données toxicocinétiques. Enfin, les facteurs principaux contribuant à la variabilité et à l'incertitude doivent être discutés (âge, style de vie, habitudes tabagiques, variabilité génétique, incertitudes sur les modèles cinétiques...). Cette méthode a été mise en pratique à partir d'exemples de substances chimiques (acrylamide, acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D), toluène, trihalométhanes, cadmium) (Aylward *et al.*, 2008a, Aylward et Hays, 2008b).

A titre d'exemple, le BE de l'acrylamide sera détaillé ici : il a été construit sur la base des données provenant de la VTR de l'US EPA (Environmental Protection Agency) en 1991. Cette VTR est fondée sur la mise en évidence d'effets neurologiques chez le rat exposé de manière subchronique à l'acrylamide *via* l'eau de boisson. Un NOAEL de 0,2 mg/kg/jour avait été proposé, suivi de l'application de trois facteurs d'incertitude (UF_s , UF_A et UF_H)⁽⁴⁾. Le profil toxicologique a été complété par des données de toxicocinétique (métabolisme, métrique de doses) indiquant que les effets neurologiques observés pourraient être associés à la présence d'acrylamide et de glycidamide (métabolite issu de l'oxydation par le CYP2E15). Les demi-vies sanguines de ces molécules sont courtes (quelques heures), ce qui a conduit les auteurs à proposer un BE représentant la liaison de l'acrylamide et du glycidamide à l'hémoglobine (c'est-à-dire des adduits) plutôt qu'une simple concentration sanguine. Ces liaisons sont représentatives d'une exposition intégrée plus longue que si le BE était fondé sur la concentration sanguine, puisque le cycle de vie des globules rouges correspond à environ 120 jours. A partir de ces éléments et des études de toxicité réalisées chez le rat, les auteurs ont suggéré une relation linéaire entre la dose administrée quotidiennement en mg/kg de poids corporel et les concentrations sériques d'acrylamide et de glycidamide. Ils ont ensuite inclus dans leur calcul les taux de formations des adduits à l'hémoglobine chez l'Homme (données *in vitro*) et la durée de vie des globules rouges pour obtenir des BE associés à la VTR de 8 et 13 fmol/mg d'hémoglobine pour les adduits acrylamide et glycidamide respectivement.

Les auteurs notent que l'interprétation de ces équivalents mérite une attention particulière. Ces BE ne peuvent servir de diagnostic individuel ou collectif comme ils ne peuvent prédire la probabilité réelle d'apparition d'un effet chez un individu ou dans une population donnée. Ils suggèrent plutôt une approche de hiérarchisation des priorités de santé publique fondée sur ces nouveaux descripteurs. Néanmoins ils indiquent que cette

approche est de plus en plus couplée à la proposition de VTR dans la mesure où les approches de construction sont similaires et les interprétations complémentaires.

Commentaire

On peut noter dans la démarche des équivalents de biomonitoring, que leur interprétation et les usages sont relativement similaires à ceux des VTR, de la simple hiérarchisation à une évaluation des risques. Ceux-ci dépendent principalement, comme cela devrait être le cas pour les VTR, de la richesse des données qui servent de base à leur construction. Les approches apparaissent néanmoins complémentaires, comme le soulignent les auteurs.

Dans le cadre de la définition d'un BE, il est nécessaire de disposer d'informations mécanistiques et de toxicocinétique plus complètes que pour l'identification d'une simple VTR, ce qui ne permet pas l'usage des BE comme une solution en soi pour deux raisons : la première est l'absence d'informations de toxicocinétique pour l'ensemble des substances connues, la seconde concerne les limites méthodologiques complémentaires apportées par la variabilité et les incertitudes inhérentes à la toxicocinétique. L'analyse doit donc toujours être menée au cas par cas, en fonction de l'état des connaissances.

