

Université de Montréal

**Caractérisation de l'impact des interactions chimiques sur la variabilité
interindividuelle de la toxicocinétique des composés organiques volatiles, et portée
sur une approche appliquée de dosimétrie inverse**

Par

Honesty G. Tohon

Département de santé environnementale et santé au travail

École de santé publique

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor-Doctorat (Ph.D.)
en santé publique, option Toxicologie et analyse du risque

avril 2020

© Honesty Tohon, 2020

Université de Montréal

Département de santé environnementale et santé au travail / École de santé publique /
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Cette thèse intitulée :

**Caractérisation de l'impact des interactions chimiques sur la variabilité
interindividuelle de la toxicocinétique des composés organiques volatiles, et portée
sur une approche appliquée de dosimétrie inverse**

Présentée par

Honesty G. Tohon

A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes

Jérôme Lavoué

Président-rapporteur

Sami Haddad

Directeur de recherche

Mathieu Valcke

Codirecteur

Jun Li

Membre du jury

Céline Brochot

Examinatr externe

Marc Amyot

Représentant du Doyen

Résumé

La biosurveillance humaine consiste en des mesures de produits chimiques ou de leurs métabolites dans des liquides biologiques. Ces données biologiques sont souvent interprétées en les comparant à des valeurs dites bio-équivalentes aux valeurs toxicologiques de référence (VTR) qui ont été pour la plupart définies grâce à l'utilisation de modèles animaux dans un contexte de simple exposition chimique. Pourtant, elles peuvent résulter de co-expositions multivoies (cas des composés organiques volatils (COVs)) pouvant donner lieu à des interactions toxicocinétiques chez humain. Des approches de modélisation toxicocinétique à base physiologique (TCBP) ont été conçues pour étudier ces interactions. Mais, leur impact sur la variabilité interindividuelle (VI) de la toxicocinétique des substances individuelles, et l'évaluation résultante du risque toxique des contaminants chimiques suite à une exposition multivoies, n'ont que peu ou pas été investigués. Par ailleurs, des études proposent une approche de reconstitution directe de l'exposition chimique externe à partir de mesures sanguines de COVs (composés parents) grâce à des modèles TCBP probabilistes, souvent construits pour des adultes de 70 kg, et des calculs de probabilité. C'est la dosimétrie inverse. Mais les incertitudes associées aux estimations d'exposition externe faites grâce à cette approche à partir de mesures biologiques ponctuelles collectées lors des enquêtes de santé n'ont presque pas été étudiées. La présente recherche doctorale vise à caractériser l'impact des co-expositions chimiques multivoies sur la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique des COVs, en vue d'en tenir éventuellement compte dans la mise au point dans cette thèse d'approches appliquées de dosimétrie inverse.

Dans un premier temps, nous avons construit des modèles TCBP multivoies pour deux mélanges (benzène, toluène, éthylbenzène et m-xylène (BTEX) d'une part, et trichloroéthylène et chlorure de vinyle (TCE-CV) d'autre part) pour des sous-populations humaines d'âges différents (y compris une sous-population d'adultes). Ces modèles ont été couplés à des simulations de Monte Carlo pour explorer l'impact des co-expositions multivoies sur la VI de la toxicocinétique des substances individuelles en cas d'expositions "faibles" ou "élevées". Des index de variabilité (IV) ont été calculés comme étant le rapport du 95^{ème} centile de la distribution d'une dose interne chez les autres sous-

populations étudiées au 50^{ème} centile de la même distribution chez les adultes. Dans un deuxième temps, nous avons raffiné l'approche existante de dosimétrie inverse en développant des modèles TCBP probabilistes d'inhalation pour des sous-populations canadiennes (d'âge, de poids corporel et de taille différents) dont les mesures sanguines de toluène ont été collectées lors du cycle 3 de l'enquête canadienne sur les mesures de la santé (ECMS-3), en vue de reconstituer leur exposition externe correspondante. Enfin, nous avons développé une approche individuelle de dosimétrie inverse pour estimer l'exposition externe au toluène à partir des mesures urinaires d'un de ses métabolites (l'acide S-benzylmercapturique, ou en anglais : S-benzylmercapturic acid ou BMA) rapportées chez des individus Canadiens. Ici, deux techniques ont été testées pour cette estimation : estimer l'exposition au toluène à partir des mesures ponctuelles de BMA urinaire d'une journée complète obtenues chez chaque individu et estimer l'exposition à partir d'une mesure individuelle de BMA urinaire sur des urines de 24 h. L'approche individuelle nous a permis de proposer une méthode pour quantifier l'incertitude, c'est-à-dire l'erreur possible, sur les estimations d'exposition externe faites par dosimétrie inverse à partir des mesures ponctuelles provenant des enquêtes de santé. Cette étude doctorale a révélé que l'impact des co-expositions multivoies sur la VI toxicocinétique peut dépendre des composés des mélanges et du niveau d'exposition à ces substances. Par exemple, la variation obtenue sur les IVs basés sur la quantité de substance métabolisée par les CYP2E1 est d'environ -9 à -5 % et -38 à -33% pour le benzène respectivement pour les expositions "faibles" et "élevées" simulées au mélange. Pour le CV et le TCE, elle est respectivement de -17 à -13% et -20 à -11% pour les expositions "élevées", et nulle pour les "faibles" expositions au mélange. Les expositions au toluène dans l'air estimées par dosimétrie inverse dans cette thèse (médianes entre 0,004 et 0,01 ppm) sont bien en dessous des valeurs guides maximales recommandées par Santé Canada pour une exposition chronique et suggèrent une exposition via l'air intérieur. L'incertitude mentionnée plus haut, quant à elle, varie entre 15 et 23 % dans le cadre de nos travaux. La présente étude doctorale a contribué à améliorer l'évaluation du risque toxicologique des COVs.

Mots-clés : Analyse du risque, Données de biosurveillance, Modélisation toxicocinétique à base physiologique, COVs, Simulations de Monte-Carlo, Variabilité interindividuelle, Interactions chimiques.

Abstract

Human biomonitoring consists in the measurements of chemicals or their metabolites in biological matrices. These biological data are often interpreted by comparison with so-called bio-equivalent values to the toxicological reference values (TRV) which have for the most part been defined through the use of animal models in a context of simple chemical exposure. However, biomonitoring data can result from multi-routes co-exposures to multiple chemical such as Volatile Organic Compounds (VOCs), which can give rise to toxicokinetic interactions in the human body. Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) modeling approaches have been developed to study these interactions. But, their impact on the interindividual variability (IV) of the toxicokinetics of individual substances, and the evaluation of the toxic risk of chemical contaminants, that may result from multi-routes exposure, have only been sparsely studied. Further, the scientific literature suggests an approach for the direct reconstruction of external chemical exposure from blood measurements of VOCs' parent compounds. This is generally done for 70-kg adults by the use of appropriate PBPK models, combined with a probability calculation approach, in a process called "reverse dosimetry". But the uncertainties associated with estimates of external exposure made using this approach from biological spot measurements collected during health surveys have hardly been studied. The current doctoral research aims to characterize the impact of multi-routes chemical co-exposures on the interindividual variability of toxicokinetics, in order to account it for in the development in this thesis of applied approaches of reverse dosimetry.

First, we built multi-routes probabilistic PBPK models for two mixtures (benzene, toluene, ethylbenzene and m-xylene (BTEX) on one hand, and trichloroethylene and vinyl chloride (TCE-VC) on the other hand) for human subpopulations of different ages (including one of adults). These models were coupled with Monte Carlo simulations in order to explore the impact of multi-routes co-exposures on the IV of the toxicokinetics of individual compounds at 'low' or 'high' exposures. Variability indices (VIs) were calculated as the ratio of the 95th percentile value of the distribution of an internal dose in the other subpopulations studied to the 50th percentile value of the same distribution in adults. In a

second step, we refined the existing reverse dosimetry approach by developing probabilistic inhalation PBPK models for Canadian subpopulations (of different age, body weight and size) whose blood toluene measurements were collected during the third cycle of Canadian Health Measures Survey (CHMS-3), in order to reconstruct their corresponding external exposure. Finally, we have developed an individual reverse dosimetry approach to estimate external exposure to toluene from urinary measurements of one of its metabolites (S-benzylmercapturic acid or BMA) reported in Canadian individuals. Two techniques were tested here for this estimation: estimating toluene exposure from spot measurements of urinary BMA of a full day obtained in each individual and estimating exposure from an individual measurement of urinary BMA performed on 24-h urines. The individual approach allowed us to propose a method to quantify the uncertainty, that means the possible error, on the estimates of external exposure made by reverse dosimetry from spot measurements from health surveys. This doctoral study revealed that the impact of multi-routes co-exposures on IV of toxicokinetics may depend on the compounds in the mixtures and the level of exposure to these substances. For example, the variation obtained on the amount of substance metabolized by CYP2E1-based VIs based is about -9 to -5% and -38 to -33% for benzene respectively for 'low' and 'high' exposures simulated to the mixture. For VC and TCE, it is respectively about -17 to -13% and -20 to -11% for "high" exposures, and zero for "low" exposures to the mixture. The exposures to toluene in air estimated by reverse dosimetry in this thesis (median between 0.004 and 0.01 ppm) are well below the maximum guideline values recommended by Health Canada for chronic exposure and suggest an exposure of Canadian studied via indoor air. The uncertainty mentioned above varies between 15 and 23% in the context of our work. The present doctoral study has contributed to improving the assessment of the toxicological risk of VOCs.

Keywords: Risk assessment, Biomonitoring data, Physiologically-based pharmacokinetic modeling, VOCs, Monte Carlo simulations, Interindividual variability, chemical interactions.

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	v
Table des matières.....	vii
Liste des tableaux.....	xi
Liste des figures.....	xiv
Liste des sigles et abréviations.....	xix
Remerciements.....	xxiii
Chapitre 1 - Introduction générale.....	1
1. Mise en contexte.....	1
1.1 Contexte et justification de la recherche doctorale.....	2
1.2 État des connaissances.....	7
1.2.1 Modélisation pharmacocinétique (ou toxicocinétique) à base physiologique... 7	7
1.2.1.1 Définitions de quelques concepts.....	7
1.2.1.2 Structure d'un modèle TCBP.....	8
1.2.1.3 Vérification et validation d'un modèle TCBP.....	10
1.2.1.4 Simulation de doses internes.....	11
1.2.1.5 Analyse de sensibilité.....	11
1.2.2 Les interactions toxicocinétiques.....	13
1.2.2.1 Les études expérimentales.....	13
1.2.2.2 Les études de modélisation d'interactions toxicocinétiques.....	15
1.2.3 La variabilité interindividuelle de la toxicocinétique.....	18
1.2.3.1 Les études expérimentales.....	20
1.2.3.2 Les études de modélisation de la variabilité toxicocinétique.....	21
1.2.4 Dosimétrie inverse.....	26
1.2.5 Lacunes dans les écrits.....	28
1.3 Problématique de la recherche doctorale.....	29
1.4 Objectifs de la recherche doctorale.....	31
1.4.1 Objectif général.....	31
1.4.2 Objectifs spécifiques.....	31
1.5 Organisation de la thèse.....	32
Chapitre 2 - Méthodologie de la recherche doctorale.....	34
2. Méthodes d'études.....	34
2.1 Choix des substances, sous-populations ou individus à l'étude.....	35
2.1.1 Substances à l'étude.....	35
2.1.2 Sous-populations ou individus étudié(e)s.....	36

2.2 Modélisation toxicocinétique à base physiologique	37
2.2.1 Modèles TCBP multivoies pour mélanges	37
2.2.2 Modèles TCBP simples pour inhalation du toluène	46
2.2.3 Approche déterministe d'expression des paramètres physiologiques	50
2.2.4 Simulations de Monte Carlo	51
2.2.5 Doses internes simulées avec les modèles construits	51
2.2.6 Analyse de sensibilité	52
2.2.7 Validation des modèles construits	53
2.3. Dosimétrie inverse.....	53
Chapitre 3 – Article 1.....	60
3. Article 1 : <i>An assessment of the impact of multi-route co-exposures on human variability in toxicokinetics: A case study with binary and quaternary mixtures of volatile drinking water contaminants</i>	60
Abstract	62
3.1 Introduction.....	63
3.2 Methods	65
3.2.1 Selection of case study chemicals and their specific parameters.....	65
3.2.2 Development of a multi-route, multiple chemical physiologically based pharmacokinetic model for various human subpopulations	66
3.2.3 Physiologically based pharmacokinetic model simulations	69
3.2.3.1 Scenarios considered.....	69
3.2.3.2 Exposure concentrations in drinking water.....	69
3.2.3.3 Internal dose metrics of interest	70
3.2.4 Probabilistic modeling of internal dose metrics.....	70
3.2.5 Assessment of variability in internal dose metrics.....	73
3.2.6 Sensitivity analyses	73
3.3 Results	74
3.3.1 Simulation of internal dose metrics for multi-route co-exposure	74
3.3.2 Toxicokinetic variability assessment according to multi-route exposure scenarios to chemicals (single exposure and co-exposure)	75
3.3.3 Sensitivity analyses	77
3.4 Discussion.....	78
3.5 References.....	83
Chapitre 4 – Article 2.....	129
4. Article 2: <i>Reverse dosimetry modeling of toluene exposure concentrations based on biomonitoring levels from the Canadian health measures survey</i>	129
Abstract	131
4.1 Introduction.....	132
4.2 Methods	133
4.2.1 Toluene PBPK model	133

4.2.2 Model validation.....	136
4.2.3 Reverse dosimetry approach.....	136
4.2.4 Sensitivity analyses.....	140
4.3 Results.....	140
4.3.1 Model validation.....	140
4.3.2 Subpopulation-based distributions of venous blood concentrations and estimation of toluene concentrations in air.....	141
4.3.3 Sensitivity analyses.....	142
4.4 Discussion.....	142
4.5 Conclusion.....	150
4.6 References.....	151
Chapitre 5 – Article 3.....	177
5. Article 3: <i>Estimation of toluene exposure in air from BMA (S-benzylmercapturic acid) urinary measurements using a reverse dosimetry approach based on physiologically based pharmacokinetic modeling.</i>	177
Abstract.....	179
5.1 Introduction.....	180
5.2 Materials and Method.....	182
5.2.1 Modeling approach.....	182
5.2.2 Reverse dosimetry approach.....	185
5.2.3 Evaluation of the relative contribution of the specific uncertainty resulting from the use of urinary spot-sample when evaluating toluene air exposure levels by the proposed reverse dosimetry approach.....	188
5.3 Results.....	189
5.3.1 Simulated distributions of urinary BMA concentrations for the examined individuals.....	189
5.3.2 Estimation of toluene concentrations in air.....	189
5.4 Discussion.....	190
5.5 Conclusion.....	196
5.6 References.....	196
Chapitre 6 – Intégration et synthèse.....	231
6. Discussion générale.....	231
6.1 Liens entre les trois articles objets de la présente thèse.....	232
6.2 Approche méthodologique de la recherche doctorale.....	232
6.3 Principaux résultats novateurs de la présente thèse.....	237
6.4 Limites des travaux de la présente thèse.....	245
6.5 Perspectives de recherche découlant de la présente recherche doctorale.....	248

Chapitre 7 – Conclusion générale.....	250
7. Conclusion et portée de la recherche doctorale.....	250
7.1 Conclusion.....	251
7.2 Portée de la présente thèse.....	252
Références bibliographiques.....	253
Annexes.....	<u>xxiy</u>

Liste des tableaux

Chapitre 1

- Tableau 1-1 : Représentation mathématique des modifications de vitesse maximale de métabolisme (V_{max}) et de constante de Michaëlis Mentens (K_m) résultant d'une inhibition métabolique.....14
- Tableau 1-2 : Résumé de différences dans des déterminants pharmacocinétiques entre l'adulte et d'autres sous-groupes sensibles (Source : Clewell *et al.* (2004)).....19

Chapitre 2

- Tableau 2-1 : Substances chimiques objet de la recherche.....36
- Tableau 2-2 : Résumé de la première étape de dosimétrie inverse illustrée avec une population de 100 personnes.....56
- Tableau 2-3 : Résumé de la deuxième étape de dosimétrie inverse pour l'illustration avec notre population supposée de 100 personnes conduisant à l'inversion des distributions de concentration sanguines de la substance X obtenues dans le Tableau 2-2.....57
- Tableau 2-4 : Distribution de concentrations sanguines de X pour la sous-population de 2 individus dans le cadre de l'illustration des quatre étapes de nos approches de dosimétrie inverse mises au point dans cette thèse.....58
- Tableau 2-5 : Distributions de probabilité d'exposition à la substance X dans l'air pour la sous-population des deux individus.....59

Chapitre 3

Table 3-1 : Determined values for chemical-specific physicochemical, biochemical and physiological invariable parameters in the physiologically based pharmacokinetic models.....	105
Table 3-2: Water concentrations of the various DWCs used and their corresponding vapor concentrations in air during the bath (in parentheses) for the different exposure scenarios simulated by physiologically based pharmacokinetic modeling.....	107
Table 3-3: Probability density functions and deterministic descriptors used to define subpopulation-specific parameters in the physiologically based pharmacokinetic models.....	109
Table 3-4: Statistical descriptors (median, CV and 95 th) for internal dose metrics for Bz and VC, and resulting VI (values > 3.16 indicated in bold), obtained for multi-route single and co-exposure scenarios simulated in each subpopulation.....	111
Table 3-5: Statistical descriptors (median, CV and 95 th) for internal dose metrics for TCE and resulting VI, obtained for multi-route single and co-exposure scenarios simulated in each subpopulation.....	114

Chapitre 4

Table 4-1: Toluene’s physico-biochemical parameters required for PBPK modeling...	165
Table 4-2: Probability Density Functions of the parameters used to define the subpopulation-specific determinants in the PBPK models.....	166
Table 4-3: Distributions of toluene blood concentrations in the subpopulations investigated.....	168
Table 4-4: Estimated distributions of toluene air concentrations in the studied subpopulations.....	169

Chapitre 5

Table 5-1: Parameter Values for o-cresol and BMA formation and excretion.....	212
---	-----

Table 5-2: Toluene’s physico-biochemical parameters required for PBPK modeling...213

Table 5-3: Distributions of urinary BMA concentrations in the examined individuals in the current study.....214

Table 5-4: Distributions of atmospheric toluene concentrations estimated in the examined individual.....215

Liste des figures

Chapitre 1

- Figure 1.1 : Évaluation du risque toxicologique en quatre étapes.....3
- Figure 1.2 : Représentation schématique de la structure d'un modèle TCBP pour inhalation d'un composé organique volatile (COV) chez l'humain (Ca : concentration artérielle ; Cexh : concentration exhalée ; Cinh : concentration inhalée ; Cv : mélange de toutes les concentrations veineuses quittant tous les tissus représentés ; Cvf : concentration veineuse quittant le foie ; Cvta : concentration veineuse quittant les tissus adipeux ; Cvtp : concentration veineuse quittant les tissus pauvrement perfusés ; Cvtrp : concentration veineuse quittant les tissus richement perfusés ; Qc : débit cardiaque ; Qf : débit sanguin vers le foie ; Qta : débit sanguin vers les tissus adipeux ; Qtp : débit sanguin vers les tissus pauvrement perfusés et Qtrp : débit sanguin vers les tissus richement perfusés).....9
- Figure 1.3 Illustration des interactions d'un mélange quaternaire (composé de benzène (B), toluène (T), éthylbenzène (E) et m-xylène (X)) montrant qu'une modification de la concentration d'un composé peut théoriquement affecter tous les autres composés puisqu'étant tous impliqués dans un réseau d'interactions binaires (Source : Haddad *et al.* (1999)).....15
- Figure 1.4 Schéma illustrant la modélisation PBPK multivoies probabiliste de Monte Carlo.....23
- Figure 1.5 Représentation schématique de la dosimétrie inverse utilisant un modèle TCBP et des simulations Monte Carlo.....26

Chapitre 2

- Figure 2.1 Représentation conceptuelle du modèle TCBP multivoies (inhalation, ingestion et contact cutané) du trichloroéthylène (TCE). Ca, Cexh, Ci et Cv réfèrent respectivement à la concentration sanguine artérielle, concentration exhalée, concentration inhalée et concentration sanguine veineuse. Cvi et Di réfèrent

respectivement aux concentrations veineuses quittant les tissus et débits sanguins arrivant aux tissus (c'est-à-dire, ta : tissus adipeux, trp : tissus richement perfusés, rch : reste du corps humain, pe : peau, r : reins, et f : foie). Dalv, Dc et Dp sont respectivement les débits alvéolaire, cardiaque et pulmonaire. GST : Glutathion S-transférase TM est le taux de métabolisme du TCE par les enzymes CYP2E1 dans le foie, V_{max} la vitesse maximale de ce métabolisme et K_m la constante de métabolisme. $V_{maxGSTfTCE}$ et $K_{mGSTfTCE}$ sont respectivement la vitesse maximale de métabolisme du TCE par la GST et la constante de ce métabolisme dans le foie ; $V_{maxGSTrTCE}$ et $K_{mGSTrTCE}$ leurs correspondantes dans les reins.....39

Figure 2.2 : Représentation conceptuelle du modèle TCBP multivoies (inhalation, ingestion et contact cutané) du chlorure de vinyle (CV). Ca, Cexh, Ci et Cv réfèrent respectivement à la concentration sanguine artérielle, concentration exhalée, concentration inhalée et concentration sanguine veineuse. Cvi et Di réfèrent respectivement aux concentrations veineuses quittant les tissus et débits sanguins arrivant aux tissus (c'est-à-dire, ta : tissus adipeux, trp : tissus richement perfusés, rch : reste du corps humain, pe : peau, r : reins, et f : foie). Dalv, Dc et Dp sont respectivement les débits alvéolaire, cardiaque et pulmonaire. TM est le taux de métabolisme du CV par les enzymes CYP2E1 dans le foie, V_{max} la vitesse maximale de ce métabolisme et K_m la constante de métabolisme.....41

Figure 2.3 : Représentation conceptuelle du modèle TCBP multivoies (inhalation, ingestion, et contact cutané) d'interaction pour le mélange constitué de trichloéthylène (TCE) et chlorure de vinyle (CV), TCE-CV. Ca, Cexh, Ci et Cv réfèrent respectivement aux concentration sanguine artérielle, concentration exhalée, concentration inhalée et concentration sanguine veineuse. Cvi et Di réfèrent respectivement aux concentrations veineuses quittant les tissus et débits sanguins arrivant aux tissus (c'est-à-dire, ta : tissus adipeux, trp : tissus richement perfusés, rch : reste du corps humain, pe : peau, r : reins, et f : foie). Dalv, Dc et Dp sont respectivement les débits alvéolaire, cardiaque et pulmonaire. GST : Glutathion S-transférase. TM est le taux de métabolisme de chaque substance du mélange par les enzymes CYP2E1 dans le foie (TM_{TCE} pour le trichloroéthylène et

TM_{CV} pour le chlorure de vinyle), V_{max} la vitesse maximale de ce métabolisme (V_{maxTCE} pour le trichloroéthylène et V_{maxCV} pour le chlorure de vinyle), K_m la constante de ce métabolisme (K_{mTCE} pour le trichloroéthylène et K_{mCV} pour le chlorure de vinyle), et K_i la constance d'inhibition de ce métabolisme (K_{iCVTCE} : constante d'inhibition du métabolisme du trichloéthylène par le chlorure de vinyle ainsi considéré comme inhibiteur, K_{iTCECV} : constante d'inhibition du chlorure de vinyle par le trichloroéthylène ainsi considéré comme inhibiteur).....44

Figure 2.4 : Représentation conceptuelle du modèle TCBP simple pour exposition par inhalation au toluène (Tol). Ca, C_{exh}, C_i et C_v réfèrent respectivement à la concentration sanguine artérielle, concentration exhalée, concentration inhalée et concentration sanguine veineuse. C_{vi} et D_i réfèrent respectivement aux concentrations veineuses quittant les tissus et débits sanguins arrivant aux tissus (c'est-à-dire, ta : tissus adipeux, trp : tissus richement perfusés, rch : reste du corps humain, pe : peau, r : reins, et f : foie). Dalv, Dc et Dp sont respectivement les débits alvéolaire, cardiaque et pulmonaire. TM est le taux de métabolisme du Tol par les enzymes CYP2E1 dans le foie, V_{maxTol} la vitesse maximale de ce métabolisme et K_{mTol} la constante de métabolisme.....48

Chapitre 3

Figure 3.1: Conceptual representation of the multi-route interaction physiologically based pharmacokinetic model. Thick dotted lines show the additional compartment that represents the kidneys. BTEX, benzene, toluene, ethylbenzene, m-xylene; GST, glutathione-S-transferase; K_m, Michaelis-Menten constant in CYP2E1 metabolism in the liver; K_{mGSTk}, Michaelis-Menten constant in GST metabolism in the kidney; K_{mGSTl}, Michaelis-Menten constant in GST metabolism in the liver; Q_{alv}, alveolar ventilation; Q_C, cardiac output; Q_f, fat blood flow; Q_h, blood flow of high perfused tissues; Q_k, kidney blood flow; Q_l, liver blood flow; Q_r, blood flow of the rest of the body; Q_{sk}, skin blood flow; TCE, trichloroethylene; V_{maxc}, maximum velocity of metabolism mediated by CYP2E1 in the liver; V_{maxGSTl}, maximum velocity of metabolism mediated by GST (for TCE) in the liver V_{maxGSTk}, maximum velocity of metabolism mediated by GST (for TCE) in kidneys.....99

Figure 3.2: Schematic representation of all binary metabolic interactions following an exposure to the BTEX mixture (RAM Bz, RAM T, RAM E and RAM m-X mean the rates of metabolism of benzene, toluene, ethylbenzene and m-xylene respectively). Bz, benzene; E, ethylbenzene; m-X, m-xylene; Ql, liver blood flow; T, toluene.....100

Figure 3.3: A, Bz. B, TCE. C, VC. 24 h model simulations of the arterial blood concentration of Bz, TCE and VC for multi-route single exposure scenarios to “low” concentrations of these drinking water contaminants simulated in the subpopulations studied (scenarios 1, 3 and 4 respectively in Table 3-2). Ad, adult; Bz, benzene; Chd, children; Inf, infant; TCE, trichloroethylene; Tng, teenager; Tod, toddler; VC, vinyl chloride.....101

Figure 3.4: A, Bz. B, TCE. C, VC. 24 h model simulations of the arterial blood concentration of Bz, TCE and VC for multi-route single exposure (black curves) and co-exposure (gray curves) scenarios to “high” concentrations of these drinking water contaminants simulated in the subpopulations studied. A, Black and gray curves correspond respectively to scenarios 6 and 7 in Table 3-2. B, Black and gray curves correspond respectively to scenarios 8 and 10 in Table 3-2. C, Black and gray curves correspond respectively to scenarios 9 and 10 in Table 3-2. Ad, adult; Bz, benzene; Chd, children; Inf, infant; TCE, trichloroethylene; Tng, teenager; Tod, toddler; VC, vinyl chloride.....103

Chapitre 4

Figure 4.1: Schematic representation of the reverse dosimetry using a PBPK model and Monte Carlo simulations.....162

Figure 4.2: Validation of human PBPK model for inhalation of toluene. Panel A displays data for 33 individuals exposed to 50 ppm of toluene for 2 h (from Pierce et al. (1998)). A permission has been received to reuse the Figure. 3 from Pierce et al. which is shown in the Panel A in this work. Panel B shows results generated using PBPK models built from Haddad, Pelekis, and Krishnan (1996). VBC: Venous blood concentration. Exhaled C: Exhaled air concentration.....163

Figure 4.3: Cumulative probability distributions of toluene air concentrations estimated in the different subpopulations. Figure 4.3a shows cumulative probability curves for a 3-h exposure, and Figure 4.3b represents cumulative probability curves for the 7-h and 24-h exposures.....164

Chapitre 5

Figure 5.1: Conceptual representation of the formation and urinary excretion of o-cresol and BMA following toluene metabolism in humans using CYP2E1 enzymes (see Marchand et al. (2015) and ATSDR (2017), SY refers to the stoichiometric yield and K_{CRE} to the urinary excretion constant of o-cresol).....207

Figure 5.2: Schematic representation of the reverse dosimetry using a PBPK model and Monte Carlo simulations (for the proposed DUBSM-based exposure assessment technique). The same approach was repeated for the evaluation of exposure to toluene in air on the basis of 24-h-BMA which replaces DUBSM in the last box of the figure at the bottom.....208

Figure 5.3: Cumulative probability curves of atmospheric concentrations of toluene estimated for the examined individuals (24-h-BMA: BMA concentration measured on 24-h urines; DUBSM: daily urinary BMA spot measurements; Figure 5.3a for Individual 1; Figure 5.3b for Individual 2; Figure 5.3c for Individual 3; Figure 5.3d for Individual 4; Figure 5.3e for Individual 5 and Figure 5.3f for Individual 6)..209

Liste des sigles et abréviations

ACSL	Advanced continuous simulation language
ADAF	Age-dependant Adjustment Factor
ADME	Absorption distribution métabolisme élimination
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BMA	S-benzylmercapturic acid (ou acide S-benzylmercapturique)
24-h-BMA	BMA measurements in 24-h urines
BTEX	Benzène toluène éthylbenzene m-xylène
BMI	Body mass index
CHMS	Canadian Health Measures Survey
Cmax	Concentration sanguine maximale
COV	Composés organiques volatils
CR	Contribution rerelative
CRéSP	Centre de Recherche en Santé Publique
CV	Chlorure de vinyle
CV-TCE	Chlorure de vinyle - Trichloroéthylène
CYP	Cytochrome P-450
DMPBJ	Distribution des mesures ponctuelles de BMA d'une journée
DSEO	Dose sans effet observe
DUBSM	Daily urinary BMA spot measurements
ECMS	Enquête Canadienne sur les Mesures de la Santé
ECMS-3	Troisième cycle de l'Enquête Canadienne sur les Mesures de la Santé

ESPUM	École de santé publique de l'Université de Montréal
FDP	Fonction de Densité de Probabilité
GST	Glutathione-S-transferase
HKAF	Human kinetic adjustment factor
INRS	Institut national de recherche et de sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles
INSPQ	Institut national de santé publique du Québec
IPCS	International program on chemical safety
Ki	Constante d'inhibition
Km	Constante de Michaëlis Mentens
LEQ	Litre equivalent
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
NRC	National research council
OMS	Organisation mondiale de la santé
Pb	Coefficient de partage sang: air
PBPK	Physiologically-based pharmacokinetic
PDF	Probability density function
PPK	Population pharmacokinetics
TCE	Trichloroéthylène (ou Trichloroéthylène)
TCE-VC	Mélange trichloroéthylène et chlorure de vinyle
TCBP	Toxicocinétique à base physiologique
TEX	Toluène Éthylbenzène m-Xylène
UGT	Uridine diphosphate glucuronosyltransférase

U.S. EPA	Agence de protection de l'environnement des États-Unis
VC	Vinyl chloride
VI	Variability index
Vmax	Vitesse maximale de métabolisme
VOC	Volatile organic compound
VTR	Valeur toxicologique de référence
WHO	World health organisation

À la Sainte Trinité : Ta Grâce Seule me Suffit!

À la Sainte Vierge Marie et à mes Anges Gardiens

À Alphonse Tohon et Justine Agbédiga, mes chers parents

À Ginette, ma tendre et chère épouse

À mes enfants : Christson, Sabiduria, Honestson et Tresors

À mes frères et soeur

À vous dont je préfère taire les noms

Remerciements

Je tiens à remercier mes directeurs de thèse et mentors pour l'excellent encadrement dont j'ai bénéficié de chacun d'eux. Sur le parcours de la recherche, j'ai eu énormément de chance de les avoir rencontrés. Ce travail est aussi le vôtre.

- Un chaleureux merci donc à **Sami Haddad**, professeur titulaire à l'Université de Montréal, mon directeur de recherche. Votre disponibilité, votre écoute, vos conseils avisés et votre soutien de chaque instant m'ont fortement encouragé tout au long de mon cheminement de doctorant.

- J'exprime aussi ma plus profonde reconnaissance au Dr. **Mathieu Valcke**, mon codirecteur de recherche. Vous m'avez donné le goût de la précision. Votre disponibilité constante, votre sollicitude et votre confiance en moi ont été des motifs de persévérance durant ce travail ardu et solitaire.

Je voudrais ici manifester ma gratitude à l'endroit du Dr. **Andy Nong** et de la Dre **Rocio Aranda-Rodriguez** de Santé Canada pour leur contribution à la réalisation de cette thèse, et de la Dre. **Marjory Moreau** pour sa précieuse aide lors de mon stage à Santé Canada. Je souhaite, par ailleurs, remercier l'équipe du Dr. Mathieu Valcke à l'INSPQ pour la très bonne ambiance de travail dont j'ai bénéficiée lors de mon stage dans cette structure.

Je suis aussi reconnaissant aux professeurs, collègues et membres du personnel du DSEST, ainsi que du programme doctoral de l'ESPUM qui ont enrichi d'une manière ou d'une autre mon passage dans ce programme. Je ne saurais oublier professeur Kannan Krishnan. Vous avoir rencontré au tout début de mon admission au doctorat en santé publique a été, somme toute, décisif et je vous remercie pour vos conseils de bienvenue.

Un merci particulier à **Santé Canada** et au **CRDI** pour avoir financé mes recherches.

Ma gratitude aussi à **mon Jury de Thèse** pour son apport à travers l'examen de cette thèse.

Enfin, ma reconnaissance infinie **ma famille**, **mes amis**, **Peace Tohon** et **Osley Tohon**, ainsi qu'à l'**UAC** pour le soutien et les encouragements reçus durant toutes ces années.

Chapitre 1 - Introduction générale

1. Mise en contexte

1.1 Contexte et justification de la recherche doctorale

L'évaluation du risque en santé environnementale occupe de plus en plus une place importante dans les processus de développement des politiques en santé environnementale, de prise de décision en santé publique, de mise en place de réglementations environnementales et de planification de la recherche (WHO, 2000). Ceci constitue, sans doute, l'expression d'une meilleure appréhension des interrelations entre l'environnement et la santé. En effet, le bien-être et la santé dépendent des écosystèmes et des bénéfices qu'ils apportent (nourriture, eau, air...) (Millennium Ecosystem Assessment, 2005).

Pendant longtemps, l'épidémiologie a permis d'évaluer le risque à la santé en essayant d'associer les événements de santé chez l'humain à des expositions environnementales mesurées, en général, qualitativement. De nos jours, l'OMS recommande que les processus d'évaluation de risque prennent en compte à la fois l'évidence épidémiologique, mais aussi celles qui pourraient provenir d'autres disciplines appropriées telles que la médecine clinique, la toxicologie, etc (WHO, 2000). Ainsi, la toxicologie, pour ce qui la concerne, peut permettre d'estimer quantitativement l'exposition afin de mieux évaluer les risques sanitaires qui peuvent résulter de la contamination chimique de l'organisme humain via l'air, l'eau, le sol, la nourriture ou les produits de consommation, surtout à l'ère actuelle marquée par l'essor sans cesse croissant de l'industrie chimique. Dans ce domaine, la toxicologie joue déjà un rôle majeur grâce à l'évaluation du risque toxicologique de divers contaminants chimiques.

L'évaluation du risque toxicologique peut être définie comme un processus qualitatif et quantitatif visant à déterminer la probabilité qu'une exposition à un ou à plusieurs agresseurs environnementaux d'origine chimique, physique ou biologique entraîne des effets néfastes sur la santé humaine (INSPQ, 2012). Ce processus, représenté à la Figure 1.1, peut être différencié en quatre étapes successives ou non (NRC, 1983 ; US EPA, 1989 ; INSPQ, 2012).

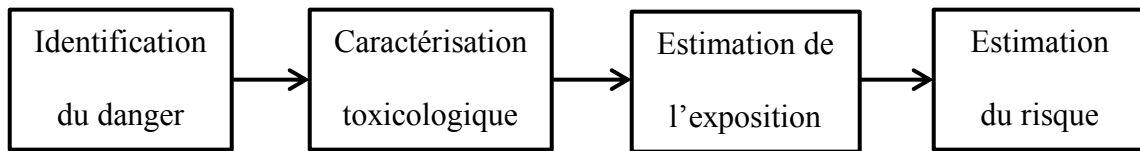


Figure 1.1 : Évaluation du risque toxicologique en quatre étapes

L'identification du danger consiste à identifier et à présenter une situation ou un agresseur environnemental pouvant comporter un risque pour la santé publique. Basée principalement sur la documentation scientifique, elle permet de disposer de l'information sur la propriété toxique intrinsèque d'un agresseur chimique, ainsi que sur les voies potentielles d'exposition et leur importance relative, de même que sur les sources d'émission. La caractérisation toxicologique ou caractérisation de la relation dose-réponse d'un contaminant chimique permet de déterminer les doses de contaminants pour lesquelles des effets néfastes sur la santé humaine sont susceptibles de survenir. Elle permet d'établir une valeur toxicologique de référence (VTR) pour une substance non cancérigène ou un estimateur de risque pour une substance cancérigène, afin de protéger la santé humaine. L'estimation de l'exposition (souvent effectuée pour l'adulte), quant à elle, consiste à quantifier les doses externes auxquelles ont été exposées (peut-être via différentes voies d'entrée dans l'organisme) des personnes, suite à une contamination de divers médias. Une personne pouvant être plus fortement exposée qu'une autre, l'approche récente dite "probabiliste", utilisant des logiciels commerciaux (ex. : Crystal Ball), estime l'exposition sous forme de distribution dans une population. Ce qui permet de rendre compte de la variabilité de l'exposition dans la population qui peut être le résultat d'une variabilité physiologique connue ou d'une incertitude sur une caractéristique particulière dans la population. Enfin, l'estimation du risque permet de relier les informations issues de la caractérisation toxicologique et de l'estimation de l'exposition afin d'estimer le niveau de risque et son incertitude.

La caractérisation toxicologique peut, en effet, conduire à l'établissement ou à l'actualisation de normes pour les polluants chimiques, à partir des VTRs. Mais ces dernières ont souvent été définies sur la base de mesures quantitatives d'exposition aux composés chimiques individuels et selon un processus balisé d'évaluation du risque toxicologique reposant sur l'utilisation de modèles animaux (Carrier et Bard, 2005). Nul doute que ce processus fasse l'objet d'incertitudes. Au nombre de ces dernières, on peut noter, par exemple, celle en lien avec le fait qu'il ne prenne pas en compte les possibles co-expositions environnementales multivoies pour certains contaminants chimiques (ex. : les COVs). Ces co-expositions peuvent pourtant induire des interactions toxicocinétiques et/ou toxicodynamiques dans l'organisme vivant. Il y a aussi des incertitudes relatives aux extrapolations inter-espèces et à la variabilité interindividuelle (intra-espèces) (Carrier et Bard, 2005 ; Haber, 2007).

Pour réduire ces incertitudes, un nombre croissant d'agences réglementaires (ainsi que de chercheurs) en santé environnementale préfèrent se baser sur les doses internes prédites pour l'être humain, grâce à des modèles pharmacocinétiques (ou toxicocinétiques), lors de l'évaluation du risque à la santé résultant de l'exposition aux substances chimiques (Loizou *et al.*, 2008). La dose interne peut être définie comme la quantité d'une entité chimique ayant pénétré dans l'organisme et qui se retrouve dans les tissus ou organes. Parmi les modèles pharmacocinétiques utilisés, les modèles toxicocinétiques à base physiologique (TCBP), ou en anglais PBPK (physiologically-based pharmacokinetic), se sont révélés être de très bons outils (Krishnan et Andersen, 1994 ; Tan *et al.*, 2007 ; Chiu, 2007 ; Clewell et Clewell 3rd, 2008 ; WHO/IPCS, 2010 ; Brochot *et al.*, 2019). Ils permettent de rendre compte de la toxicocinétique d'un xénobiotique (seul ou en mélange), c'est-à-dire son processus d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'élimination (ADME) chez l'humain.

Originellement conçus pour faire des extrapolations inter-espèces, fortes doses à faibles doses et entre différentes voies d'administration ou d'exposition (WHO/IPCS, 2010 ; Fisher *et al.*, 2020), les applications des modèles TCBP se sont rapidement étendues dans

le temps en évaluation du risque. Ils peuvent être développés pour aider à tester des hypothèses sur des mécanismes pharmacocinétiques et pharmacodynamiques (Gearhart *et al.*, 1994 ; Fisher *et al.*, 2020). Ainsi, ils peuvent intervenir dans les extrapolations in vitro à in vivo (Yoon *et al.*, 2015 ; Fisher *et al.*, 2020). Ils ont été utilisés pour prédire des doses internes de xénobiotique dans le corps humain en simulant une exposition environnementale via une voie (respiratoire) ou via plusieurs voies (respiratoire, orale et cutanée) à des substances individuelles (Sarangapani *et al.*, 2003 ; Valcke et Krishnan, 2010 ; 2011a ; WHO/IPCS, 2010 ; Haddad *et al.*, 2006 ; Krishnan et Carrier, 2008 ; Tan *et al.*, 2007 ; Mumtaz *et al.*, 2012). Ils ont également permis de prédire chez l'humain des doses internes résultant d'interactions toxicocinétiques entre différents composés chimiques, y compris entre différents COVs (Tardif *et al.*, 1993 ; 1995 ; Haddad *et al.*, 2001a ; Krishnan *et al.*, 2002 ; Dennison *et al.*, 2004 ; El-Masri *et al.*, 2004 ; Campbell et Fisher, 2007 ; Tan *et al.*, 2007 ; 2011 ; Martin *et al.*, 2012a ; b ; Valcke et Haddad, 2015). Les modèles TCBP ont été aussi utilisés pour simuler la variabilité humaine de la toxicocinétique (ou pharmacocinétique) de divers xénobiotiques (Clewell *et al.*, 1999 ; Pelekis *et al.*, 2003 ; Nong *et al.*, 2006 ; Gentry et Clewell, 2007 ; Walker *et al.*, 2007 ; Willmann *et al.*, 2007 ; Haddad *et al.*, 2006 ; Valcke et Krishnan, 2012, 2013, 2014 ; Valcke et Haddad, 2015). Ils ont permis de comprendre l'influence de la variabilité physiologique sur les mesures de doses internes (Strikwold *et al.*, 2017 ; Yang *et al.*, 2019 ; Fisher *et al.*, 2020).

Par ailleurs, la modélisation toxicocinétique à base physiologique a servi à interpréter des données de biosurveillance de divers polluants environnementaux (notamment des COVs) (Tan *et al.*, 2007 ; Clewell *et al.*, 2008 ; Ruark *et al.*, 2017 ; Sarigiannis *et al.*, 2019). Deux approches ont été décrites dans la littérature pour cette interprétation : une approche de dosimétrie directe (en anglais, forward dosimetry) et une autre de dosimétrie inverse (reverse dosimetry). L'approche directe permet d'obtenir, grâce à des modèles TCBP, des doses internes ou mesures biologiques équivalentes aux VTRs qui seront comparées aux mesures de biosurveillance investiguées (Hays *et al.*, 2008). En dosimétrie inverse, les modèles TCBP sont couplés à des simulations de Monte Carlo et à des calculs de

probabilité pour reconstituer l'exposition externe correspondante aux mesures biologiques à l'étude (Tan *et al.*, 2006 ; 2007 ; Clewell *et al.*, 2008). Mais cette dernière approche d'interprétation des mesures de biosurveillance n'a été utilisée pour estimer l'exposition chimique externe que pour une sous-population d'adultes de 70 kg de poids corporel, puisque ce sont des modèles PBPK génériques pour adulte de 70 kg qui ont été généralement utilisés dans cette approche. Il peut être envisagé d'améliorer cette dernière approche en vue de l'exploiter en analyse du risque toxicologique, par exemple pour reconstituer, lors des enquêtes épidémiologiques, l'exposition chimique externe d'autres sous-groupes d'une population (en dehors des adultes) ou même d'individus d'âges différents.

Les données de biosurveillance humaine (relatives au sang ou à l'urine) de plus en plus obtenues lors de diverses enquêtes nationales de santé n'attendent qu'à être interprétées. La dosimétrie inverse, pour cette interprétation, offre l'avantage de ne pas recourir aux VTRs dont l'établissement est souvent basé sur des données animales. Ainsi, ces mesures de biosurveillance disponibles représentent une opportunité d'améliorer l'estimation de l'exposition externe en évaluation du risque toxicologique, ceci en estimant l'exposition externe directement à partir des mesures biologiques obtenues chez l'humain. La présente étude doctorale envisage d'y contribuer en proposant des techniques améliorées de dosimétrie inverse par modélisation TCBP pour des COVs. Le présent document, qui résume les travaux de thèse effectués pour y arriver, fera d'abord une recension des écrits qui commencera par une section sur la modélisation toxicocinétique à base physiologique (TCBP) utilisée en évaluation du risque ; cette section sera axée sur les thèmes essentiels à nos travaux doctoraux. Puisque cette thèse vise à aider à interpréter des données de biosurveillance humaine pouvant être considérées comme des témoins de co-expositions environnementales multivoies, la recension des écrits abordera ensuite des notions sur les interactions toxicocinétiques, tant dans une approche expérimentale que de modélisation. Les données de biosurveillance pouvant aussi être considérées comme intégrant la variabilité humaine toxicocinétique, il sera aussi présenté, par la suite dans les écrits, des notions sur la variabilité interindividuelle toxicocinétique, tant dans une approche

expérimentale que de modélisation. Un de nos projets doctoraux étant consacré à l'étude de l'impact des interactions chimiques sur la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique des composés organiques volatiles. Puis, suivra une section sur la dosimétrie inverse par modélisation TCBP. La revue de la littérature se terminera par une brève synthèse sur les lacunes relevées dans les écrits, les lacunes desquelles émane la problématique de cette thèse. Après l'énoncé de la problématique de notre recherche doctorale, de ses objectifs et de son organisation, suivront respectivement la méthodologie pour cette recherche, la présentation de nos travaux doctoraux (articles), puis la discussion générale sur nos travaux et enfin la conclusion générale sur notre thèse.

1.2 État des connaissances

La recension des écrits portera sur quatre thèmes à savoir la modélisation pharmacocinétique (ou toxicocinétique) à base physiologique (section 1.2.1), les interactions toxicocinétiques (section 1.2.2), la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique (section 1.2.3) et la dosimétrie inverse (section 1.2.4). Cette partie se terminera par la présentation des lacunes dans les écrits (section 1.2.5).

1.2.1 Modélisation pharmacocinétique (ou toxicocinétique) à base physiologique

1.2.1.1 Définitions de quelques concepts

La pharmacocinétique (ou toxicocinétique) est une sous-discipline de la pharmacologie qui s'intéresse à l'étude du taux et de l'étendue des processus d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'élimination (ADME) des produits chimiques et de leurs métabolites dans l'organisme, ainsi que des facteurs qui contrôlent le déroulement dans le temps de ces processus. Elle utilise des approches expérimentales ou de modélisation mathématique (Lin et Fisher, 2020).

La modélisation pharmacocinétique (ou toxicocinétique) est une méthode qui permet, grâce à l'utilisation d'une série d'équations mathématiques, l'étude quantitative de l'évolution en fonction du temps des processus d'ADME des composés chimiques et de leurs métabolites dans le corps (Lin et Fisher, 2020). Parmi les modèles qui ont été et qui continuent d'être exploités en toxicologie et en évaluation du risque figurent en bonne place les modèles TCBP.

1.2.1.2 Structure d'un modèle TCBP

Un modèle TCBP est une représentation simplifiée de l'humain (ou de l'animal) dans laquelle des compartiments décrivent l'ensemble de ses tissus ou organes (Andersen *et al.*, 1987 ; WHO/IPCS, 2010 ; Lin et Fisher, 2020). Sa construction associe à de la programmation informatique des informations tirées de la biologie, de la biologie cellulaire et moléculaire, de la biochimie, de la physiologie, de la pharmacocinétique, de la toxicologie, de la pharmacologie, de la biostatistique et des mathématiques (Lin et Fisher, 2020). Au nombre des logiciels informatiques les plus utilisés et recensés par Paini *et al.* (2017) pour l'écriture de ce programme informatique (ou code du modèle TCBP), on peut citer les logiciels Berkeley Madonna, ACSL (signifiant en anglais : Advanced Continuous Simulation Language), R et MatLab (Hack *et al.*, 2020).

La structure du modèle TCBP (voir un exemple à la Figure 1.2) doit refléter le minimum des éléments essentiels caractérisant l'organisme vivant concerné et être compatible avec l'état actuel des connaissances en toxicologie. En règle générale, les tissus pouvant présenter une concentration similaire du contaminant chimique (à l'étude) au cours de son évolution dans le temps sont regroupés (WHO/IPCS, 2010). Il est possible d'ajouter ou de représenter un tissu particulier (ou un organe particulier) comme étant un compartiment séparé. Ceci est déterminé par la pertinence de ce dernier pour l'organe cible, la toxicité, le mode d'action, ainsi que ses mécanismes toxicocinétiques (Lin et Fisher, 2020).

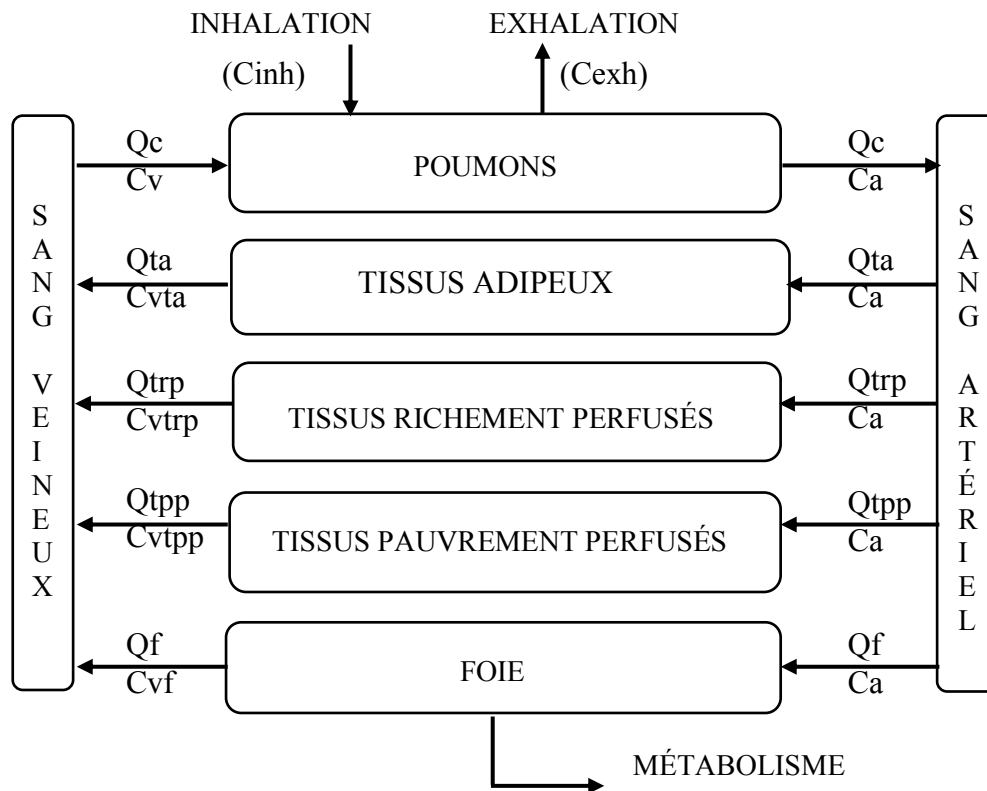


Figure 1.2: Représentation schématique de la structure d'un modèle TCBP pour inhalation d'un composé organique volatile (COV) chez l'humain (Ca : concentration artérielle ; C_{exh} : concentration exhalé ; C_{inh} : concentration inhalée; C_v : mélange de toutes les concentrations veineuses quittant tous les tissus représentés ; C_{vf} : concentration veineuse quittant le foie ; C_{vta} : concentration veineuse quittant les tissus adipeux ; C_{vtp} : concentration veineuse quittant les tissus pauvrement perfusés ; C_{vtrp} : concentration veineuse quittant les tissus richement perfusés ; Q_c : débit cardiaque ; Q_f : débit sanguin vers le foie, Q_{ta} : débit sanguin vers les tissus adipeux ; Q_{tp} : débit sanguin vers les tissus pauvrement perfusés et Q_{trp} : débit sanguin vers les tissus richement perfusés).

Dans le modèle TCBP schématisé à la Figure 1.2, le métabolisme est limité au compartiment hépatique, et c'est généralement le cas pour la modélisation TCBP (Robinson *et al.*, 2007). Toutefois, le métabolisme peut avoir lieu dans d'autres tissus (ex. :

poumons, reins). Dans tous les cas, un terme d'élimination métabolique est ajouté à l'équation mathématique relié au compartiment métabolisant en vue d'assurer l'équilibre de masse du xénobiotique (Robinson *et al.*, 2007). Le métabolisme y est intégré comme étant un processus saturable généralement décrit par l'équation de Michaelis-Menten et représenté par sa vitesse maximale (V_{max} , en mg/min ou mg/h) et la constante de Michaelis-Menten (K_m , en mg/L).

Les équations mathématiques associées aux divers compartiments d'intérêt en modélisation TCBP peuvent être tirées des écrits (Haddad et al. 2006 ; Krishnan *et al.*, 2010 ; Fisher *et al.*, 2020). Selon ces derniers, le développement d'un modèle TCBP nécessite de disposer d'informations sur deux types de paramètres : des paramètres liés à la réalité physiologique de l'être vivant étudié et des paramètres spécifiques au produit chimique à l'étude. Les valeurs des paramètres physiologiques nécessaires (ex. : débits sanguins, volumes tissulaires) peuvent être obtenues (ou calculées à partir de données extraites) de la littérature. Les paramètres spécifiques au composé chimique incluent les coefficients de partage (qui décrivent la distribution de ce composé dans les compartiments représentés) et des paramètres biochimiques (ex. : constante et vitesse de métabolisme). Pour plusieurs COVs, ces données peuvent également être obtenues de la littérature. Des expérimentations animales in-vitro ou in vivo (suivies d'extrapolation à l'humain) peuvent aussi permettre d'estimer les paramètres nécessaires aux modélisations envisagées (WHO/IPCS, 2010).

1.2.1.3 Vérification et validation d'un modèle TCBP

La vérification d'un modèle TCBP consiste à contrôler si le modèle est correctement construit. Il s'agit d'une opération qui vise à s'assurer que le code du modèle (équations et valeurs des paramètres) est dépourvu d'erreurs mathématiques et de syntaxe, que les unités des paramètres d'entrée et variables sont précises, que l'équilibre de masse ainsi que des débits sanguins sont respectés en tout temps, et qu'il n'y a pas d'erreurs numériques (WHO/IPCS, 2010). Pour un modèle TCBP d'inhalation par exemple, la notion d'équilibre

de masse suggère que la différence entre la quantité de matière chimique inhalée et celle résultant de la somme des quantités de matière exhalée, métabolisée et présentes dans tous les tissus et organes représentés doit être égale à (ou proche de) 0.

La validation d'un modèle TCBP atteste de sa capacité à prédire des doses internes reflétant la réalité de l'exposition externe. Selon plusieurs études, elle peut être effectuée en comparant les données d'évolution temporelle du contaminant chimique prédites pour un liquide biologique (sang, urines, etc) de l'organisme vivant étudié avec des données expérimentales obtenues chez ce même organisme, en partant des conditions identiques (ou similaires) d'exposition externe (Andersen *et al.*, 1987 ; Haddad *et al.*, 1996 ; Pierce *et al.*, 1998 ; Tan *et al.*, 2007).

1.2.1.4 Simulation de doses internes

Les doses internes généralement simulées chez l'humain grâce aux modèles TCBP sont la concentration artérielle (C_a , en $\mu\text{g/L}$) du contaminant chimique, sa concentration veineuse (C_v , en $\mu\text{g/L}$), sa quantité métabolisé dans le (ou les) organe (s) métabolisant (s) ($\mu\text{g}/24$ h.L de tissu) ou encore sa concentration dans différents tissus (ou organes) cibles ou d'intérêt. Les modèles TCBP peuvent aussi permettre de calculer la surface sous la courbe (SSC, ou en anglais : area under the curve (AUC,)), en $\mu\text{g}\cdot 24$ h/L) d'une concentration donnée du xénobiotique dans le corps. Cette notion d'AUC assume que la toxicité est fonction de l'exposition cumulée plutôt que de l'exposition maximale (souvent représentée par la concentration maximale ou C_{max} (en $\mu\text{g/L}$)) (Robinson *et al.*, 2007).

1.2.1.5 Analyse de sensibilité

L'analyse de sensibilité est recommandée pour tout nouveau modèle TCBP construit (ou emprunté de la littérature) avant sa première utilisation. Elle permet de tester tous les paramètres d'entrée du modèle en évaluant leur sensibilité vis-à-vis du système que constitue le modèle (Robinson *et al.*, 2007). Il s'agit d'identifier les paramètres d'entrée du

modèle dont une légère variation (1% ou 10% selon la littérature) influence ses prédictions (Robinson *et al.*, 2007 ; Covington et Gearhart, 2020). Les prédictions pourront alors être dites sensibles à ces paramètres. Ainsi, lorsqu'il existe dans la littérature une fonction de densité de probabilité (FDP) relative à un paramètre auquel est sensible une prédiction du modèle TCBP, cette fonction (FDP) pourra être intégrée au modèle pour prendre en compte, grâce à des simulations de Monte Carlo, la variabilité éventuelle (ou l'incertitude) sur ladite prédiction. Nous reviendrons sur la notion de simulations de Monte Carlo dans la section 1.2.3.2 portant sur l'approche probabiliste de modélisation de la variabilité toxicocinétique.

Deux techniques d'analyse de sensibilité ont été décrites dans la littérature : une dite analyse de sensibilité locale et une autre dite analyse de sensibilité globale (Hsieh *et al.*, 2018 ; Covington et Gearhart, 2020). Ces deux types d'analyse peuvent être directement conduites grâce à des fonctions présentes dans certains des logiciels informatiques (ex. : ACSL) utilisés pour les modélisations TCBP. L'analyse de sensibilité locale conduit à l'obtention de coefficients de sensibilité locale tandis que l'analyse de sensibilité globale conduit à des coefficients de sensibilité globale. Des valeurs positives de ces coefficients traduisent qu'une augmentation de la valeur du paramètre d'entrée considéré entraînera une augmentation de la valeur du paramètre de sortie étudié, et qu'une diminution de valeur du paramètre d'entrée entraînera une diminution de valeur du paramètre de sortie. Des valeurs négatives de ces coefficients indiquent qu'une augmentation de la valeur du paramètre d'entrée entraînera une diminution de la valeur du paramètre de sortie et vice versa. Contrairement à la technique d'analyse de sensibilité locale qui a une grande efficacité dans l'analyse computationnelle, l'analyse de sensibilité globale tient compte des interactions et variations simultanées portant sur divers paramètres d'entrée d'un modèle TCBP (Hsieh *et al.*, 2018).

1.2.2 Les interactions toxicocinétiques

L'humain est généralement exposé à un cocktail de substances chimiques via son environnement immédiat. Ce qui peut résulter en des interactions pharmacocinétiques ou toxicocinétiques (ou toxicodynamiques) dans son organisme. Les interactions toxicocinétiques ont été mises en évidence dans des études expérimentales et de modélisation.

1.2.2.1 Les études expérimentales

Les interactions toxicocinétiques, bien illustrées par plusieurs études expérimentales d'interactions pharmacocinétiques, peuvent avoir lieu lors des processus d'absorption, de distribution, de biotransformation et d'élimination d'un médicament ou d'un des contaminants chimiques de mélange dans l'organisme humain, et déterminer son efficacité (Singh, 2006) ou son pouvoir toxique. Les plus décrites dans les études expérimentales sont les interactions métaboliques (ou de nature biochimique). Elles peuvent consister en une inhibition ou une induction (Gomez-Lechon *et al.*, 2007) des enzymes du cytochrome P450 présentes en grande quantité dans le foie et qui jouent un rôle important dans le métabolisme oxydatif des médicaments ou polluants environnementaux. Ce sont les enzymes dits de phase I de biotransformation des composés chimiques à l'intérieur de l'humain (Gomez-Lechon *et al.*, 2007). Mais des enzymes de phase II (ex. : UGT1A1, GST) (Rowland *et al.*, 2013), et même certaines assurant le transport de xénobiotiques (ex. : la glycoprotéine P) peuvent aussi faire l'objet d'inhibition (ou d'interactions) de la part des médicaments (Limtrakul *et al.*, 2005) ou xénobiotiques.

L'inhibition des enzymes du P450 constitue toutefois le mécanisme d'interaction métabolique le plus illustré (Crespi *et al.*, 1997 ; Lin et Lu, 1998 ; Sager *et al.*, 2014). Elle consiste, lors d'expérimentations *in vivo* ou *in vitro* en de potentielles réductions du métabolisme d'un substrat spécifique d'une enzyme P450 en présence de concentrations variées d'un composé testé (l'inhibiteur) (Crespi *et al.*, 1997 ; Baranczewski *et al.*, 2006). On distingue deux types d'inhibition : réversible et irréversible (Krishnan et Anderson,

2010). Celle dite irréversible résulte de la liaison irréversible d'un substrat à l'enzyme menant à une diminution de la vitesse maximale de métabolisme (V_{max}). Quant à celle réversible, elle est de trois sortes : compétitive, incompétitive et non compétitive (voir Tableau 1-1).

Tableau 1-1 : Représentation mathématique des modifications de vitesse maximale de métabolisme (V_{max}) et de constante de Michaëlis Mentens (K_m) résultant d'une inhibition métabolique^a (Source : Haddad *et al.*, 1999)

Mécanismes d'inhibition	Modification du K_m	Modification de V_{max}
Compétitive	$\alpha \times K_m$	Aucune
Incompétitive	K_m / α	V_{max} / α
Non compétitive	Aucune	V_{max} / α

^a $\alpha = (1 + C_{vli} / K_i)$, où C_{vli} représente la concentration veineuse hépatique de l'inhibiteur et K_i la constante d'inhibition.

L'induction enzymatique (Badger *et al.*, 1993), comme second mécanisme d'interaction métabolique, augmente de façon spécifique l'expression de certaines enzymes et accroît la capacité métabolique de l'organisme, et donc de V_{max} (Zanger et Schwab, 2013). Elle est cependant peu décrite dans la littérature.

Si les études expérimentales d'interactions chimiques par inhibition des enzymes du P450 sont plus nombreuses en pharmacologie, des études de ce type portant sur ce mécanisme existent aussi en toxicologie. Elles procèdent, en général, d'utilisation de modèles animaux et comprennent parfois un modèle à valider (ex. : TCBP) (Tardif *et al.*, 1997 ; Haddad *et al.*, 1999 ; Haddad *et al.*, 2000a ; Cheikh *et al.*, 2013). Rappelons ici que la modélisation biologique a été un moyen de contourner les incertitudes liées à l'utilisation de modèles animaux pour décrire certains mécanismes dans le corps humain.

1.2.2.2 Les études de modélisation d'interactions toxicocinétiques

Les études d'interactions toxicocinétiques sont nombreuses à procéder de modélisation biologique, notamment celle TCBP (Tardif *et al.*, 1997 ; Haddad *et al.*, 1999 ; Haddad *et al.*, 2000a ; Haddad *et al.*, 2000b ; Haddad *et al.*, 2001a ; Haddad *et al.*, 2010 ; Tan *et al.*, 2011 ; Valcke et Haddad, 2015 ; Heys *et al.*, 2016 ; Kienzler *et al.*, 2016 ; Desalegn *et al.*, 2019). En matière de modélisation TCBP des interactions toxicocinétiques, le principe repose sur la simulation de la cinétique des constituants du mélange chimique en jeu en se basant sur des interactions d'ordre binaire, quelle que soit la complexité du mélange, et la caractérisation de toutes les interactions binaires du mélange (Figure 1.3) (Haddad et Krishnan, 1998 ; Krishnan *et al.*, 2002). Ce sont généralement les interactions métaboliques qui sont modélisées. Pour des mélanges de COVs, le mécanisme d'interaction métabolique décrit par la littérature est l'inhibition compétitive car ces composés sont presque tous des substrats de l'enzyme CYP2E1 (Ronis *et al.*, 1996). L'interaction métabolique est souvent prise en compte au niveau du compartiment hépatique du modèle TCBP en ajoutant des termes d'inhibition variés aux équations métaboliques reliées à ce compartiment (foie) (Yang et Andersen, 1994 ; Krishnan et Andersen, 2010 ; Desalegn *et al.*, 2019).

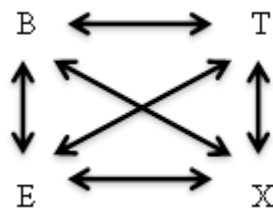


Figure 1.3 : Illustration des interactions d'un mélange quaternaire (composé de benzène (B), toluène (T), éthylbenzène (E) et m-xylène (X)) montrant qu'une modification de la concentration d'un composé peut théoriquement affecter tous les autres composés puisqu'étant tous impliqués dans un réseau d'interactions binaires (Source : Haddad *et al.* (1999)).

Essayons, à présent, d'illustrer cette théorie sur la modélisation TCBP des interactions métaboliques pour un mélange de COVs (ex. : benzène (B), toluène (T), éthylbenzène (E) et m-xylène (X)) en donnant l'expression mathématique des équations métaboliques traduisant les taux de métabolisme. En modélisant la toxicocinétique du benzène seul, l'équation métabolique traduisant son taux de métabolisme (TM_B) dans le compartiment hépatique peut s'écrire en se basant sur la cinétique de Michaelis-Mentens :

$$TM_B = \frac{V_{max_B} \times C_{vl_B}}{K_{m_B} + C_{vl_B}}$$

Où V_{max_B} est la vitesse maximale de métabolisme du benzène, K_{m_B} sa constante de métabolisme et C_{vl_B} sa concentration veineuse quittant le foie.

Pour un mélange binaire composé de benzène et de toluène, les équations métaboliques liées au compartiment hépatique traduisant les taux de métabolisme du benzène (TM_B) et du toluène (TM_T) sont respectivement les suivantes (Haddad *et al.*, 1999) :

$$TM_B = \frac{V_{max_B} \times C_{vl_B}}{K_{m_B} (1 + C_{vl_T}/K_{i_{TB}}) + C_{vl_B}}$$

et

$$TM_T = \frac{V_{max_T} \times C_{vl_T}}{K_{m_T} (1 + C_{vl_B}/K_{i_{BT}}) + C_{vl_T}}$$

Où C_{vl_T} est la concentration veineuse du toluène quittant le foie, V_{max_T} sa vitesse maximale de métabolisme, K_{m_T} sa constante de métabolisme, $K_{i_{TB}}$ la constante

d'inhibition compétitive du métabolisme du benzène par le toluène et K_{iBT} la constante d'inhibition compétitive du métabolisme du toluène par le benzène.

Pour un mélange ternaire composé de benzène, de toluène et d'éthylbenzène (E), les équations métaboliques liées au compartiment hépatique traduisant les taux de métabolisme du benzène (TM_B), du toluène (TM_T) et de l'éthylbenzène (TM_E) sont respectivement les suivantes (Haddad *et al.*, 1999) :

$$TM_B = \frac{V_{max_B} \times C_{vB}}{K_{m_B} (1 + C_{vT}/K_{iTB} + C_{vE}/K_{iEB}) + C_{vB}}$$

$$TM_T = \frac{V_{max_T} \times C_{vT}}{K_{m_T} (1 + C_{vB}/K_{iBT} + C_{vE}/K_{iET}) + C_{vT}}$$

et

$$TM_E = \frac{V_{max_E} \times C_{vE}}{K_{m_E} (1 + C_{vB}/K_{iBE} + C_{vT}/K_{iTE}) + C_{vE}}$$

Où C_{vE} est la concentration veineuse de l'éthylbenzène quittant le foie, V_{max_E} sa vitesse maximale de métabolisme, K_{m_E} sa constante de métabolisme, K_{iEB} la constante d'inhibition compétitive du métabolisme du benzène par l'éthylbenzène, K_{iET} la constante d'inhibition compétitive du métabolisme du toluène par l'éthylbenzène, K_{iBE} la constante d'inhibition compétitive du métabolisme de l'éthylbenzène par le benzène et K_{iTE} la constante d'inhibition compétitive du métabolisme de l'éthylbenzène par le toluène.

Pour chaque COV supplémentaire ajouté au mélange précédent, le terme d'inhibition compétitif (C_{vI}/K_i , pour chacun des autres constituants du mélange) sera donc inséré dans l'équation métabolique liée au compartiment hépatique et traduisant son taux de métabolisme ; ce qui modifiera son K_m (Haddad *et al.*, 1999). La littérature renseigne sur

certaines constantes d'inhibition en ce qui concerne les COVs (Haddad *et al.*, 2001). Elles peuvent toutefois aussi être obtenues par expérimentation animale et extrapolées à l'humain (Andersen *et al.*, 1987 ; Purcell *et al.*, 1990 ; Haddad *et al.*, 2001a ; Desalegn *et al.*, 2019). À défaut de disposer d'informations sur certaines constantes d'inhibition pour des mélanges chimiques (notamment les mélanges de COVs), on pourrait assumer que la valeur de la constante d'inhibition recherchée pour le substrat en question ne pourrait dépasser celle de la constante de métabolisme (K_m) de l'inhibiteur associée à ce substrat. Ainsi, on pourrait fixer la valeur de ladite constante d'inhibition à celle de la constante de métabolisme (K_m) de l'inhibiteur.

Finissons cette section (1.2.2) concernant les écrits sur les interactions toxicocinétiques en faisant remarquer que la revue de la littérature réalisée sur ces interactions fait état de rareté d'études ayant considéré l'exposition environnementale multivoies et de l'absence de telles études ayant porté sur l'impact des interactions chimiques sur la variabilité toxicocinétique susceptible d'être observée entre des sous-populations humaines de différents âges.

1.2.3 La variabilité interindividuelle de la toxicocinétique

Le concept de la variabilité humaine ou variabilité interindividuelle renvoie à une hétérogénéité dans la population humaine. Plusieurs chercheurs suggèrent trois origines de la variabilité de la population humaine (Gentry et Clewell III, 2007) : la variabilité entre individus de même âge, la variabilité entre les individus d'une population et qui est liée à l'âge (voir Tableau 1-2), et la variabilité entre un sous-groupe particulier de la population (pouvant être considérée comme "vulnérable" ou "sensible") et une population de référence (pouvant être considérée comme "normale"). Ces origines de la variabilité ne sont toutefois pas mutuellement exclusives et peuvent, toutes, avoir un impact important sur la cinétique des xénobiotiques dans l'organisme humain.

Tableau 1-2 : Résumé de différences dans des déterminants pharmacocinétiques entre l'adulte et d'autres sous-groupes sensibles (Source : Clewell *et al.* (2004)).

Étapes de la pharmacocinétique	Sous-groupes		
	Nouveaux-nés/Enfants ¹	Femmes enceinte ²	Aînés ¹
Absorption			
Orale	↓↑	↓↑	↓↑
Inhalation	↑	↑	I
Cutanée	I	↑	↓
Distribution (substances)			
Lipophiles	↑	↑	↑
Hydrophiles	↑	↑	↓
Liées aux protéines plasmatiques	↓	↓↑	↓
Métabolisme (enzymes)	↓ ³	↓↑	I
Fonction rénale ⁴	↓	↑	↓

↑ : Plus élevé que l'adulte moyen; ↓ : Plus faible que l'adulte moyen; ↓↑ : Augmentation ou diminution selon la substance; I : Données insuffisantes pour trancher ou aucune différence confirmée à ce jour.

1 : Clewell *et al.*, 2002

2 : Krauer *et al.*, 1980; Mattison, 1990; Faustman et Ribeiro, 1990; et Mattison *et al.*, 1991

3 : Sauf dans le cas des sulfotransférases, qui semblent plus élevées chez les enfants que l'adulte.

4 : Sur la base de la filtration glomérulaire et de la sécrétion tubulaire.

La variabilité interindividuelle pharmacocinétique (ou toxicocinétique) peut être conçue comme étant une variabilité humaine dans chacune des étapes du processus d'ADME (Bois *et al.*, 2010). Plusieurs études aussi bien expérimentales que de modélisation l'ont investiguée, et sont décrites ci-après.

1.2.3.1 Les études expérimentales

Les études expérimentales de la variabilité pharmacocinétique interindividuelle sont plus fréquentes dans le domaine de la pharmacologie et ceci pour prédire l'efficacité de nouveaux médicaments. Elles procèdent souvent de l'approche "pharmacocinétique des populations" ("population pharmacokinetics" ou PPK en anglais) (Kato *et al.*, 2010) lors d'essais cliniques, mais aussi des essais en laboratoires (Gomez-Lechon *et al.*, 2007). Toutefois, la variabilité la plus décrite est celle métabolique qui a été, souvent, expliquée par le polymorphisme génétique humain relatifs à plusieurs enzymes impliquées dans les réactions de biotransformation des xénobiotiques (Vesell et Page, 1968 ; Renwick *et al.*, 1993 ; Renwick et Lazarus, 1998 ; Dorne *et al.*, 2002 ; Dorne *et al.*, 2003a ; 2005 ; Prasad *et al.*, 2013 ; Martiny et Miteva, 2013 ; Zanger et Schwab, 2013 ; Rowland *et al.*, 2013). Mais des différences interindividuelles largement monomorphiques ont été aussi rapportées pour certaines enzymes (CYP2E1, CYP1A2, CYP3A4, enzymes de glucuronidation, de sulfatation) (Dorne *et al.*, 2001a ; 2001b ; 2003b ; 2004a ; 2004b ; 2005 ; Abass *et al.*, 2014).

Aussi, des chercheurs mettent-ils l'accent sur le rôle de l'âge, du sexe, du poids corporel et de l'ethnie en ce qui concerne la variabilité de la cinétique d'une substance chimique (Dorne *et al.*, 2001a ; 2001b ; 2002 ; 2003a ; 2003b ; 2004a ; 2004b ; 2005 ; 2007 ; Wolbold *et al.*, 2003 ; Kato *et al.*, 2010). Par ailleurs, des études expérimentales font état de facteurs non génétiques ou environnementaux de la variabilité pharmacocinétique interindividuelle, à savoir : le tabagisme (inducteur de CYP1A), la consommation de jus de pamplemousse (inhibiteur de CYP3A), la co-exposition de l'alcool à d'autres substrats (inducteur de CYP2E1), les maladies de foie ou de reins (Zevin et Benowitz, 1999 ; Rasmussen *et al.*, 2002 ; Parkinson *et al.*, 2004 ; Sica, 2006 ; Gomez-Lechon *et al.*, 2007 ; Kato *et al.*, 2010). Les exemples du tabagisme, du jus de pamplemousse et de l'alcoolisme posent le problème de l'impact de la co-exposition à des substances chimiques sur la variabilité de la pharmacocinétique, même si les études expérimentales sont rares sur ce sujet.

1.2.3.2 Les études de modélisation de la variabilité toxicocinétique

L'idée principale qui sous-tend la modélisation de la variabilité toxicocinétique est le fait que l'hétérogénéité de la population humaine est déterminée par des différences interindividuelles dans la physiologie, la biochimie et la biologie moléculaire (Gentry et Clewell III, 2007). Ces différences peuvent résulter en des variations interindividuelles de doses internes chez l'humain (suite à une exposition chimique environnementale) ou d'effets du contaminant chimique sur l'organisme (induit par une dose tissulaire donnée). En effet, en modélisation TCBP, les paramètres d'entrée du modèle expriment des réalités physiologiques et biologiques directes des individus. Ce qui peut permettre à ce modèle de rendre compte de l'impact des différences observables entre individus dans divers facteurs reliés à ces réalités sur la variabilité des mesures de doses internes ou des réponses de l'organisme en évaluation du risque d'un contaminant chimique (Gentry et Clewell III, 2007 ; Fisher *et al.*, 2020). Les paramètres spécifiques à ce dernier (utilisés dans un modèle TCBP) sont, par ailleurs, souvent porteurs d'incertitudes qui peuvent aussi avoir des répercussions sur les prédictions du modèle (Huizer *et al.*, 2012). Plusieurs études de modélisation TCBP ont essayé d'illustrer la variabilité toxicocinétique, soit par des descriptions déterministes ou par des simulations stochastiques (comme celles de Monte Carlo). Ces deux approches de prédiction de la variabilité interindividuelle pouvant être combinées dans un même modèle TCBP (Clewell 3rd et Andersen, 1996 ; Clewell *et al.*, 2004 ; Edginton *et al.*, 2006 ; Willmann *et al.*, 2007 ; Willmann *et al.*, 2009 ; Bois *et al.*, 2010 ; Huizer *et al.*, 2012).

Approche déterministe de modélisation de la variabilité toxicocinétique

L'approche déterministe est généralement décrite avec les paramètres physiologiques du modèle TCBP. Le principe repose sur la simulation de la variabilité toxicocinétique en intégrant ces paramètres (ex. : volumes tissulaires, contenu du foie en CYP2E1, débits sanguins allant aux tissus, débits cardiaques et alvéolaires) dans le modèle sous forme de variables ou d'équations traduisant leur dépendance de différents facteurs (ou déterminants) comme l'âge, le sexe, le poids corporel ou la taille des individus. La plupart de ces variables (ou équations) peuvent être obtenues (ou définies à partir de données

extraites) de la littérature (Brown *et al.*, 1997 ; Price *et al.*, 2003a ; Price *et al.*, 2003b ; Bjorkman, 2005 ; Haddad *et al.*, 2001b ; 2006 ; Nong *et al.*, 2006 ; Valcke et Krishnan, 2011b). Cette approche permet de simuler directement la variabilité toxicocinétique interindividuelle d'un xénobiotique sans avoir recours à des simulations de Monte Carlo.

Approche probabiliste de modélisation de la variabilité toxicocinétique

L'approche probabiliste de la modélisation TCBP consiste à utiliser un modèle TCBP couplé à des simulations de Monte Carlo (voir Figure 1.4). Les simulations de Monte Carlo permettent de prendre en compte le hasard dans un processus déterministe ou de résoudre un problème déterministe de manière probabiliste (Harrison *et al.*, 2010). Elles peuvent être directement conduites grâce à des fonctions présentes dans certains logiciels informatiques (ex. : ACSL) utilisés pour les modélisations TCBP. En les appliquant pour simuler la variabilité physiologique de la toxicocinétique avec un tel modèle, elles sont généralement fondées sur le fait que pour une valeur donnée d'un facteur déterminant (ex. : âge, poids corporel, taille ou sexe), les paramètres physiologiques peuvent aussi se distribuer de façon probabiliste. La variabilité spécifique à chaque paramètre physiologique d'entrée du modèle y est donc introduite sous forme de fonction de densité de probabilité (FDP) pouvant être spécifiée en fonction de distribution de valeurs retrouvées dans des bases de données (Bois *et al.*, 2010 ; Huizer *et al.*, 2012). Toutefois, la variabilité toxicocinétique peut être aussi le fait d'une incertitude sur la valeur utilisée pour un paramètre physiologique du modèle. Dans ce cas aussi, les simulations de Monte Carlo peuvent permettre de prendre en compte l'impact de cette incertitude sur la prédiction du modèle si des informations sur la FDP relative à l'incertitude en question est disponible.

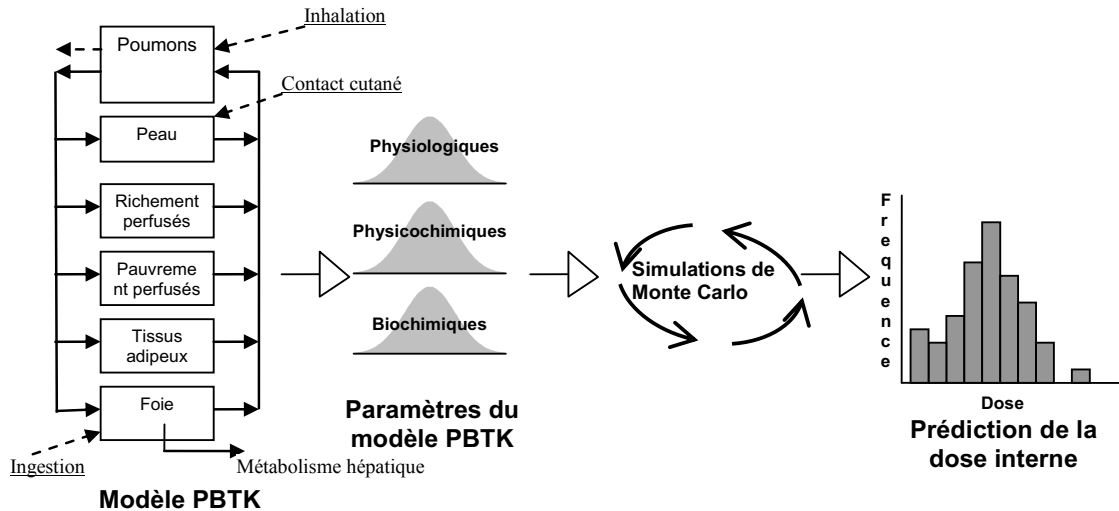


Figure 1.4 : Schéma illustrant la modélisation PBPK multivoies probabiliste de Monte Carlo

Les simulations de Monte Carlo peuvent, par ailleurs, être couplées à un modèle TCBP pour simuler la variabilité toxicocinétique induite par les paramètres spécifiques au composé chimique étudié (ex. : coefficients de partage, vitesse maximale (V_{max}) et constante de métabolisme (K_m)) (Huizer *et al.*, 2012). Il suffit de disposer, comme pour les paramètres physiologiques, de FDPs sur la variabilité ou l'incertitude associée aux paramètres physicochimiques ou biochimiques concernés. Le modèle TCBP probabiliste peut finalement permettre de rendre compte de la variabilité toxicocinétique dépendante à la fois de ses paramètres physiologiques d'entrée et de ceux spécifiques au produit chimique dont la cinétique est modélisée (Huizer *et al.*, 2012). Il y a même possibilité d'exécuter des simulations de Monte Carlo en deux dimensions (MC 2D) en analyse quantitative de risque (Pouillot *et al.*, 2016). Une simulation de Monte-Carlo bidimensionnelle est une simulation de Monte-Carlo au cours de laquelle les distributions reflétant la variabilité (sur les paramètres d'entrée du modèle) et celles représentant l'incertitude (sur ces paramètres) sont prises en compte séparément dans la simulation, de sorte que la variabilité et l'incertitude sur la prédiction du modèle puissent être évaluées séparément (Cullen et Frey, 1999 ; Pouillot *et al.*, 2016). Peu importe si l'origine de la variabilité ou de l'incertitude concerne uniquement sur des paramètres physiologiques,

uniquement sur des paramètres spécifiques au composé chimique ou bien ces deux types de paramètres.

À chaque analyse Monte Carlo, mille simulations (ou itérations) peuvent suffire à décrire la variabilité sur l'estimation (ou la prédiction) du modèle (Robinson *et al.*, 2007 ; Harrison *et al.*, 2010). Cette variabilité sur la prédiction (ou paramètre de sortie) du modèle peut être résumée par des statistiques descriptives de la distribution de ladite prédiction, à savoir sa moyenne arithmétique ou géométrique (avec sa déviation standard arithmétique ou géométrique) et les valeurs de ses centiles 50, 90 et 95. Si des distributions du même paramètre de sortie ont été simulées pour différentes sous-populations (d'âges différents par exemple), une variabilité interindividuelle (c'est-à-dire entre individus appartenant à ces différentes sous-populations) peut être exprimée sous forme de ratio. Ce ratio peut être calculé comme étant le rapport du centile 95 (ou 99) de la distribution du paramètre de sortie (considéré) obtenue chez la sous-population considérée comme particulière (ou vulnérable) au centile 50 de la distribution du même paramètre de sortie obtenue chez la sous-population considérée comme normale (ou de référence) (Clewell 3rd et Andersen, 1996 ; Pelekis *et al.*, 2003 ; Meek *et al.*, 2002 ; WHO/IPCS, 2005 ; Nong *et al.*, 2006 ; Nong et Krishnan, 2007 ; Valcke et Krishnan, 2010 ; Valcke *et al.*, 2012 ; Valcke et Haddad, 2015).

Plusieurs études de modélisation cinétique (à l'état stationnaire ou au moyen de modèles TCBP) ont procédé de l'approche probabiliste seule ou combinée à celle déterministe pour décrire la variabilité toxicocinétique d'un composé chimique à l'intérieur de l'humain. L'étude de Nong et Krishnan (2007) qui a utilisé un algorithme dérivé du modèle TCBP représente un exemple d'étude de modélisation toxicocinétique probabiliste à l'état stationnaire. Des études de modélisations TCBP à une seule voie ou multivoies, couplées aux méthodes Monte Carlo ont permis d'illustrer la variabilité métabolique populationnelle (Clewell *et al.*, 1999 ; Timchalk *et al.*, 2002 ; Pelekis *et al.*, 2003 ; Nong *et al.*, 2006 ; Gentry et Clewell, 2007 ; Walker *et al.*, 2007 ; Tan *et al.*, 2007 ; Krishnan et Andersen, 2008). Elles peuvent permettre de comprendre que la variabilité populationnelle de la

toxicocinétique correspond aussi à une variabilité interindividuelle dans les doses internes de la substance concernée (Clewel 3rd et Andersen, 1996 ; Nestorov, 2001 ; Jamei *et al.*, 2009 ; Valcke et Krishnan, 2010 ; 2013). Elle peut même se traduire dans les doses absorbées de cette substance (Valcke et Krishnan, 2010), la dose absorbée correspondant à la dose de substance-mère qui passe à travers les membranes biologiques. Un aspect intéressant de l'étude de Valcke et Krishnan (2010) concerne l'évaluation de la variabilité interindividuelle dans les doses absorbées et internes, ainsi que dans les volumes équivalents d'eau ingérée (exprimés en litres-équivalents ou LEQ) chez diverses sous-populations (nouveaux-nés, enfants, adultes, aînés et femmes enceintes) exposées à des contaminants chimiques de l'eau potable. La notion de « litre équivalent » (LEQ) (Haddad *et al.*, 2006 ; Krishnan et Carrier, 2008 ; Valcke et Krishnan, 2010) réfère à la quantité d'eau à ingérer qui résulterait en une dose de contaminant qui soit équivalente à celle correspondant à l'exposition multivoies. Elle intervient lors de la détermination des normes pour les contaminants chimiques de l'eau potable et permet de prendre en compte le fait que, pour certaines substances lipophiles et volatiles, l'usage d'une eau contaminée à des fins d'hygiène personnelle ou d'activités domestiques peut résulter en une exposition dite « multivoies » (voies orale, respiratoire et cutanée).

Les modèles TCBP probabilistes ont aussi permis de réaliser des études portant sur le facteur humain d'ajustement cinétique (en anglais : Human Kinetic Adjustment Facteur ou HKAF), pour des objectifs de comparaisons (Valcke *et al.*, 2012 ; Valcke et Krishnan, 2013 ; 2014). Il s'agit en fait d'études sur la composante toxicocinétique de la variabilité interindividuelle à prendre en compte lors de l'établissement des normes pour les contaminants environnementaux, fixée à $\sqrt{10}$ (WHO/IPCS, 2005). Il ressort de ces études que ce facteur (HKAF) peut dépendre des voies d'exposition, des propriétés physicochimiques et biochimiques des contaminants chimiques, des durée et intensité d'exposition et même des différences entre enfants et adultes en ce qui concerne le premier passage hépatique des substances ingérées (Valcke et Krishnan, 2011a ; 2011b ; 2011c ; 2013). D'autres études de modélisations de la variabilité humaine des doses internes pouvant permettre le calcul de HKAF peuvent être citées (Pelekis *et al.*, 2001 ; Sarangapani

et al., 2003 ; Price *et al.*, 2003a ; 2003b ; Clewell *et al.*, 2004 ; Nong *et al.*, 2006 ; Walker *et al.*, 2007 ; Mörk et Johanson, 2010).

1.2.4 Dosimétrie inverse

Comme mentionné déjà plus haut, la dosimétrie inverse combine un modèle TCBP à des simulations de Monte Carlo et à des calculs statistiques (voir Figure 1.5) pour estimer une distribution de possibles expositions externes à un toxique de l'environnement à partir de sa mesure de biosurveillance (Clewell *et al.*, 2008 ; Tan *et al.*, 2007).