Aujourd'hui le concept d'équivalents de biomonitoring est encore peu développé pour deux raisons : la première est qu'il s'agit d'un concept récent, la seconde concerne la disponibilité des données nécessaires. Dans l'attente, certains auteurs ont proposé d'avoir une démarche inverse qui permette d'estimer les expositions externes de la population à partir des résultats de mesures de biomarqueurs (Georgopoulos *et al.*, 2009). Cette approche complémentaire intéressante nécessite néanmoins de solides compétences en biomathématiques par rapport à l'usage d'une VTR, et impose également la disponibilité de solides données de toxicocinétiques pour l'obtention de modèles PBPK.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les études humaines concernant la santé et l'environnement investiguent de plus en plus souvent les expositions de la population par une mesure directe biologique. En témoignent les grandes enquêtes américaines (NHANES⁽⁶⁾, NHEXAS⁽⁷⁾) ou françaises (ELFE⁽⁸⁾) mises en œuvre. Ceci est également mis en évidence dans les études épidémiologiques pour lesquelles la mesure de métabolites est devenue complémentaire. Le concept d'équivalents de biomonitoring permet l'interprétation de données biologiques en termes d'évaluation des risques sanitaires. Ce concept pourrait à l'avenir être particulièrement intéressant en termes de gestion car il s'apparente à une VTR. L'un des principaux challenges associés à ce concept concerne le développement de l'évaluation intégrée des risques sanitaires. En effet, aujourd'hui la démarche d'évaluation des risques telle qu'elle est utilisée en santé publique n'est pas un outil adapté à l'étude des situations réelles que représentent

les expositions environnementales. Il est très difficile de prendre en compte (i) les différentes sources d'exposition de la population pour une même substance (produits de consommation, cosmétiques, médicaments, contaminations de l'air, alimentation et eau potable... engendrant des expositions à la fois orales, cutanées et respiratoires pour un bon nombre de substances qui sont communes à de nombreux usages) et (ii) les différentes substances ayant un impact toxicologique commun (soit parce qu'elles possèdent des métabolites toxiques communs, soit parce qu'elles ont une cible biologique commune).

La comparaison à un indicateur interne permettrait d'avoir une vision plus précise de l'impact toxicologique global de groupes de substances, pertinent notamment lors des décisions de réglementation de substances fondées sur des critères sanitaires. A contrario, ce concept de BE ne permet pas d'identifier une source de contamination à l'origine d'un risque. Les deux approches sont donc complémentaires.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Assessment factors, Benchmark dose, Biomonitoring, Guidance value, Interspecies extrapolation, PBPK, Risk assessment, Uncertainty.

Publication analysée

Hays SM, Aylward LL. Using Biomonitoring Equivalents to interpret human biomonitoring data in a public health risk context. *J. Appl. Toxicol.* 2008; 29(4):275-88.

Revue de la littérature

Angerer J, Ewers U, Wilhelm M. Human biomonitoring: state of the art. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2007; 210(3-4):201-28.

Clewell HJ, Tan YM, Campbell JL et al. Quantitative interpretation of human biomonitoring data. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2008; 231(1):122-33.

Smolders R, Schramm KW, Stenius U et al. A review on the practical application of human biomonitoring in integrated environmental health impact assessment. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* 2009; 12(2):107-23.

Publications de référence

Aylward LL, Hays SM. Biomonitoring Equivalents (BE) dossier for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) (CAS No. 94-75-7). *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2008; 51(3S):S37-S48.

Aylward LL, Barton HA, Hays SM. Biomonitoring Equivalents (BE) dossier for toluene (CAS No. 108-88-3). *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2008; 51(3S):S27-S36.

Aylward LL, LaKind JS, Hays SM. Biomonitoring Equivalents (BE) dossier for trihalomethanes. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2008; 51(3S):S68-S77.

Georgopoulos PG, Sasso AF, Isukapalli SS et al. Reconstructing population exposures to environmental chemicals from biomarkers: challenges and opportunities. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 2009; 19(2):149-71.

Hays SM, Aylward LL. Biomonitoring Equivalents (BE) dossier for acrylamide (AA) (CAS No. 79-06-1). *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2008; 51(3S):S57-S67.

Hays SM, Aylward LL, LaKind JS et al. Guidelines for the derivation of Biomonitoring Equivalents: report from the Biomonitoring Equivalents Expert Workshop. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2008; 51(3S):S4-S15.