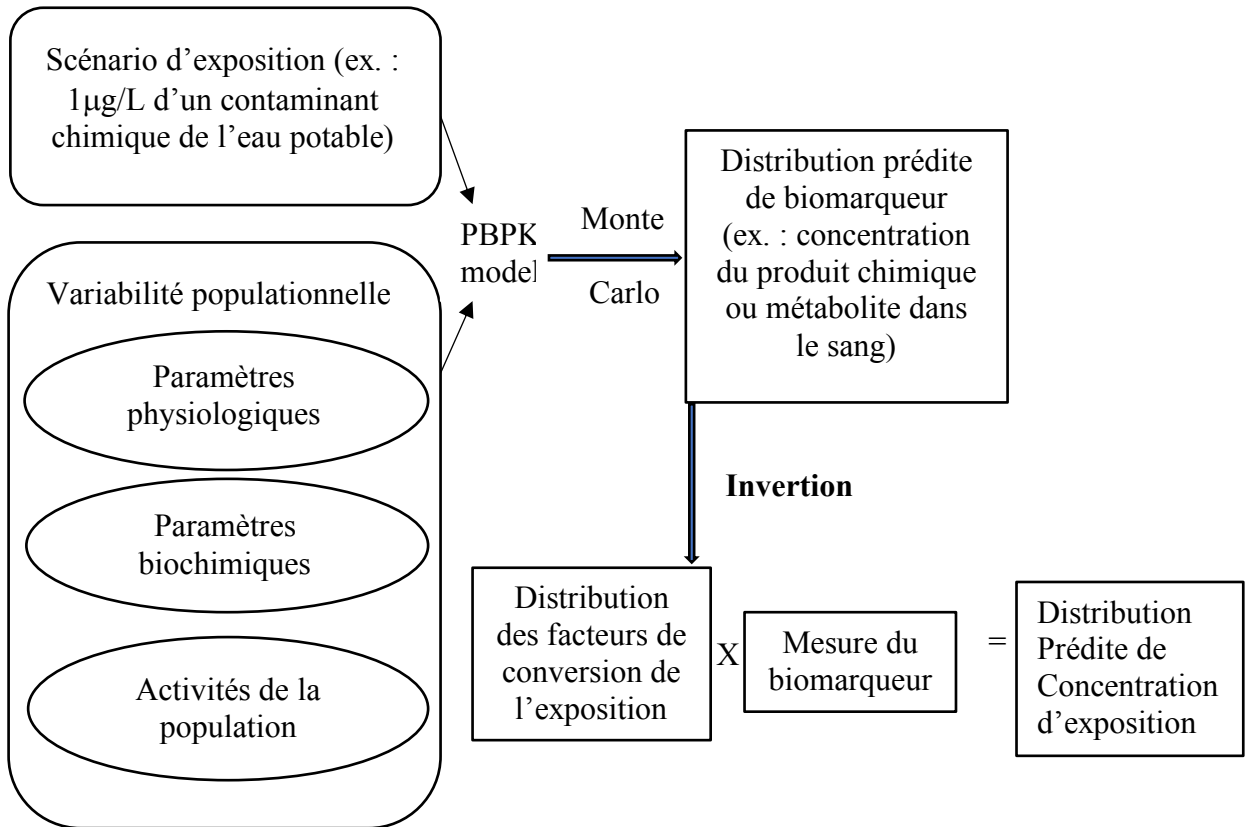


Figure 1.5 : Représentation schématique de la dosimétrie inverse utilisant un modèle TCBP et des simulations Monte Carlo.

Tan et al. (2007) ont décrit deux méthodes de dosimétrie inverse procédant de modélisation TCBP. Selon l'une de ces méthodes (aussi décrite par Clewell et al. (2008)), le modèle génère, grâce à des simulations de Monte Carlo, une distribution de niveaux de biomarqueurs à laquelle peut être associée une distribution de facteurs de conversion de l'exposition interne en exposition externe.

L'autre méthode suggérée par Tan *et al.* procède, en plus de simulations de Monte Carlo, de l'utilisation de la formule de Bayes (présentée ci-après) sur les probabilités conditionnelles:

$$P(Ce_i / Cb) = (P(Cb / Ce_i))P(Ce_i) / \sum (P(Cb / Ce_i))P(Ce_i), \text{ où :}$$

Ce_i est une concentration d'exposition externe simulée d'un contaminant chimique dans l'eau potable par exemple, Cb sa concentration prédite dans le sang après ingestion d'eau de concentration Ce_i , $P(Ce_i / Cb)$ la probabilité d'avoir une concentration Ce_i du contaminant chimique dans l'eau potable si la concentration sanguine prédite est Cb , $P(Cb/Ce_i)$ la probabilité d'obtenir une concentration sanguine prédite Cb si la concentration externe d'exposition simulée est Ce_i , $P(Ce_i)$ la probabilité d'avoir la concentration Ce_i du contaminant chimique dans l'eau potable, et $\sum (P(Cb / Ce_i))P(Ce_i)$ la somme de tous les produits $P(Cb / Ce_i)P(Ce_i)$ obtenus avec diverses concentrations externes simulées pour le même contaminant chimique dans l'eau.

Un exemple d'utilisation de la méthode bayésienne concerne la reconstitution de la concentration du chloroforme dans l'eau potable à partir de ses mesures sanguines (Tan *et al.*, 2006). L'exemple consiste à simuler à l'aide de modèle TCBP probabilistes multivoies des concentrations du chloroforme dans l'eau potable (concentrations externes) variant entre 1 ppb et 10^4 ppb (avec une augmentation géométrique de $10^{0,2}$), c'est-à-dire des concentrations de 10^0 ; $10^{0,2}$; $10^{0,4}$; ... et 10^4 . Pour chacune de ces concentrations externes, 1000 concentrations sanguines (Cb) seront générées par des simulations de Monte Carlo. Ces mille concentrations sanguines peuvent être réparties en plusieurs catégories, chacune ayant une variation de $10^{0,2}$; par exemple, des catégories de ($10^{-1,0}$ à $10^{-0,8}$), ($10^{-0,8}$ à $10^{-0,6}$),

..., (10^2 à $10^{2.2}$ pg/mL). Pour une concentration donnée de chloroforme dans l'eau potable, la valeur de $P(Cb/Ce)$ s'obtiendra en divisant le nombre de valeurs Cb de la distribution des 1000 concentrations sanguines comprises entre ($Cb/10^{0.2}$) et Cb par le nombre d'itérations (1000, ici). Ainsi la répétition de cette démarche conduit à générer une matrice dont les lignes représentent les concentrations d'eau simulées pour le chloroforme et les colonnes les catégories de concentrations sanguines (et donc à obtenir tous les $P(Cb/Ce)$). Cette matrice pourra alors être utilisée pour générer un vecteur de probabilité des concentrations d'eau pour chaque catégorie de concentration sanguine, c'est-à-dire $P(Ce/Cb)$, en utilisant la formule de Bayes énoncée ci-dessus. Ce vecteur de probabilité sera ensuite pondéré en utilisant des mesures de concentrations sanguines de chloroforme provenant d'une population, ceci afin d'estimer la distribution de concentrations d'eau en chloroforme à laquelle une telle population a été exposée.

L'étude de Tan *et al.* (2007), qui servira de base pour les travaux de dosimétrie inverse de la présente thèse, a pris en compte la possibilité d'une co-exposition multivoies aux contaminants de l'eau potable investigués (les trihalométhanes). La co-exposition multivoies simulée dans cette étude concerne les voies respiratoire, orale et cutanée (voir l'illustration d'un modèle TCBP multivoies probabiliste à la Figure 1.4). L'impact de la co-exposition chimique multivoies sur la variabilité toxicocinétique interindividuelle a été aussi considérée dans leur étude qui visait à interpréter des données de biosurveillance collectées chez des adultes et provenant de l'enquête américaine NHANES; mais il s'agissait de la variabilité entre des individus adultes de même poids corporel (70 kg).

1.2.5 Lacunes dans les écrits

La revue générale de la littérature ainsi effectuée fait état de quelques lacunes dans les écrits qu'il importe de souligner, notamment en ce qui concerne les études de modélisation sensées réduire certaines incertitudes liées aux études expérimentales. Une lacune concerne le fait qu'il n'y ait presque pas d'études de modélisation d'interactions chimiques qui considère l'exposition multivoies de l'environnement. Une autre lacune a trait à l'absence

de telles études qui prennent en compte la variabilité entre diverses sous-populations humaines (ex. : nourrissons, enfants et adultes). Enfin, une autre lacune qui mérite aussi d'être relevée est relative à l'absence d'approches permettant de relier les données de biosurveillance, de plus en plus disponibles pour des sous-groupes populationnels (ou même pour des individus) de différents âges, à des expositions chimiques extérieures qui peuvent témoigner ou qui peuvent être proches des réelles conditions d'exposition humaine dans l'environnement (co-expositions multivoies, différences entre niveaux d'exposition de diverses sous-populations humaines ou d'individus). Il n'y a donc pas d'études permettant de comparer de telles expositions chimiques extérieures aux normes existantes qui ont été, pour la plupart, établies à partir de données animales et pour des adultes humains en supposant une exposition singulière à chaque agent chimique.

1.3 Problématique de la recherche doctorale

De nos jours, dans le cadre de l'évaluation du risque à la santé résultant de l'exposition aux substances chimiques, il y a un intérêt de plus en plus noté en toxicologie pour les doses internes des agents chimiques prédites pour l'être humain grâce aux modèles toxicocinétiques. En effet, la dose interne est une dose proche de la dose "biologiquement efficace" dont la mesure reste encore un défi en toxicologie. Cette dose interne a pu être estimée pour différents contaminants chimiques de l'environnement (dont des COVs) par modélisation TCBP. Elle est aussi de plus en plus rendue disponible pour plusieurs polluants environnementaux grâce aux enquêtes nationales de santé.

Au Canada, par exemple, les préoccupations grandissantes de la population et des autorités en ce qui concerne les expositions environnementales aux polluants chimiques ont conduit depuis 2007 à une vaste enquête de santé, l'Enquête Canadienne sur les Mesures de Santé (ECMS), qui se déroule par cycle de 2 ans (cycle 1 : 2007-2009, cycle 2 : 2009-2011, cycle 3 : 2012-2013, cycle 4 : 2014-2015, etc) (Statistique Canada, 2019). L'ECMS permet d'obtenir, entre autres, des mesures de divers contaminants chimiques (dont des COVs)

dans des matrices biologiques (sang, urines, etc) chez des individus ou chez des sous-populations canadiennes d'âges différents. Il n'est pas superflu de rappeler ici que ces données de biosurveillance, recueillies par individu, résultent de co-expositions environnementales multivoies et indiquent une certaine variabilité interindividuelle dans la population étudiée. L'enquête canadienne vise désormais, non seulement à identifier les types de biomarqueurs et leur niveau dans le sang ou l'urine, mais aussi et surtout de rendre compte de l'ampleur de l'exposition chimique externe associée à l'aide de questionnaires portant sur les activités domestiques et les conditions de vie des canadiens investigués. Il s'agit là d'une estimation qualitative de l'exposition chimique externe qui laissera certainement des incertitudes sur la relation entre les réelles doses d'exposition externe et les mesures biologiques, des incertitudes qui vont se multiplier lorsque l'on considère la variabilité humaine de la physiologie et des styles de vie. Par ailleurs, pour interpréter les mesures de biosurveillance de l'ECMS, Santé Canada soutient le développement des valeurs-guides basées sur l'exposition interne (aux polluants chimiques environnementaux) dites "doses biologiquement équivalentes".

Cependant, une autre alternative intéressante d'évaluation du risque toxicologique pour certains COVs retrouvés dans les matrices biologiques des personnes enquêtées lors de l'ECMS peut être d'utiliser et d'améliorer les approches de dosimétrie inverse par modélisation TCBP décrites pour des adultes de 70 kg de poids corporel (en partant des mesures sanguines de composés parents de COV) par Tan *et al.* (2006 ; 2007) et Clewell *et al.* (2008). Ceci pour permettre la reconstitution directe de l'exposition chimique externe (ex. : concentration dans l'eau potable ou l'air inhalé) des sous-populations canadiennes (d'âges différents) ou même des individus examinés pendant l'ECMS. L'amélioration consistera, d'une part, à intégrer les variabilités physiologique (dépendante de l'âge, du poids corporel et de la taille, ou même du sexe) et physicochimique (liée aux coefficients de partage) de la toxicocinétique de chaque substance chimique dans des modèles TCBP probabilistes multivoies (voir Figure 1.4) ou à une seule voie (voie respiratoire) conçus et créés à cet effet. D'autre part, ces modèles pourront inclure éventuellement les interactions toxicocinétiques qui sont le témoin des co-expositions chimiques environnementales qui

sont à la base des mesures de biosurveillance effectuées. Ainsi, une approche raffinée de dosimétrie inverse par modélisation TCBP sera proposée pour l'évaluation du risque toxicologique de certains COVs, et pourrait porter soit sur des mesures biologiques du composé parent ou de métabolites. Il peut être aussi envisagé d'évaluer l'incertitude entourant les estimations d'exposition externe faites par dosimétrie inverse grâce à la modélisation TCBP en exploitant les mesures biologiques ponctuelles de contaminants chimiques provenant des enquêtes nationales de santé.

1.4 Objectifs de la recherche doctorale

1.4.1 Objectif général

L'objectif général de cette thèse est de développer des outils de modélisation TCBP pour mieux interpréter les données de biosurveillance des COVs à travers l'évaluation de l'exposition externe correspondante à ces données, en tenant compte des multiples voies d'exposition, de la variabilité interindividuelle et des co-expositions.

1.4.2 Objectifs spécifiques

1-Caractériser l'impact théorique des interactions chimiques résultant de co-expositions multivoies à des COVs (Trichloroéthylène-Chlorure de vinyle d'une part, et BTEX d'autre part) sur la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique des substances individuelles composant les mélanges concernés.

2-Proposer pour les sous-populations canadiennes d'âges différents investiguées dans le cadre du cycle 3 de l'ECMS (ECMS-3) une approche de dosimétrie inverse par modélisation TCBP en vue de permettre la reconstitution de leur exposition externe aux COVs (ex. : toluène) dont les mesures sanguines ont été obtenues lors de cette enquête, et ceci en prenant éventuellement en compte l'impact des interactions chimiques ci-dessus évoquées sur la variabilité toxicocinétique interindividuelle.

3-Mettre au point une approche de dosimétrie inverse par modélisation TCBP (qui prenne en compte l'impact ci-dessus mentionné) afin d'interpréter des données de biosurveillance de métabolites urinaires (ex. : BMA) de COVs (ex. : toluène) obtenues chez des individus canadiens (hommes ou femmes).

1.5 Organisation de la thèse

Cette thèse est organisée selon le format par articles. Trois articles en feront l'objet. La chronologie de présentation de ces derniers répond au respect de l'ordre des objectifs spécifiques poursuivis et décrits ci-haut. Ainsi, le **premier article** visait à caractériser l'impact théorique des interactions chimiques résultant de co-expositions chimiques multivoies sur la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique des composés organiques volatiles en se servant d'une étude de cas impliquant des mélanges binaire (Trichloroéthylène-Chlorure de vinyle) et quaternaire (BTEX) de COVs. Pour ce faire, la modélisation toxicocinétique à base physiologique (TCBP) probabiliste a été utilisée pour simuler la variabilité des doses internes du benzène, du trichloroéthylène et du chlorure de vinyle selon un scénario d'exposition simultanée à trois voies (voie orale (ajustée au poids corporel), inhalation et voie cutanée). Ce scénario a été simulé pour des adultes, des nourrissons (2-6 mois), de jeunes enfants (7 mois à 2 ans), des enfants de 2 à 10 ans et des adolescents de 11 à 17 ans.

Le **deuxième article** visait pour sa part à reconstituer l'exposition externe au toluène à partir de ses mesures de biosurveillance dans le sang rapportées par l'ECMS-3 chez quatre sous-populations canadiennes d'âges différents (12-19 ans, 20-39 ans, 40-59 ans et 60-79 ans). Pour chacune de ces sous-populations, un modèle TCBP a été construit puis couplé à des simulations de Monte Carlo et à des calculs de probabilité pour simuler des distributions de doses internes du toluène à partir des scénarios d'exposition par inhalation

variables en intensité et en durée. Ces distributions de doses internes du toluène ainsi obtenues ont permis de calculer des facteurs de conversion de l'exposition interne en exposition externe, pour enfin estimer des distributions de l'exposition au toluène dans l'air.

Quant au **troisième article**, il visait un exercice similaire à celui du deuxième article, mais cette fois-ci, la reconstitution de l'exposition externe au toluène a été faite pour des individus canadiens (et non plus pour des sous-populations canadiennes) à partir de données de biosurveillance rapportées par Santé Canada et portant sur le BMA urinaire (un métabolite du toluène) mesuré, pour chaque individu, sur différentes urines ponctuelles émises au cours d'une même journée et sur des urines de 24 h. Ce troisième article propose aussi une méthode d'évaluation de l'incertitude entourant les estimations d'exposition chimique externe faites par dosimétrie inverse grâce à la modélisation TCBP en exploitant les mesures biologiques ponctuelles de contaminants chimiques issues des enquêtes de santé.

Chapitre 2 - Méthodologie de la recherche doctorale

2. Méthodes d'études

Cette étude doctorale a reposé essentiellement sur la modélisation toxicocinétique (ou pharmacocinétique) à base physiologique et comporte trois séries différentes de travaux ayant conduit chacune à la production d'un article scientifique. La première série de travaux (résumée par l'Article 1 au Chapitre 3) a permis de construire des modèles TCBP qui intègrent des interactions chimiques (pour deux différents mélanges de COVs) et l'exposition multivoies (inhalation, ingestion et contact cutané) pour des sous-populations humaines d'âges différents. Les deux autres séries consécutives de travaux présentées respectivement à l'Article 2 (Chapitre 4) et à l'Article 3 (Chapitre 5) comportent la construction de simples modèles TCBP d'inhalation pour le toluène et le développement d'approches de dosimétrie inverse pour des sous-populations Canadiennes investiguées lors de l'ECMS-3 ou pour des individus adultes Canadiens.

2.1 Choix des substances, sous-populations ou individus à l'étude

2.1.1 Substances à l'étude

La recherche doctorale a porté sur les contaminants chimiques environnementaux présentés dans le Tableau 2-1. Pour l'article 1, deux mélanges chimiques ont été étudiés : d'une part un mélange composé de benzène, de toluène, d'éthylbenzène et de m-xylène (BTEX), et un mélange de trichloroéthylène et de chlorure de vinyle d'autre part. Il s'agit de composés organiques volatils, donc pouvant être simultanément présents dans divers médias (ex. : air, eau), et pouvant faire l'objet de co-expositions multivoies. Ils ont été sélectionnés sur la base de la disponibilité d'informations dans la littérature relatives à leur absorption (orale, par inhalation et cutanée), et surtout celles requises pour réaliser les modélisations envisagées. En effet, les laboratoires informatiques impliquées dans cette thèse à l'Université de Montréal et à l'Institut National de Santé Publique du Québec disposent (ou peuvent avoir accès à) des informations nécessaires à ces modélisations. Pour l'Article 2, le toluène a été retenu car c'est le composé dont des niveaux sanguins ont été souvent détectés dans les données sur la population recueillies au cours de l'ECMS-3 (2012-2013) et ses niveaux sanguins étaient nettement plus élevés que ceux des autres composés.

L'Article 3 a reposé sur ce même composé en raison de ce que des mesures urinaires individuelles d'un de ses métabolites (l'acide S-benzylmercapturique) étaient accessibles pour être exploitées afin d'approfondir son étude amorcée à l'Article 2. À ce jour, aucun outil quantitatif n'existe pour relier l'exposition externe au toluène à ce métabolite urinaire, bien que l'utilisation d'un biomarqueur urinaire soit plus facile et moins invasif. De surcroît, le toluène est un composé dont les données nécessaires pour les modélisations prévues dans la présente recherche étaient accessibles.

Tableau 2-1 : Substances chimiques objet de la recherche

Propriétés physicochimiques	Substances	Principales enzymes de biotransformation
<u>Lipophiles</u> <i>Volatiles</i>	Benzène, toluène, éthylbenzène, m-xylène Trichloroéthylène Chlorure de vinyle	CYP2E1 CYP2E1, GST CYP2E1

2.1.2 Sous-populations ou individus étudié(e)s

Les trois séries de travaux qui sous-tendent la présente thèse et qui ont conduit respectivement à la rédaction de l'Article 1, de l'Article 2 et de l'Article 3 ont exploité les données de sous-populations ou d'individus d'âges variés. Les sous-populations considérées dans l'Article 1 sont celles âgées de 0 à 6 mois, 7 à 24 mois, 2 à 10 ans, 11 à 17 ans et 18 à 64 ans. Ces groupes d'âge ont été retenus pour tenter de couvrir une part importante de la durée de vie humaine susceptible de variabilité, ce qui peut permettre d'avoir de larges informations résultant des travaux concernés qui portent sur l'impact des interactions chimiques sur la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique. Ce choix a été fait en s'inspirant des travaux de Nong *et al.* (2006 ; 2007), Valcke et Krishnan (2010 ; 2011a; 2011b ; 2011c ; 2013 ; 2014) et Valecke et Haddad (2015).

Les sous-groupes d'âge populationnels investigués dans l'Article 2 sont ceux de: 12-19, 20-39, 40-59 et 60-79 ans. Il s'agit des sous-populations Canadiennes dont les données de biosurveillance du toluène ont été recueillies lors de l'ECMS-3.

L'Article 3 a porté sur six individus adultes âgés de 30 à 50 ans. Ce sont des hommes et des femmes pour lesquels Santé Canada disposaient des mesures urinaires d'acide S-benzylmercapturique (un métabolite du toluène) par individu. Ces données étaient accessibles pour les travaux de modélisation en lien avec cet article.

2.2 Modélisation toxicocinétique à base physiologique

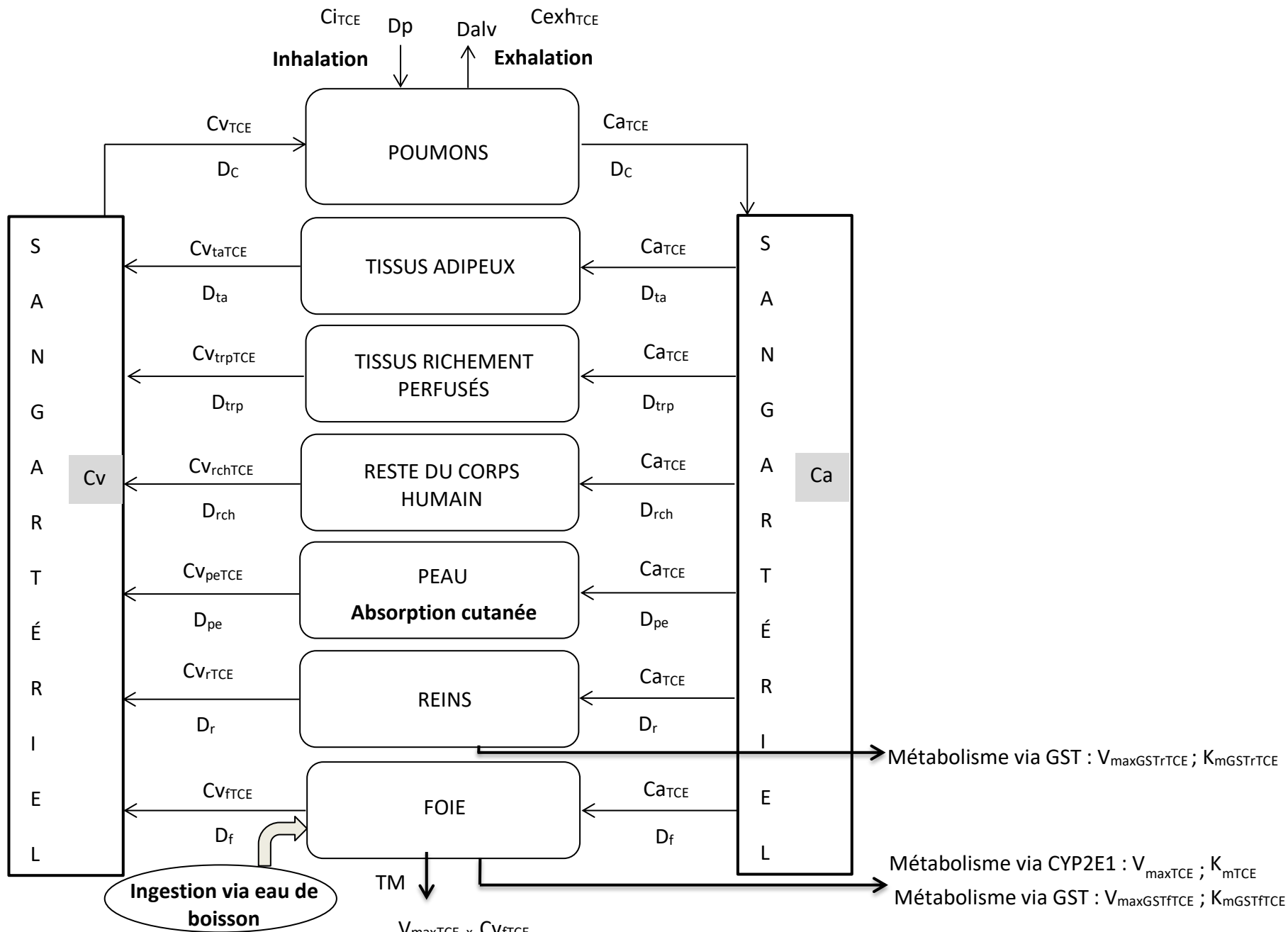
2.2.1 Modèles TCBP multivoies pour mélanges

Les modèles TCBP multivoies pour mélanges ont été utilisés dans le cadre des travaux ayant permis la production de l'Article 1. L'objectif de ces travaux étant d'étudier l'impact des interactions résultant de co-expositions chimiques multivoies sur la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique des composés organiques volatils. Ceci en vue d'en tenir compte éventuellement dans l'interprétation des mesures de biosurveillance humaine relatives à ces composés.

Pour obtenir les modèles TCBP multivoies pour les mélanges à l'étude (BTEX et TCE-CV), des modèles TCBP simples multivoies ont d'abord été construits pour chacune des substances individuelles de ces mélanges à l'aide du logiciel ACSL®, version 3.0.2.1. L'approche de modélisation de Haddad *et al.* (2006) a inspiré la construction de ces modèles simples, puisque leurs modèles ont été développés afin de simuler l'exposition simultanée par inhalation, ingestion et contact cutanée à certains COVs. Ce sont ces mêmes voies d'exposition qui ont été retenues pour les travaux de l'Article 1. Les modèles simples multivoies de Haddad *et al.* (2006) étaient à cinq compartiments (tissus adipeux, tissus richement perfusés, tissus pauvrement perfusés, peau et foie). La Figure 2.1 ci-dessous

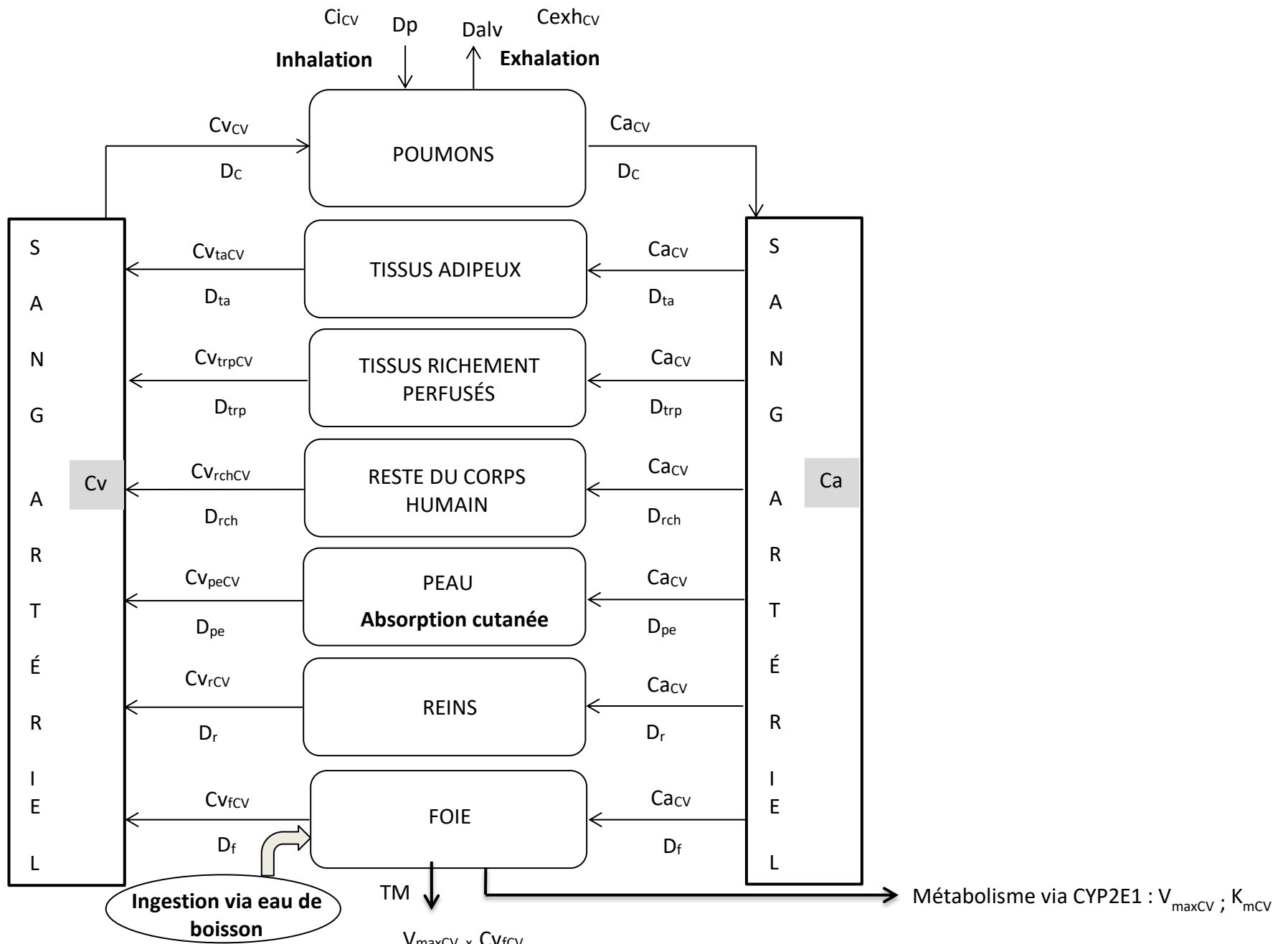
indique une représentation conceptuelle du modèle simple multivoies construit pour le trichloroéthylène (TCE) dans la présente étude ; celui du chlorure de vinyle (CV) est aussi illustré à la Figure 2.2. Le modèle du trichloroéthylène ainsi mis au point a incorporé, en plus des autres compartiments décrits dans Haddad *et al.*, un compartiment rénal pour prendre en compte le métabolisme de ce composé qui se déroule via la Glutathion-S-transférase (GST) dans les reins, celui se déroulant dans le foie étant également pris en compte dans ce modèle. Pour le chlorure de vinyle, le métabolisme impliquant les enzymes CYP2E1 dans le foie a été modélisé.

Toutes les données (physiologiques, physicochimiques et biochimiques) nécessaires à la construction des modèles simples multivoies lors de ces travaux (voir Article 1) ont été obtenues de la littérature. Les variabilités physiologique et physicochimique (liée aux coefficients de partage) ont été intégrées aux modèles construits (voir détails dans les sections 2.2.3 et 2.2.4 un peu plus loin).



$$TM = \frac{V_{maxTCE} \times C_{vftTCE}}{K_{mTCE} + C_{vftTCE}}$$

Figure 2.1 : Représentation conceptuelle du modèle TCBP multivoies (inhalation, ingestion et contact cutané) du trichloroéthylène (TCE). C_a , C_{exh} , C_i et C_v réfèrent respectivement à la concentration sanguine artérielle, concentration exhalée, concentration inhalée et concentration sanguine veineuse. C_{vi} et D_i réfèrent respectivement aux concentrations veineuses quittant les tissus et débits sanguins arrivant aux tissus (c'est-à-dire, ta : tissus adipeux, trp : tissus richement perfusés, rch : reste du corps humain, pe : peau, r : reins, et f : foie). D_{alv} , D_c et D_p sont respectivement les débits alvéolaire, cardiaque et pulmonaire. GST : Glutathion-S-transférase. TM est le taux de métabolisme du TCE par les enzymes CYP2E1 dans le foie, V_{max} la vitesse maximale de ce métabolisme et K_m la constante de métabolisme. $V_{maxGSTfTCE}$ et $K_{mGSTfTCE}$ sont respectivement la vitesse maximale de métabolisme du TCE par la GST et la constante de ce métabolisme dans le foie ; $V_{maxGSTrTCE}$ et $K_{mGSTrTCE}$ leurs correspondantes dans les reins.



$$TM = \frac{V_{maxCV} \times C_{vfcv}}{K_{mCV} + C_{vfcv}}$$

Figure 2.2 : Représentation conceptuelle du modèle TCBP multivoies (inhalation, ingestion et contact cutané) du chlorure de vinyle (CV). C_a , C_{exh} , C_i et C_v réfèrent respectivement à la concentration sanguine artérielle, concentration exhalée, concentration inhalée et concentration sanguine veineuse. C_{vi} et D_i réfèrent respectivement aux concentrations veineuses quittant les tissus et débits sanguins arrivant aux tissus (c'est-à-dire, ta : tissus adipeux, trp : tissus richement perfusés, rch : reste du corps humain, pe : peau, r : reins, et f : foie). D_{alv} , D_c et D_p sont respectivement les débits alvéolaire, cardiaque et pulmonaire. TM est le taux de métabolisme du CV par les enzymes CYP2E1 dans le foie, V_{max} la vitesse maximale de ce métabolisme et K_m la constante de métabolisme.

En ce qui concerne les modèles TCBP multivoies d'interaction, ils ont été finalement obtenus en reliant au niveau du foie, pour chaque mélange, tous les modèles TCBP simples multivoies construits pour les substances individuelles, et ceci sur la base du mécanisme des interactions chimiques binaires (Haddad *et al.*, 1999 ; 2001a ; Krishnan *et al.*, 2002 ; Krishnan et Andersen, 2010 ; Valcke et Haddad 2015). Cela s'est traduit par l'ajout de termes d'inhibition variés aux équations métaboliques reliées au compartiment hépatique, c'est-à-dire aux équations exprimant les taux de métabolisme (voir Figure 2.3 ci-dessous pour le cas du mélange TCE-CV).

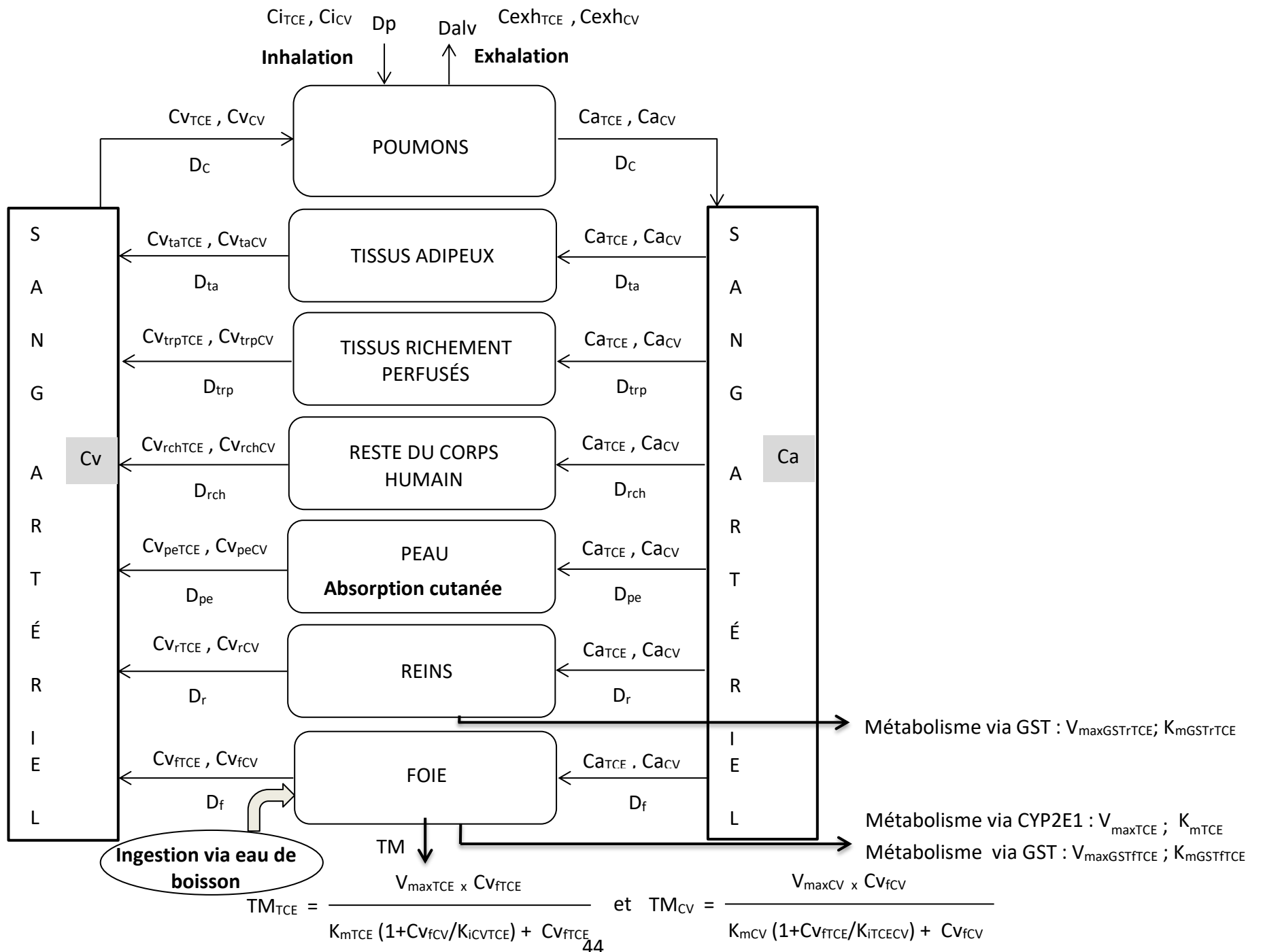


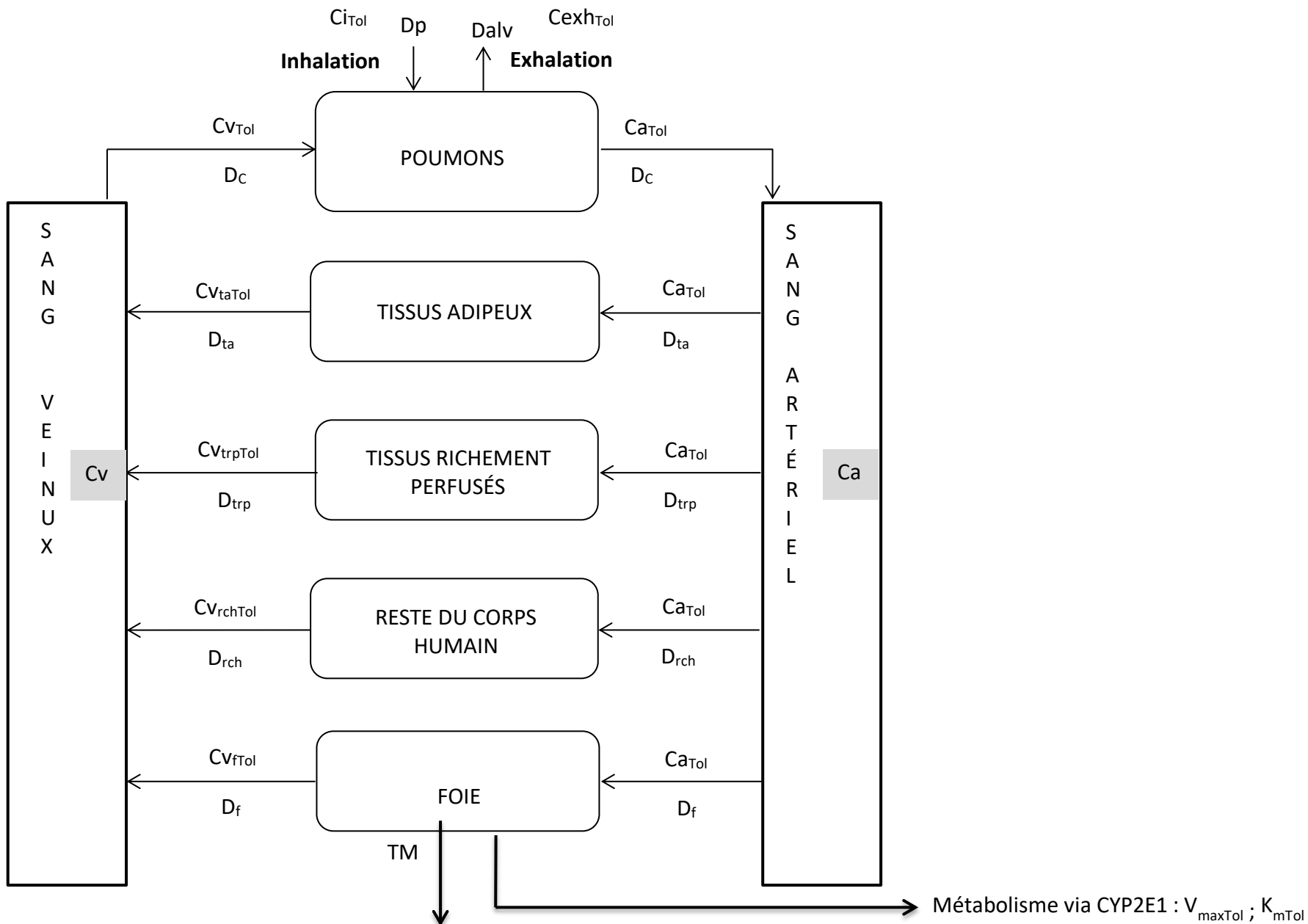
Figure 2.3 : Représentation conceptuelle du modèle TCBP multivoies (inhalation, ingestion et contact cutané) d'interaction pour le mélange constitué de trichloroéthylène (TCE) et chlorure de vinyle (CV), TCE-CV. C_a , C_{exh} , C_i et C_v réfèrent respectivement aux concentration sanguine artérielle, concentration exhalée, concentration inhalée et concentration sanguine veineuse. C_{vi} et D_i réfèrent respectivement aux concentrations veineuses quittant les tissus et débits sanguins arrivant aux tissus (c'est-à-dire, ta : tissus adipeux, trp : tissus richement perfusés, rch : reste du corps humain, pe : peau, r : reins, et f : foie). D_{alv} , D_c et D_p sont respectivement les débits alvéolaire, cardiaque et pulmonaire. GST : Glutathion-S-transférase. TM est le taux de métabolisme de chaque substance du mélange par les enzymes CYP2E1 dans le foie (TM_{TCE} pour le trichloroéthylène et TM_{CV} pour le chlorure de vinyle), V_{max} la vitesse maximale de ce métabolisme (V_{maxTCE} pour le trichloroéthylène et V_{maxCV} pour le chlorure de vinyle), K_m la constante de ce métabolisme (K_{mTCE} pour le trichloroéthylène et K_{mCV} pour le chlorure de vinyle), et K_i la constance d'inhibition de ce métabolisme (K_{iCVTCE} : constante d'inhibition du métabolisme du trichloroéthylène par le chlorure de vinyle ainsi considéré comme inhibiteur, K_{iTCECV} : constante d'inhibition du chlorure de vinyle par le trichloroéthylène ainsi considéré comme inhibiteur).

2.2.2 Modèles TCBP simples pour inhalation du toluène

Ces modèles ont été utilisés dans le cadre de la deuxième et de la troisième série de travaux ayant respectivement permis la production de l'Article 2 et l'Article 3. Le modèle pour inhalation a été retenu car, selon les rapports actuels de Santé Canada, l'exposition de la population au toluène résulte souvent de la pollution de l'air. Ces séries de travaux ont, par ailleurs, tenu compte d'une observation faite dans l'Article 1 de cette thèse (ayant porté sur des co-expositions multivoies) et antérieurement dans l'étude de Valcke et Haddad (2015). Selon ce résultat d'étude, lorsque des concentrations environnementales comme celles généralement expérimentées par la population (et qui sont des concentrations faibles) sont simulées pour des mélanges de COVs, il n'y a d'impact des co-expositions sur la variabilité toxicocinétique des substances individuelles. Ceci justifie donc le choix des modèles simples du toluène (c'est-à-dire, sans interaction chimique avec d'autres potentiels COVs de l'air tels le benzène, l'éthylbenzène ou le xylène par exemple).

La Figure 2.4 ci-après est une représentation schématique du modèle TCBP simple pour inhalation conçu dans le cadre des travaux pour l'Article 1 et l'Article 2. Il s'agit d'un modèle à 5 compartiments construit pour chaque sous-population ou individu à l'étude grâce au logiciel ACSL®, version 3.0.2.1. Lors des travaux pour l'Article 2, il a été développé en s'inspirant de celui de Haddad *et al.* (1996) réalisé pour simuler la toxicocinétique du styrène suite à une exposition par inhalation. Pour les travaux de l'Article 3, il a été inspiré de celui de Marchand *et al.* (2015) proposé et validé pour l'étude de l'excrétion urinaire de l'o-crésol après une exposition par inhalation au toluène. Pour pouvoir simuler des données de cinétique urinaire de l'acide S-benzylmercapturique (ou BMA, le métabolite du toluène investigué ici) à partir des nouveaux modèles mis au point pour l'excrétion urinaire d'o-crésol, l'étude d'Inoue *et al.* (2004) a été exploitée. En effet, cette étude présente des données cinétiques pour ces deux biomarqueurs urinaires du toluène résultant de l'exposition par inhalation d'individus humains adultes à de faibles concentrations de ce produit chimique. Un ratio BMA/O-crésol a alors pu être défini par interpolation linéaire (à partir de ces données) et intégré aux nouveaux modèles (voir Article 3 au Chapitre 5).

Tous les paramètres (physiologiques, physicochimiques, biochimiques) nécessaires pour construire les modèles lors des travaux en vue de l'Article 2 et de l'Article 3 ont été aussi obtenus de la littérature (confère ces articles). Les variabilités physiologique et physicochimique (liée aux coefficients de partage) ont été ici aussi intégrées dans tous ces modèles construits, à l'instar de ceux utilisés lors des travaux en vue de l'Article 1 (voir détails dans les sections 2.2.3 et 2.2.4 qui suivront). Les données des sous-populations de L'ECMS-3 (investiguées dans l'Article 2) ou des individus (sujets d'étude de l'Article 3) utiles aux modélisations ont été directement obtenues de Santé Canada.



$$TM = \frac{V_{maxToI} \times CV_{ftToI}}{K_{mToI} + CV_{ftToI}}$$

Figure 2.4 : Représentation conceptuelle du modèle TCBP simple pour exposition par inhalation au toluène (Tol). C_a , C_{exh} , C_i et C_v réfèrent respectivement à la concentration sanguine artérielle, concentration exhalée, concentration inhalée et concentration sanguine veineuse. C_{vi} et D_i réfèrent respectivement aux concentrations veineuses quittant les tissus et débits sanguins arrivant aux tissus (c'est-à-dire, ta : tissus adipeux, trp : tissus richement perfusés, rch : reste du corps humain et f : foie). D_{alv} , D_c et D_p sont respectivement les débits alvéolaire, cardiaque et pulmonaire. TM est le taux de métabolisme du Tol par les enzymes CYP2E1 dans le foie, V_{maxTol} la vitesse maximale de ce métabolisme et K_{mTol} la constante de métabolisme.

2.2.3 Approche déterministe d'expression des paramètres physiologiques

Lors de la construction de tous les modèles utilisés dans cette thèse, l'approche déterministe de la variabilité physiologique de la toxicocinétique suggérée par plusieurs études a été utilisée (Haddad *et al.*, 2006 ; Brown *et al.*, 1997 ; Price *et al.*, 2003b ; Valcke et Krishnan, 2011a ; 2001c ; Price *et al.*, 2003a ; Haddad *et al.*, 2001b ; Bjorkman, 2005). Cela a consisté à intégrer dans ces modèles des équations qui décrivent les paramètres physiologiques (volumes tissulaires et débits sanguins) comme étant fonction de caractéristiques anthropométriques et/ou morphologiques (âge, poids corporel ou taille). Nos modèles ont permis de calculer les paramètres physiologiques à partir de l'âge et des distributions corrélées de poids et de taille (avec un r de Pearson égal à 60%) conformément à la distribution du BMI dans la population canadienne (Valcke et Krishnan, 2011a ; 2011c). L'approche ainsi utilisée permettrait de s'assurer que des combinaisons irréalistes de valeurs ne se produiront pas lors de simulations de Monte Carlo, un point important pour l'étude de la variabilité des doses internes.

Des termes de variabilité (voir Article 1, Article 2 et Article 3), lorsqu'ils existent dans la littérature, ont été aussi ajoutés comme multiplicateurs des équations exprimant certains paramètres physiologiques des modèles (débit cardiaque, taux de ventilation alvéolaire, volume hépatique, débit sanguin allant au foie et débit sanguin allant aux tissus gras). L'ajout de ces termes de variabilité permet de prendre en compte le fait que, pour l'étude de la variabilité toxicocinétique interindividuelle, il est concevable que des individus de même sexe, âge, poids corporel ou taille puissent aussi présenter des variations pour un paramètre physiologique donné (Thomas *et al.*, 1996 ; Valcke et Krishnan, 2011a ; 2011c).

2.2.4 Simulations de Monte Carlo

Tous les modèles mis au point pour cette recherche doctorale ont été couplés à des simulations de Monte Carlo en utilisant directement des fonctions du logiciel ACSL® (version 3.0.2.1.), ce qui les a rendus probabilistes. L'approche probabiliste a donc été utilisée dans les modèles simultanément que l'approche déterministe décrit à la section 2.2.3. Elle a permis de simuler à la fois la variabilité interindividuelle physiologique de la toxicocinétique et celle physicochimique (liée aux coefficients de partage). Dans le cadre des travaux en vue de l'Article 1, afin de simuler une variabilité physicochimique inter-groupe de la toxicocinétique, les valeurs des coefficients de partage ont d'abord été calculées pour chaque modèle TCBP construit (donc pour chaque groupe d'âge investigué) en se servant des équations contenues dans l'étude de Haddad *et al.* (2006). Ces dernières décrivent le changement en fonction de l'âge de la composition des tissus en lipides et/ou en eau. Aussi, les travaux pour l'Article 1 ont-ils intégré la variabilité intra-groupe des coefficients de partage dans chaque modèle construit en utilisant leurs données de variation rapportées par Tardif *et al.* (2002) pour le toluène (voir détails dans Article 1). Pour les travaux en vue de l'Article 2 ayant concerné des sous-populations d'adultes et d'adolescents (considérés ici comme de jeunes adultes) ou ceux en vue de l'Article 3 (ayant concerné aussi des adultes), la variabilité interindividuelle physicochimique a été simulée grâce à ces données de variation des coefficients de partage du toluène provenant de Tardif *et al.* (2002) (voir détails dans ces articles).

2.2.5 Doses internes simulées avec les modèles construits

Selon les objectifs poursuivis dans cette étude doctorale, différentes doses internes ont été prédites. Les doses internes simulées dans le cadre des travaux en vue de l'Article 1 sont l'aire sous la courbe de la concentration artérielle en 24 h du benzène, du trichloroéthylène et du chlorure de vinyle, la quantité métabolisée (en 24 h et par L de foie) de chacun de ces composés impliquant les enzymes CYP2E1 dans le foie et les quantités métabolisées (en 24 h et par L d'organe concerné) du trichloroéthylène via la voie de la GST dans le foie et dans les reins.

Pour les travaux en lien avec l'Article 2, les doses internes simulées avec les modèles construits sont la concentration veineuse de toluène et sa concentration exhalée (selon les durées d'exposition considérées, confère cet article). Celles étudiées lors des travaux en lien avec l'Article 3 sont les concentrations urinaires de 24 h d'o-crésol et d'acide S-benzylmercapturique (BMA).

2.2.6 Analyse de sensibilité

Tous les modèles développés dans cette thèse ont fait l'objet d'analyses de sensibilité directement grâce à des fonctions du logiciel ACSL® (version 3.0.2.1.) pour identifier les paramètres d'entrée de ces modèles dont une faible variation peut influencer leurs paramètres de sortie d'intérêt pour l'étude (les doses internes simulées). Ainsi, des analyses locales de sensibilité ont été réalisées dans tous nos travaux (voir Article 1 pour exemple). Mais ce type d'analyse de sensibilité pourrait négliger les interactions et variations simultanées portant sur divers paramètres d'entrée des modèles, ce qui pourrait conduire à des résultats erronés de ce type d'analyse (Hsieh *et al.*, 2018). Ceci a été pris en compte en réalisant aussi des analyses de sensibilité globale pour tous les modèles développés dans cette thèse et ceci directement grâce aux fonctions présentes dans le logiciel ACSL ® (version 3.0.2.1.). En se basant sur le fait que les résultats issus de ces deux types d'analyses de sensibilité effectués lors de chacune des séries de nos travaux ne diffèrent pas, les résultats de l'analyse de sensibilité globale seront seulement présentés dans ce document pour l'Article 2. Signalons aussi ici que les résultats des analyses de sensibilité effectuées lors des travaux en vue de l'Article 2 (portant uniquement sur le toluène) sont similaires à ceux lors des travaux relatifs à l'Article 3 (portant aussi uniquement sur le toluène). Raison pour laquelle les résultats seront présentés seulement dans l'Article 2.

2.2.7 Validation des modèles construits

Tous les modèles de base ayant servi à la construction des modèles utilisés dans cette thèse ont été déjà validés par des études antérieures conduites dans les mêmes laboratoires informatiques (avec les mêmes chercheurs) où s'est déroulée la présente étude doctorale. Avant chaque simulation avec les nouveaux modèles développés (Article 1, Article 2 et Article 3), nous nous sommes assurés que le bilan massique total de chaque composé chimique modélisé soit égal ou proche de 0.

Lors des travaux en vue de l'Article 2, les profils de concentrations de toluène dans le sang veineux et l'air expiré simulés avec nos modèles (mis au point pour interpréter des mesures sanguines de biosurveillance du toluène) ont, par ailleurs, été comparés à ceux correspondants obtenus par Pierce *et al.* (1998) qui ont été validées par ces chercheurs en utilisant des données expérimentales provenant de volontaires exposés sous des conditions identiques à leur scénario d'exposition (voir Article 2).

2.3. Dosimétrie inverse

Deux outils (ou approches) de dosimétrie inverse par modélisation TCBP ont été mis au point dans cette thèse. Tous ont reposé sur l'approche bayésienne (impliquant le calcul de probabilités conditionnelles) décrite par Tan *et al.* (2007). L'un deux nous a, entre autres, permis d'évaluer l'incertitude pouvant être associée aux estimations de l'exposition chimique par l'air faites grâce à une approche de dosimétrie inverse par modélisation TCBP appliquée aux mesures biologiques ponctuelles.

Le premier outil a permis d'interpréter les mesures sanguines de toluène rapportées par l'ECMS-3 chez les sous-populations à l'étude (âgées de 12-19, 20-39, 40-59 et 60-79 ans, confère Article 2). Pour ce faire, de simples modèles TCBP (confère Figure 2.4 plus haut) ont été développés pour chaque groupe d'âge en s'inspirant de celui Haddad *et al.* (1996)

et en combinant les approches déterministe et probabiliste ci-dessus décrits. Les nouveaux modèles ont ensuite été combinés à des calculs de probabilité en vue de dériver les distributions de probabilités d'exposition au toluène dans l'air des sous-populations investiguées à partir des mesures sanguines de ce composé.

Le deuxième outil de dosimétrie inverse développé (Article 3) a, quant à lui, permis de reconstituer l'exposition individuelle au toluène dans l'air, et ceci à partir des mesures du BMA urinaire rapportées par Santé Canada chez six individus adultes Canadiens. Il s'agit ainsi d'une approche individuelle de dosimétrie inverse alternative à celle impliquant le premier outil mis au point, puisqu'utilisant le BMA urinaire (métabolite du toluène) en lieu et place du toluène sanguin. Les individus canadiens dont on dispose de données de BMA urinaires à interpréter étant composés d'hommes et de femmes, les modèles TCBP utilisés ici ont été construits pour chaque sexe en combinant aussi les approches déterministe et probabiliste mentionnées ci-dessus, mais en se basant (cette fois-ci) sur le modèle TCBP proposé et validé par Marchand *et al.* (2015) pour l'étude de l'excrétion urinaire d'o-crésol à la suite d'une exposition par inhalation au toluène. Ceci faute d'existence dans la littérature scientifique de modèle biologique adapté à l'étude de l'excrétion urinaire de BMA. Un ratio a été défini par interpolation linéaire à partir des données de cinétique urinaires du BMA et de l'o-crésol (tous deux métabolites du toluène) rapportées par Inoué *et al.* (2004). Ce ratio a été incorporé dans les modèles construits, ce qui a permis de convertir les données urinaires simulées pour l'o-crésol en leurs données correspondantes de BMA pour tous les individus étudiés. Ceci en vue de la reconstitution de leur exposition au toluène dans l'air. Et pour cette reconstitution, deux techniques ont été testées, à savoir estimer l'exposition au toluène dans l'air à partir de la distribution des mesures ponctuelles de BMA urinaire obtenues chez chaque individu en 24 h, et estimer l'exposition au toluène dans l'air à partir de la mesure de BMA urinaire effectuée chez chaque individu sur des urines de 24 h.

L'approche individuelle de reconstruction de l'exposition externe ainsi développée a permis de proposer une méthode pour quantifier l'incertitude spécifique associée à

l'estimation de l'exposition au toluène dans l'air faite chez chaque individu examiné grâce à la dosimétrie inverse par modélisation TCBP en utilisant les mesures biologiques ponctuelles. La méthode repose sur la comparaison des deux distributions de concentrations atmosphériques de toluène estimées pour chaque individu en utilisant les deux techniques testées d'évaluation de l'exposition à ce composé dans l'air mentionnées ci-dessus (voir détails de la méthode proposée dans l'Article 3).

Globalement, quatre étapes distinguent les approches de dosimétrie inverse ainsi développées. La première étape aboutit, en partant de différents scénarios simulés d'exposition atmosphérique au toluène, à l'obtention de distributions de concentrations prédites du biomarqueur (considéré) de ce composé chez les sous-populations ou individus à l'étude. La deuxième étape comporte l'inversion des distributions de concentrations prédites du biomarqueur obtenues à l'étape précédente et le calcul des probabilités d'être exposé à des concentrations simulées de toluène dans l'air pour des groupes de concentrations du biomarqueur créés à la première étape. À la troisième étape, des distributions des niveaux du biomarqueur du toluène similaires à celles rapportées pour les sous-populations (ou individus) à l'étude ont été simulées. Ce qui a permis, à la quatrième étape, d'ajuster les probabilités calculées à la deuxième étape et d'estimer finalement les distributions de concentrations atmosphériques de toluène concordantes avec ses mesures biologiques obtenues chez les sous-populations (ou individus) investigué(e)s (voir détails des outils de dosimétrie inverse mis au point dans l'Article 2 et l'Article 3).

Essayons à présent d'illustrer ces quatre étapes qui résument les approches de dosimétrie inverse que nous avons mises au point dans cette thèse à travers un exemple simple. Supposons que nous connaissons une population de 100 personnes qui peut être exposée soit à 1 ou à 2 $\mu\text{g/L}$ d'une substance X via l'air (les paramètres spécifiques de la substance X pour une modélisation TCBP étant aussi disponibles). Un modèle TCBP peut être construit pour cette population en utilisant ses caractéristiques physiologiques, anthropométriques et morphologiques. Combiné à des simulations de Monte Carlo, ce modèle peut permettre de simuler 100 concentrations sanguines de la substance X pour

chaque concentration dans l'air entrée dans le modèle (1 ou 2 µg/L). Les 100 concentrations sanguines sont considérées comme celles simulées pour les 100 individus de la population considérée et peuvent ainsi représenter la distribution prédite de biomarqueur obtenue pour cette population lors de la première étape de dosimétrie inverse mentionnée ci-dessus. Supposons aussi que, pour chaque concentration dans l'air entrée dans le modèle, les 100 concentrations sanguines de X simulées oscillent soit autour de 1 µg/L ou de 5 µg/L (donc deux groupes de concentrations sanguines). Supposons enfin que lorsque la concentration simulée dans l'air est de 1 µg/L, 70 personnes ont une concentration sanguine de 1 µg/L et 30 ont une concentration de 5 µg/L, et que lorsque la concentration simulée dans l'air est de 2 µg/L, 20 personnes ont une concentration sanguine de 1 µg/L et 80 ont une concentration de 5 µg/L. Cette distribution de concentrations sanguines peut être résumée dans le Tableau 2-2 ci-après :

Tableau 2-2 : Résumé de la première étape de dosimétrie inverse illustrée avec une population de 100 personnes

		Concentrations sanguines de X		Nombre total de personnes ou %
		1 µg/L	5 µg/L	
Concentration de X dans l'air	1 µg/L	70 ^a (70 %)	30 ^a (30 %)	100 (100 %)
	2 µg/L	20 ^a (20 %)	80 ^a (80 %)	100 (100 %)
Nombre de personnes par colonne		90 ^a (70+20)	110 ^a (30+80)	

^a : Nombre de personnes

Pour notre illustration en cours, la deuxième étape de dosimétrie inverse doit comporter l'inversion des distributions de concentrations sanguines prédites à la première étape (et présentées dans le Tableau 2-2) et le calcul des probabilités d'être exposé aux concentrations de la substance X simulée dans l'air (1 ou 2 µg/L) pour chacun des deux

groupes de concentrations sanguines supposés (ou créés) à la première étape. Tout ceci peut être résumé dans le Tableau 2-3 suivant qui représente ici en fait la première matrice (Matrice 1) de probabilités dont nous parlerons dans les Article 2 et Article 3.

Tableau 2-3 : Résumé de la deuxième étape de dosimétrie inverse pour l'illustration avec notre population supposée de 100 personnes conduisant à l'inversion des distributions de concentration sanguines de la substance X obtenues dans le Tableau 2-2

		Concentrations sanguines de X µg/L		Nombre total de personnes par ligne
		1 µg/L	5 µg/L	
Concentration de X dans l'air	1 µg/L	70 ^a (0,78 soit 70/90)	30 ^a (0,27 soit 30/110)	100
	2 µg/L	20 ^a (0,22 soit 20/90)	80 ^a (0,73 soit 80/110)	100
Nombre de personnes par colonne		90 ^a (70+20)	110 ^a (30+80)	

^a : Nombre de personnes

Le Tableau 2-3 permet de dire, par exemple, que la probabilité d'être exposé à 1 µg/L de la substance X dans l'air et d'avoir 1 µg/L de cette substance dans le sang est 0,78. Celle d'être exposé à 2 µg/L de la substance X dans l'air et d'avoir 1 µg/L de cette substance dans le sang est 0,22.

Considérons à présent une sous-population de deux individus dont l'exposition à la substance X via l'air est inconnue, mais dont les concentrations sanguines de X sont connues et peuvent être réparties dans les deux groupes de concentrations sanguines créés dans le Tableau 2-2, c'est-à-dire que la concentration sanguine de X est de 1 µg/L pour

l'un des deux individus et de 5 µg/L pour l'autre individu. Cette distribution de concentrations sanguines pour cette sous-population de 2 individus peut être simulée avec un modèle TCBP construit et utilisé à cet effet. Elle est représentée dans le Tableau 2-4 suivant qui représente ici en fait la deuxième matrice (Matrice 2) de probabilité dont nous parlerons dans la quatrième étape de nos approches de dosimétrie inverse mises au point (voir l'Article 2 et l'Article 3).

Tableau 2-4 : Distribution de concentrations sanguines de X pour la sous-population de 2 individus dans le cadre de l'illustration des quatre étapes de nos approches de dosimétrie inverse mises au point dans cette thèse

	Concentration sanguine de la substance X	
	1 µg/L	5 µg/L
Probabilité d'avoir l'une ou l'autre des deux concentrations sanguines (1 µg/L ou 5 µg/L)	1/2 ou 0,5	1/2 ou 0,5

Afin d'estimer les concentrations de X dans l'air auxquelles a été exposée la sous-population des deux individus ainsi que les probabilités de cette exposition (ce qui se fait à la quatrième étape de dosimétrie inverse), la matrice que constitue le Tableau 2-3 (Matrice 1) sera multipliée par la matrice que constitue le Tableau 2-4 (Matrice 2). Ceci permet d'ajuster les probabilités calculées dans le Tableau 2-3 et conduit au Tableau 2-5 ci-dessous à partir duquel des distributions de probabilité d'exposition à la substance X dans l'air peuvent être estimées pour la sous-population des deux individus.

Tableau 2-5 : Distributions de probabilité d'exposition à la substance X dans l'air pour la sous-population des deux individus.

	Concentration de X dans l'air	Probabilités ajustées	
Distributions de probabilité des concentrations de X Simulées dans l'air	1 µg/L	0,5 x 0,78	0,5 x 0,27
	2 µg/L	0,5 x 0,22	0,5 x 0,73

À partir du Tableau 2-5, nous pouvons enfin dire que la probabilité pour la sous-population des deux individus d'être exposée à 1 µg/L de la substance X dans l'air est de $0,5 \times 0,78 + 0,5 \times 0,27$, soit une probabilité de 0,525; la probabilité pour la sous-population des deux individus d'être exposée à 2 µg/L de la substance X dans l'air est de $0,5 \times 0,22 + 0,5 \times 0,73$, soit une probabilité de 0,475.

Chapitre 3 – Article 1

3. Article 1 : An assessment of the impact of multi-route co-exposures on human variability in toxicokinetics: A case study with binary and quaternary mixtures of volatile drinking water contaminants

Tohon, H., Valcke, M. et Haddad, S.

Tohon, H., Valcke, M., and Haddad, S. (2019). An assessment of the impact of multi-route co-exposures on human variability in toxicokinetics: A case study with binary and quaternary mixtures of volatile drinking water contaminants. *Journal of applied toxicology* 39(7):974-991. doi: 10.1002/jat.3787

**AN ASSESSMENT OF THE IMPACT OF MULTI-ROUTE CO-EXPOSURES ON
HUMAN VARIABILITY IN TOXICOKINETICS: A CASE STUDY WITH
BINARY AND QUATERNARY MIXTURES OF VOLATILE DRINKING
WATER CONTAMINANTS**

Tohon H¹, Valcke M^{1,2} and Haddad S¹

¹Department of environmental and occupational health, ESPUM, IRSPUM, Université de Montréal, C.P. 6128 Succ. Centre-ville, Montreal, (Qc.), Canada, H3C 3J7

²Institut national de santé publique du Québec, Montréal, Quebec, Canada

Honesty Tohon a réalisé tous les travaux de modélisation à la base de l'Article 1. Il a contribué de façon majeure à l'analyse et à l'interprétation des résultats de ces travaux, ainsi qu'à la rédaction et à la préparation du manuscrit.

Abstract

This study aimed to assess the impact of multi-route co-exposures to chemicals on interindividual variability in toxicokinetics. Probabilistic physiologically based pharmacokinetic multi-route interaction models were developed for adults and four younger subpopulations. Drinking water-mediated multi-route exposures were simulated for benzene alone or in co-exposure with toluene, ethylbenzene and m-xylene, for trichloroethylene or vinyl chloride (VC), alone and in mixture. These simulations were performed for “low” and “high” exposure scenarios, involving respectively the US EPA's short-term drinking water health advisories, and 10 times these advisory values. Distributions of relevant internal dose metrics for benzene, trichloroethylene and VC were obtained using Monte Carlo simulations. Intergroup variability indexes (VI) were computed for the “low” (VI_L) and “high” (VI_H) exposure scenarios, as the ratio between the 95th percentile in each subpopulation over the median in adults. Thus, for benzene, parent compound's area under the curve-based VI_L for single exposures vs. co-exposures correspondingly varied between 1.7 (teenagers) and 2.8 (infants) vs. 1.9 and 3.1 respectively. VI_H varied between 2.5 and 3.5 vs. 2.9 and 4.1. Inversely, VI_L and VI_H for the amount of benzene metabolized via CYP2E1 pathway decreased in co-exposure compared to single exposure. For VC and trichloroethylene, similar results were obtained for the “high” exposure, but “low” co-exposures did not impact the toxicokinetics of individual substances. In conclusion, multi-route co-exposures can have an impact on the toxicokinetics of individual substances, but to an extent, that does not seem to challenge the default values attributed to the factors deemed at reflecting interindividual or child/adult differences in toxicokinetics.

Keywords: Drinking water contaminants, human toxicokinetic variability, mixtures, Monte Carlo simulations, multi-route exposures, PBPK, Risk assessment.

3.1 Introduction

Reference doses or reference concentrations are generally defined from toxicity studies carried out in a context of simple chemical exposure (Haddad, Tardif, Boyd, & Krishnan, 2010; Valcke & Haddad, 2015). However, environmental chemical exposures generally consist of co-exposures (Mumtaz, Ruiz, & De Rosa, 2007) and even multiroute co-exposures. For example, the use of contaminated water for personal hygiene or domestic activities may result in simultaneous exposure to lipophilic and volatile organic compounds (VOCs) via ingestion, inhalation and dermal contact (Haddad, Tardif, & Tardif, 2006; Krishnan & Carrier, 2008; Valcke & Krishnan, 2011a).

There is evidence, based both on experimental and modeling data, that exposure to chemical mixtures can result in metabolic interactions between different chemicals in the human or animal body, depending on the levels of exposure to the individual chemicals present in the mixtures (Badger, Huang, Ronis, & Lumpkin, 1993; Crespi, Miller, & Penman, 1997; Dennison et al., 2005; Dobrev, Andersen, & Yang, 2001, 2002; Gomez-Lechon, Castell, & Donato, 2007; Haddad, Béliveau, Tardif, & Krishnan, 2001; Haddad, Charest-Tardif, & Krishnan, 2000; Haddad, Charest-Tardif, Tardif, & Krishnan, 2000; Haddad, Tardif, et al., 2010; Haddad, Tardif, Charest-Tardif, & Krishnan, 1999; Krishnan & Anderson, 2010; Lin & Lu, 1998; Mumtaz et al., 2007; Mumtaz, De Rosa, Cibulas, & Falk, 2004; Purcell, Cason, Gargas, Andersen, & Travis, 1990; Sager et al., 2014; Tang, Donnelly, Tiffany-Castiglioni, & Mumtaz, 2003; Tardif, Charest-Tardif, Brodeur, & Krishnan, 1997; Tully et al., 2000; Tully, Cox, Mumtaz, Davis, & Chapin, 2000; Valcke & Haddad, 2015; Yang & Andersen, 1994). These interactions may consist of either inhibition or induction of the activity of enzymes involved in the metabolism of chemicals (Badger et al., 1993; Krishnan & Anderson, 2010). For a mixture of VOCs that are specific substrates of the same biotransformation enzyme (e.g., cytochrome P450 2E1 [CYP2E1]), metabolic interactions may occur via competitive inhibition (Haddad, Béliveau, et al., 2001; Haddad, Poulin, & Funk, 2010).

Haddad, Béliveau, et al. (2001) demonstrated a variation in internal doses (amount metabolized [Amet], area under the curve [AUC], maximum blood concentration [Cmax]) in humans as a result of metabolic interactions using a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling approach (Andersen, Clewell, Gargas, Smith, & Reitz, 1987; Clewell & Clewell, 2008; Krishnan & Andersen, 1994; World Health Organization/International Panel on Chemical Safety [WHO/ IPCS], 2010). Accounting for metabolic interactions in such a model requires the addition of various interaction terms to the metabolism-related equations describing the kinetics in the hepatic compartment (Krishnan & Anderson, 2010; Yang & Andersen, 1994). To date, there are only limited PBPK modeling studies on chemical interactions that have considered multi-route environmental exposures to mixtures (e.g., Tan, Liao, & Clewell, 2007; Zhang, Zhang, & Niu, 2018).

PBPK models can also be used to assess human toxicokinetic variability to which a default factor of $\sqrt{10}$ is attributed when defining guideline values for environmental contaminants (Dorne & Renwick, 2005; IPCS, 1994). Thus, the physiological variability in toxicokinetics, within or between various human subpopulations, has been studied (Clewell, Gentry, Covington, Sarangapani, & Teeguarden, 2004; Mörk & Johanson, 2010; Nong, McCarver, Hines, & Krishnan, 2006; Pelekis, Gephart, & Lerman, 2001; Price et al., 2003; Price, Haddad, & Krishnan, 2003; Sarangapani, Gentry, Covington, Teeguarden, & Clewell, 2003; Valcke & Haddad, 2015; Valcke & Krishnan, 2010, 2011a, 2011b, 2011c; Valcke & Krishnan, 2013; Valcke & Krishnan, 2014; Valcke, Nong, & Krishnan, 2012; Walker, Hattis, Russ, Sonawane, & Ginsberg, 2007). These latter studies were framed based on the recommendation of the WHO/IPCS to replace default uncertainty factors by data-based factors when relevant data are available (US Environmental Protection Agency [US EPA], 2014; WHO/IPCS, 2005). They have been focused on individual chemical compounds, including drinking water contaminants (DWCs) such as trichloroethylene (TCE) and vinyl chloride (VC).

In addition, the risk assessment for the determination of standards for DWCs recommends, when relevant, to account for other exposure routes rather than solely ingestion, as illustrated in Haddad et al. (2006), Health Canada (2005, 2006, 2011, 2013), Krishnan and Carrier (2008), Mumtaz et al. (2012), and Valcke and Krishnan (2010). As of yet, the impact of chemical interactions on the estimation of interindividual variability in toxicokinetics, following multi-route co-exposures to contaminants has not been investigated; rather, solely inhalation exposure has been studied in this regard (Valcke & Haddad, 2015). Therefore, the aim of this study was to assess the impact of multiroute co-exposures to chemicals on interindividual variability in internal dose metrics (IDM) of a given component of such mixtures, for both “high” and “low” exposure levels.

3.2 Methods

A case study focusing on multi-route exposures to chemical mixtures of potential drinking water contaminants was developed as a proof-of-concept of the evaluation of the impact of chemical metabolic interactions on the magnitude of human variability in toxicokinetics. The study described herein relies on a probabilistic PBPK modeling approach to simulate IDM in various human subpopulations, following multi-route exposure scenarios to such chemical mixtures as well as single components of it.

3.2.1 Selection of case study chemicals and their specific parameters

For the purpose of this study, two mixtures of VOCs known for their potential to be present in drinking water (Health Canada, 2017; US EPA, 2012) with resulting multi-route exposures were chosen (Fayemiwol, Daramolall, & Moothil, 2017; WHO, 2004, 2005). On the one hand, a mixture of benzene (Bz), toluene, ethylbenzene and m-xylene, i.e., BTEX, and on the other hand, a mixture of TCE and VC. Additionally, for their potential

simultaneous presence in drinking water, these chemicals were chosen because of the availability of their PBPK modeling parameters in the literature and because each individual compound of these mixtures is a substrate of CYP2E1 by which they undergo oxidative metabolism (Ronis, Lindros, & Ingelman-Sundberg, 1996).

Specifically, BTEX mixture is chosen here for the study of the impact of metabolic interactions on the IDM influenced by one common metabolic pathway that is the CYP2E1 pathway. With regards to the TCE-VC mixture, it is chosen here for the study of the impact of metabolic interactions on the IDM influenced by two metabolic pathways: the high affinity/low capacity CYP2E1 pathway and the low-affinity/high-capacity glutathione-S-transferase (GST) pathway.

The physicochemical, biochemical and physiological characteristics, other than the partition coefficients, which are required for the PBPK modeling of the chemicals investigated in the current study are presented in Table 3-1. Characteristics of the partition coefficients used in the present study are detailed further in Section 3.4.

3.2.2 Development of a multi-route, multiple chemical physiologically based pharmacokinetic model for various human subpopulations

The validated PBPK model framework published by Haddad et al. (2006), and used by Valcke and Krishnan (2011a) was modified (Figure 3.1) to simulate multi-route exposures to the binary or quaternary chemical mixtures mentioned above via inhalation, ingestion and dermal contact. In doing so, five human subpopulations were considered, namely adults (18-64 years), infants (2-6 months), toddlers (7 months-2 years), children (2-10 years) and teenagers (11-17 years). The age groups considered in this study are based on the intention to account for the age, interchild and population variability of toxicokinetics for the studied chemicals. These age groups are defined coherently with similar age ranges

used in previous studies focusing on interindividual variability in toxicokinetics (e.g., Clewell et al., 2004; Nong et al., 2006; Pelekis et al., 2001; Sarangapani et al., 2003; Valcke & Krishnan, 2011a, 2011b, 2011c; Valcke et al., 2012; Valcke & Haddad, 2015).

Indeed, this baseline model framework allows the calculation of physiological parameters required in the model as a function of three determinants, namely body weight, height and age (Valcke & Krishnan, 2011a; see Table 3-S-1 in Supporting Information). The use of such equations ensures that physiological parameters are coherent to a given combination of body weight/height and age values while authorizing age-specific variations in the relationships between the physiological parameters and their determinants (Valcke & Krishnan, 2011a). Besides, as only slight gender-related pharmacokinetic differences are expected between males and females for VOCs such as those studied herein (Clewell et al., 2004; Sarangapani et al., 2003), gender-specific equations that are available for several parameters were averaged together into a single common equation for both males and females, as described in Valcke and Krishnan (2011a, 2011b, 2011c, 2014).

Thus, the Haddad et al.'s model was coded using ACSLXtreme software version 3.0.2.1. (Aegis Technologies, Hunstville, AL, USA) and modified into an interaction model as per the work of Valcke and Haddad (2015), to account for all binary interactions (see Figure 3.2 for the case of the BTEX mixture) between the compounds in the mixtures of interest (Haddad, Tardif, et al., 2010; Krishnan, Haddad, Béliveau, & Tardif, 2002; Valcke & Haddad, 2015). As all chemicals studied are CYP2E1 substrates and follow Michaelis-Menten kinetics, competitive inhibition of their metabolism is assumed and the apparent affinity of the enzyme for any mixture compound (considered as the substrate) is reduced in presence of the other compounds (considered as the inhibitors). Hence, the apparent Michaelis-Menten constant at any moment during the simulation (K_m_{app} , see Equation 1) is increased by a factor corresponding to $(1 + [I]/K_i)$, with $[I]$ being the concentration of the inhibitor available to the active site of the enzyme and K_i is its inhibition constant. For competitive inhibition, the K_i value of a chemical can often be considered equal to its K_m

and the maximum velocity of the enzyme (V_{max}) remains unchanged. Equation 1 describes the determination of the K_m_{app} in the case of competitive inhibitors in the mixture (Valcke & Haddad, 2015).

$$K_m_{app} = K_m \left(1 + \sum_{i=1}^n \frac{[I]_i}{K_i} \right) \quad [\text{Eq.1}]$$

Furthermore, the hepatic metabolism term in the Haddad et al. baseline model was rewritten to facilitate the use of catalytic turnover of CYP2E1 (in pmol/mg of microsomal protein), based on the approach described elsewhere (Nong et al., 2006; Valcke & Haddad, 2015; Valcke & Krishnan, 2011c). In brief, an adjusted maximal rate of metabolism was calculated for each simulated individual based on its specific liver volume and microsomal protein-adjusted hepatic concentration of CYP2E1, and assuming that the constant V_{max} is associated to a mean referent adult within the population described by Lipscomb, Teuschler, Swartout, Striley and Snawder (2003). An inter-age constant content of hepatic microsomal protein concentration of 32 mg/g of liver (Lipscomb & Poet, 2008; Valcke & Haddad, 2015) was assumed in doing so.

In addition, a renal compartment was added for the TCE-VC mixture model. This allows accounting for the fact that the CYP2E1- and GST-mediated metabolism of TCE occurs in both the liver and kidney (Agency for Toxic Substances and Disease Registry [ATSDR], 2014), whereas the GST-mediated metabolism is considered to only occur in the kidneys (Valcke & Krishnan, 2010). It also allows describing kinetics of the stable metabolite trichloroacetic acid produced from TCE via CYP2E1 oxidative pathway, and its excretion in urine.

3.2.3 Physiologically based pharmacokinetic model simulations

3.2.3.1 Scenarios considered

For each subpopulation investigated herein, a multi-route exposure scenario to Bz alone or in mixture with toluene, ethylbenzene and m-xylene was simulated. The same multi-route exposure scenario was simulated for TCE alone, VC alone, as reference scenarios, and for the mixture of these two last compounds (see Table 3-2). The multi-route exposure scenario simulated over a 24-hour period consisted of daily ingestion of drinking water combined with the inhalation and dermal exposure resulting from a 30-minute bath taken once daily (from $t = 0$ to $t = 0.5$ hours) as per the risk assessment of Health Canada (Health Canada, 2005, 2006). Ingestion of drinking water simulated here by a 12-hour direct infusion into the liver (from $t = 0$ hours to $t = 12$ hours) corresponds to the amount of drinking water required for each age group under study (see Table 3-3 for the drinking water ingestion rate), as done in Lyons, Yang, Mayeno, and Reisfeld (2008). Moreover, for the dermal contact with bath's water, 75% of the body surface was assumed to be in contact with water (Lindstrom, Highsmith, Buckley, Pate, & Michael, 1994; Valcke & Krishnan, 2010). The water-to-air transfer model used to compute the concentrations of chemical vapors generated in the bathroom and that are being inhaled during bathing is the one developed by McKone and Knevzovitch (1991).

3.2.3.2 Exposure concentrations in drinking water

Given that the magnitude of metabolic interactions following a chemical co-exposure depends, among other factors, of the exposure concentration of the chemicals present in the mixture (see Introduction), two levels of exposure to the chemicals under study were simulated, hereafter referred to as “low” or “high” exposure scenarios. The “low” exposure scenario (Table 3-2, scenarios 1-5) considers water concentrations that correspond to 1-day (for Bz, toluene, ethylbenzene, m-xylene and VC) and 10-day (for TCE, because of the lack of 1-day values) Drinking Water Health Advisories from the US EPA (US EPA, 2012). The “high” exposure scenario (Table 3-2, scenarios 6-10) considers drinking water concentrations that correspond to 10 times those for the “low” exposure scenario, under

the premise that they equal the DWC concentration that would be obtained should the default 10-fold uncertainty factor for human interindividual variability (UFH) had not been applied when establishing the standards and health advisories. They were used to conduct upstream testing to see if chemical co-exposure could induce toxicokinetic variability, which would deem to be accounted for by the further application of the UFH.

3.2.3.3 Internal dose metrics of interest

The computed IDM of interest for the exposure scenarios simulated in the current study include the 24-hour area under the arterial blood concentration versus time curve for the parent compound (AUC_{PC}), the amount of Bz, TCE and VC metabolized by cytochrome CYP2E1 enzymes per 24 hours per L of liver (A_{met}), and the amount of TCE metabolized via the GST pathway in kidneys ($AGST_{KID}$, per L of kidneys) and in both the kidneys and liver ($AGST_{KL}$, per L of kidneys and liver).

3.2.4 Probabilistic modeling of internal dose metrics

For each exposure scenario detailed in Table 3-2, Monte Carlo (MC) simulations were performed using the related ACSL function. This allowed capturing of the intra- and intergroup variability on the toxicokinetics of the studied chemicals and their related IDM in the various subpopulations. Indeed, while intergroup physiological variability was accounted for by the model's equation-derived age-specific parameters as mentioned above, intragroup physiological variability was accounted for by the consideration of probability density function defining age, body weight and body height for each subpopulation (Table 3-3). This was carried out considering both genders combined, given the use of gender-averaged equations in the model (see above). Distributions of weight and height were correlated such as Pearson's $\rho = 60\%$, based on population distribution of body mass index in Canada (Valcke & Krishnan, 2011b). This ensures to avoid the selection of unrealistic combinations of body weight and body height percentile values at each iteration during the MC simulation process.

Finally, variability terms, for which probability distributions were available in the literature, were incorporated in the models' equations related to certain physiological parameters (cardiac output, alveolar ventilation rate, liver volume, liver blood flow and fat blood flow). In the context of the equations used to define the model's physiological determinants (see Table 3-S-1, in Supporting information), the use of variability terms contributes to account for the interindividual differences in the physiology of persons of identical age and body mass index (Valcke & Krishnan, 2011a, 2011c). These terms are defined equally for every subpopulation studied herein.

Additionally, intragroup variability on partition coefficients was accounted for (Table 3-S-2). The tissue/air and blood/air partition coefficients for all the compounds in this study were assumed to vary within each subgroup according to a log-normal distribution (Haddad et al., 2006; Portier & Kaplan, 1989; Tardif, Droz, Charest-Tardif, Pierrehumbert, & Truchon, 2002; Thomas, Bigelow, Keefe, & Yang, 1996). As per Haddad et al. (2006), the variation of each partition coefficient for each chemical was assumed to exhibit a coefficient of variation that corresponds to those for toluene, for which available data are provided by Tardif et al. (2002). This assumption is justified by the premise that the determinants explaining the variability in the partition coefficients of these compounds are most likely comparable (i.e., variability in tissue or blood content in lipid and water; Poulin & Krishnan, 1996; Haddad et al., 2006).

For each DWC studied, the variation ranges of partition coefficients were then determined (Table 3-S-2). However, the average tissue/blood partition coefficient values for these compounds were assumed to be invariant between the subpopulations studied, except for the rest of the body, the adipose tissue and the skin. For these latter two, lipid and water compositions differ between subpopulations under 14 years of age and others (Haddad et al., 2006; Price, Haddad, & Krishnan, 2003). Indeed, the percentage of lipid in tissues changes from 55% (children) to 74% (adult) in adipose tissue, and from 2.2% (children) to 4.2% (adult) in muscle and skin. Likewise, the water content in adipose tissue changes from 41% in children to 21% in adults (Haddad et al., 2006). With regard to these details,

the tissue/blood partition coefficient values for these tissues were determined in young subpopulations (under 14 years of age) by applying a correction factor (CF) to the values used in adults, as in Haddad et al. (2006).

CF was calculated as follows:

$$CF = \frac{K_{ow}.FLT_y + FWT_y}{K_{ow}.FLT_a + FWT_a} \quad [\text{Eq.2}]$$

where “Kow” is the octanol/water partition coefficient, “FLT” is the fraction of lipids in tissue, “FWT” is the fraction of water in tissue, and indices “y” and “a” represent values for young subpopulations (i.e., age 14 and under) and adults, respectively. The mean tissue/blood partition coefficient values used in children and adults was calculated and used for teenagers.

As only the muscle composition could change with the subpopulation considered in the tissues of the rest of the body (slowly perfused tissues) (Haddad et al., 2006), the partition coefficient for this compartment in young subpopulations was calculated as follows:

$$P_{ry} = \frac{V_{heart}.P_{ra} + V_{tongue}.P_{ra} + V_{muscle}.P_{ra}.CF}{V_r} \quad [\text{Eq.3}]$$

where “P_{ry}” and “V_r” are respectively the rest of the body/air partition coefficients and volumes of the rest of the body in the young subpopulations; “V_{heart},” “V_{tongue}” and “V_{muscle}” are the volumes of respectively the heart, tongue and muscles (equations defining these volumes directly integrated in the generic code of PBPK models used in this study); and “P_{ra}” is the rest of the body/air partition coefficient in adults.

3.2.5 Assessment of variability in internal dose metrics

Following 1000 MC iterations for each simulated exposure scenario (Table 3-2) in each subpopulation, statistical distributions of IDMs were computed and the resulting variability was assessed by calculating a “variability index” (VI) for each IDM. In the context of the present proof-of-concept study, providing the VIs for multiple dose metrics allows to evaluate the impact of alternative possibilities, particularly when the toxic moiety of interest in relation to a given toxic outcome for any given substance may not be precisely identified. The VI was determined as the ratio between the 95th percentile in each subpopulation over the median in adults, for each “low” exposure scenario (numbered 1-5 in Table 3-2), yielding VI_L, and “high” exposure scenario (numbered 6-10 in Table 3-2), yielding VI_H. This approach is similar to the approach recommended by WHO for evaluating the numerical value of the human kinetic adjustment factor (WHO/IPCS, 2005; Meek et al., 2002; Bhat et al., 2017).

3.2.6 Sensitivity analyses

Sensitivity analyses were conducted to identify the model input parameters that were critical to the current analysis and thus the most influential on the mixture model outputs in the case of the two levels of chemical exposure (“low” and “high”). Thus, the model parameters that most influence AUC_{PC} and A_{met} of Bz, TCE and VC (when these substrates are present in combination respectively with TEX, VC and TCE considered in these cases as inhibitors), as well as AGST_{KID} and AGST_L (amount metabolized via GST pathway in kidney and liver respectively) of TCE (in co-exposure with VC) were determined. Indeed, the sensitivity analyses consisted in evaluating how a 10% change in the values of model's input parameters, including physiological, physicochemical and biochemical parameters, can influence the output parameters of interest. This is the same approach used in Valcke and Krishnan (2010, 2011a) and in Valcke and Haddad (2015). Precisely, the sensitivity index (SI) for each input parameter was calculated as follows:

$$SI = \frac{IDM_{10} - IDM_i}{\sum P_{10} - P_i} \times \frac{P_i}{IDM_i} \quad [\text{Eq. 4}]$$

where subscript 10 denotes the IDM and parameter (P) value when the latter is reduced by 10% compared to the initial value, indicated by subscript i. The greater the resulting SI value, the more influential is the parameter on IDM, while positive and negative SI values are linked to an increase and a decrease in IDM, respectively, when the parameter is increased.

3.3 Results

3.3.1 Simulation of internal dose metrics for multi-route co-exposure

Figure 3.3 depicts the evolution over 24 hours of arterial blood concentrations of Bz, TCE and VC following multi-route single exposure scenarios to the “low” concentrations of these DWCs (scenarios 1 for Bz, 3 for TCE and 4 for VC, in Table 3-2). The blood concentration profiles thus obtained in the subpopulations investigated suggest that the blood concentration of each of the parent compounds decreases as the age of the subpopulation increases, and that the infants are the most exposed to these DWCs. In addition, these profiles indicate that the elimination of the parent compound from the blood is faster in the cases of Bz than of VC or TCE, for the simulated concentrations in water. Actually, immediately following the 30-minute exposure to Bz in the bathroom, the elimination appears to follow a single-phase elimination until Time \approx 4 hours. Conversely during that period for TCE and VC, a two-phase elimination seems to be observed, with the first steep phase ending at Time \approx 1 hour for TCE and at Time \approx 2 hours for VC. Given that no differences is observed in the simulations profiles involving the mixtures at “low” exposure levels as compared to single exposures, solely the latter are presented for conciseness.