Hays SM, Nordberg M, Yager JW et al. Biomonitoring Equivalents (BE) dossier for cadmium (Cd) (CAS No. 7440-43-9). *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2008; 51(3S):S49-S56.

Publications non sélectionnées

Chowdhury S, Champagne P, McLellan PJ. Uncertainty characterization approaches for risk assessment of DBPs in drinking water: a review. *J. Environ. Manage.* 2009; 90(5):1680-91.

Hwang M, Yoon E, Kim J et al. Toxicity value for 3-monochloropropane-1,2-diol using a benchmark dose methodology. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2009; 53(2):102-6.

Cet article n'a pas été sélectionné pour la première note d'actualité scientifique car c'est une approche déjà connue qui a fait l'objet de nombreuses revues entre 1995 et 2005. Néanmoins, la démarche de la benchmark dose reste une approche d'actualité dans la construction des VTR actuellement et il est probable qu'une prochaine note d'actualité scientifique y soit consacrée en fonction de la littérature en 2009.

Kopylev L, Fox J. Parameters of a dose-response model are on the boundary: what happens with BMDL? *Risk Anal.* 2009; 29(1):18-25. *Cet article n'a pas été sélectionné pour la première note d'actualité scientifique car c'est une approche déjà connue qui a fait l'objet de nombreuses revues entre 1995 et 2005. Néanmoins, la démarche de la benchmark dose reste une approche d'actualité dans la construction des VTR actuellement et il est probable qu'une prochaine note d'actualité scientifique y soit consacrée en fonction de la littérature en 2009.*

Madsen CB, Hattersley S, Buck J et al. Approaches to risk assessment in food allergy: report from a workshop "developing a framework for assessing the risk from allergenic foods". *Food Chem. Toxicol.* 2009; 47(2):480-9.

Interprétation de la mesure biologique de l'exposition pour la construction de « VTR internes » : le concept des équivalents de biomonitoring – Nathalie BONVALLOT

Article non sélectionné car concerne une approche globale de l'évaluation des risques qui reprend seulement en partie et sans nouveauté des approches de construction de VTR.

Wheeler MW, Bailer AJ. Benchmark dose estimation incorporating multiple data sources. *Risk Anal.* 2009 ; 29(2):249-56.

Cet article n'a pas été sélectionné pour la première note d'actualité scientifique car c'est une approche déjà connue qui a fait l'objet de nombreuses revues entre 1995 et 2005. Néanmoins, la démarche de la benchmark dose reste une approche d'actualité dans la construction des VTR actuellement et il est probable qu'une prochaine note d'actualité scientifique y soit consacrée en fonction de la littérature en 2009.

Zwietering MH. Quantitative risk assessment: is more complex always better? Simple is not stupid and complex is not always more correct. *Int. J. Food Microbiol.* 2009 ; 134(1-2):57-62.

Lexique

- (1) Biomonitoring: la notion de biomonitoring correspond à la mesure d'un indicateur biologique interne à l'organisme, et représentant une exposition à une substance chimique.
- (2) NOAEL: No-observed-adverse-effect-level: il s'agit des doses critiques utilisées pour la construction de VTR.
- (3) BMD: Benchmark Dose: dose correspondant à un niveau ou à un pourcentage de réponse fixé *a priori*, par rapport à un groupe témoin (généralement, niveau de réponse de 10 %), calculé à partir de la relation dose-réponse chez l'animal ou chez l'Homme.
- (4) UF_S , UF_A et UF_H : facteurs d'incertitude (« uncertainty factors »): facteurs utilisés pour tenir compte d'une part de la variabilité dans les transpositions intra- et inter-espèces (UFA pour la différence de réponse entre l'animal et l'Homme, UFH pour la différence de réponse d'un individu à l'autre au sein d'une même espèce) et d'autre part des incertitudes dans les bases de données toxicologiques (UFS pour la différence de réponse entre l'individu exposé de manière subchronique et le même individu exposé de manière chronique).
- (5) CYP2E1: Cytochrome P450 2E1, protéines responsables de la métabolisation d'un grand nombre de substances.
- (6) NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey.
- (7) NHEXAS: National Human Exposure Assessment Survey.
- (8) ELFE: étude longitudinale française depuis l'enfance.