Figure 3.4 shows the evolution over 24 hours of arterial blood concentrations of Bz (Figure 3.4A), TCE (Figure 3.4B) and VC (Figure 3.4C) following single exposure or co-exposure scenarios to the high concentrations of these chemicals (scenarios 6 and 7 in Table 3-2 for the single exposure to Bz and the BTEX co-exposure respectively, scenarios 8 and 10 in Table 3-2 for the single exposure to TCE and the TCE-VC co-exposure respectively and scenarios 9 and 10 corresponding respectively to the single exposure to VC and the VC-TCE coexposure). These arterial blood concentrations simulated for Bz indicate that there is a difference between the internal exposure profiles resulting from a single exposure and a co-exposure, regardless of age (blood concentrations higher in the case of a co-exposure than those obtained from a single exposure do). The same observations were made for TCE and VC in the case of a co-exposure compared to the single exposure. It can also be noted in Figure 3.4 that the blood concentration of the parent compound decreases as the age of the subpopulation increases, regardless of the time and exposure scenario considered (single exposure or co-exposure), and that the infants are the most exposed to these DWCs. The same observations as those made for Figure 3.3 apply to Figure 3.4 with regard to the kinetics of parent compounds (Bz, TCE and VC) in the blood, and this is true regardless of the exposure scenario considered (single or co-exposure).

3.3.2 Toxicokinetic variability assessment according to multi-route exposure scenarios to chemicals (single exposure and co-exposure)

Tables 3-4 and 3-5 show the interindividual variability of IDM described in Section 3.2.5 (and symbolized by a VI). For Bz (Table 3-4), considering the “low” concentrations simulated for BTEX, there is a slight increase in the AUC_{PC} -based values of VI_L computed in the case of mixture (VI_L of 3.1, 2.8, 2.5 and 1.9 in respectively the infants, toddlers, children and teenagers) compared to those resulting from a single exposure (corresponding VI_L of 2.8, 2.5, 2.3 and 1.7). But there is a slight decrease in the A_{met} -based values of VI_L obtained from co-exposure to these chemicals (VI_L of 1.9, 2.3, 1.9 and 1.5 in respectively the infants, toddlers, children and teenagers) compared to those calculated for a single

exposure to Bz (corresponding VI_L of 2.1, 2.5, 2.0 and 1.6). These increases in the AUC_{PC} -based values of VI (or decreases in the A_{met} -based values of VI) in the case of co-exposure compared to the single exposure become more important when simulating the “high” concentrations of BTEX. Indeed, for these latter, the AUC_{PC} -based values of VI_H were 3.5, 3.2, 3.0 and 2.5 for a single exposure to Bz and 4.1, 3.7, 3.5 and 2.9 for the exposure to the mixture in respectively the infants, toddlers, children and teenagers, while the A_{met} -based values of VI_H were 2.4, 2.6, 2.3 and 2.1 for a single exposure and 1.6, 1.8, 1.5 and 1.3 for the co-exposure in respectively the infants, toddlers, children and teenagers. These observations therefore suggest that there is an impact of multi-route co-exposure to BTEX on the toxicokinetic variability of Bz for the “low” and “high” levels considered of these VOCs in drinking water, but this impact is greater when exposure doses increase.

For VC (see Table 3-4) and TCE (see Table 3-5), differences between the VIs resulting from multi-route single exposure and co-exposure, similar to those for Bz, only appear for the simulated high concentrations, regardless of the internal doses considered (AUC_{PC} or A_{met}). Thus, the AUC_{PC} -based values of VI_H were 2.3, 2.2, 2 and 1.8 for a single exposure to VC, and 2.5, 2.4, 2.3 and 2.1 for the mixture TCE-VC in infants, toddlers, children and teenagers, respectively. The corresponding A_{met} -based values of VI_H were 1.5, 1.8, 1.4 and 1.3 for a single exposure to VC, and 1.3, 1.5, 1.2 and 1.1 for the mixture. A single exposure to TCE led to AUC_{PC} -based values of VI_H of 2, 1.7, 1.5 and 1.3 in infants, toddlers, children and teenagers, respectively, whereas the mixture led to the corresponding AUC_{PC} -based values of VI_H of 2.3, 1.9, 1.7 and 1.5. The A_{met} -based values of VI_H were 1.7, 1.8, 1.6 and 1.5 for a single exposure to TCE, and 1.5, 1.6, 1.4 and 1.2 for the mixture in respectively the infants, toddlers, children and teenagers. It can also be noted for TCE that the $AGST_{KID}$ -based values (or $AGST_{KL}$ -based values) of VI_H increase in case of co-exposure compared to those obtained from single exposure. Indeed, the $AGST_{KID}$ -based (or $AGST_{KL}$ -based) values of VI_H were 1.6, 1.8, 1.5 and 1.3 for a single exposure to TCE, and 1.8, 2, 1.7 and 1.5 for the mixture in respectively the infants, toddlers, children and teenagers.

In addition, Tables 3-4 and 3-5 show that the VIs calculated in this study do generally not exceed the default value of 3.16 used in risk assessment (Bhat et al., 2017; IPCS/WHO, 2005; Meek et al., 2002; Renwick & Lazarus, 1998; US EPA, 2014). Exceptions are those obtained after simulating the “high” multi-route single exposure to Bz in infants and toddlers (VI_H of 3.5 and 3.2 in respectively the infants and toddlers), and the “high” multi-route co-exposure to BTEX in infants, toddlers and children (VI_H of 4.1, 3.7 and 3.5 respectively in infants, toddlers and children).

3.3.3 Sensitivity analyses

The results of the sensitivity analyses performed in this study are presented in Supporting Information. They show the top five (Figure 3.S.1 and 3.S.2) or top three (Figure 3.S.3) of the sensitive parameters of the PBPK models used in the current study for the “high” exposure scenarios. Indeed, it was hypothesized, based on the results of previous studies showing that variations in toxicokinetics of VOCs are more likely to occur at high exposure levels, that sensitivity analyses performed for such exposure levels are more likely to bring out differences in the sensitivity of the various model parameters. The results of these analyses in the case of “low” concentrations of DWCs simulated were similar to those resulting from the simulation of the “high” concentrations considered for these chemicals, and therefore are not presented here for conciseness.

AUC_{PC} of Bz, TCE or VC (Figure 3.S.1: a for Bz, b for TCE and c for VC) was sensitive mostly to the corresponding blood/air partition coefficient of each chemical, the corresponding Michaelis-Menten constant and the CYP2E1 concentration. A_{met} of each studied substrate (Figure 3.S.2: a for Bz, b for TCE and c for VC) was sensitive mostly to the corresponding blood/air partition coefficient of each chemical, CYP2E1 concentration and the inhibition constant of the inhibitor on the substrate considered. The amount of TCE metabolized via the GST pathway in the liver was mostly sensitive to the blood/air partition coefficient of TCE, CYP2E1 concentration and the constant maximum velocity of metabolism of TCE via the GST pathway in the liver (Figure 3.S.3a), whereas that

metabolized via GST pathway in the kidney was mostly sensitive to the blood/air partition coefficient of TCE, CYP2E1 concentration and the rate constant of this metabolism (Figure 3.S.3b).

3.4 Discussion

To the best of our knowledge, the present study investigates for the first time the impact of multi-route co-exposure on the toxicokinetic variability of individual substances. This is of particular interest given that guidelines for volatile compounds are generally determined under the premise of single exposures to these chemicals, and often by a single route. Furthermore, the intra- and intergroup variabilities of physicochemical parameters that depend of the tissue composition (i.e., the partition coefficients) were also considered, as in Haddad et al. (2006), which is a novelty in the probabilistic approaches to the assessment of toxicokinetic variability resulting from multi-route exposures to drinking water contaminants. This contributes to a better appreciation of the uncertainty on the estimates of the computed IDMs.

The results of this work suggest that variability of IDM for a given chemical following multi-route co-exposure may be greater when coexposures with other chemicals occur, and this depends on the exposure concentrations. For Bz, the multi-route co-exposure with TEX influences the variability of IDMs for both the “low” and “high” exposure concentrations, whereas for VC and TCE, this phenomenon is observed only for what was described herein as the “high” exposure scenarios. These findings are consistent with those of Valcke and Haddad (2015), which focused on only one mixture (DBTEX). According to these authors, the impact of a concomitant exposure on the variability of internal dose of a given substance, in comparison to the exposure to that given substance alone, varies as a function of the magnitude of the exposure, the subpopulation considered and the toxic moiety of interest. However, the differences in toxicokinetic variability according to the

characteristics of the chemical mixture of each chemical involved are of particular interest in the present study. The observations made in the current work also suggest that the younger you are, the greater the blood concentration of the parent compound (Bz, TCE or VC) is, regardless of the type of exposure simulated (see Tables 3-4 and 3-5). This is in agreement with the child-to-adult differences in blood concentrations reported by several studies (Price, Haddad, & Krishnan, 2003; Valcke et al., 2012; Valcke & Haddad, 2015; Valcke & Krishnan, 2011a, 2011b, 2011c).

The current study also seems to suggest a threshold concentration for an impact of multi-route co-exposure on interindividual toxicokinetic variability. This notion of a threshold concentration resembles Dobrev et al.'s proposition of threshold concentrations in the media for metabolic interactions (Dobrev et al., 2001, 2002). Indeed, regardless of the subpopulation considered, the impact of multi-route co-exposure on the toxicokinetic variability of Bz is noticeable when the guideline values are used in the case of BTEX. However, for TCE or VC, the impact is noticeable only for exposure concentrations equal to 10 times the guideline values used for these chemicals. This impact is illustrated by the fact that the AUC_{PC}-based VI_L (or VI_H) values increase and the A_{met}-based VI_L (or VI_H) values decrease because of the competitive inhibition of CYP2E1 enzymes (Ronis et al., 1996) in case of co-exposure compared to the single exposure. When “high” concentrations were simulated for the mixture TCE-VC, the competitive inhibition of CYP2E1 enzymes induces a shift of the metabolism of TCE toward its secondary GST-mediated metabolism in liver as well as in kidneys (ATSDR, 2014; Valcke & Haddad, 2015). This explains the increase in the AGST_{KID}-based (or AGST_{KL}-based) values of VI_H for TCE in case of co-exposure compared to the single exposure (see Table 3-5).

This study brings out new elements to the evaluation of the adequacy of the default value attributed to the human kinetic adjustment factor within the risk assessment process. Indeed, it suggests that in some cases, the consideration of multiple exposure may bring out an excess of the default value of 3.16 that is not observed when only a single exposure

is modeled. Specifically, this was observed herein based on AUC_{PC} for Bz in children, at high exposure levels. This appears noteworthy given that the actual guidance on the determination of chemical-specific adjustment or data-derived extrapolation factors (CSAF/DDEF) relies on the use of data that are observed or simulated for single substances only (Bhat et al., 2017), while human exposures to environmental contaminants involve multiple substances. However, based on the results of the current paper, deviations in the CSAFs/DDEFs are of minimal concern if exposures are in the ranges of the guideline values (reference doses or reference concentrations).

In addition, the application of age-dependent adjustment factor (ADAF) is recommended by the US EPA in the risk assessment process to account for early-life susceptibilities to mutagenic carcinogens (US EPA, 2005). In this regard, both the GST-mediated metabolites of TCE in kidneys as well as the CYP2E1-mediated metabolites of VC in the liver are considered as mutagenic moieties and are being attributed ADAF values for their risk assessment, namely a 10-fold value for children aged under 2 years and a threefold value for those between 2 and 16 years of age (US EPA, 2000, 2011). The results of the present study bring out relevant considerations regarding these ADAF values, as the latter can be compared to the ratio between the median values of the toxic moieties mentioned above for children and adults. Indeed, as ADAF is foremost an “adult versus child” factor and not a “within subpopulation” interindividual variability factor per se, it is deemed to reflect the difference between the median individual of each age group, not the most sensitive among the children as compared to the median adult. From Tables 3-4 and 3-5, such ratios calculated as varying between 1.22 and 2.38 for infants and toddlers (aged <2 years) and between 1 and 2.12 for children and adolescents (aged between 2 and <18 years old) were computed.

However, by factoring the cancer slope factor based on observed experimental data, it can be suggested that the ADAF in fact encompasses the overall susceptibility of children, both toxicokinetic and toxicodynamic, whereas the present study focuses only on toxicokinetics.

Therefore, under the same reasoning as the one supporting the separation of the uncertainty factor (UF_H) related to the interindividual variability into a toxicokinetic and a toxicodynamic component, the ratios obtained can be compared to the square root of the default ADAF value of 10 and 3 (i.e., 3.16 and 1.73) for children aged under 2 and between 2 and 16, respectively. Thus, from the above-mentioned ratios obtained based on the present study's results, it can be suggested that the default ADAF value for children aged under 2 and that for those between 2 and 16 are sufficiently protective against the carcinogenic risk associated with exposure to TCE or VC considering the “low” exposure concentrations of these chemicals simulated in DW in this study, which are guideline values (see Table 3-2). For the “high” exposure concentrations simulated, some ratios obtained here exceed the 1.73 value mentioned above only for children in the case of single exposure to VC (calculated AUC_{PC} -based ADAF's value of 1.90, i.e., AUC_{PC} of 11 103 in children divided by AUC_{PC} of 5854 in adults, see Table 3-4), and for children and teenagers in the case of the mixture VC-TCE (calculated AUC_{PC} -based ADAF's values of 2.12 and 1.92 in respectively the children [i.e., AUC_{PC} of 13 421 in children divided by AUC_{PC} of 6319 in adults, see Table 3-4] and teenagers [i.e., AUC_{PC} of 12 161 in teenagers divided by AUC_{PC} of 6319 in adults, see Table 3-4]).

Sensitivity analyses carried out in this study for multi-route coexposures to the simulated guideline values point out the corresponding blood/air partition coefficient of each chemical and the CYP2E1 concentration as the most sensitive input parameters of the interaction models used, regardless of the output (IDM) considered. This could be explained, on the one hand, by the fact that among the three simulated concomitant exposure routes, inhalation contributes the most to the internal exposure to the studied DWCs (Valcke & Krishnan, 2011a). On the other hand, it can be suggested that the intrinsic clearance of CYP2E1 enzymes plays a large role in the elimination of the investigated DWCs from the body in case of mixtures and for the concentrations simulated. These results of sensitivity analyses are comparable to those of Valcke and Haddad (2015), Valcke and Krishnan (2011a) and Tardif et al. (2002) on the same VOCs or others sharing similar properties.

Limitations to this study need to be acknowledged. First, only healthy individuals were modeled, which does account for the impaired hepatic (or renal) function of the individuals with liver (or kidney) pathologies or exhibiting a polymorphism that would alter the metabolism in a way that it may increase susceptibility to metabolic interactions. Although such a polymorphism does not appear to be a factor in the case of CYP2E1 substrates (Neafsey et al., 2009; Valcke & Haddad, 2015), it does for GST substrates (Blackburn, Tzeng, Anders, & Board, 2000; Valcke & Haddad, 2015). Other limitations of our study could concern the number of inhibitors involved in each mixture, the simulated “high” concentrations (based on guideline values for 1 or 10 days) and the non-consideration of alcohol consumption in adults and teenagers (which is an inducer of CYP2E1 enzymes). Indeed, as illustrated in Valcke and Haddad (2015), the number of inhibitors involved in a mixture as well as the concentrations of chemicals concerned could influence the toxicokinetic variability. In addition, by stimulating the production of CYP2E1, the alcohol consumption could increase the metabolism of DWCs studied (Badger et al., 1993) and influence the IDMs. Moreover, people over 64 years of age were not included in this study. Finally, toxicodynamic interactions were not taken into consideration, but they were beyond the purpose of this study.

In conclusion, multi-route co-exposures can have an impact on the toxicokinetics of individual substances, but to an extent that does not generally seem to challenge the default values attributed to the factors deemed at reflecting interindividual or child/adult differences in toxicokinetics within the risk assessment process. This impact may be dependent on the chemical, toxic moiety, subpopulation or exposure concentration to the contaminant. The present study suggests, however, that the metabolic interactions observed may not occur at exposure levels that correspond to low chronic environmental exposures such as those experimented by the general population. That being said, this study alone is insufficient for the broader generalization of these observations made to other chemicals. More studies are needed to confirm the observations suggested by the current one. These complementary studies would be very useful to the toxicological risk assessment process for a revision or an establishment of guideline values of DWCs. Such studies could focus

on different mixtures and involve different types of metabolic interactions than those studied herein. In addition, studies providing accurate information for the biochemical parameters that have been assumed to be constant across subpopulations in the present study could improve the precision of its estimates.

Acknowledgements

This study was funded by Health Canada's CMP Monitoring and Surveillance fund.

3.5 References

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (2006). Toxicological profile for vinyl chloride. Atlanta (GA): US Department of Public Health Services. Retrieved from <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp20.pdf>

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (2007a). Toxicological profile for benzene. Atlanta (GA): US Department of Public Health Services. Retrieved from <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp3.pdf>

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (2007b). Toxicological profile for xylenes. Atlanta (GA): US Department of Public Health Services. Retrieved from <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp71.pdf>

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (2010). Toxicological profile for ethylbenzene. Atlanta (GA): US Department of Public Health Services. Retrieved from <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp110.pdf>

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (2014). Toxicological profile for trichloroethylene. Atlanta (GA): US Department of Public Health Services. Retrieved from <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp19.pdf>

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (2017). Toxicological profile for toluene. Atlanta (GA): US Department of Public Health Services. Retrieved from <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp56.pdf>
- Andersen, M. E., Clewell, H. J. 3rd, Gargas, M. L., Smith, F. A., & Reitz, R. H. (1987). Physiologically based pharmacokinetics and the risk assessment process for methylene chloride. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 87(2), 185–205. PubMed PMID: 3824380.
- Badger, T. M., Huang, J., Ronis, M., & Lumpkin, C. K. (1993). Induction of cytochrome P4502E1 during ethanol exposure occurs via transcription of the CYP2E1 gene when blood concentrations are high. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 190, 780–785. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1993.1117>
- Bhat, V. S., Meek, M. E. B., Valcke, M., English, C., Boobis, A., & Brown, R. (2017). Evolution of chemical-specific adjustment factors (CSAF) based on recent international experience; increasing utility and facilitating regulatory acceptance. *Critical Reviews in Toxicology*, 47, 733–753. <https://doi.org/10.1080/10408444.2017.1303818>
- Blackburn, A. C., Tzeng, H. F., Anders, M. W., & Board, P. G. (2000). Discovery of a functional polymorphism in human glutathione transferase zeta by expressed sequence tag database analysis. *Pharmacogenetics*, 10, 49–57. <https://doi.org/10.1097/00008571-200002000-00007>
- Clewell, H. J., Gentry, P. R., Covington, T. R., Sarangapani, R., & Teeguarden, J. G. (2004). Evaluation of the potential impact of age and gender-specific pharmacokinetic differences on tissue dosimetry. *Toxicological Sciences*, 79, 381–393. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh109>
- Clewell, R. A., & Clewell, H. J. III (2008). Development and specification of physiologically based pharmacokinetic models for use in risk assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 50, 129–143. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2007.10.012>

- Crespi, C. L., Miller, V. P., & Penman, B. W. (1997). Microtiter plate assays for inhibition of human, drug-metabolizing cytochromes P450. *Analytical Biochemistry*, 248, 188–190. <https://doi.org/10.1006/abio.1997.2145>
- Dennison, J. E., Bigelow, P. L., Mumtaz, M. M., Andersen, M. E., Dobrev, I. D., & Yang, R. S. H. (2005). Evaluation of potential toxicity from coexposure to three CNS depressants (toluene, ethylbenzene, and xylene) under resting and working conditions using PBPK modeling. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 2, 127–135. <https://doi.org/10.1080/15459620590916198>
- Dobrev, I. D., Andersen, M. E., & Yang, R. S. (2001). Assessing interaction thresholds for trichloroethylene in combination with tetrachloroethylene and 1,1,1-trichloroethane using gas uptake studies and PBPK modeling. *Archives of Toxicology*, 75, 134–144. <https://doi.org/10.1007/s002040100216>
- Dobrev, I. D., Andersen, M. E., & Yang, R. S. (2002). In silico toxicology: Simulating interaction thresholds for human exposure to mixtures of trichloroethylene, tetrachloroethylene, and 1,1,1-trichloroethane. *Environmental Health Perspectives*, 110, 1031–1039. <https://doi.org/10.1289/ehp.021101031>
- Dorne, J. L., & Renwick, A. G. (2005). The refinement of uncertainty/safety factors in risk assessment by the incorporation of data on toxicokinetic variability in humans. *Toxicological Sciences*, 86, 20–26. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfi160>
- Fayemiwole, O. M., Daramolall, M. O., & Moothil, K. (2017). BTEX compounds in water—future trends and directions for water treatment. *Water SA*, 43, 602–613. <https://doi.org/10.4314/wsa.v43i4.08>
- Fjeld, R. A., Eisenberg, N. A., & Compton, K. L. (Eds.) (2007). *Quantitative environmental risk analysis for human health*. Hoboken, New Jersey: Wiley-Interscience. <https://doi.org/10.1002/0470096209>
- Fryar, C. D., Gu, Q., & Ogden, C. L. (2012). *Anthropometric Reference Data for Children and Adults: United States, 2007–2010*. National Center for Health Statistics. *Vital and Health Statistics*, 11, 1–48.

- Gomez-Lechon, M. J., Castell, J. V., & Donato, M. T. (2007). Hepatocytes—the choice to investigate drug metabolism and toxicity in man: in vitro variability as a reflection of in vivo. *Chemico-Biological Interactions*, 168, 30–50. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2006.10.013>
- Haddad, S., Charest-Tardif, G., & Krishnan, K. (2000). Physiologically based modeling of the maximal effect of metabolic interactions on the kinetics of components of complex chemical mixtures. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 61, 209–223. <https://doi.org/10.1080/00984100050131350>
- Haddad, S., Béliveau, M., Tardif, R., & Krishnan, K. (2001). A PBPK modeling-based approach to account for interactions in the health risk assessment of chemical mixtures. *Toxicological Sciences*, 63, 125–131. <https://doi.org/10.1093/toxsci/63.1.125>
- Haddad, S., Charest-Tardif, G., Tardif, R., & Krishnan, K. (2000). Validation of a physiological modeling framework for simulating the toxicokinetics of chemicals in mixtures. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 167, 199–209. <https://doi.org/10.1006/taap.2000.8991>
- Haddad, S., Poulin, P., & Funk, C. (2010). Extrapolating in vitro metabolic interactions to isolated perfused liver: predictions of metabolic interactions between R-Bufuranol, Bunitrolol and debrisoquine. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99, 4406–4426. <https://doi.org/10.1002/jps.22136>
- Haddad, S., Tardif, G.-C., & Tardif, R. (2006). Development of physiologically based toxicokinetic models for improving the human indoor exposure assessment to water contaminants: trichloroethylene and trihalomethanes. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 69, 2095–2136. <https://doi.org/10.1080/15287390600631789>
- Haddad, S., Tardif, R., Boyd, J., & Krishnan, K. (2010). Physiologically based modeling of the pharmacokinetic interactions in chemical mixtures. In K. Krishnan, & M. E. Andersen (Eds.), *Quantitative modeling in toxicology* (pp. 83–105). Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd.

- Haddad, S., Tardif, R., Charest-Tardif, G., & Krishnan, K. (1999). Physiological modeling of the toxicokinetic interactions in a quaternary mixture of aromatic hydrocarbons. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 161, 249–257. <https://doi.org/10.1006/taap.1999.8803>
- Health Canada (2005). Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Supporting Documentations—Trichloroethylene. Ottawa, ON: Water Quality and Health Bureau, Healthy Environments and Consumer Safety Branch, Health Canada. Retrieved from <https://www.canada.ca/content/dam/canada/health-canada/migration/healthy-canadians/publications/healthy-living-vie-saine/water-trichloroethylene-eau/alt/water-trichloroethylene-eau-eng.pdf>
- Health Canada (2006). Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document—Trihalomethanes. Ottawa, Ontario: Water Quality and Health Bureau, Healthy Environments and Consumer Safety Branch, Health Canada. Retrieved from <https://www.canada.ca/content/dam/canada/health-canada/migration/healthy-canadians/publications/healthy-living-vie-saine/water-trihalomethanes-eau/alt/water-trihalomethanes-eau-eng.pdf>
- Health Canada (2011). Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document—Dichloromethane (Catalogue no. H129-6/2011E). Ottawa, Ontario: Water, Air and Climate Change Bureau, Healthy Environments and Consumer Safety Branch, Health Canada. Retrieved from <https://www.canada.ca/content/dam/canada/health-canada/migration/healthy-canadians/publications/healthyliving-vie-saine/water-dichloromethane-eau/alt/water-dichloromethane-eau-eng.pdf>
- Health Canada (2013). Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document—Vinyl chloride (Catalogue no. H144-13/6-2013E-PDF). Ottawa, Ontario: Water and Air Quality Bureau, Healthy Environments and Consumer Safety Branch, Health Canada. Retrieved from http://publications.gc.ca/collections/collection_2014/sc-hc/H144-13-6-2013-eng.pdf

- Health Canada (2017). Guidelines for Canadian Drinking Water Quality—Summary Table. Ottawa, Ontario: Water and Air Quality Bureau, Healthy Environments and Consumer Safety Branch, Health Canada. Retrieved from https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/ewh-semt/alt_formats/pdf/pubs/water-eau/sum_guideres_recom/sum_guide-res_recom-eng.pdf
- Institut National de l'Environnement Industriel et des RISques (INERIS). (2018). Portail Substances Chimiques. Ethylbenzene. Retrieved from <https://substances.ineris.fr/fr/substance/952>
- International Panel on Chemical Safety (IPCS). (1994). Assessing human health risks of chemicals: Derivation of guidance values for health based exposure limits. Environmental Health Criteria, 170. International Panel on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Johnsrud, E. K., Koukouritaki, S. B., Divakaran, K., Brunengraber, L. L., Hines, R. N., & McCarver, D. G. (2003). Human hepatic CYP2E1 expression during development. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 307, 402–407. <https://doi.org/10.1124/jpet.103.053124>
- Krishnan, K., & Andersen, M. E. (1994). Physiologically based pharmacokinetic modeling in toxicology. In W. Hayes (Ed.), *Principles and methods of toxicology* (pp. 149–188). New York: Raven Press Ltd.
- Krishnan, K., & Anderson, M. E. (Eds.) (2010). *Quantitative modeling in toxicology*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9780470686263>
- Krishnan, K., & Carrier, R. (2008). Approaches for evaluating the relevance of multiroute exposures in establishing guideline values for drinking water contaminants. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 26, 300–316. <https://doi.org/10.1080/10590500802343974>

- Krishnan, K., Haddad, S., Béliveau, M., & Tardif, R. (2002). Physiological modeling and extrapolation of pharmacokinetic interactions from binary to more complex chemical mixtures. *Environmental Health Perspectives*, 110(Suppl. 6), 989–994. <https://doi.org/10.1289/ehp.02110s6989>
- Lin, J. H., & Lu, A. Y. H. (1998). Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. *Clinical Pharmacokinetics*, 35, 361–390. <https://doi.org/10.2165/00003088-199835050-00003>
- Lindstrom, A. B., Highsmith, V. R., Buckley, T. J., Pate, W. J., & Michael, L. C. (1994). Gasoline contaminated ground water as a source of residential benzene exposure: a case study. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, 4, 183–195.
- Lipscomb, J. C., & Poet, T. S. (2008). In vitro measurements of metabolism for application in pharmacokinetic modeling. *Pharmacology and Therapeutics*, 118, 82–103. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2008.01.006>
- Lipscomb, J. C., Teuschler, L. K., Swartout, J. C., Striley, C. A., & Snawder, J. E. (2003). Variance of microsomal protein and cytochrome P450 2E1 and 3A forms in adult human liver. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 13, 45–51. <https://doi.org/10.1080/15376510309821>
- Lyons, M. A., Yang, R. S. H., Mayeno, A. N., & Reisfeld, B. (2008). Computational toxicology of chloroform: reverse dosimetry using Bayesian Inference, Markov Chain Monte Carlo simulation, and human biomonitoring data. *Environmental Health Perspectives*, 116, 1040–1046. <https://doi.org/10.1289/ehp.11079>
- McKone, T. E., & Knevzovitch, J. P. (1991). The transfer of trichloroethylene (TCE) from shower to indoor air: experimental measurements and their implications. *Journal of the Air and Waste Management Association*, 41, 282–286. <https://doi.org/10.1080/10473289.1991.10466844>
- Meek, M. E., Renwick, A., Ohanian, E., Dourson, M., Lake, B., Naumann, B. D., & Vu, V. (2002). Guidelines for application of chemical-specific adjustment factors in

- dose/concentration-response assessment. *Toxicology*, 181-182, 115–120. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(02\)00265-2](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(02)00265-2)
- Mörk, A. K., & Johanson, G. (2010). Chemical-specific adjustment factors for intraspecies variability of acetone toxicokinetics using a probabilistic approach. *Toxicological Sciences*, 116, 336–348. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq116>
- Mumtaz, M. M., De Rosa, C. T., Cibulas, W., & Falk, H. (2004). Seeking solutions to chemical mixtures challenges in public health. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 18, 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2004.06.006>
- Mumtaz, M. M., Ruiz, P., & De Rosa, C. T. (2007). Toxicity assessment of unintentional exposure to multiple chemicals. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 223, 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.04.015>
- Mumtaz, M. M., Ray, M., Crowell, S. R., Keys, D., Fisher, J., & Ruiz, P. (2012). Translational research to develop a human PBPK models tool kit-volatile organic compounds (VOCs). *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 75, 6–24. <https://doi.org/10.1080/15287394.2012.625546>
- Neafsey, P., Ginsberg, G., Hattis, D., Johns, D. O., Guyton, K. Z., & Sonawane, B. (2009). Genetic polymorphism in CYP2E1: Population distribution of CYP2E1 activity. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 12, 362–388. <https://doi.org/10.1080/10937400903158359>
- Nong, A., McCarver, D. G., Hines, R. N., & Krishnan, K. (2006). Modeling interchild differences in pharmacokinetics on the basis of subjectspecific data on physiology and hepatic CYP2E1 levels: a case study with toluene. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 214, 78–87. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2005.12.001>
- Pelekis, M., Gephart, L. A., & Lerman, S. E. (2001). Physiologically-modelbased derivation of the adult and child pharmacokinetic intraspecies uncertainty factors for volatile organic compounds. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 33, 12–20. <https://doi.org/10.1006/rtph.2000.1436>

- Portier, C. J., & Kaplan, N. L. (1989). Variability of safe dose estimates when using complicated models of the carcinogenic process. A case study: methylene chloride. *Fundamental and Applied Toxicology*, 13, 533–544. [https://doi.org/10.1016/0272-0590\(89\)90290-X](https://doi.org/10.1016/0272-0590(89)90290-X)
- Poulin, P., & Krishnan, K. (1996). A tissue composition-based algorithm for predicting tissue:air partition coefficients of organic chemicals. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 136, 126–130. <https://doi.org/10.1006/taap.1996.0015>
- Price, K., Haddad, S., & Krishnan, K. (2003). Physiological modeling of agespecific changes in the pharmacokinetics of organic chemicals in children. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 66, 417–433. <https://doi.org/10.1080/15287390306450>
- Price, P. S., Conolly, R. B., Chaisson, C. F., Gross, E. A., Young, J. S., Mathis, E. T., & Tedder, D. R. (2003). Modeling interindividual variation in physiological factors used in PBPK models of humans. *Critical Reviews in Toxicology*, 33, 469–503. <https://doi.org/10.1080/10408440390242324>
- Purcell, K. J., Cason, G. H., Gargas, M. L., Andersen, M. E., & Travis, C. C. (1990). In vivo metabolic interactions of benzene and toluene. *Toxicology Letters*, 52, 141–152. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(90\)90148-F](https://doi.org/10.1016/0378-4274(90)90148-F)
- Renwick, A. G., & Lazarus, N. R. (1998). Human variability and non-cancer risk assessment—An analysis of the default uncertainty factor. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 27, 3–20. <https://doi.org/10.1006/rtph.1997.1195>
- Ronis, M. J. J., Lindros, K. O., & Ingelman-Sundberg, M. (1996). The CYP2E family. In C. Ioannides (Ed.), *Cytochrome P450 metabolic and toxicological aspects* (pp. 211–240). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Sager, J. E., Lutz, J. D., Foti, R. S., Davis, C., Kunze, K. L., & Isoherranen, N. (2014). Fluoxetine and norfluoxetine mediated complex drug-drug interactions: in vitro to in vivo correlation of effects on CYP2D6, CYP2C19 and CYP3A4. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 95, 653–662. <https://doi.org/10.1038/clpt.2014.50>

- Sarangapani, R., Gentry, P. R., Covington, T. R., Teeguarden, J. G., & Clewell, H. J. III (2003). Evaluation of the potential impact of age- and gender-specific lung morphology and ventilation rate on the dosimetry of vapor. *Inhalation Toxicology*, 15, 987–1016. <https://doi.org/10.1080/08958370390226350>
- Syracuse Research Corporation (SRC). (2013). SRC PhysProp Database. Retrieved from <http://esc.syrres.com/fatepointer/results.asp>
- Tan, Y.-M., Liao, K. H., & Clewell, H. J. III (2007). Reverse dosimetry: interpreting trihalomethanes biomonitoring data using physiologically based pharmacokinetic modeling. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, 17, 591–603. <https://doi.org/10.1038/sj.jes.7500540>
- Tang, Y., Donnelly, K. C., Tiffany-Castiglioni, E., & Mumtaz, M. M. (2003). Neurotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons and simple chemical mixtures. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 66, 919–940. <https://doi.org/10.1080/15287390306455>
- Taniguchi, H., Oguro, A., Koyama, H., Masuyama, M., & Takahashi, T. (1996). Analysis of models for quantification of arterial and portal blood flow in the human liver using PET. *Journal of Computer Assisted Tomography*, 20, 135–144. <https://doi.org/10.1097/00004728-199601000-00025>
- Tardif, R., Charest-Tardif, G., Brodeur, J., & Krishnan, K. (1997). Physiologically based pharmacokinetic modeling of a ternary mixture of alkyl benzenes in rats and humans. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 144, 120–134. <https://doi.org/10.1006/taap.1996.8096>
- Tardif, R., Droz, P. O., Charest-Tardif, G., Pierrehumbert, G., & Truchon, G. (2002). Impact of human variability on the biological monitoring of exposure to toluene: I. Physiologically based toxicokinetic modelling. *Toxicology Letters*, 134, 155–163. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(02\)00185-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(02)00185-6)
- Thomas, R. S., Bigelow, P. L., Keefe, T. J., & Yang, R. S. (1996). Variability in biological exposure indices using physiologically based pharmacokinetic modeling and

- Monte Carlo simulation. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 57, 23–32. <https://doi.org/10.1080/15428119691015188>
- Thrall, K. D., Weitz, K. K., & Woodstock, A. D. (2002). Use of real-time breath analysis and physiologically based pharmacokinetic modeling to evaluate dermal absorption of aqueous toluene in human volunteers. *Toxicological Sciences*, 68, 280–287. <https://doi.org/10.1093/toxsci/68.2.280>
- Tully, D. B., Collins, B. J., Overstreet, J. D., Smith, C. S., Dinse, G. E., Mumtaz, M. M., & Chapin, R. E. (2000). Effects of arsenic, cadmium, chromium, and lead on gene expression regulated by a battery of 13 different promoters in recombinant HepG2 cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 168, 79–90. <https://doi.org/10.1006/taap.2000.9014>
- Tully, D. B., Cox, V. T., Mumtaz, M. M., Davis, V. L., & Chapin, R. E. (2000). Six high-priority organochlorine pesticides, either singly or in combination, are nonestrogenic in transfected HeLa cells. *Reproductive Toxicology*, 14, 95–102. [https://doi.org/10.1016/S08906238\(00\)00060-5](https://doi.org/10.1016/S08906238(00)00060-5)
- US EPA (2014). *Guidance for Applying Quantitative Data to Develop Data-Derived Extrapolation Factors for Interspecies and Intraspecies Extrapolation (EPA/100/R-14/002F)*. Washington, DC: US EPA. Retrieved from <https://www.epa.gov/sites/production/files/201501/documents/ddef-final.pdf>
- US EPA (2012). *2012 Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories (EPA/822/S/12/001)*. Washington, DC, USA: Office of Water, US Environmental Protection Agency 2012. Retrieved from <https://www.epa.gov/sites/production/files/201509/documents/dwstandards2012.pdf>
- US EPA. (2011). *Toxicological review of trichloroethylene (Document no.EPA/635/R-09/011F)*. Retrieved from https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/toxreviews/0199tr/0199tr.pdf

- US EPA. (2005). Supplemental Guidance for Assessing Susceptibility from Early-Life Exposure to Carcinogens (Document no. EPA/630/R-03/003F). Retrieved from https://www3.epa.gov/airtoxics/childrens_supplement_final.pdf
- US EPA. (2000). Toxicological review of vinyl chloride (Document no. EPA/635R-00/004). Retrieved from https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/toxreviews/1001tr.pdf
- Valcke, M., & Haddad, S. (2015). Assessing human variability in kinetics for exposures to multiple environmental chemicals: a physiologically based pharmacokinetic modeling case study with dichloromethane, benzene, toluene, ethylbenzene, and m-xylene. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 78, 409–431. <https://doi.org/10.1080/15287394.2014.971477>
- Valcke, M., & Krishnan, K. (2010). An assessment of the interindividual variability of internal dosimetry during multi-route exposure to drinking water contaminants. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7, 4002–4022. <https://doi.org/10.3390/ijerph7114002>
- Valcke, M., & Krishnan, K. (2011a). Evaluation of the impact of the exposure route on the human kinetic adjustment factor. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 59, 258–269. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2010.10.008>
- Valcke, M., & Krishnan, K. (2011b). An assessment of the impact of physico-chemical and biochemical characteristics on the human kinetic adjustment factor for systemic toxicants. *Toxicology*, 286, 36–47. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2011.05.003>
- Valcke, M., & Krishnan, K. (2011c). 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, 863–877. <https://doi.org/10.3109/08958378.2011.609918>
- Valcke, M., & Krishnan, K. (2013). Assessing the impact of child/adult differences in hepatic first-pass effect on the human kinetic adjustment factor for ingested

- toxicants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 65, 126–134. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.11.006>
- Valcke, M., & Krishnan, K. (2014). Characterization of the human kinetic adjustment factor for the health risk assessment of environmental contaminants. *Journal of Applied Toxicology*, 34, 227–240. <https://doi.org/10.1002/jat.2919>
- Valcke, M., Nong, A., & Krishnan, K. (2012). Modeling the human kinetic adjustment factor for inhaled volatile organic chemicals: whole population approach versus distinct subpopulation approach. *Journal of Toxicology*, 2012, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2012/404329>
- Walker, K., Hattis, D., Russ, A., Sonawane, B., & Ginsberg, G. (2007). Approaches to acrylamide physiologically based toxicokinetic modeling for exploring child-adult dosimetry differences. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 70, 2033–2055. <https://doi.org/10.1080/15287390701601202>
- World Health Organization (WHO). (2004). Vinyl Chloride in Drinkingwater. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality (WHO/SDE/WSH/03.04/119). Retrieved from http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/vinylchloride.pdf
- World Health Organization (WHO). (2005). Trichloroethene in Drinkingwater. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality (WHO/SDE/WSH/05.08/22). Retrieved from http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/trichloroethenemay05.pdf
- World Health Organization/International Panel on Chemical Safety (WHO/IPCS) (2005). Chemical-Specific Adjustment Factors (CSAFs) for Interspecies Differences and Human Variability: guidance document for the use of data in dose/concentration-response assessment (WHO/IPCS/01.4, 1–96). Geneva, Switzerland: International Panel on Chemical Safety, World Health Organization.

- World Health Organization/International Panel on Chemical Safety (WHO/IPCS). (2010). Characterization and application of physiologically based pharmacokinetic models in risk assessment (IPCS Harmonization document no. 9). Retrieved from http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/pbpbk_models.pdf?ua=1.
- Yang, R., & Andersen, M. (1994). Pharmacokinetics. In E. Hodgson, & P. E. Levi (Eds.), *Introduction to biochemical toxicology* (pp. 49–73). Norwalk, CT: Appleton and Lange.
- Zhang, Y., Zhang, N., & Niu, Z. (2018). Health risk assessment of trihalomethanes mixtures from daily water-related activities via multipathway exposure based on PBPK model. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 163, 427–435. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.073>

FIGURE CAPTIONS

Figure 3.1: Conceptual representation of the multi-route interaction physiologically based pharmacokinetic model. Thick dotted lines show the additional compartment that represents the kidneys. BTEX, benzene, toluene, ethylbenzene, m-xylene; GST, glutathione-S-transferase; K_m , Michaelis-Menten constant in CYP2E1 metabolism in the liver; $K_m\text{GSTk}$, Michaelis-Menten constant in GST metabolism in the kidney; $K_m\text{GSTl}$, Michaelis-Menten constant in GST metabolism in the liver; Q_{alv} , alveolar ventilation; Q_C , cardiac output; Q_f , fat blood flow; Q_h , blood flow of high perfused tissues; Q_k , kidney blood flow; Q_l , liver blood flow; Q_r , blood flow of the rest of the body; Q_{sk} , skin blood flow; TCE, trichloroethylene; V_{maxc} , maximum velocity of metabolism mediated by CYP2E1 in the liver; V_{maxGSTl} , maximum velocity of metabolism mediated by GST (for TCE) in the liver; V_{maxGSTk} , maximum velocity of metabolism mediated by GST (for TCE) in kidneys.

Figure 3.2: Schematic representation of all binary metabolic interactions following an exposure to the BTEX mixture (RAM Bz, RAM T, RAM E and RAM m-X mean the rates of metabolism of benzene, toluene, ethylbenzene and m-xylene respectively). Bz, benzene; E, ethylbenzene; m-X, m-xylene; Q_l , liver blood flow; T, toluene.

Figure 3.3: A, Bz. B, TCE. C, VC. 24 h model simulations of the arterial blood concentration of Bz, TCE and VC for multi-route single exposure scenarios to “low” concentrations of these drinking water contaminants simulated in the subpopulations studied (scenarios 1, 3 and 4 respectively in Table 3-2). Ad, adult; Bz, benzene; Chd, children; Inf, infant; TCE, trichloroethylene; Tng, teenager; Tod, toddler; VC, vinyl chloride.

Figure 3.4: A, Bz. B, TCE. C, VC. 24 h model simulations of the arterial blood concentration of Bz, TCE and VC for multi-route single exposure (black curves) and co-exposure (gray curves) scenarios to “high” concentrations of these drinking water

contaminants simulated in the subpopulations studied. A, Black and gray curves correspond respectively to scenarios 6 and 7 in Table 3-2. B, Black and gray curves correspond respectively to scenarios 8 and 10 in Table 3-2. C, Black and gray curves correspond respectively to scenarios 9 and 10 in Table 3-2. Ad, adult; Bz, benzene; Chd, children; Inf, infant; TCE, trichloroethylene; Tng, teenager; Tod, toddler; VC, vinyl chloride.

Figure 3.1

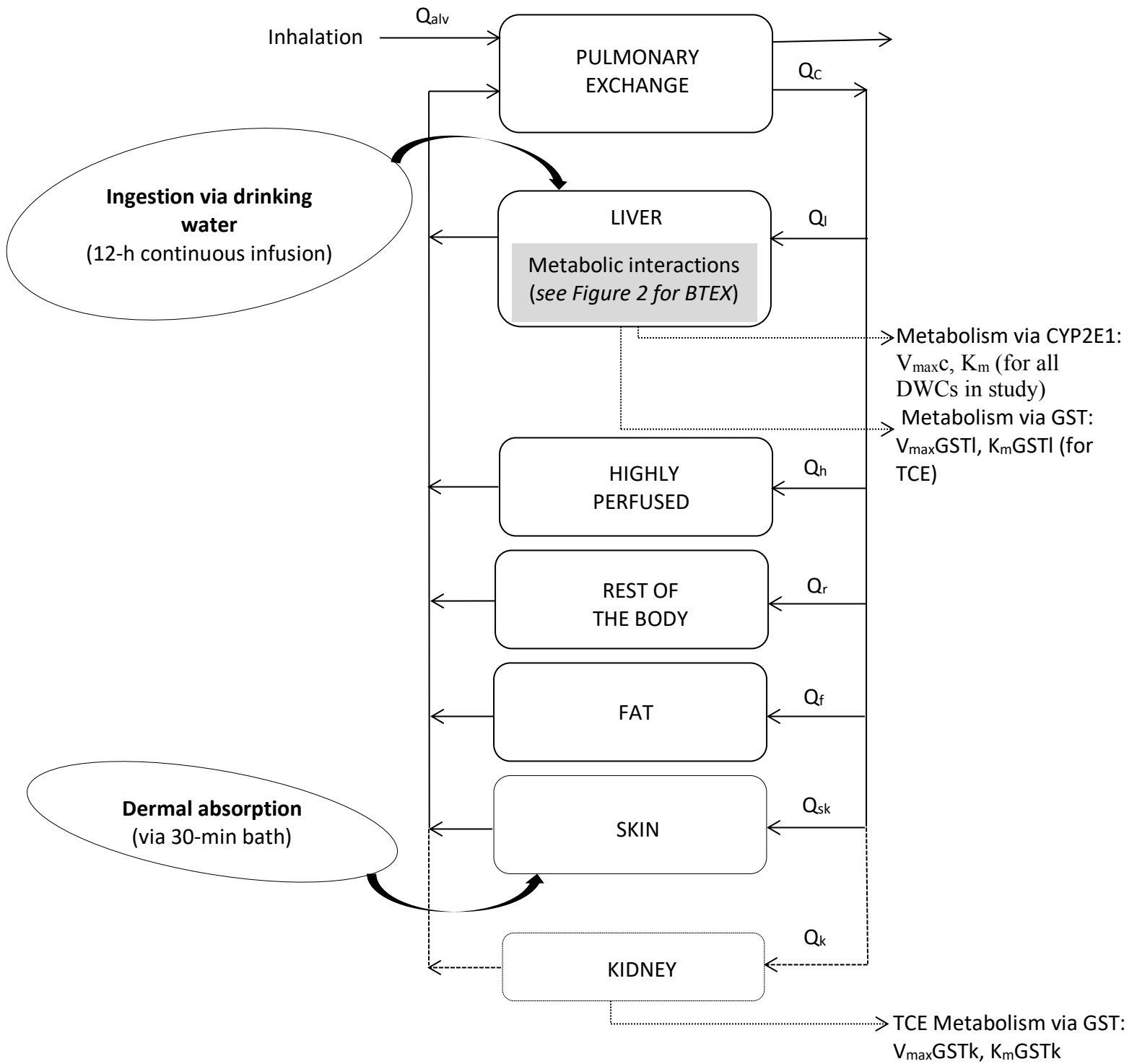


Figure 3.2

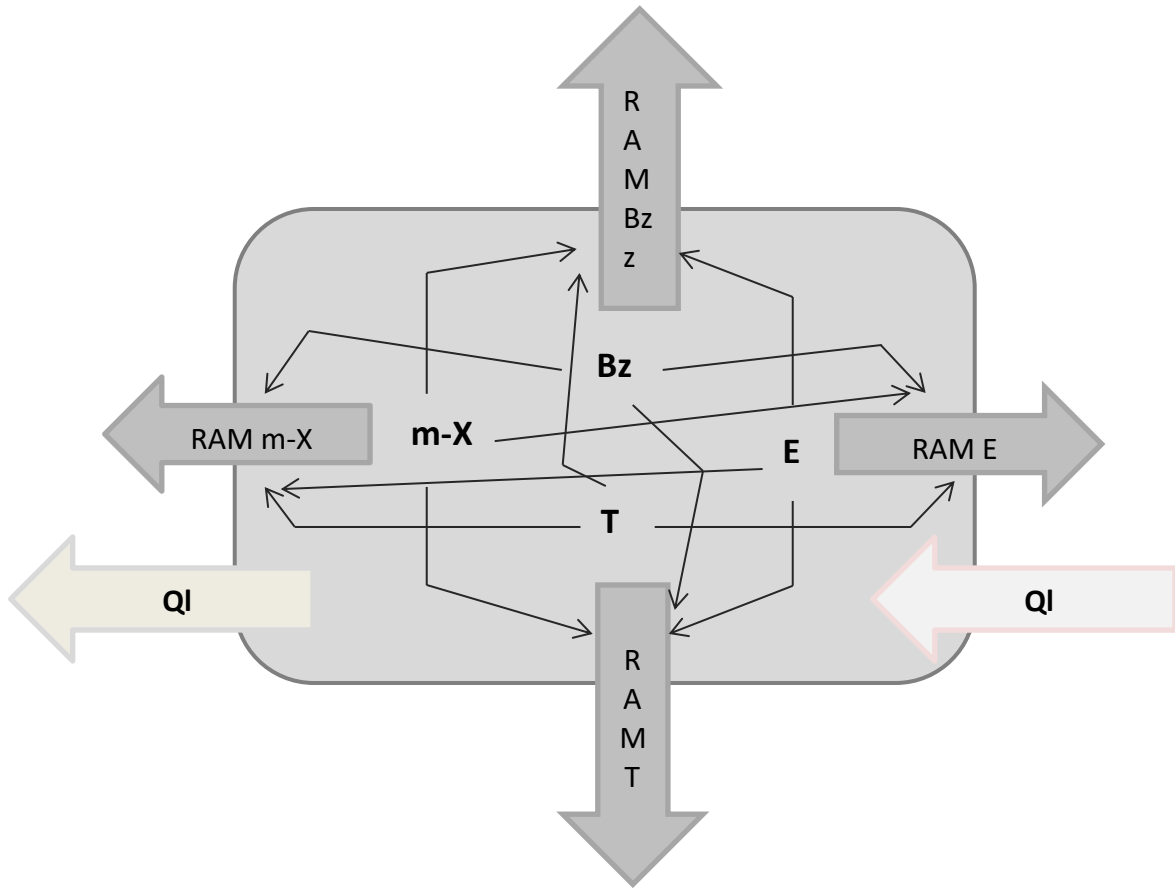
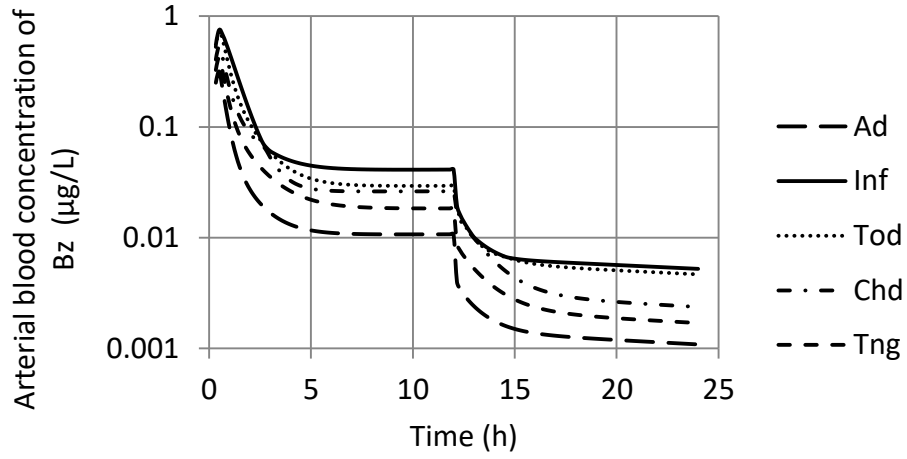
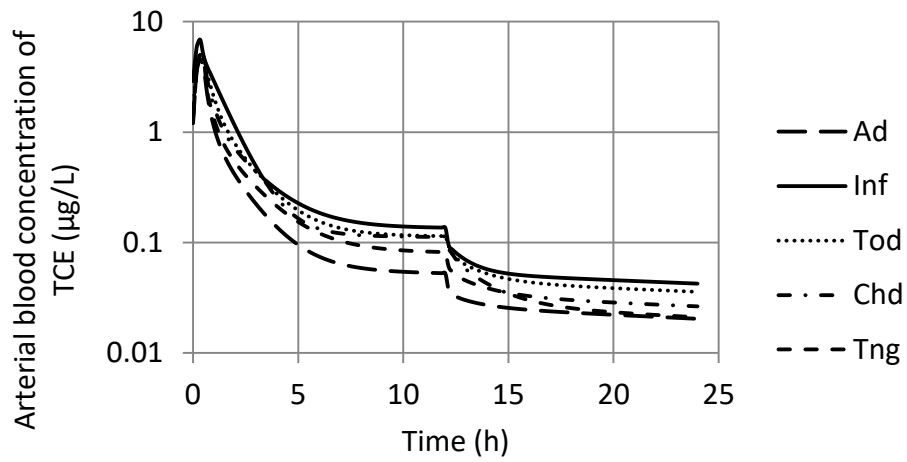


Figure 3.3

A



B



C

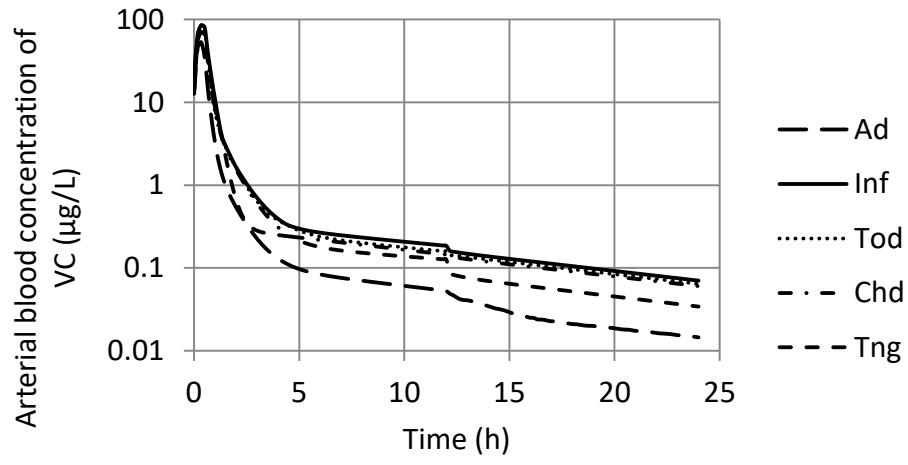
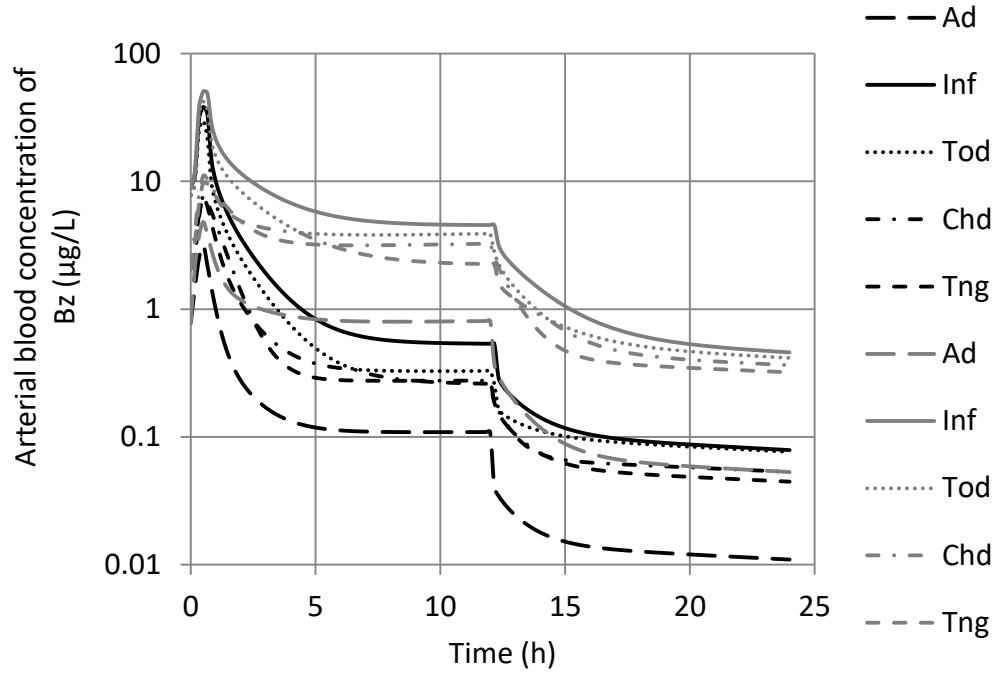
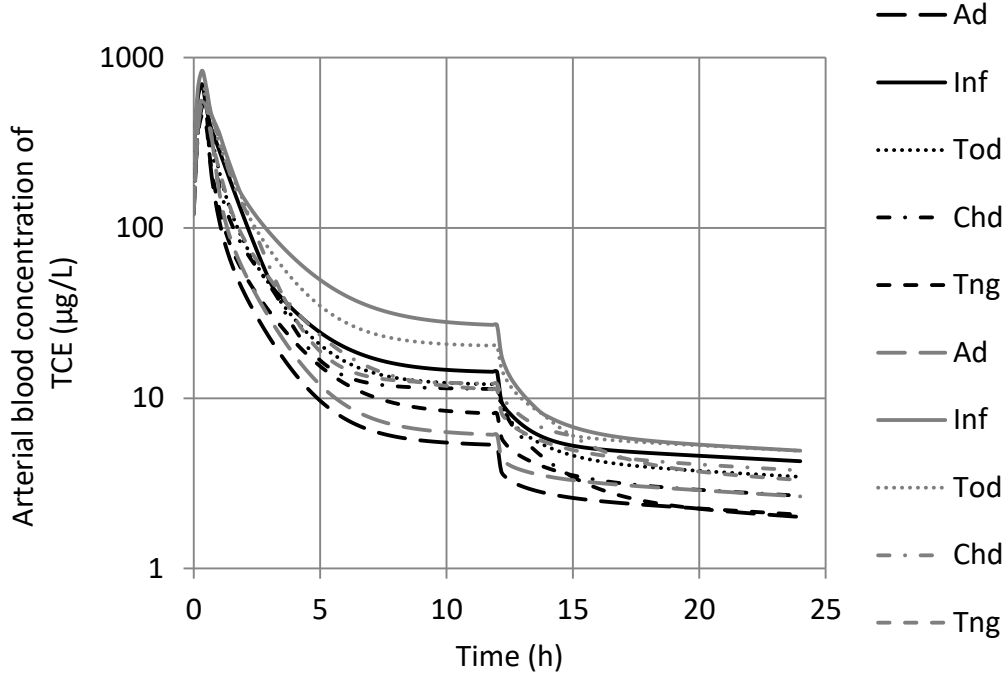


Figure 3.4

A



B



C

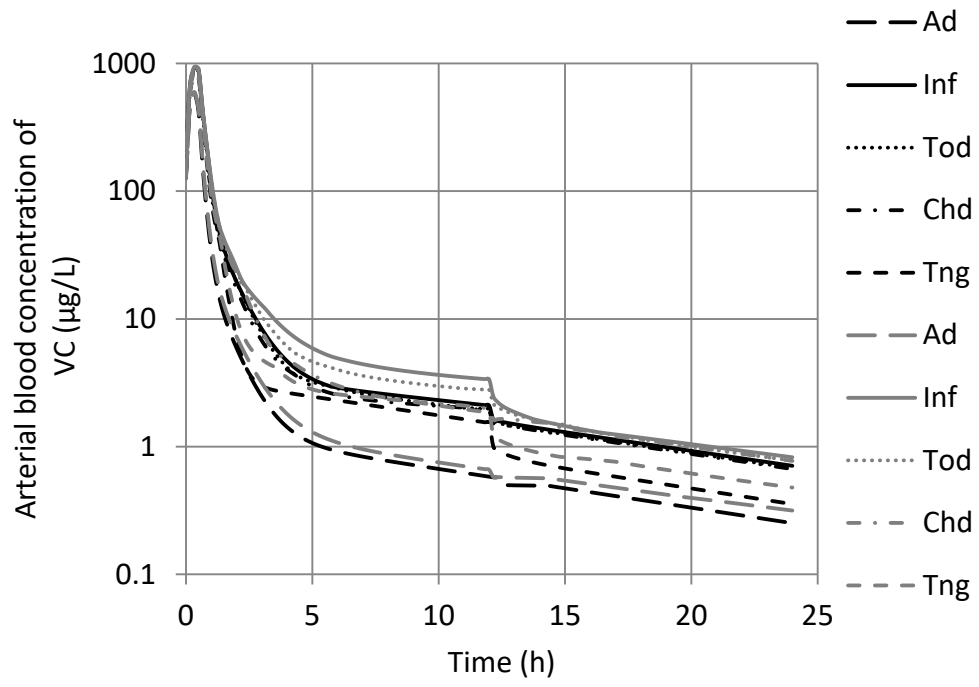


Table 3-1: Determined values for chemical-specific physicochemical, biochemical and physiological invariable parameters in the physiologically based pharmacokinetic models

Parameters (P)	Contaminants					
	Bz	T	E	m-X	TCE	VC
<i>Physicochemical P</i>						
Molecular weight (g/mol)	78.11 ^a	92.13 ^e	106.17 ^g	106.16 ⁱ	131.39 ^j	62.5 ^o
Water:air partition coefficient	0.227 ^b	0.272 ^b	0.322 ^b	0.271 ^b	0.83 ^k	1.14 ^b
Transfer efficiency in the shower stall	0.498 ^c	0.464 ^c	0.437 ^c	0.437 ^c	0.61 ^l	0.66 ^c
<i>Biochemical P</i>						
V _{maxc} (µg/min/kg ^{0.75})	35.17 ^d	57.33 ^d	106.5 ^d	108.17 ^d	166.67 ^k	66.17 ^p
K _m ^s (µg/L)	100 ^d	130 ^d	1040.0 ^d	450 ^d	1500 ^k	40 ^p
K _i ^s (µg/L)						
αB	-	140 ^d	260 ^d	220 ^d	-	-
αT	220 ^d	-	170 ^d	330 ^d	-	-
αE	630 ^d	950 ^d	-	1670 ^d	-	-
αX	230 ^d	360 ^d	510 ^d	-	-	-
αTCE	-	-	-	-	-	1500 ^q
αVC	-	-	-	-	40 ^m	-
V _{max} GSTl ^s (µg/min)	-	-	-	-	1600 ⁿ	-
K _m GSTl ^s (µg/L)	-	-	-	-	2900 ⁿ	-
V _{max} GSTk ^s (µg/min)	-	-	-	-	2833 ⁿ	-
K _m GSTk ^s (µg/L)	-	-	-	-	2600 ⁿ	-
<i>Physiological P</i>						
Fraction ^s of metabolism in TCA	-	-	-	-	0.18 ⁿ	-
Volume of distribution of TCA	-	-	-	-	(0.1 x BW) ^k	-
Dermal absorption constant ^s (K _p , cm/min)	0.0013 ^a	0.0002 ^f	0.02 ^h	0.004 ⁱ	0.002 ^k	0.00009 ^r

Notes : BW, body weight; Bz, benzene; E, ethylbenzene; m-X, m-xylene; T, toluene; ; TCA, trichloroacetic acid; TCE, trichloroethylene; VC, vinyl chloride.

^aFrom ATSDR (2007a).

^bObtained by converting the values of Henry's Law Constants taken from Syracuse Research Corporation (SRC, 2013) PhysProp Database.

^cEstimated in this study as in Haddad et al. (2006).

^dFrom Haddad, Béliveau, et al. (2001).

^eFrom ATSDR (2017).

^fFrom Thrall, Weitz and Woodstock (2002).

^gFrom ATSDR (2010).

^hFrom Institut National de l'Environnement Industriel et des RISques (INERIS, 2018).

ⁱFrom ATSDR (2007b) and for m-xylene.

^jFrom ATSDR (2014).

^kFrom Valcke and Krishnan (2011a).

^lFrom Haddad et al. (2006).

^mInhibition constant of TCE by VC assumed to be equal to K_m of VC.

ⁿFrom US EPA (2011).

^oFrom ATSDR (2006).

^pCalculated or taken from Mumtaz et al. (2012).

^qInhibition constant of VC by TCE assumed to be equal to the K_m of TCE.

^rFjeld, Eisenberg, and Compton (2007).

^sBiochemical parameter used in this study was assumed constant from one subpopulation to another due to lack of data in the literature suggesting otherwise.

Table 3-2: Water concentrations of the various DWCs used and their corresponding vapor concentrations in air during the bath (in parentheses) for the different exposure scenarios simulated by physiologically based pharmacokinetic modeling

Exposure scenarios	Water concentrations used (mg/L) and the corresponding vapor concentrations ^a in air during the bath (µg/m ³) for the DWCs investigated					
	Bz	T	E	m-X	TCE	VC
Scenario 1 (“Low” exposure)	0.2 (17.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-	-
Scenario 2 (“Low” exposure)	0.2 (17.3)	20 (3610)	30 (228.1)	40 (30.4)	-	-
Scenario 3 (“Low” exposure)	-	-	-	-	0.2 (1.2)	0 (0)
Scenario 4 (“Low” exposure)	-	-	-	-	0 (0)	3 (31.8)
Scenario 5 (“Low” exposure)	-	-	-	-	0.2 (1.2)	3 (31.8)
Scenario 6 (“High” exposure)	2 (173)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-	-
Scenario 7 (“High” exposure)	2 (173)	200 (36 100)	300 (2281)	400 (304)	-	-
Scenario 8 (“High” exposure)	-	-	-	-	2 (12)	0 (0)
Scenario 9 (“High” exposure)	-	-	-	-	0 (0)	30 (318)
Scenario10 (“High” exposure)	-	-	-	-	2 (12)	30 (318)

Notes: –, Chemical of the other mixture; Bz, benzene; DWCs, drinking water contaminants; E, ethylbenzene; m-X, m-xylene; T, toluene; TCE, trichloroethylene; VC, vinyl chloride.

^aChemical vapor concentrations in air were computed from the water concentrations during a 30-min bath for all the subpopulations investigated, using the water-to-air transfer model of McKone and Knevzovitch (1991) mentioned in this study.

Table 3-3: Probability density functions and deterministic descriptors used to define subpopulation-specific parameters in the physiologically based pharmacokinetic models

Subpopulations Parameters	Adults	Infants	Toddlers	Children	Teenagers
Median age (range)	41 (18-64) yrs	4 (2-6) mo	15.5 (7-24) mo	6 (2-10) yrs	14 (11-17) yrs
<i>Probabilistic variables^a</i>					
Body weight (kg, mean \pm SD, range)	76 \pm 17, 45-152 ^b	7.4 \pm 1.3, 2-11 ^c	11.5 \pm 2, 7-32 ^d	24.1 \pm 4, 7-57 ^d	60.4 \pm 16, 38-98 ^d
Body height (cm, mean \pm SD, range)	166 \pm 10, 144-198 ^e	64.8 \pm 5, 39-85 ^e	81.2 \pm 6, 70-106 ^e	114.7 \pm 6, 61-149 ^e	160.3 \pm 7, 130-181 ^e
CYP2E1 concentration (pmol/mg MSP, mean \pm SD, range) ^f	49 \pm 2, 11-130 ^g	34.9 \pm 14, 1-86 ^c	42 \pm 18, 18-74 ^c	43.5 \pm 17, 18-94 ^h	48 \pm 24, 20-96 ⁱ
<i>Deterministic variable</i>					
Drinking water ingestion rate (mL/day-kg BW) ^b	19.9	49.6	46.8	34.3	24
<i>Variability terms^a</i>					
Cardiac output (Q _c , mean \pm SD, range)	1 \pm 0.09 0.77 – 1.23 ^j				
Alveolar ventilation rate (Q _{alv} , mean \pm SD, range)	1 \pm 0.1 0.8 – 1.2 ^k				
Liver volume (V _l , mean \pm SD, range)	1 \pm 0.14 0.66 – 1.34 ^l				
Liver blood flow (Q _l , mean \pm SD, range)	1 \pm 0.13 0.67 – 1.33 ^m				
Fat blood flow (Q _f , mean \pm SD, range)	1 \pm 0.07 0.86 – 1.14 ^k				

Notes: BW, body weight; CYP2E1, cytochrome P450 2E1; MSP, microsomal protein; SD, standard deviation.

^aLog-normal distributions for probabilistic variables, normal distributions for variability terms (variability terms for adults assumed to be the same in all the subpopulations in the study, as in Valcke and Krishnan (2011a).

^bEstimated or taken from Valcke and Krishnan (2010).

^cEstimated from P3M data (see Price, Conolly, et al., 2003).

^dFrom Fryar, Gu and Ogden (2012).

^eSize distributions correlated to 60% (Pearson's r) with those of weight.

^fGeometric mean \pm geometric standard deviation.

^gMicrosomal protein hepatic content of 32 mg/g of liver (Lipscomb & Poet 2008).

^hFrom Nong et al. (2006).

ⁱFrom Johnsrud et al. (2003).

^jFrom Tan et al. (2007).

^kArbitrary chosen as in Valcke and Krishnan (2011a).

^lFrom Thomas et al. (1996).

^mFrom Taniguchi, Oguro, Koyama, Masuyama and Takahashi (1996).

Table 3-4: Statistical descriptors (median, CV and 95th) for internal dose metrics for Bz and VC, and resulting VI (values > 3.16 indicated in bold), obtained for multi-route single and co-exposure scenarios simulated in each subpopulation

Subpopulations Exposure Scenario	Bz internal dose metrics				VC internal dose metrics			
	Single exposure		Co-exposure		Single exposure		Co-exposure	
	(median [CV, %]; 95 th)	median [CV, %]; 95 th)	median [CV, %]; 95 th)	median [CV, %]; 95 th)	(median [CV, %]; 95 th)	(median [CV, %]; 95 th)	(median [CV, %]; 95 th)	(median [CV, %]; 95 th)
VI	AUC _{PC}	A _{met}	AUC _{PC}	A _{met}	AUC _{PC}	A _{met}	AUC _{PC}	A _{met}
Adults								
“Low”	23 (30); 27	81 (11); 87	26 (30); 33	77(11); 82	1925 (25); 2279	1680 (10); 1840	1925 (25); 2279	1680 (10); 1840
“High”	230 (30); 271	1587 (11); 1688	345 (30); 444	228 (11); 235	5854 (25); 7285	3046 (10); 3342	6319 (25); 7890	2823 (10); 3085
Infants								
“Low”	60 (25); 64	161 (10); 170	66 (25); 81	141 (10); 146	3716 (21); 4290	2217 (8); 2352	3716 (21); 4290	2217 (8); 2352
“High”	790 (25); 805	3620 (10); 3809	1140 (25); 1415	355 (10); 365	12 890(21); 13 464	4275 (8); 4569	15 055(21); 15 798	3457 (8); 3670
VI _L	2.8	2.1	3.1	1.9	2.2	1.4	2.2	1.4
VI _H	3.5	2.4	4.1	1.6	2.3	1.5	2.5	1.3
Toddlers								
“Low”	53 (23); 58	190 (10); 203	60 (23); 73	169 (10); 177	3377 (20); 4044	2553 (8); 2688	3377 (20); 4044	2553 (8); 2688
“High”	725 (24); 736	3865 (10); 4126	1035 (24); 1277	394 (10); 410	12 052(20); 12 879	5125 (8); 5483	14 100(20); 15 166	3999 (8); 4235
VI _L	2.5	2.5	2.8	2.3	2.1	1.6	2.1	1.6
VI _H	3.2	2.6	3.7	1.8	2.2	1.8	2.4	1.5
Children								

“Low”	48 (23); 53	151 (10); 162	53 (23); 65	145 (10); 154	3079 (20); 3658	2067 (8); 2184	3079 (20); 3658	2067 (8); 2184
“High”	725 (24); 736	3389 (10); 3650	980 (24); 1208	326 (10); 342	11 103(20); 11 708	3955 (8); 4264	13 421(20); 14 534	3178 (8); 3388
VI _L	2.3	2.0	2.5	1.9	1.9	1.3	1.9	1.3
VI _H	3.0	2.3	3.5	1.5	2	1.4	2.3	1.2
Teenagers								
“Low”	35 (21); 39	124 (8); 130	42 (21); 49	111 (8); 116	2584 (20); 3080	1745 (8); 1848	2584 (20); 3080	1745 (8); 1848
“High”	533 (21); 575	3230 (8); 3333	875 (21); 1001	289 (8); 296	9922 (20); 10 537	3690 (8); 3960	12 161(20); 13270	2942 (8); 3105
VI _L	1.7	1.6	1.9	1.5	1.6	1.1	1.6	1.1
VI _H	2.5	2.1	2.9	1.3	1.8	1.3	2.1	1.1

Notes: 95th, 95th percentile value; “Low” refers to the “low” concentrations simulated (i.e., scenario 1 for Bz only, scenario 2 for the mixture BTEX, scenario 4 for VC only, and scenario 5 for the mixture VC-TCE in Table 3-2), and “High” to the “high” concentrations simulated (i.e., scenario 6 for Bz only, scenario 7 for the mixture BTEX, scenario 9 for VC only, and scenario 10 for the mixture VC-TCE in Table 3-2); Amet, amount of drinking water contaminants considered (Bz or VC) metabolized via CYP2E1 pathway for 24 h and normalized to liver volume ($\mu\text{g}/24 \text{ h. L of liver}$); AUC, area under the arterial blood concentration versus time curve ($\mu\text{g.24 h/L}$); BTEX, benzene, toluene, ethylbenzene and m-xylene; Bz, benzene; CV, coefficient of variation; PC, parent compound; the letters L and H used as subscript indicate the values obtained by simulating respectively “low” concentrations and “high” concentrations of the drinking water contaminants studied; TCE, trichloroethylene; VC, vinyl chloride; VI, variability index as the ratio of the 95th percentile in a subpopulation on the median in adults (values greater than the default value of 3.16 are indicated in bold).

^aIn co-exposure with ethylbenzene, toluene and m-xylene.

^bIn co-exposure with TCE.

Table 3-5: Statistical descriptors (median, CV and 95th) for internal dose metrics for TCE and resulting VI, obtained for multi-route single and co-exposure scenarios simulated in each subpopulation

	TCE internal dose metrics							
	Single exposure				Co-exposure ^a			
Subpopulations Exposure Scenario	(Median [CV, %]; 95 th)	(Median [CV, %]; 95 th)	(Median [CV, %]; 95 th)	(Median [CV, %]; 95 th)	(Median [CV, %]; 95 th)	(Median [CV, %]; 95 th)	(Median [CV, %]; 95 th)	(Median [CV, %]; 95 th)
VI	AUC _{PC}	A _{met}	AGST _{KID}	AGST _{KL}	AUC _{PC}	A _{met}	AGST _{KID}	AGST _{KL}
Adults								
“Low”	371 (25); 453	236 (23); 287	1400 (25); 1707	1455 (25); 1762	373 (25); 455	234 (23); 285	1408 (25); 1715	1464 (25); 1772
“High”	3780 (25); 4598	2309 (23); 2794	12 588(25); 14 584	13 131 (25); 15 154	4799 (25); 5595	1420 (23); 1629	15 610 (25); 18 324	16 576 (25); 19 341
Infants								
“Low”	597 (23); 668	348 (20); 378	1836 (23); 2100	1886 (23); 2183	600 (23); 671	344 (20); 374	1849 (23); 2112	1897 (23) 2196
“High”	6847 (23); 7560	3618 (20); 3925	17 808(23); 20 141	18 126 (23); 21 010	9397 (23); 11 038	2094 (20); 2130	24 138 (23); 28 098	25 719 (23); 29 837
VI _L	1.8	1.6	1.5	1.5	1.8	1.6	1.5	1.5
VI _H	2	1.7	1.6	1.6	2.3	1.5	1.8	1.8
Toddlers								
“Low”	502 (23); 594	386 (20); 425	2163 (23); 2380	2225 (23) 2474	504 (23); 597	382 (20); 421	2176 (23); 2394	2235 (23); 2489
“High”	5870 (23); 6426	3767 (20); 4156	20 688(23); 22 658	21 286 (23); 23 636	7451 (23); 9118	2174 (20); 2272	26 584 (23); 32 220	27 701 (23); 33 152
VI _L	1.6	1.8	1.7	1.7	1.6	1.8	1.7	1.7
VI _H	1.7	1.8	1.8	1.8	1.9	1.6	2	2
Children								

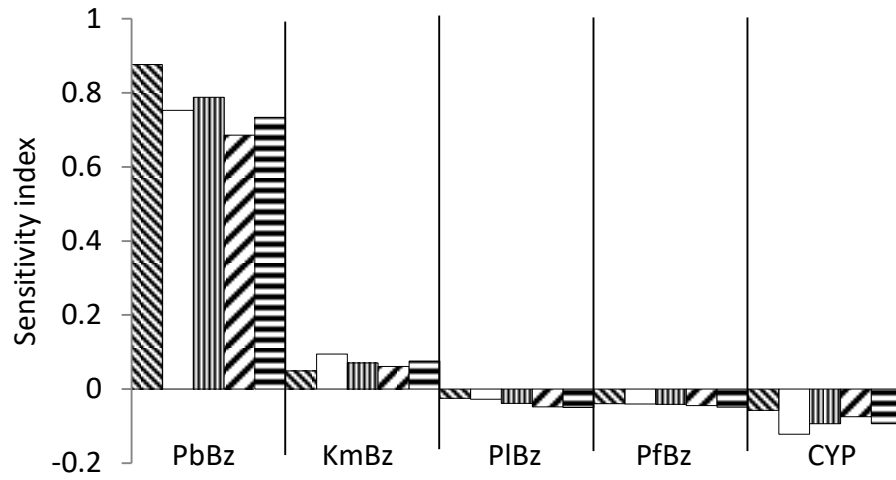
“Low”	473 (22); 557	299 (21); 354	1638 (22); 1960	1708 (22); 2037	475 (22); 560	297 (21); 351	1646 (22); 1971	1716 (22); 2050
“High”	4791 (22); 5670	3101 (21); 3694	15 511(22); 18 882	16 684 (22); 19 697	6793 (22); 8158	1691 (21); 1988	21 766 (22); 26 537	23 281 (22); 28 179
VI _L	1.5	1.5	1.4	1.4	1.5	1.5	1.4	1.4
VI _H	1.5	1.6	1.5	1.5	1.7	1.4	1.7	1.7
Teenagers								
“Low”	372 (22); 445	265 (21); 307	1403 (22); 1680	1467 (22); 1746	374 (22); 448	263 (21); 304	1410 (22); 1690	1478 (22); 1757
“High”	4276 (22); 4914	3036 (21); 3464	13 569 22); 16 364	14 149 (22); 17 070	5928 (22); 7199	1663 (21); 1704	19 235 (22); 23 415	20 461 (22); 24 864
VI _L	1.2	1.3	1.2	1.2	1.2	1.3	1.2	1.2
VI _H	1.3	1.5	1.3	1.3	1.5	1.2	1.5	1.5

Notes: 95th, 95th percentile value; “Low” refers to the “low” concentrations simulated (i.e., scenario 3 for TCE only and scenario 5 for the mixture TCE-VC), and “High” to the “high” concentrations simulated (i.e., scenario 8 for TCE only and scenario 10 for the mixture TCE-VC); letters L and H used as subscript indicate values obtained by simulating respectively “low” concentrations and “high” concentrations of the drinking water contaminants studied; AGST_{KID}, amount of TCE metabolized via GST pathway for 24 hours in kidneys and normalized to kidneys volume ($\mu\text{g}/24 \text{ h.L}$ of kidneys); AGST_{KL}, amount of TCE metabolized via GST pathway in both liver and kidneys ($\mu\text{g}/24 \text{ h.L}$ of tissue); A_{met}, amount of TCE metabolized via CYP2E1 pathway for 24 h in liver and normalized to liver volume ($\text{mg}/24 \text{ h.L}$ of liver); AUC, area under the arterial blood concentration versus time curve ($\mu\text{g}.24 \text{ h/L}$); CV, coefficient of variation; GST, glutathione-S-transferase; PC, parent compound; TCE, trichloroethylene; VC, vinyl chloride; VI, variability index as the ratio of the 95th percentile in a subpopulation on the median in adult.

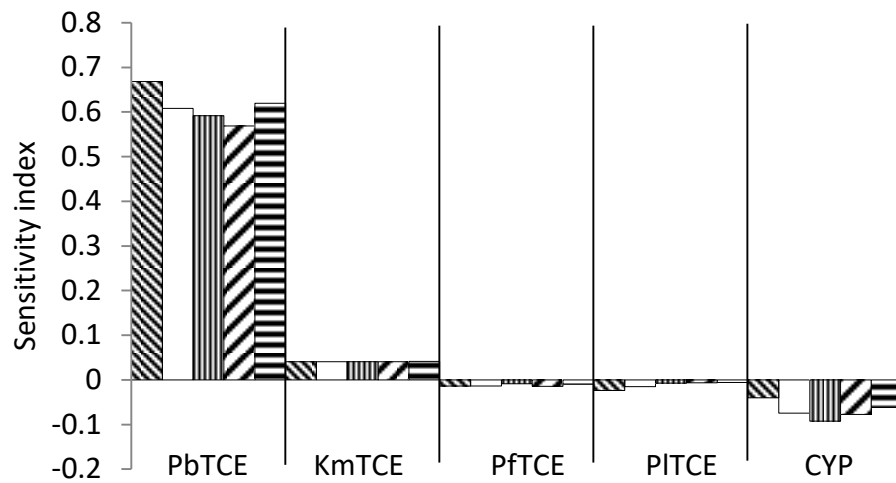
^aIn co-exposure with VC.

Supporting Information

a



b



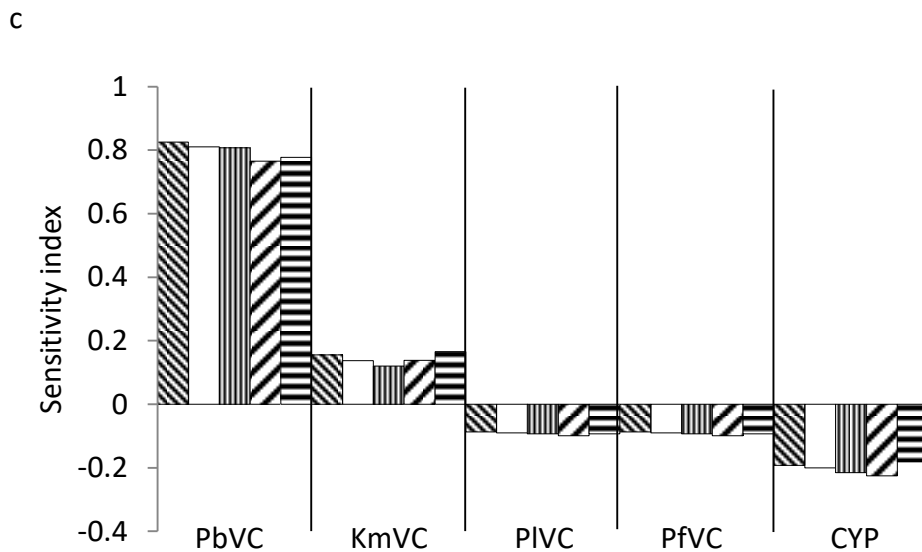
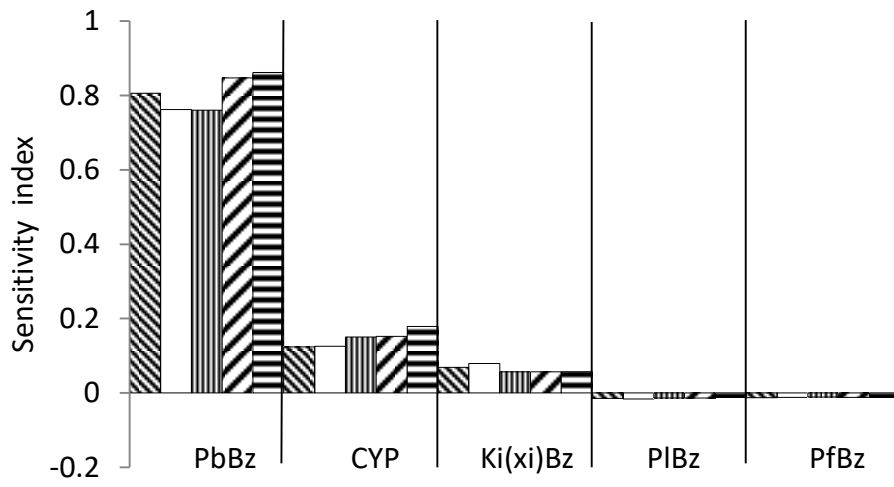
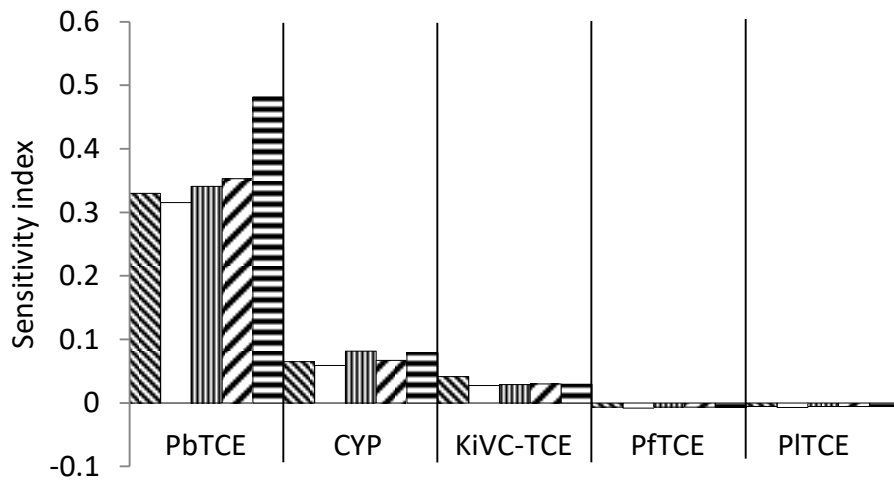


Figure 3.S.1: Sensitivity of the 24-h area under the arterial blood concentration vs time curve (AUC) for Bz (a), TCE (b) and VC (c) to model input parameters for the subpopulations studied: Adults Teenagers Children Toddlers Infants . Analyses were performed considering mixtures exposures scenarios simulated, i.e., BTEX on one hand and TCE-VC on the other hand. For each output parameter of interest, the sensitivity indexes (SI) were calculated as the change in the IDM for 10% change in the values of input parameters (physiological, biochemical and physico-chemical parameters). IDMs were obtained for the ‘high’ concentrations of DWCs simulated. The top five input parameters with regard to the highest absolute SIs obtained among the subpopulations investigated are indicated in each case: CYP, hepatic CYP2E1 microsomal concentration, KmX, Michaelis–Menten constant for substrate “X” (X = Bz, TCE or VC, see Km in Table 3-1); PbX, blood:air partition coefficient of substrate “X” (X = Bz, TCE or VC); and Fat:air and liver:air partition coefficients.

a



b



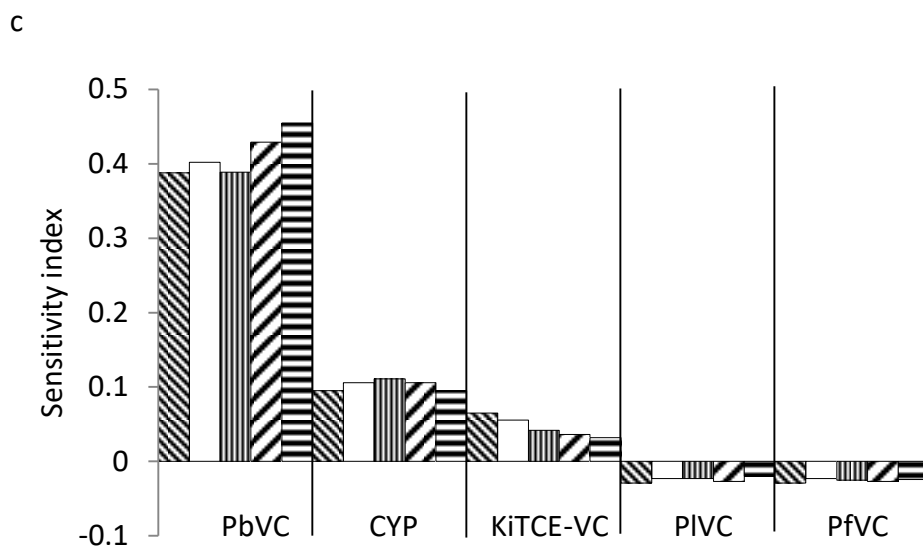


Figure 3.S.2: Sensitivity of the 24-h amount of Bz (a), TCE (b) and VC (c) metabolized (Amet) via the CYP2E1 oxidative pathway (in liver) to model input parameters for the subpopulations studied: Adults Teenagers Children Toddlers Infants Analyses were performed considering mixtures exposures scenarios simulated, i.e., BTEX on one hand and TCE-VC on the other hand. For each output parameter of interest, the sensitivity indexes were calculated as the change in the IDM for 10% change in the values of input parameters (physiological, biochemical and physico-chemical parameters). IDMs were obtained for the "high" concentrations of DWCs simulated. The top five input parameters with regard to the highest absolute SIs obtained among the subpopulations investigated are indicated in each case: CYP, hepatic CYP2E1 microsomal concentration; $Ki(x_i)Bz$, inhibition constant of inhibitor x_i (x_i = toluene, ethylbenzene or m-xylene) on benzene (Bz); $KiVC-TCE$, inhibition constant of VC on TCE; $KiTCE-VC$, inhibition constant of TCE on VC; PbX , blood:air partition coefficient of substrate "X" (X = Bz, TCE or VC); and Fat:air and liver:air partition coefficients.

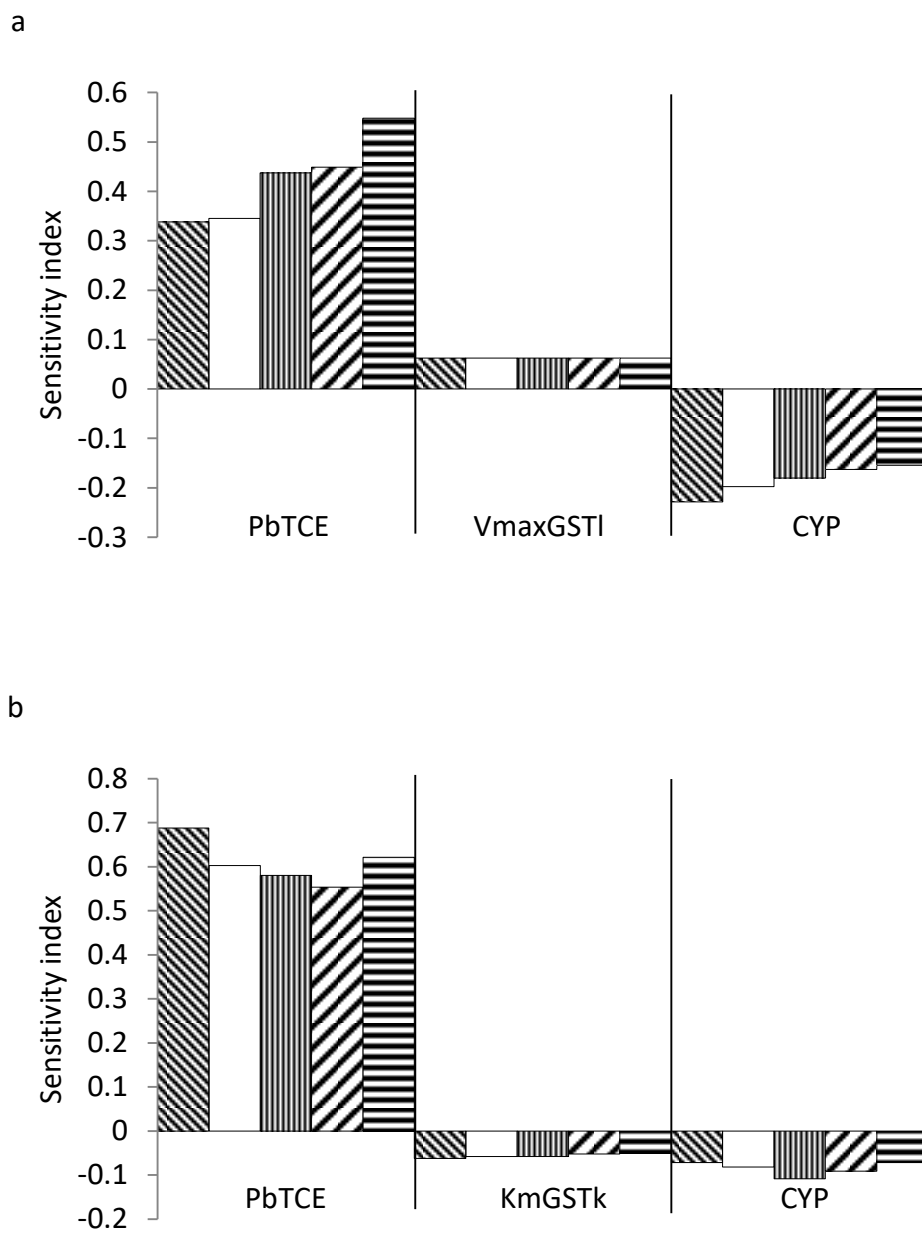







Figure 3.S.3: Sensitivity of the 24-h amount of TCE metabolized via GST pathway in liver (a) and that in kidney (b) to model input parameters for the subpopulations studied: Adults  Teenagers  Children  Toddlers  Infants . Analyses were performed considering mixtures exposures scenarios simulated with TCE (TCE-VC). For each output parameter of interest, the sensitivity indexes were calculated as the change in the IDM for 10% change in the values of input parameters (physiological, biochemical and physico-chemical

parameters). IDMs were obtained for the ‘‘high’’ concentrations of DWCs simulated. The top three input parameters with regard to the highest absolute SIs obtained among the subpopulations investigated are indicated in each case: $K_m\text{GST}_k$, rate constant for TCE’s GST metabolism in kidney; V_{maxGSTl} , constant maximum velocity of metabolism of TCE via GST pathway in liver (See Table 3-1); $P_b\text{TCE}$, blood:air partition coefficient of TCE; CYP, hepatic CYP2E1 microsomal concentration.

Table 3-S-1: Equations used to calculate the physiological parameters in the PBPK models for the studied subpopulations using the data on body weight (BW), body height (BH) and age.

Parameters	Subpopulations	Equations	Reference
Body surface area (SA, cm²)	All	$= (BW^{0.515}) \times (BH^{0.422}) \times 234.9$	Haddad et al. (2006)
Tissue volumes (L)			
<i>Liver (Vl)</i>	Inf, Tod and Chd	$= 0.05012 \times BW^{0.78}$	Haddad et al. (2006)
	Tng and Ad	$= 0.026 \times BW$	Brown et al. (1997)
<i>Fat (Vf)</i>	Inf, Tod and Chd	$= ((908.4 + 0.706 \times (BW \times 1000) - 53 \times BH - 3.057 \times (AGE \times 365.25)) / 1000 + (908.4 + 0.706 \times (BW \times 1000) - 53 \times BH + 358.5 - 3.057 \times (AGE \times 365.25)) / 1000) / 2$	Price et al. (2003a)
	Tng and Ad	$= ((1.36 \times BW / (BH / 100) - 42) + (1.61 \times BW / (BH / 100) - 38.3)) / 2$	Price et al. (2003a)
<i>Highly perfused (Vh)*</i>	Inf and Tod	$= (((-1.0682 \times 0.01 \times AGE + 2.038 \times ((BW^2 / BH)^{0.4014}) - 0.2046) + (-1.919 \times 0.01 \times AGE + 3.193 \times ((BW^2 / BH)^{0.2657}) - 1.374)) / 2) - VF$	Haddad et al. (2006)
	Chd and Tng	$= (((0.02666 \times AGE + 15.62 \times ((BW^2 / BH)^{0.08696} - 14.25) + (0.02515 \times AGE + 7.619 \times ((BW^2 / BH)^{0.1499} - 6.098)) / 2) - VF$	Haddad et al. (2006)
	Ad	$= (((-0.005309 \times AGE + 1.008 \times BW^{0.493} + BH^{0.3765} - 7.952) + (0.002331 \times AGE + 0.1253 \times BW^{0.8477} + BH^{0.3821} - 4.725)) / 2) - VF$	Haddad et al. (2006)
<i>Skin (VSk)</i>	Inf, Tod and Chd	$= 0.664 \times (SURF / 10000) + 0.0785 \times (SURF / 10000)^{1.049}$	Haddad et al. (2006)

	Tng	$=(-0.00009356-0.00002151 \times \text{AGE}-0.5058 \times \text{SURF}+0.000001134 \times \text{AGE}^2+0.1170 \times \text{AGE} \times (\text{SURF}/10^4)-0.00001673 \times (\text{SURF}/10^4)^2+0.0785 \times (\text{SURF}/10000)^{1.049}$	Haddad et al. (2006)
	Ad	$= 1.834 \times (\text{SURF}/10000)+0.0785 \times ((\text{SURF}/10000)^{1.049})$	Haddad et al. (2006)
<i>Kidney (Vk)</i>	All	$= ((4.214 \times (\text{BW}^{0.823}))+ (4.456 \times (\text{BW}^{0.795}))) / 1000$	Price et al. (2003a)
<i>Bone and skeleton (Vb)</i>	Inf and Tod	$= ((((-0.0306 \times (\text{AGE}^5)+0.5222 \times (\text{AGE}^4)+9.7109 \times (\text{AGE}^3)-187.97 \times (\text{AGE}^2)+1089.7 \times \text{AGE}+546.6) / 1000)-((0.0019956 \times (\text{AGE}^6)-0.11169 \times (\text{AGE}^5)+2.189 \times (\text{AGE}^4)-17.726 \times (\text{AGE}^3)+59.767 \times (\text{AGE}^2)+14.405 \times \text{AGE}+73.716) / 1000)+((-0.002831 \times (\text{AGE}^5)+0.18184 \times (\text{AGE}^4)+10.685 \times (\text{AGE}^3)-142.88 \times (\text{AGE}^2)+782.05 \times \text{AGE}+609.64) / 1000)-((0.0007984 \times (\text{AGE}^6)-0.037966 \times (\text{AGE}^5)+0.5272 \times (\text{AGE}^4)-1.1311 \times (\text{AGE}^3)-12.285 \times (\text{AGE}^2)+123.87 \times \text{AGE}+53.358) / 1000)) / 2$	Haddad et al. (2001b)
	Chd, Tng and Ad	$= 0.09 \times \text{BW}$	Price et al. (2003a)
<i>Rest of the body (Vr)</i>	All	$= \text{BW}-(\text{Vl}+\text{Vf}+\text{Vh}+\text{VSk}+\text{Vk}+\text{Vb})$	Valcke and Krishnan (2011c)
Blood flows (L/min)			
<i>Cardiac output (Qc)</i>	All	$= (0.012 \times \text{AGE}^3-1.2144 \times \text{AGE}^2+40.324 \times \text{AGE}+44.414) / 60$	Price et al. (2003b)
<i>Alveolar ventilation (Q_{alv})</i>	All	$= (17.874 \times \text{AGE}+39.785) / 60$	Price et al. (2003b)
<i>Liver (Ql)**</i>	Inf	$=0.000006 \times (\text{AGE}^5)-0.0003 \times (\text{AGE}^4)+0.0066 \times (\text{AGE}^3)-0.0542 \times (\text{AGE}^2)+0.236 \times \text{AGE}+0.2335$	Bjorkman (2005)

	Tod	$= -0.000005x(\text{AGE}^6) + 0.0002x(\text{AGE}^5) - 0.0046x(\text{AGE}^4) + 0.041x(\text{AGE}^3) - 0.1672x(\text{AGE}^2) + 0.3513x\text{AGE} + 0.2176$	Bjorkman (2005)
	Chd, Tng and Ad	$= 0.92xVl$	Haddad et al. (2006)
<i>Fat (Qf)</i>	All	$= 0.0254xVf$	Haddad et al. (2006)
<i>Skin (QSk)</i>	All	$= 0.135xVSk$	Haddad et al. (2006)
<i>Kidney (Qk)</i>	All	$= 0.18xQc$	Brown et al. (1997)
<i>Rest of the body (Qr)</i>	All	$= ***$	Haddad et al. (2006)
<i>Highly perfused (Qh)</i>	All	$= Qc - (Ql + Qf + Qf + QSk + Qk + Qr)$	Price et al. (2003b)

Notes: *: The volume of liver was subtracted from the result of this equation to obtain the volume of the highly perfused tissue in the PBPK models; **: The liver blood flow in infants and toddlers was obtained by linear interpolation from the work of Bjorkman (2005). ***: The blood flows to the rest of the body were calculated based on the blood flows to the tongue, the heart, the skin, and the skeletal muscles and were increased by a factor that corresponds to the ratio of the volume of the rest of the body (V_r) on the sum of the volumes of these tissues. Calculations of the volumes and blood flows for these tissues were conducted as per Haddad et al. (2006).

Table 3-S-2: Chemical-specific distributions of partition coefficients required for PBPK modeling.

Subpopulations Partition coefficients (mean ±SD, range)	Adults	Infants	Toddlers	Children	Teenagers
Benzene					
Blood:air	7.4 ^a ±0.8 , (6.6-8.2) ^g	7.4 ^a ±0.8 , (6.6-8.2) ^g	7.4 ^a ±0.8 , (6.6-8.2) ^g	7.4 ^a ±0.8 , (6.6-8.2) ^g	7.4 ^a ±0.8 , (6.6-8.2) ^g
Liver:air	11 ^a ±0.8, (10.2-11.8) ^g	11 ^a ±0.8, (10.2-11.8) ^g	11 ^a ±0.8, (10.2-11.8) ^g	11 ^a ±0.8, (10.2-11.8) ^g	11 ^a ±0.8, (10.2-11.8) ^g
Fat:air	406 ^a ±4.5, (401.5-410.5) ^g	386.9 ^h ±4.3, (382.6-391.2) ^g	386.9 ^h ±4.3, (382.6-391.2) ^g	386.9 ^h ±4.3, (382.6-391.2) ^g	396.5 ^j ±4.4, (392.1-400.9) ^g
Highly perfused:air	11 ^a ±0.8, (10.2-11.8) ^g	11 ^a ±0.8, (10.2-11.8) ^g	11 ^a ±0.8, (10.2-11.8) ^g	11 ^a ±0.8, (10.2-11.8) ^g	11 ^a ±0.8, (10.2-11.8) ^g
Rest of the body:air	15 ^a ±2.2, (12.8-17.2) ^g	105.7 ⁱ ±15.6, (90.1-121.3) ^g	56.1 ⁱ ±8.3, (47.8-64.4) ^g	19.7 ⁱ ±2.9, (16.8-22.6) ^g	17.4 ⁱ ±2.6, (14.8-20) ^g
Skin:air	16.3 ^b ±2.4, (13.9-18.7) ^g	105.7 ⁱ ±15.6, (90.1-121.3) ^g	56.1 ⁱ ±8.3, (47.8-64.4) ^g	19.7 ⁱ ±2.9, (16.8-22.6) ^g	17.4 ⁱ ±2.6, (14.8-20) ^g
Toluene					
Blood:air	15.6 ^a ±1.7, (13.9-17.3) ^g	15.6 ^a ±1.7, (13.9-17.3) ^g	15.6 ^a ±1.7, (13.9-17.3) ^g	15.6 ^a ±1.7, (13.9-17.3) ^g	15.6 ^a ±1.7, (13.9-17.3) ^g
Liver:air	83.6 ^a ±5.8, (77.8-89.4) ^g	83.6 ^a ±5.8, (77.8-89.4) ^g	83.6 ^a ±5.8, (77.8-89.4) ^g	83.6 ^a ±5.8, (77.8-89.4) ^g	83.6 ^a ±5.8, (77.8-89.4) ^g
Fat:air	1021 ^a ±11.0, (1009.8-1032.2) ^g	816.8 ^h ±9, (807.8-825.8) ^g	816.8 ^h ±9, (807.8-825.8) ^g	816.8 ^h ±9, (807.8-825.8) ^g	918.9 ^j ±10.1, (908.8-929) ^g
Highly perfused:air	83.6 ^a ±5.8, (77.8-89.4) ^g	83.6 ^a ±5.8, (77.8-89.4) ^g	83.6 ^a ±5.8, (77.8-89.4) ^g	83.6 ^a ±5.8, (77.8-89.4) ^g	83.6 ^a ±5.8, (77.8-89.4) ^g
Rest of the body:air	27.7 ^a ±4.0, (23.6-31.8) ^g	195.2 ⁱ ±28.9, (166.3-224.1) ^g	103.5 ⁱ ±15.3, (88.2-118.8) ^g	36.4 ⁱ ±5.4, (31-41.8) ^g	32.1 ^j ±4.8, (27.3-36.9) ^g
Skin:air	43 ^c ±6.4,	195.2 ⁱ ±28.9,	103.5 ⁱ ±15.3,	36.4 ⁱ ±5.4,	39.7 ^j ±5.9,

	(36.6-49.4) ^g	(166.3-224.1) ^g	(88.2-118.8) ^g	(31-41.8) ^g	(33.8-45.6)
Ethylbenzene					
Blood:air	28 ^a ±3.1, (24.9-31.1) ^g	28 ^a ±3.1, (24.9-31.1) ^g	28 ^a ±3.1, (24.9-31.1) ^g	28 ^a ±3.1, (24.9-31.1) ^g	28 ^a ±3.1, (24.9-31.1) ^g
Liver:air	83.8 ^a ±5.8, (78-89.6) ^g	83.8 ^a ±5.8, (78-89.6) ^g	83.8 ^a ±5.8, (78-89.6) ^g	83.8 ^a ±5.8, (78-89.6) ^g	83.8 ^a ±5.8, (78-89.6) ^g
Fat:air	1556 ^a ±17.1, (1538.9-1573.1) ^g	1193.5 ^h ±13.1, (1180.4-1206.6) ^g	1193.5 ^h ±13.1, (1180.4-1206.6) ^g	1193.5 ^h ±13.1, (1180.4-1206.6) ^g	1374.8 ^j ±15.1, (1359.7-1389.9) ^g
Highly perfused:air	60.3 ^a ±4.2, (56.1-64.5) ^g	60.3 ^a ±4.2, (56.1-64.5) ^g	60.3 ^a ±4.2, (56.1-64.5) ^g	60.3 ^a ±4.2, (56.1-64.5) ^g	60.3 ^a ±4.2, (56.1-64.5) ^g
Rest of the body:air	26 ^a ±3.8, (22.2-29.8) ^g	183.2 ⁱ ±27.1, (156.1-210.3) ^g	97.2 ⁱ ±14.4, (82.8-111.6) ^g	34.1 ⁱ ±5, (29.1-39.1) ^g	30.1 ^j ±4.5, (25.6-34.6) ^g
Skin:air	17.3 ^d ±2.6, (14.7-19.9) ^g	183.2 ⁱ ±27.1, (156.1-210.3) ^g	97.2 ⁱ ±14.4, (82.8-111.6) ^g	34.1 ⁱ ±5, (29.1-39.1) ^g	25.7 ^j ±3.8, (21.9-29.5) ^g
m-Xylene					
Blood:air	26.4 ^a ±2.9, (23.5-29.3) ^g	26.4 ^a ±2.9, (23.5-29.3) ^g	26.4 ^a ±2.9, (23.5-29.3) ^g	26.4 ^a ±2.9, (23.5-29.3) ^g	26.4 ^a ±2.9, (23.5-29.3) ^g
Liver:air	90.9 ^a ±6.3, (84.6-97.2) ^g	90.9 ^a ±6.3, (84.6-97.2) ^g	90.9 ^a ±6.3, (84.6-97.2) ^g	90.9 ^a ±6.3, (84.6-97.2) ^g	90.9 ^a ±6.3, (84.6-97.2) ^g
Fat:air	1859 ^a ±20.5, (1838.5-1879.5) ^g	1422.1 ^h ±15.6, (1426.5-1437.7) ^g	1422.1 ^h ±15.6, (1426.5-1437.7) ^g	1422.1 ^h ±15.6, (1426.5-1437.7) ^g	1640.6 ^h ±18.0, (1622.6-1658.6) ^g
Highly perfused:air	90.9 ^a ±6.3, (84.6-97.2) ^g	90.9 ^a ±6.3, (84.6-97.2) ^g	90.9 ^a ±6.3, (84.6-97.2) ^g	90.9 ^a ±6.3, (84.6-97.2) ^g	90.9 ^a ±6.3, (84.6-97.2) ^g
Rest of the body:air	41.9 ^a ±6.2, (35.7-48.1) ^g	295.2 ⁱ ±43.7, (251.5-338.9) ^g	156.6 ⁱ ±23.2, (133.4-179.8) ^g	55 ⁱ ±8.1, (46.9-63.1) ^g	48.5 ^j ±7.2, (41.3-55.7) ^g
Skin:air	22.2 ^d ±3.3, (18.9-25.5) ^g	295.2 ⁱ ±43.7, (251.5-338.9) ^g	156.6 ⁱ ±23.2, (133.4-179.8) ^g	55 ⁱ ±8.1, (46.9-63.1) ^g	38.6 ^j ±5.1, (33.5-43.7)
Trichloroethylene					
Blood:air	9.2 ^e ±1, (8.2-10.2) ^g	9.2 ^e ±1, (8.2-10.2) ^g	9.2 ^e ±1, (8.2-10.2) ^g	9.2 ^e ±1, (8.2-10.2) ^g	9.2 ^e ±1, (8.2-10.2) ^g

Liver:air	62.6 ^e ±4.3, (58.3-66.9) ^g	62.6 ^e ±4.3, (58.3-66.9) ^g	62.6 ^e ±4.3, (58.3-66.9) ^g	62.6 ^e ±4.3, (58.3-66.9) ^g	62.6 ^e ±4.3, (58.3-66.9) ^g
Fat:air	671.6 ^e ±7.4, (664.2-679) ^g	552.1 ^h ±6.1, (546-558.2) ^g	552.1 ^h ±6.1, (546-558.2) ^g	552.1 ^h ±6.1, (546-558.2) ^g	611.9 ^j ±6.7, (605.2-618.6) ^g
Highly perfused:air	62.6 ^e ±4.3, (58.3-66.9) ^g	62.6 ^e ±4.3, (58.3-66.9) ^g	62.6 ^e ±4.3, (58.3-66.9) ^g	62.6 ^e ±4.3, (58.3-66.9) ^g	62.6 ^e ±4.3, (58.3-66.9) ^g
Rest of the body:air	21.2 ^e ±3.1, (18.1-24.3) ^g	149.4 ⁱ ±22.1, (127.3-171.5) ^g	79.2 ⁱ ±11.7, (67.5-90.9) ^g	27.8 ⁱ ±4.1, (23.7-31.9) ^g	24.5 ^j ±3.6, (20.9-28.1) ^g
Skin:air	20.3 ^e ±3.0, (17.3-23.3) ^g	149.4 ⁱ ±22.1, (127.3-171.5) ^g	79.2 ⁱ ±11.7, (67.5-90.9) ^g	27.8 ⁱ ±4.1, (23.7-31.9) ^g	24.1 ^j ±3.6, (20.5-27.7) ^g
Kidney:air	12.1 ^f ±0.8, (11.3-12.9) ^g	12.1 ^f ±0.8, (11.3-12.9) ^g	12.1 ^f ±0.8, (11.3-12.9) ^g	12.1 ^f ±0.8, (11.3-12.9) ^g	12.1 ^f ±0.8, (11.3-12.9) ^g
Vinyl chloride					
Blood:air	1.2 ^f ±0.1, (1.1-1.3) ^g	1.2 ^f ±0.1, (1.1-1.3) ^g	1.2 ^f ±0.1, (1.1-1.3) ^g	1.2 ^f ±0.1, (1.1-1.3) ^g	1.2 ^f ±0.1, (1.1-1.3) ^g
Liver:air	1.7 ^f ±0.1, (1.6-1.8) ^g	1.7 ^f ±0.1, (1.6-1.8) ^g	1.7 ^f ±0.1, (1.6-1.8) ^g	1.7 ^f ±0.1, (1.6-1.8) ^g	1.7 ^f ±0.1, (1.6-1.8) ^g
Fat:air	24 ^f ±0.3, (23.7-24.3) ^g	33.6 ^h ±0.4, (33.2-34) ^g	33.6 ^h ±0.4, (33.2-34) ^g	33.6 ^h ±0.4, (33.2-34) ^g	28.8 ^j ±0.3, (28.5-29.1) ^g
Highly perfused:air	1.7 ^f ±0.1, (1.6-1.8) ^g	1.7 ^f ±0.1, (1.6-1.8) ^g	1.7 ^f ±0.1, (1.6-1.8) ^g	1.7 ^f ±0.1, (1.6-1.8) ^g	1.7 ^f ±0.1, (1.6-1.8) ^g
Rest of the body:air	1 ^f ±0.1, (0.9-1.1) ^g	7 ⁱ ±1, (6-8) ^g	3.7 ⁱ ±0.5, (3.2-4.2) ^g	1.3 ⁱ ±0.2, (1.1-1.5) ^g	1.2 ^j ±0.2, (1-1.4) ^g
Skin:air	1 ^f ±0.1, (0.9-1.1) ^g	7 ⁱ ±1, (6-8) ^g	3.7 ⁱ ±0.5, (3.2-4.2) ^g	1.3 ⁱ ±0.2, (1.1-1.5) ^g	1.2 ^j ±0.2, (1-1.4) ^g
Kidney:air	1.7 ^f ±0.1, (1.6-1.8) ^g	1.7 ^f ±0.1, (1.6-1.8) ^g	1.7 ^f ±0.1, (1.6-1.8) ^g	1.7 ^f ±0.1, (1.6-1.8) ^g	1.7 ^f ±0.1, (1.6-1.8) ^g

Notes: SD, standard deviation.

- a: From Haddad et al. (2001a);
- b: Calculated from Sinclair et al. (2002);
- c: From Thrall et al. (2002);
- d: Calculated from Mccarley and Bunge (2001);
- e: From Valcke and Krishnan 2011a;
- f: Calculated or taken from Mumtaz et al. (2012);
- g: Calculated assuming the same variation coefficients as those of partition coefficients for toluene in Tardif et al. (2002);
- h: Calculated using Equation 2 ([Eq. 2]);
- i: Calculated using [Eq. 2] and [Eq. 3];
- j: Calculated as the mean of the sum of values obtained in adults and children.

Chapitre 4 – Article 2

4. Article 2: Reverse dosimetry modeling of toluene exposure concentrations based on biomonitoring levels from the Canadian health measures survey

Tohon, H., Nong, A., Moreau, M., Valcke, M. et Haddad, S.

Tohon, H., Nong, A., Moreau, M., Valcke, M., and Haddad, S. (2018). Reverse dosimetry modeling of toluene exposure concentrations based on biomonitoring levels from the Canadian health measures survey. *Journal of toxicology and environmental Health Part A* 81(20):1066-1082. doi: 10.1080/15287394.2018.1534174

**REVERSE DOSIMETRY MODELING OF TOLUENE EXPOSURE
CONCENTRATIONS BASED ON BIOMONITORING LEVELS FROM THE
CANADIAN HEALTH MEASURES SURVEY.**

Tohon H¹, Nong A², Moreau M², Valcke M^{1,3} and Haddad S¹

¹Department of Environmental and Occupational Health, ESPUM, IRSPUM, Université de Montréal, C.P. 6128 Succ. Centre-ville, Montreal, (Qc.), Canada, H3C 3J7

²Exposure and Biomonitoring Division, Environmental Health Sciences and Research Bureau, Health Canada, Ottawa, ON, Canada

³Direction de la santé environnementale et de la toxicologie, Institut national de santé publique du Québec, Montréal, Quebec, Canada

Honesty Tohon a réalisé tous les travaux de modélisation à la base de l'Article 2. Il a contribué de façon majeure à l'analyse et à l'interprétation des résultats de ces travaux, ainsi qu'à la rédaction et à la préparation du manuscrit.

Abstract

Biomonitoring might provide useful estimates of population exposure to environmental chemicals. However, data uncertainties stemming from interindividual variability are common in large population biomonitoring surveys. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) models might be used to account for age- and gender-related variability in internal dose. The objective of this study was to reconstruct air concentrations consistent with blood toluene measures reported in the third Canadian Health Measures Survey using reverse dosimetry PBPK modeling techniques. Population distributions of model's physiological parameters were described based upon age, weight, and size for four subpopulations (12–19, 20–39, 40–59, and 60–79 years old). Monte Carlo simulations applied to PBPK modeling allowed converting the distributions of venous blood measures of toluene obtained from CHMS into related air levels. Based upon blood levels observed at the 50th, 90th and 95th percentiles, corresponding air toluene concentrations were estimated for teenagers aged 12–19 years as being, respectively, 0.009, 0.04 and 0.06 ppm. Similarly, values were computed for adults aged 20–39 years (0.007, 0.036, and 0.06 ppm), 40–59 years (0.007, 0.036 and 0.06 ppm) and 60–79 years (0.006, 0.022 and 0.04 ppm). These estimations are well below Health Canada's maximum recommended chronic air guidelines for toluene. In conclusion, PBPK modeling and reverse dosimetry may be combined to help interpret biomonitoring data for chemical exposure in large population surveys and estimate the associated toxicological health risk.

Keywords: Biomonitoring, PBPK modeling, reverse dosimetry, CHMS, toluene.

4.1 Introduction

Growing concerns of exposure to various contaminants in the environment have led to large efforts at gathering an expanding database of chemicals measured in blood and/or urine taken from different populations over the world (Kolossa-Gehring 2012; Paciência et al. 2016; Wallace, Kormos, and Pleil 2016). These biomonitoring surveys, such as Canadian Health Measures Survey (CHMS) or National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), provide a wealth of information on the levels of environmental chemicals found in the general population (Aylward et al. 2010; Phillips et al. 2014). The intent of these measurements is essentially to elucidate the extent of exposure to these chemicals.

Traditionally, average daily exposure to environmental chemicals was estimated using epidemiological survey questionnaires, sometimes combined with measurements of environmental concentrations, in order to inform on individual's behavioral patterns and environmental conditions that may influence their exposure. However, this traditional indirect approach to exposure assessment leaves large pans of uncertainties regarding actual realistic exposure of individuals (Paustenbach 2000). These uncertainties stem from source related to the participants such as recall bias or interindividual variability in physiology as well as their environment including exposure sources and intensities, patterns and frequencies of exposure. In order to reduce such uncertainties, robust quantitative exposure assessments to environmental toxicants are needed. Exploiting biomonitoring data collected during large-scale surveys might contribute to address this need.

The advantage of the use of biomonitoring data in exposure assessment is that it enables accounting for all exposure variables, therefore reflecting integrated chemical exposure over time, source and routes. In this regard in a forward dosimetry computation, biomonitoring data (from CHMS or NHANES or other surveys) may be compared against

“Biomonitoring Equivalents (BE)” (Angerer et al. 2011; Aylward et al. 2010, 2013; Hays et al. 2008; Phillips et al. 2014). Biomonitoring Equivalents is thus a term used to designate the values obtained by translating existing risk assessment-based exposure guidance values such as tolerable daily intakes (TDI), reference doses (RfD) or reference concentrations (RfC) into corresponding biomarker concentrations (Hays et al. 2008, 2007). These values are limited to steady-state assumptions and are meant for subsequent comparison at the population level and resulting prioritization.

Conversely, reverse dosimetry of external dose exposure might be predicted directly from biomonitoring measurements (performed in epidemiological surveys). Reverse dosimetry combines statistical computational approaches, physiologically based pharmacokinetic (PBPK) models and population data to convert blood levels of chemicals (i.e. internal exposure biomarkers) into their external exposure doses (Clewell et al. 2008; Lyons et al. 2008; Tan, Liao, and Clewell 2007; Tan et al. 2006). Toluene is a chemical VOC for which numerous PBPK models are available in the literature (Marchand et al. 2015; Nong et al. 2006; Tardif et al. 2002) and for which blood levels are often detectable within population data collected during the third survey cycle of CHMS (2012–2013). Therefore, the objective of the current study was to use a simple reverse dosimetry approach that reflects interindividual variability (age, body weight, body height, body mass index, etc.) in the physiological determinants of toxicokinetics (TK) in the Canadian population in order to interpret biomonitoring data and enabling estimation of external exposure concentrations consistent with these measured blood levels of toluene.

4.2 Methods

4.2.1 Toluene PBPK model

A 5-compartment PBPK model specific to toluene’s inhalation of each Canadian subpopulation for which CHMS data were available, that is 12–19, 20–39, 40–59, and 60–79 years, was built with ACSL software (Advanced Continuous Simulation Language,

ACSL®), version 3.0.2.1.), as reported in Haddad, Pelekis, and Krishnan (1996) (Figure 4.S.1 in Supplementary Material 1 (SM1)). The model incorporates solely inhalation as relevant exposure route since toluene exposure arises mainly from air pollution (Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) 2017; Santé Canada 2016; Héroux et al. 2008; Won et al. 2005; Oliveira et al. 2017).

The physicochemical and biochemical parameters required in the models (Table 4-1) were obtained from the literature (Fabri, Graeser, and Simo 2012; Haddad et al. 2001; Tardif et al. 2002). The physiological parameters including blood flows and tissue volumes needed in the models were calculated for each subpopulation using equations also extracted from the literature and presented in Table 4-S-1 in Supplementary Material 2 (SM2); as a result, age-, weight-, and size-dependent physiological variability in TK was taken into account. Biomonitoring data for the age groups investigated were not available for each gender, but for both genders combined. Since non-significant gender-related pharmacokinetic (PK) differences have been reported between males and females for volatile organic compounds (VOC) such as toluene (Clewell et al. 2004; Sarangapani et al. 2003), gender-specific equations describing tissue volumes and blood flows were averaged together for describing the model's parameters. The distributions of age, weight, and size employed are also those combined for both genders (Table 4-2) (Valcke and Krishnan 2011a, 2011b, 2011c, 2014). These distributions were obtained directly for all subpopulations from Statistics Canada and Canadian Health Measures Survey. The distributions of weight and height were correlated such as Pearson's $\rho = 60\%$ in accordance with population distribution of BMI in Canada (Valcke and Krishnan 2011a).

Further, because toluene is a substrate of CYP2E1, the major isozyme involved in the hepatic metabolism of low molecular weight VOC (Neafsey et al. 2009; Nong et al. 2006; Ronis, Lindros, and Ingelman-Sundberg 1996), its intrinsic clearance in a given simulated individual was computed by adjusting the catalytic activity of toluene's metabolism (which follows Michaelis-Menten kinetics) in function of this isozyme's liver ontogeny (Nong et

al. 2006). Thus, for a given individual, the maximal rate of metabolism ($V_{max_{adj}}$) was adjusted from the V_{max_c} as shown in Equation 1.

$$V_{max_{adj}} = \frac{V_{max_c}}{[CYP2E1]_{ad} \times V_{lad}} \times [CYP2E1]_{ind} \times V_{lind} \quad [\text{Eq. 1}]$$

where V_{max_c} was presumed to result from catalytic activity associated with the hepatic mean concentration (51.7 pmol/mg of microsomal protein, MSP) of CYP2E1 ($[CYP2E1]_{ad}$) measured in a reference adult population described by Lipscomb et al. (2003) and Neafsey et al. (2009), $[CYP2E1]_{ind}$ and V_{lind} are, respectively, CYP2E1 concentration and volume of liver of the simulated individual (Nong et al. 2006; Valcke and Haddad 2015; Valcke and Krishnan 2011b). Indeed, $[CYP2E1]_{ad}$ is the mean CYP2E1 hepatic concentration in a reference group of 20 adults, for which the mean body weight (77.25 kg) was available and corresponding liver volume (V_{lad}) calculated accordingly (Valcke and Krishnan 2011a). Content of hepatic microsomal protein concentration was considered constant among each subpopulation, that is, it does not vary with age (Lipscomb and Poet 2008). Distributions of model parameters obtained from the literature are also shown in Table 4-2.

Terms of variability (for which probability distributions were available) were then incorporated in the models' equations related to certain physiological parameters to account for interindividual variability in TK induced by some sensitive parameters (cardiac output, alveolar ventilation rate, liver blood flow, fat blood flow, liver volume), which were determined by means of sensitivity analyses as described below. In the context of the equations used to define the model's physiological determinants (Table 4-S-1), the utilization of variability terms contributes to account for interindividual differences in the physiology of individuals of identical age and BMI (Valcke and Krishnan 2011a, 2011b). Because every subpopulation modeled are within adulthood or close to it (e.g. adolescents),

that major pharmacokinetic differences are observed between adults and younger individuals than those modeled herein (Clewell et al. 2004; Nong et al. 2006; Pelekis, Nicolich, and Gauthier 2003; Sarangapani et al. 2003), and because available data are not precise enough to allow determining variability terms that differ between the modeled subpopulations, these terms were maintained across them.

4.2.2 Model validation

The ability of the model built for each subpopulation to predict the relationship between external exposure dose and internal exposure dose (venous blood concentration) was verified. This consisted in simulating for two out of four subpopulations investigated, that is 20–39 and 40–59 years, an inhalation exposure to 50 ppm of toluene for 2 hr, using the models built. The profiles of venous blood and exhaled air concentrations of toluene simulated with our models were then compared to the corresponding profiles obtained by Pierce et al. (1998) which were validated by these investigators against experimental data obtained from volunteers (20–62 years) exposed under the same conditions (2 hr inhalation exposure to 50 ppm of toluene). Prior to each simulation, mass balance was verified to ensure that changes in tissue volumes and blood flows were adequately performed when assessing physiological differences between each age group.

4.2.3 Reverse dosimetry approach

Overall, the developed reverse dosimetry approach was based upon data from Tan, Liao, and Clewell (2007) in which conditional probabilities were computed. Thus, the simple PBPK model of toluene built for each subpopulation was combined with Monte Carlo simulations and calculations of probability to convert each distribution of blood measures reported by CHMS-3 into a probability distribution of air concentrations. Four steps summarize the reverse dosimetry approach carried out in this study (Figure 4.1). The first step led to obtaining simulated distributions of venous blood concentrations of toluene. The second step allowed calculation of probabilities of being exposed to simulated air concentrations of toluene for groups of venous blood concentrations created in the first

step. In the third step, distributions of venous blood levels of toluene similar to those reported by CHMS-3 were simulated. Finally, in the fourth step, probability distributions of simulated air concentrations of toluene were obtained, leading to the estimation of distributions of air concentrations of toluene consistent with CHMS-3 blood measures for the examined subpopulations.

Step 1: Exposure scenario, probabilistic modeling, and distribution of venous blood concentrations of toluene for each simulated air concentration of toluene

The PBPK model of toluene for each subpopulation was employed to simulate exposures to air concentrations of toluene ranging between 10^{-4} ppm and 10^0 ppm, following a geometric incrementing of $10^{0.2}$ (i.e.: 10^{-4} , $10^{-3.8}$, $10^{-3.6}$, . . . , $10^{-0.4}$, $10^{-0.2}$, and 10^0 ppm), considering three different exposures durations (continuous 3, 7, and 24-hr exposures). The exposure duration of 3 hr was simulated because it represents, in our opinion, a plausible exposure duration for the subpopulations sampled. The 7 and 24-hr exposure durations were selected to simulate a variability in the exposure duration and especially to verify to what extent such simulations allow (or not) to approach the steady state. Indeed, the ratio between the steady state venous blood concentration (after a continuous 24-hr exposure period) and that resulting from a 3-hr exposure was 1.2 in all the subpopulations in study, and the ratios between the blood concentrations of the exposure of 24 hr and those from a 7-hr of exposure were 1.08, 1.08, 1.07, and 1.07, respectively, in the 12–19, 20–39, 40–59, and 60–79 years of age (data not shown). Further, the three exposure durations simulated here likely corresponds more to the variable, and possibly discontinuous, exposure that is presumed to be experienced by the general population from which biological samples investigated were extracted.

For each exposure duration and each input concentration in the model, 1,000 toluene venous blood concentrations, which correspond to the model's internal dose metric for which the CHMS data used are also available (Health Canada 2015a), were obtained through Monte Carlo simulations performed directly from the ACSL software. The Monte

Carlo simulations were used to capture the intra- and inter-group variability on TK of toluene in the population. Precisely, inter-group physiological variability was accounted for by the use of equations described in Table 4-S-1, whereas intra-group variability was considered by the use of the statistical distributions applied on partition coefficients values presented in Table 4-1 as well as on the physiological parameters and variability terms presented in Table 4-2 (Valcke and Krishnan 2011a). Each series of 1,000 venous blood levels obtained following Monte Carlo simulations was organized into small groups of venous concentrations ($\mu\text{g/L}$), each group corresponding to an interval of $10^{0.2}$ [$(10^{-5.4}, 10^{-5.2})$; $(10^{-5.2}, 10^{-5})$; . . . ; $(10^{-0.4}, 10^{-0.2})$; $(10^{-0.2}, 10^0)$]. At the end of this first step, the number of individuals belonging to each group of venous blood levels created was computed for each air concentration and duration simulated, and thus distributions of venous blood concentrations were obtained for each exposure duration considered.

Step 2: inversion of distributions of blood levels from step 1

This step resulted in the calculation of probabilities of being exposed to the simulated air concentrations of toluene for each group of venous blood concentrations created in the first step. This was achieved by dividing the number of individuals exposed to a simulated air toluene level and whose blood concentration belongs to a group by the total number of subjects in this group. A first matrix of probabilities was thus obtained for each studied subpopulation and for each exposure duration simulated.

Step 3: simulation of toluene blood concentrations reported by CHMS-3

In this step, the specific model for each subpopulation was combined with the Monte Carlo technique to simulate intra- and inter-group physiological variability, as carried out in the first step, but also an interindividual variability in toluene exposure in air. Several Monte Carlo simulation tests were conducted in each subpopulation in order to obtain for each exposure duration considered the distribution of blood concentrations of toluene similar to that reported by CHMS-3 (see Table 4-3). At each test, an input toluene level in the model (between 10^{-4} and 10^0 ppm), considered as an arithmetic mean, and an associated standard

deviation (SD) were chosen judiciously. These values were then transformed to follow a lognormal distribution in the ACSL software. By varying the input concentration of toluene in the model and/or the associated standard deviation, and repeating the Monte Carlo simulation, the distribution of toluene blood levels close to that of CHMS-3 was finally obtained for each subpopulation and each exposure duration considered (Table 4-3). For example, the mean (SD) as well as the 50th, 90th and 95th percentile values of the input concentrations distributions in the models employed to obtain distributions similar to those of CHMS-3 in the case of the 3-hr exposure were 0.0537 (0.041), 0.056, 0.14, and 0.19, 0.029 (0.015), 0.033, 0.10, and 0.15, 0.026 (0.019), 0.029, 0.10 and 0.14; and 0.010 (0.006), 0.016, 0.059, and 0.081 ppm, respectively, for the 12–19, 20–39, 40–59, and 60–79 years of age. The ranges of Monte Carlo simulation parameters values that led to the similar blood concentrations to those of CHMS-3 in the studied subpopulations are provided in Table 4-S-2 in Supplementary Material 2 (SM2). These ranges are consistent with those assumed and presented in Tables 4-1 and 4-2.

Step 4: estimation of distributions of air concentrations of toluene for subpopulations studied

Age-group specific distributions of air concentrations of toluene were estimated by gathering different matrices from all previous steps for each exposure duration simulated. The similar distribution of blood concentrations predicted in each subpopulation and for each exposure duration from Step 3 were linked to the venous blood levels groups created in Step 1 [i.e.: ($10^{-5.4}$, $10^{-5.2}$); ($10^{-5.2}$, 10^{-5}); . . . ; ($10^{-0.4}$, $10^{-0.2}$); ($10^{-0.2}$, 10^0)], and a second matrix of probabilities was deduced for each sub-group in study and each exposure duration. The new latter matrix was then multiplied by the standardized inverted probability matrix from step 2 to estimate distributions of air concentrations of toluene inhaled for the subpopulations observed in CHMS-3 for each exposure duration simulated. Cumulative probability curves of toluene levels in the air were then obtained (from calculated cumulative probabilities) by the summed distribution estimates for the subpopulations investigated.

4.2.4 Sensitivity analyses

Global sensitivity analyses were conducted, considering each exposure duration simulated, to identify the model parameters that were critical to the current analysis and thus were the most influential on model outputs. Hence, such analysis enabled indication of the critical determinants of toluene TK simulated in our models. It was conducted by evaluating how much does a given change in the values of certain model's input parameters, such as body height (BH), cardiac output (Qc), alveolar ventilation (Q_{alv}), liver blood flow (Q_l), fat blood flow (Q_f), liver volume (V_l), CYP2E1 concentration (CYP) and partition coefficients, influence the output parameters of interest (the venous blood concentration of toluene (C_v), the internal dose measure of interest).

Precisely, the global sensitivity coefficients (GSC, i.e. here Fourier coefficients) were automatically computed for the models' input parameters considered from the ACSL software, based upon Extended Fourier Amplitude Sensitivity Test (EFAST) method. This method of global sensitivity analysis helps to estimate model output variability arising from variability in model inputs over the entire parameter space, and to account for interaction effects between the parameters. This is not the case with often used local sensitivity analyses that have high efficiency in computational analysis, but which could neglect these interactions and simultaneous variations in various input parameters, and which could lead to misleading results (Hsieh et al. (2018)).

4.3 Results

4.3.1 Model validation

Figure 4.2 illustrates the experimental and simulated concentrations of toluene in venous blood and exhaled air obtained in individuals aged 20–62 years from the study of Pierce et al. (1998) (Panel A), as well as, the simulated toluene levels in venous blood and exhaled air in two adult subpopulations (20–39 and 40–59 years) investigated in this study (Panel B). The evolution versus time of the exhaled amount of toluene in each of these two adult

subpopulations is similar to that simulated by Pierce et al. (1998) in 20–62 years. It is noteworthy that the Pierce et al. (1998) simulations appeared to lie within a 2-fold range from their experimental data. The same observation occurs regarding the evolution of the concentration of toluene in the venous blood.

4.3.2 Subpopulation-based distributions of venous blood concentrations and estimation of toluene concentrations in air

The distribution of venous blood concentrations of toluene was simulated in each studied subpopulation similar to that reported by CHMS-3 for the various exposure durations considered. Simulations for the 3-hr exposure are summarized in Table 4-3, with the mean, the 50th, the 90th, and the 95th percentiles values of these distributions associated with the respective 95% confidence intervals. Those for the 7 and 24-hr exposures, using for each exposure duration a different mean of model input concentration of toluene (and standard deviation), as described in Step 3 of the development of the reverse dosimetry approach, led to similar blood concentrations distributions as those of the 3-hr exposure.

Figure 4.3 depicts cumulative probability distributions of air concentrations of toluene estimated in each subpopulation for the exposure durations simulated (Figure 4.3a for a 3-hr exposure and Figure 4.3b for the 7 and 24-hr exposure), whereas Table 4-4 details the corresponding 50th, 90th, and 95th percentiles values for these exposure durations. According to these simulations, younger individuals seem to be more exposed to toluene in the air. The median air concentrations were 0.009, 0.006, 0.005, and 0.004 ppm, respectively, for the 12–19, 20–39, 40–59, 60–79 years of age in the case of the 3-hr exposure, and 0.009, 0.007, 0.007, and 0.006 ppm, respectively, for the 12–19, 20–39, 40–59, 60–79 years of age for the 7 and 24-hr exposures. The 90th percentiles values were 0.025, 0.025, 0.025, and 0.019 ppm, respectively, for the 12–19, 20–39, 40–59, 60–79 years of age in the case of the 3-hr exposure, and 0.04, 0.036, 0.036, and 0.022 ppm, respectively, for the 12–19, 20–39, 40–59, 60–79 years of age for the 7 and 24-hr exposures. The corresponding 95th percentiles values were 0.035, 0.035, 0.035 and 0.030 in the case of the

3-hr exposure, and 0.06, 0.06, 0.06, and 0.04 ppm for the 7 and 24-hr exposures. These results suggest that the 7 and 24-hr exposures led to steady state blood concentrations.

4.3.3 Sensitivity analyses

Figure 4.S.2 in Supplementary Material 1 (SM1) illustrates the sensitivity analyses realized in order to bring out the influence of a simultaneous variation of certain input parameters' values of the PBPK models (body height, cardiac output, alveolar ventilation, liver blood flow, fat blood flow, liver volume, CYP2E1 concentration, and partition coefficients (liver:air, fat:air, highly perfused tissues: air, rest of the body:air, and blood:air)) on the toluene blood levels simulated. Venous blood concentration of toluene after the 3-hr exposure (Figure 4.S.2a) was sensitive mostly to liver blood flow (GSC of 100%, 100%, 100%, and 100% in, respectively, the 12–19, 20–39, 40–59, and 60–79 years of age), fat blood flow (GSC of 87.7%, 87.2%, 87.2%, and 86.4% in, respectively, the 12–19, 20–39, 40–59, and 60–79 years of age), liver volume (GSC of 54%, 60.2%, 59.8%, and 59.7% in, respectively, the 12–19, 20–39, 40–59, and 60–79 years of age) and partition coefficient blood:air (with corresponding GSC of 6.2%, 6.2%, 9.5%, and 13.2%). In the case of the 7 and 24-hr exposures, venous blood concentration of toluene (Figure 4.S.2b) was sensitive predominantly to liver blood flow (GSC of 90%, 90%, 90%, and 90% in, respectively, the 12–19, 20–39, 40–59, and 60–79 years of age), liver volume (GSC of 44%, 48%, 48%, and 48% in, respectively, the 12–19, 20–39, 40–59, and 60–79 years of age) and partition coefficient blood:air (with corresponding GSC of 4%, 10%, 9%, and 7%).

4.4 Discussion

The results obtained in this study describe the air toluene exposure consistent with blood measurements reported by CHMS-3 in the form of a distribution in each subpopulation investigated (Table 4-4, Figure 4.3). The findings of this study helped address uncertainties related to inter-individual variability in physiological and physicochemical determinants

of TK when assessing quantitatively external exposure to chemicals in populations. The median indoor concentrations of toluene measured in Canada by various investigators ranged between 0.0015 and 0.0066 ppm (Santé Canada 2016; Health Canada 2010a, 2010b; Héroux et al. 2008; Zhu et al. 2005), which appear consistent with those found in the present study. It is noteworthy that approximately 63%, 46%, 41%, and 34% of individuals, respectively, in the 12–19, 20–39, 40–59, and 60–79 years of age exhibited toluene exposure in air higher than the upper limit of the range referred to above considering the 3-hr exposure simulated. For the simulations of 7 and 24-hr exposures, 65%, 48%, 43%, and 36% of individuals, respectively, in the 12–19, 20–39, 40–59, and 60–79 years of age exhibited a level of exposure higher than this upper limit. With respect to outdoor air, the median toluene concentrations reported by some studies in Canada ranged from 0.0005 to 0.001 ppm (Health Canada 2010a, 2010b). These concentrations are lower than those estimated in the current study, regardless of the exposure durations simulated, suggesting that the biomonitoring data used herein rather reflect exposure to toluene via indoor air. This is consistent with the opinion of Health Canada that the Canadians' exposure to toluene is attributed predominantly to indoor air (Santé Canada 2016). However, the distributions of air toluene concentrations estimated in this study from CHMS-3 data for the subpopulations investigated are at least an order of magnitude below Health Canada's recommended guideline levels for toluene for a continuous exposure 24 hr/day (i.e., 0.6 ppm) and for a short-term exposure (i.e., 4 ppm for 8 hr), which, respectively, protect against neurobehavioral effects and neurologically-related symptoms such as headaches, dizziness, and feelings of intoxication (Santé Canada 2016). Thus, the neurotoxicological risk associated with exposure levels estimated herein appear to be low, if present, for the Canadian subpopulations examined.

Results of the present study also suggest that younger Canadians' external dose to toluene resulting from airborne exposure is greater than in adults. These age-related differences in external exposure levels estimated may be due to variations in several exposure and physiological factors. Length of indoor and outdoor exposure patterns differences between active teenagers and working adults may impact blood levels. In addition, variations in

exposure to toluene from other sources than air that the CHMS participants experience may also generate variations between subpopulations. In this case, such unknown variation may be considered as an inherent limitation not captured in the model simulations. However, data from the Canadian Survey of 2013 on tobacco, alcohol and drugs (Health Canada 2015b) may help better understand the observed differences between young adults and older subjects in this study, since smoking leads to toluene exposure (Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) 2017; Aylward et al. 2013; Chambers et al. 2011; Talhout et al. 2011). Indeed, data extracted from NHANES 2003–2004 indicate that blood levels of toluene were 3 to 4-fold higher in smokers compared to non-smokers (Chambers et al. 2011). According to the 2013 survey on tobacco referred above, smoking is more common in Canadian young adults aged 18 to 25 years than among those older than 25, and may thus contribute to a corresponding greater toluene exposure. In fact, in 2013, the prevalence of smoking in Canadian young adult aged 18–25 years was 18% compared to 15% in Canadian adult smokers aged 25 years and over (Health Canada 2015b).

Sensitivity analyses carried out on certain input parameters of the PBPK models used to develop the reverse dosimetry approach indicated the liver blood flow, fat blood flow, liver volume (from which depends the equation used for liver blood flow) and partition coefficient blood:air as the main sensitive parameters to changes in venous blood concentrations of toluene (Figure 4.S.2a) when simulating a 3-hr exposure to toluene in air. For the 7 and 24-hr exposure, liver blood flow, liver volume, and partition coefficient blood:air were the main sensitive parameters to changes in venous blood concentrations of toluene (Figure 4.S.2b). The low sensitivity of fat blood flow for these last two simulated exposure durations confirms that steady-state blood levels could be achieved from a 7-hr exposure. The results of these analyses are comparable to those obtained by Nong et al. (2006) (except the liver volume) and Tardif et al. (2002) for the same VOC (toluene). Data indicated that the total hepatic clearance of toluene is blood flow-limited, thus depending mainly on blood flow entering the liver, and not liver content in CYP2E1 metabolizing enzymes (Nong et al. 2006).

Few studies aiming to interpret biomonitoring data for VOC can be found in the scientific literature. The usual approach consists in the forward dosimetry where biological measurements are compared to BE (Angerer et al. 2011; Aylward et al. 2010, 2013; Hays et al. 2008; Phillips et al. 2014). The reverse dosimetry approach using PBPK models was applied to a limited number of VOC, namely chloroform (Lyons et al. 2008; Tan et al. 2006), trichloroethylene (Liao, Tan, and Clewell III 2007), and trihalomethanes (Tan, Liao, and Clewell 2007). Tan et al. (2006) and Liao, Tan, and Clewell III (2007) estimated external exposure to their considered chemical using an exposure conversion factor (ECF) distribution which was obtained by inverting the output of a Monte Carlo simulation for the chemical levels in blood using, as input in the model, a preselected reference value for this chemical. The product of the ECF distribution of a chemical with an observed blood concentration of the chemical provides a distribution of external exposure concentrations corresponding to that blood level (Lyons et al. 2008). Unlike the study by Tan, Liao, and Clewell (2007) who performed Monte Carlo simulations, the reverse dosimetry approach developed in Lyons et al. (2008) consisted of a Bayesian inference using Markov chain Monte Carlo (MCMC), the standard method for Bayesian analysis (Gelman and Rubin 1996), and leading to an external exposure expressed as a probability distribution rather than a single value. The PBPK model used in all these reverse dosimetry studies was the standard one of an adult of 70 kg, with physiological input parameters of the model that were constants (and not expressed as equations as in the current study) even if a variability in these physiological parameters was simulated through Monte Carlo simulations or the Bayesian method. Thus, the estimate of external exposure was conducted only for the adult subpopulation of 70 kg (Tan, Liao, and Clewell 2007).

Compared to the above-mentioned previously published exposure estimations, the current one is based upon the use of simple PBPK models, Monte Carlo simulations with varying population inputs and calculations of probabilities to derive distributions of toluene exposure probabilities of different age subpopulations, considering different exposure durations. External exposure of various Canadian subpopulations investigated were thus

estimated by considering variable physiological characteristics of individuals dependent upon age, body weight and size through equations (that allow simulations for different subpopulations) directly integrated in the models. This is an improvement in the current study given that the individual physiological factors constitute important sources of variability in the TK of a chemical contaminant (Nestorov 2001; Nong et al. 2006; Tan, Liao, and Clewell 2007), with resulting uncertainty on a specific dose estimate from given biomonitoring data. Our approach also ensures physiological plausibility and coherence between individual model parameter values sampled at each Monte Carlo simulation (Valcke and Haddad 2015; Valcke and Krishnan 2010, 2013, 2014; Valcke, Nong, and Krishnan 2012).

This study accounted for both intra-group physiological variability of TK (within each subpopulation), as age-specific probability density functions (PDF) were used to describe some model parameter values utilized in the Monte Carlo simulations, as well as its inter-group physiological variability (between the studied subpopulations) by means of different PDF, and sometimes different age-specific model-related equation, between the subgroups investigated. Canada-specific data on distribution of BW and BH in the PBPK models were employed herein to interpret Canadian biomonitoring data, thus reducing the uncertainty associated to the use of generic PBPK models.

The intra-group variability of physicochemical parameters that depend upon tissue composition (i.e.: the partition coefficients) was also taken into account in the current study (Table 4-1), similar to Haddad, Tardif, and Tardif (2006). This contributes to reduce the risk of error in the estimates of toluene venous concentrations made on the basis of population biomonitoring data, which are intrinsically variable. The approach of reverse dosimetry developed in this study may thus be useful for the population-level assessment of external exposure to other VOC from their biomonitoring data. It might also enable estimation of external toluene exposures for larger groups of individuals than those of CHMS-3, taking into account the possibility of variability between these individuals.

Further, validation of the PBPK models used was based upon 50 ppm and a 2-hr exposure, although concentrations less than 50 ppm were included in this investigation. Indeed, the PBPK model is recognized in toxicological risk assessment as a better tool for “high dose to low dose” extrapolations (World Health Organization/ International Program on Chemical Safety (WHO/IPCS) 2010). PBPK model validation using high concentrations of a substance does therefore likely not affect the results of this model utilization to simulate external exposure to low concentrations of the same substance. Moreover, the behavior of toluene in the human body follows kinetics of the first order and no multiple phases of metabolism and saturation processes are involved in the range of exposure doses simulated herein. The PBPK model used, validated at relatively high exposure doses, might therefore be considered equally suitable for the study of toluene kinetics at lower exposure doses, such as the environmental levels investigated here.

In the present study, only the subpopulations aged 20–39 and 40–59 years were considered for the PBPK model validation due to lack of experimental data. Such model is also a recognized tool in risk assessment for characterizing human toxicokinetic variability by incorporating specific information on subpopulations of interest (Clewell et al. 2004; Sarangapani et al. 2003; Valcke and Krishnan 2014; Valcke, Nong, and Krishnan 2012; World Health Organization/International Program on Chemical Safety (WHO/IPCS) 2010), as is the case in the current work. The uncertainty relative to the model efficiency with respect to its use in this study to characterize the toxicokinetics of toluene in some subpopulations (12–19 and 60–79 years of age) while it has been validated only for other subpopulations (20–39 and 40–59 years of age) may be considered negligible. This is because specific information on each of the subpopulations in the study from CHMS-3 (Table 4-2) and from Table 4-S-2 (in SM2) were used in developing the reverse dosimetry modeling approach. This is especially true since, like the subgroups of 20–39 and 40–59 years of age, no other particular information that may indicate a possibility of modifying the metabolism (inhibition or induction) was reported by CHMS-3 on the subpopulations of 12–19 and 60–79 years of age.

Despite the fact that biomonitoring data reflect exposure to contaminants that are present in the environment concomitantly with numerous other substances at the same time, the current study did not assess the impact of environmental co-exposures on internal dose of single substances. Indeed, in the case of co-exposure to VOC, the competitive inhibition (of CYP2E1), the most plausible mechanism of interaction might induce a change in the internal dose (Haddad, Poulin, and Funk 2010; Ronis, Lindros, and Ingelman-Sundberg 1996). According to Valcke and Haddad (2015) however, when low environmental concentrations, such as those estimated herein by the reverse dosimetry approach, are simulated, there is no marked impact of co-exposure on internal dose of individual chemicals.

Uncertainties related to the realistic duration of exposure as well as time elapsed between the end of exposure and time of the blood sampling of CHMS-3 participants represent the main limitations of this study. Although, our modeling study seems to suggest that the blood samples were taken just after 3, 7 or 24-hr exposure in air at the source, this is not necessarily the case for individuals examined during CHMS-3. The blood sampling was taken in a “mobile laboratory” as part of this survey. Participants likely would have arrived from a variety of previous locations including home, work, school, and outdoors via various transportation modes including car, train, bus, bike or walking. Some participants might have been in the lab for an hr or more before blood sampling. Thus, the blood samples might have been taken in CHMS-3 participants from a couple of min to many hr after the end of exposure in air. With no information from CMHS-3 on the realistic duration of exposure, and time elapsed between end of the exposure and blood sampling time, the highest venous blood concentration (attained at steady state) in the participants might be simulated for the reverse dosimetry approach developed. Results of the present study (Table 4-4) do not suggest an important difference between the estimated distributions of toluene concentrations in air for the 7 and 24-hr exposure durations, regardless of the subpopulation considered. Additional information regarding exposure and lifestyle factors such as alcohol consumption, smoking, nutrition, and health status were not addressed in

the model simulations that might help to better interpret biomonitoring data. These factors may modulate the relationship between the exposure dose of a chemical in human body and its response (body burden) (Dorne 2007; Dorne, Walton, and Renwick 2004, 2005; Gomez-Lechon, Castell, and Donato 2007; Kato et al. 2010; Parkinson et al. 2004; Pierce et al. 1998).

This study constitutes a proof of concept on the use of statistical distributions of biomonitoring data to evaluate the distributions of possible concentrations in air to which the population was exposed, using a reverse dosimetry approach. Considering the results obtained, one could argue that a simple central tendency/steady-state model for blood as a function of air concentration (Aylward et al. 2010) may have been used and be nearly as informative as the complete modeling presented here. However, the adequacy of such use might only be judged afterwards and may not always be verified if one applies our complete modeling method to other populations with other datasets and for other substances. In addition, the interest of the recourse to complete modeling in this study is that one might precisely evaluate the difference according to the hypothesis of the duration of exposure (3 hr, and steady-state), which is an interesting information.

Moreover, the predicted values of the 90th and 95th percentiles for toluene blood concentrations distributions in the three oldest age groups were underestimated compared to corresponding percentile values in CHMS-3's report, although these remained in the same order of magnitude, when developing the reverse dosimetry method (Table 4-3) relative to their population equivalents. The underestimate seems substantial for the 40–59 age group. The predicted mean concentrations were slightly overestimated in all the subgroups in study. The underestimates noted here, and also observed in the study from Tan, Liao, and Clewell (2007) which served as the basis for the current one, may be due to an imperfection of the models built. Indeed, such imperfection might result from variability on input parameters which may have been too restrictive in order to adequately reflect the TK behavior at the extremes of the input parameter's distributions, with resulting impact on the extremes of the distribution of toluene internal dose metrics simulated. Although

these underestimates are real, the predicted external doses distributions were similar to those reported by several previous Canadian biomonitoring surveys (Santé Canada 2016, Health Canada 2010a, 2010b; Héroux et al. 2008; Zhu et al. 2005). These external levels distribution of toluene estimated in this study might therefore be used instead of these latter and presumably may not lead to erroneous determination of the level of safety. The method developed here may be used provided that predicted distributions of internal doses do not deviate significantly from the actual distributions within populations.

Child-to-adult differences in internal dose for a given external exposure were not simulated due to lack of biomonitoring data. Many studies have modeled the physiological interindividual variability to describe the TK of xenobiotics in humans, and reported that blood concentration for children are likely to be greater by a factor of roughly 1.5–2 (Price et al. 2003a; Price, Haddad, and Krishnan 2003b; Sarangapani et al. 2003; Valcke and Haddad 2015; Valcke and Krishnan 2011a, 2011b, 2011c; Valcke, Nong, and Krishnan 2012). Thus, based upon the toluene exposure estimates in adults in this study, significant toxicological risks for children in the Canadian population investigated are not more expected than for adults.

4.5 Conclusion

Overall, this study estimated air concentrations of toluene consistent with blood measures from CHMS-3. These estimated concentrations were well below Health Canada's recommended levels for toluene. A combined population and reverse dosimetric calculation provided better insight on the potential exposure distribution in various subpopulations and reduction of uncertainty around these estimates. PBPK modeling and reverse dosimetry may be combined to help interpret biomonitoring data and prioritize management efforts for exposure assessment of environmental chemicals.

Acknowledgements

This project was funded by a scholarship provided by Health Canada grant no: 1000165133.

4.6 References

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2017. Toxicological profile for toluene. Accessed June 12, 2018. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp56.pdf>
- Angerer, J., L. L. Aylward, S. M. Hays, B. Heinzow, and M. Wilhelm. 2011. Human biomonitoring assessment values: Approaches and requirements. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 214:348–60. doi:10.1016/j.ijheh.2011.06.002.
- Aylward, L. L., C. R. Kirman, B. C. Blount, and S. M. Hay. 2010. Chemical-specific screening criteria for interpretation of biomonitoring data for volatile organic compounds (VOCs)- Application of steady-state PBPK model solutions. *Reg Toxicological Pharmacology* 58:33–44. doi:10.1016/j.yrtph.2010.05.011.
- Aylward, L. L., R. C. Kirman, R. Schoeny, J. C. Portier, and S. M. Hays. 2013. Evaluation of biomonitoring data from the CDC national exposure report in a risk assessment context: Perspectives across chemicals. *Environ Health Persp* 121:287–94. 10.1289/ehp.1205740.
- Brown, R. P., M. D. Delp, S. L. Lindstedt, L. R. Rhomberg, and R. P. Beliles. 1997. Physiological parameter values for physiologically based pharmacokinetic models. *Toxicology and Industrial Health* 13:407–84. 10.1177/074823379701300401.
- Chambers, D. M., J. M. Ocariz, M. F. McGuirk, and B. C. Blount. 2011. Impact of cigarette smoking on Volatile Organic Compound (VOC) blood levels in the U.S. population: NHANES 2003–2004. *Environment International* 37:1321–28. doi:10.1016/j.envint.2011.05.016.

- Clewell, H. J., P. R. Gentry, T. R. Covington, R. Sarangapani, and J. G. Teeguarden. 2004. Evaluation of the potential impact of age- and gender-specific pharmacokinetic differences on tissue dosimetry. *Toxicological Sciences : an Official Journal of the Society of Toxicology* 79:381–93. doi:10.1093/toxsci/kfh109.
- Clewell, H. J., Y. M. Tan, J. L. Campbell, and M. E. Andersen. 2008. Quantitative interpretation of human biomonitoring data. *Toxicology and Applied Pharmacology* 231:122–33. doi:10.1016/j.taap.2008.04.021.
- Dorne, J. L. 2007. Human variability in hepatic and renal elimination: Implications for risk assessment. *Journal of Applied Toxicology : JAT* 27:411–20. doi:10.1002/jat.1255.
- Dorne, J. L., K. Walton, and A. G. Renwick. 2004. Human variability in the renal elimination of foreign compounds and renal excretion-related uncertainty factors for risk assessment. *Food and Chemical Toxicology: an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association* 42:275–98.
- Dorne, J. L., K. Walton, and A. G. Renwick. 2005. Human variability in xenobiotic metabolism and pathway-related uncertainty factors for chemical risk assessment: A review. *Food and Chemical Toxicology : an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association* 43:203–16. doi:10.1016/j.fct.2004.05.011.
- Fabri, J., U. Graeser, and T. A. Simo. 2012. Toluene. In *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*, 109–18. Belussi G. et al (Eds.), Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag. Vol. 37.
- Gelman, A., and D. B. Rubin. 1996. Markov chain Monte Carlo methods in biostatistics. *Statistical Meth Medica Researcher* 5:339–55. doi:10.1177/096228029600500402.
- Gomez-Lechon, M. J., J. V. Castell, and M. T. Donato. 2007. Hepatocytes—The choice to investigate drug metabolism and toxicity in man: In vitro variability as a reflection of in vivo. *Chemico-Biological Interactions* 168:30–50. doi:10.1016/j.cbi.2006.10.013.

- Haddad, S., M. Béliveau, R. Tardif, and K. Krishnan. 2001. A PBPK modeling-based approach to account for interactions in the health risk assessment of chemical mixtures. *Toxicological Sciences : an Official Journal of the Society of Toxicology* 63:125–31.
- Haddad, S., M. Pelekis, and K. Krishnan. 1996. A methodology for solving physiologically based pharmacokinetic models without the use of simulation softwares. *Toxicology Letters* 85:113–26. doi:10.1016/0378-4274(96)03648-X.
- Haddad, S., P. Poulin, and C. Funk. 2010. Extrapolating in vitro metabolic interactions to isolated perfused liver: Predictions of metabolic interactions between R-bufurarol, bunitrolol and debrisoquine. *Journal Pharmaceut Sciences* 99:4406–26. doi:10.1002/jps.22136.
- Haddad, S., G. C. Tardif, and R. Tardif. 2006. Development of physiologically based toxicokinetic models for improving the human indoor exposure assessment to water contaminants: Trichloroethylene and trihalomethanes. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 69:2095–136. doi:10.1080/15287390600631789.
- Hays, S. M., L. L. Aylward, J. S. LaKind, M. J. Bartels, H. A. Barton, J. P. Boogaard, C. Brunk, S. DiZio, M. Dourson, D. A. Goldstein, J. Lipscomb, M. E. Kilpatrick, D. Krewski, K. Krishnan, M. Nordberg, M. Okino, Y.-M. Tan, C. Viau, and J. W. Yager. 2008. Biomonitoring equivalents expert workshop. Guidelines for the derivation of biomonitoring equivalents: Report from the biomonitoring equivalents expert workshop. *Reg Toxicological Pharmacology* 51 (Suppl3):S4–S15. doi:10.1016/j.yrtph.2008.05.004.
- Hays, S. M., R. A. Becker, H.-W. Leung, L. L. Aylward, and D. W. Pyatt. 2007. Biomonitoring equivalents: A screening approach for interpreting biomonitoring results from a public health risk perspective. *Reg Toxicological Pharmacology* 47:96–109. doi:10.1016/j.yrtph.2006.08.004.
- Health Canada. 2010a. Regina indoor air quality study (2007): Data Summary for Volatile Organic Compound Sampling. Accessed June 12, 2018.

- http://publications.gc.ca/collections/collection_2012/sc-hc/H128-1-10-617-eng.pdf
- Health Canada. 2010b. Windsor exposure assessment study (2005–2006). Data Summary for Volatile Organic Compound Sampling. Accessed June 12, 2018. http://publications.gc.ca/collections/collection_2012/sc-hc/H128-1-10-618-eng.pdf.
- Health Canada. 2015a. Third report on human biomonitoring of environmental chemicals in Canada. Accessed June 12, 2018. https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/ewh-semt/alt_formats/pdf/pubs/contaminants/chms-ecms-cycle3/chms-ecms-cycle3-eng.pdf
- Health Canada. 2015b. Summary of results for 2013. Canadian Tobacco, Alcohol and Drugs Survey (CTADS). Accessed June 12, 2018. http://healthycanadians.gc.ca/science-research-sciences-recherches/data-donnees/ctadsectad/summary-sommaire-2013-eng.php?_ga=1.189553387.1570747008.1467010817.
- Héroux, M.-È., D. Gauvin, N. L. Gilbert, M. Guay, G. Dupuis, M. Legris, and B. Lévesque. 2008. Housing characteristics and indoor concentrations of selected volatile organic compounds (VOCs) in Quebec City, Canada. *Indoor Built Environment* 17:128–37. doi:10.1177/1420326X07089005.
- Hsieh, N.-H., B. Reisfeld, F. Y. Bois, and W. A. Chiu. 2018. Applying a global sensitivity analysis workflow to improve the computational efficiencies in physiologically-based pharmacokinetic modeling. *Front Pharmacol* 9:588. doi:10.3389/fphar.2018.00588.
- Kato, M., K. Chiba, T. Ito, T. Koue, and Y. Sugiyama. 2010. Prediction of interindividual variability in pharmacokinetics for CYP3A4 substrates in humans. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 25:367–78.

- Kolossa-Gehring, M. 2012. Human biomonitoring: Political benefits-scientific challenges. September 26- 28,2010. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 215:247–52. doi:10.1016/j.ijheh.2011.10.019.
- Liao, K. H., Y.-M. Tan, and H. J. Clewell III. 2007. Development of a screening approach to interpret human biomonitoring data on volatile organic compounds: Reverse dosimetry on biomonitoring data for trichloroethylene. *Risk Analysis : an Official Publication of the Society for Risk Analysis* 27:1223–36. doi:10.1111/j.1539-6924.2007.00964.x.
- Lipscomb, J. C., and T. S. Poet. 2008. In vitro measurements of metabolism for application in pharmacokinetic modeling. *Pharmacology & Therapeutics* 118:82–103. doi:10.1016/j.pharmthera.2008.01.006.
- Lipscomb, J. C., L. K. Teuschler, J. C. Swartout, C. A. Striley, and J. E. Snawder. 2003. Variance of microsomal protein and cytochrome P450 2E1 and 3A forms in adult human liver. *Toxicological Mechanisms Meth* 13:45–51. doi:10.1080/15376510309821.
- Lyons, M. A., R. S. H. Yang, A. N. Mayeno, and B. Reisfeld. 2008. Computational toxicology of chloroform: Reverse dosimetry using Bayesian inference, markov chain monte carlo simulation, and human biomonitoring data. *Environment Health Persp* 116:1040–46. doi:10.1289/ehp.11079.
- Marchand, A., R. Aranda-Rodriguez, R. Tardif, A. Nong, and S. Haddad. 2015. Human inhalation exposures to toluene, ethylbenzene, and m-xylene and physiologically based pharmacokinetic modeling of exposure biomarkers in exhaled air, blood, and urine. *Toxicological Sciences : an Official Journal of the Society of Toxicology* 144:414–24. doi:10.1093/toxsci/kfv009.
- Neafsey, P., G. Ginsberg, D. Hattis, D. O. Johns, K. Z. Guyton, and B. Sonawane. 2009. Genetic polymorphism in CYP2E1: Population distribution of CYP2E1 activity. *Journal Toxicological Environment Health B* 12:362–88. doi:10.1080/10937400903158359.

- Nestorov, I. 2001. Modelling and simulation of variability and uncertainty in toxicokinetics and pharmacokinetics. *Toxicology Letters* 120:411–20. doi:10.1016/S0378-4274(01)00273-9.
- Nong, A., D. G. McCarver, R. N. Hines, and K. Krishnan. 2006. Modeling interchild differences in pharmacokinetics on the basis of subject-specific data on physiology and hepatic CYP2E1 levels: A case study with toluene. *Toxicology and Applied Pharmacology* 214:78–87. doi:10.1016/j.taap.2005.12.001.
- Oliveira, M., K. Slezakova, C. Delerue-Matos, M. D. C. Pereira, and S. Morais. 2017. Indoor air quality in preschools (3- to 5-year-old children) in the Northeast of Portugal during springsummer season: Pollutants and comfort parameters. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 80:740–55. doi:10.1080/15287394.2017.1286932.
- Paciência, I., J. Madureira, J. Rufo, A. Moreira, and E. O. Fernandes. 2016. A systematic review of evidence and implications of spatial and seasonal variations of volatile organic compounds (VOC) in indoor human environments. *Journal Toxicological Environment Health B C* 19:47–64. doi:10.1080/10937404.2015.1134371.
- Parkinson, A., D. R. Mudra, C. Johnson, A. Dwyer, and K. M. Carroll. 2004. The effects of gender, age, ethnicity, and liver cirrhosis on cytochrome P450 enzyme activity in human liver microsomes and inductibility in cultured human hepatocytes. *Toxicology and Applied Pharmacology* 199:193–209. doi:10.1016/j.taap.2004.01.010.
- Paustenbach, D., J. 2000. The practice of exposure assessment: A state-of-the-art review. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B, Critical Reviews* 3:179–291. doi:10.1080/10937400050045264.
- Pelekis, M., M. J. Nicolich, and J. S. Gauthier. 2003. Probabilistic framework for the estimation of the adult and child toxicokinetic intraspecies uncertainty factors. *Risk Analysis : an Official Publication of the Society for Risk Analysis* 23:1239–1235.

- Phillips, M. B., J. R. Sobus, B. J. George, K. Isaacs, R. Conolly, and Y.-M. Tan. 2014. A new method for generating distributions of biomonitoring equivalents to support exposure assessment and prioritization. *Reg Toxicological Pharmacology* 69:434–42. doi:10.1016/j.yrtph.2014.05.008.
- Pierce, C. H., R. L. Dills, M. S. Morgan, P. Vicini, and D. A. Kalman. 1998. Biological monitoring of controlled toluene exposure. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 71:433–44.
- Price, K., S. Haddad, and K. Krishnan. 2003b. Physiological modeling of age-specific changes in the pharmacokinetics of organic chemicals in children. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 66:417–33. doi:10.1080/15287390306450.
- Price, P. S., R. B. Conolly, C. F. Chaisson, E. A. Gross, J. S. Young, E. T. Mathis, and D. R. Tedder. 2003a. Modeling interindividual variation in physiological factors used in PBPK models of humans. *Critical Reviews in Toxicology* 33:469–503. doi:10.1080/10408440390242324.
- Ronis, M. J. J., K. O. Lindros, and M. Ingelman-Sundberg. 1996. The CYP2E family. In *Cytochrome P450 metabolic and toxicological aspects*, ed C. Ioannides, 211–40. 1st ed. CRC Press: Boca Raton, Florida.
- Santé Canada. 2016. Ligne directrice sur la qualité de l’air intérieur résidentiel: Toluène. Accessed June 12, 2018. <http://canadiensensante.gc.ca/publications/healthy-living-vie-saine/toluene/index-fra.php>
- Sarangapani, R., P. R. Gentry, T. R. Covington, J. G. Teeguarden, and H. J. Clewell, 3rd. 2003. Evaluation of the potential impact of age- and gender-specific lung morphology and ventilation rate on the dosimetry of vapors. *Inhalation Toxicology* 15:987–1016. doi:10.1080/08958370390226350.
- Talhout, R., T. Schulz, E. Florek, J. van Benthem, P. Wester, and A. Opperhuizen. 2011. Hazardous compounds in tobacco smoke. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8:613–28. doi:10.3390/ijerph8072569.

- Tan, Y. M., K. H. Liao, and H. J. Clewell, 3rd. 2007. Reverse dosimetry: Interpreting trihalomethanes biomonitoring data using physiologically based pharmacokinetic modeling. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology* 17:591–603. doi:10.1038/sj.jes.7500540.
- Tan, Y.-M., K. H. Liao, R. B. Conolly, B. C. Blount, A. M. Mason, and H. J. Clewell. 2006. Use of a physiologically based pharmacokinetic model to identify exposures consistent with human biomonitoring data for chloroform. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 69:1727–56. doi:10.1080/15287390600631367.
- Taniguchi, H., A. Oguro, H. Koyama, M. Masuyama, and T. Takahashi. 1996. Analysis of models for quantification of arterial and portal blood flow in the human liver using PET. *Journal of Computer Assisted Tomography* 20:135–44. doi:10.1097/00004728-199601000-00025.
- Tardif, R., P. O. Droz, G. Charest-Tardif, G. Pierrehumbert, and G. Truchon. 2002. Impact of human variability on the biological monitoring of exposure to toluene: I. Physiologically based toxicokinetic modelling. *Toxicology Letters* 134:155–63.
- Thomas, R. S., P. L. Bigelow, T. J. Keefe, and R. S. Yang. 1996. Variability in biological exposure indices using physiologically based pharmacokinetic modeling and Monte Carlo simulation. *American Industrial Hygiene Association Journal* 57:23–32. doi:10.1080/15428119691015188.
- Valcke, M., and S. Haddad. 2015. Assessing human variability in kinetics for exposures to multiple environmental chemicals: A physiologically based pharmacokinetic modeling case study with dichloromethane, benzene, toluene, ethylbenzene, and m-xylene. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 78:409–31. doi:10.1080/15287394.2014.971477.
- Valcke, M., and K. Krishnan. 2010. An assessment of the interindividual variability of internal dosimetry during multi-route exposure to drinking water contaminants. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 7:4002–22. doi:10.3390/ijerph7114002.

- Valcke, M., and K. Krishnan. 2011a. Evaluation of the impact of the exposure route on the human kinetic adjustment factor. *Reg Toxicological Pharmacology* 59:258–69. doi:10.1016/j.yrtph.2010.10.008.
- Valcke, M., and K. Krishnan. 2011b. 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* 23:863–77. doi:10.3109/08958378.2011.609918.
- Valcke, M., and K. Krishnan. 2011c. An assessment of the impact of physico-chemical and biochemical characteristics on the human kinetic adjustment factor for systemic toxicants. *Toxicology* 286:36–47. doi:10.1016/j.tox.2011.05.003.
- Valcke, M., and K. Krishnan. 2013. Assessing the impact of child/adult differences in hepatic first-pass effect on the human kinetic adjustment factor for ingested toxicants. *Reg Toxicological Pharmacology* 65:126–34. doi:10.1016/j.yrtph.2012.11.006.
- Valcke, M., and K. Krishnan. 2014. Characterization of the human kinetic adjustment factor for the health risk assessment of environmental contaminants. *Journal of Applied Toxicology : JAT* 34:227–40. doi:10.1002/jat.2919.
- Valcke, M., A. Nong, and K. Krishnan. 2012. Modeling the human kinetic adjustment factor for inhaled volatile organic chemicals: Whole population approach versus distinct subpopulation approach. *Journal of Toxicology* 2012: 404329. doi:10.1155/2012/404329
- Wallace, M. A. G., T. M. Kormos, and J. D. Pleil. 2016. Blood-borne biomarkers and bioindicators for linking exposure to health effects in environmental health science. *Journal Toxicological Environment Health B* 19:380–409. doi:10.1080/10937404.2016.1215772.
- Won, D., R. J. Magee, W. Yang, E. Luszyk, G. Nong, and C. Y. Shaw. 2005. A material emission database for 90 target VOCs. NRC Publications Archive (NRCC- 48314).

Accessed June 12, 2018. <https://nparc.nrc-cnrc.gc.ca/eng/view/accepted/?id=68dda0fe-cb9f-4af d-beb0-50cf817cc5d4>

World Health Organization/International Program on Chemical Safety (WHO/IPCS). 2010. Characterization and application of physiologically based pharmacokinetic models in risk assessment. In IPCS Harmonization document n° 9, World Health Organization: Geneva. pp. 92. Accessed June 12, 2018 http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/pbpbk_models.pdf?ua=1.

Zhu, J., R. Newhook, L. Marro, and C. C. Chan. 2005. Selected volatile organic compounds in residential air in the city of Ottawa, Canada. *Environmental Science & Technology* 39:3964–71.

FIGURE CAPTIONS

Figure 4.1 : Schematic representation of the reverse dosimetry using a PBPK model and Monte Carlo simulations.

Figure 4.2 : Validation of human PBPK model for inhalation of toluene. Panel A displays data for 33 individuals exposed to 50 ppm of toluene for 2 h (from Pierce et al. (1998)). A permission has been received to reuse the Figure. 3 from Pierce et al. which is shown in the Panel A in this work. Panel B shows results generated using PBPK models built from Haddad, Pelekis, and Krishnan (1996). VBC: Venous blood concentration. Exhaled C: Exhaled air concentration.

Figure 4.3 : Cumulative probability distributions of toluene air concentrations estimated in the different subpopulations. Figure 4.3a shows cumulative probability curves for a 3-h exposure, and Figure 4.3b represents cumulative probability curves for the 7-h and 24-h exposures.

Figure 4.1

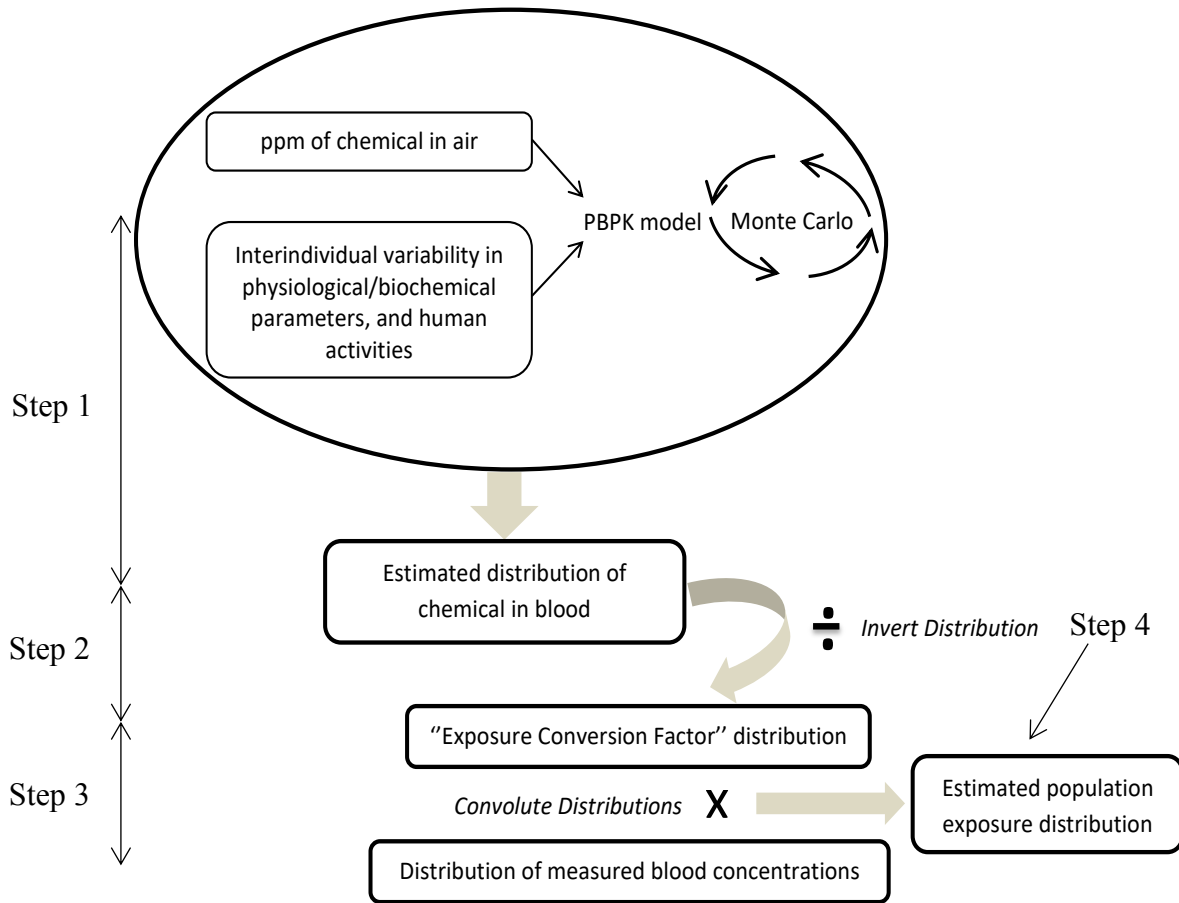


Figure 4.2

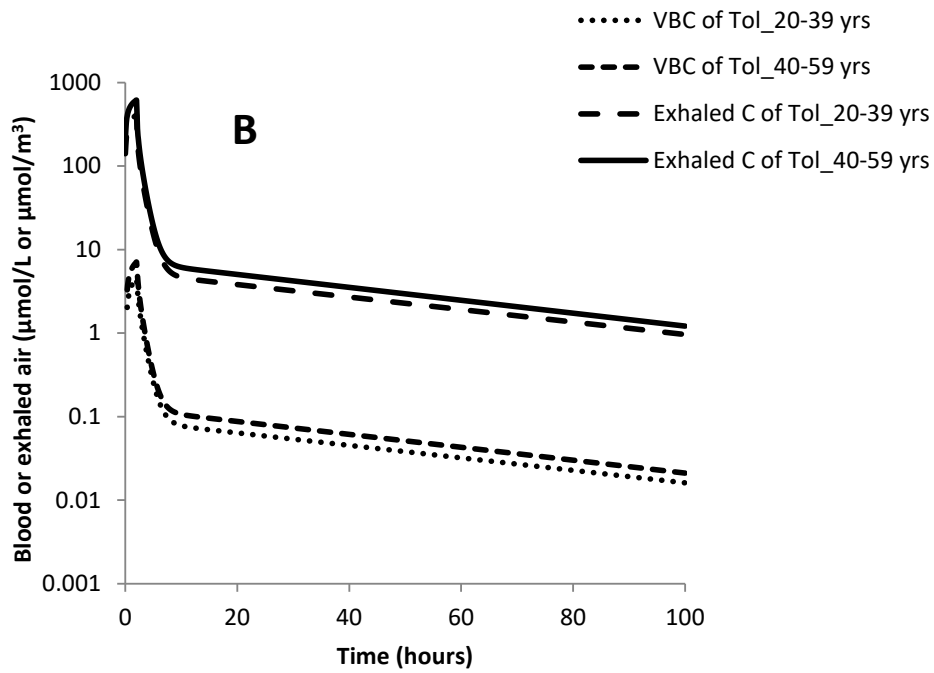
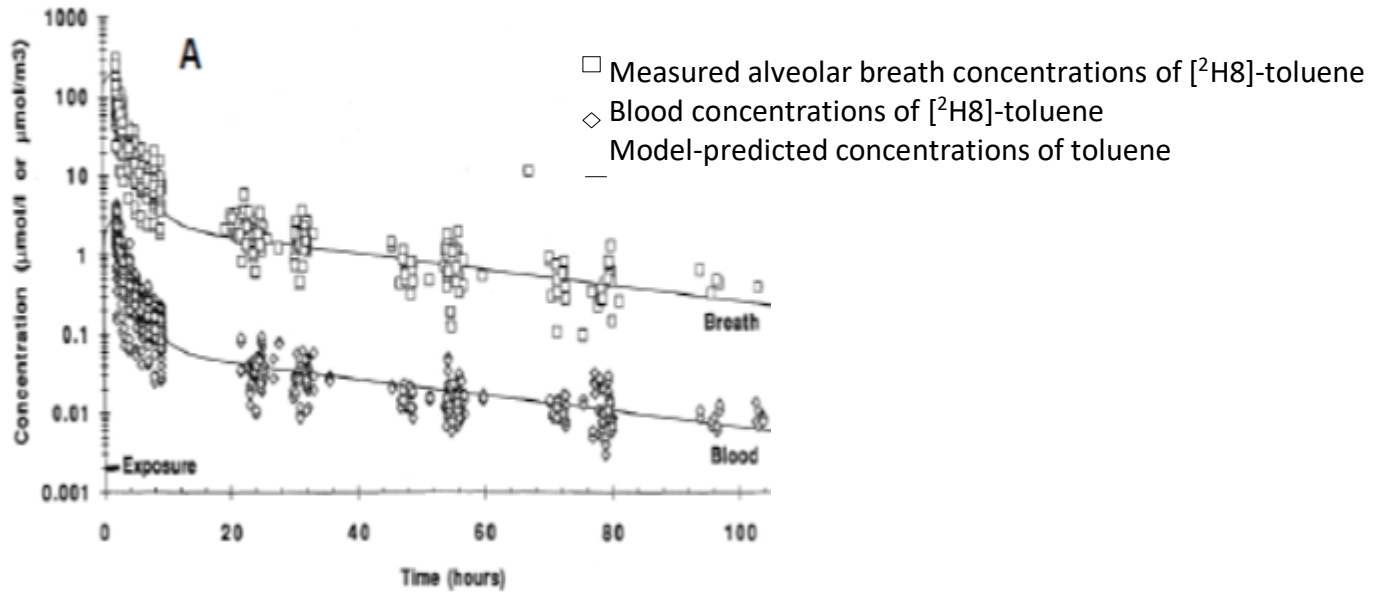


Figure 4.3

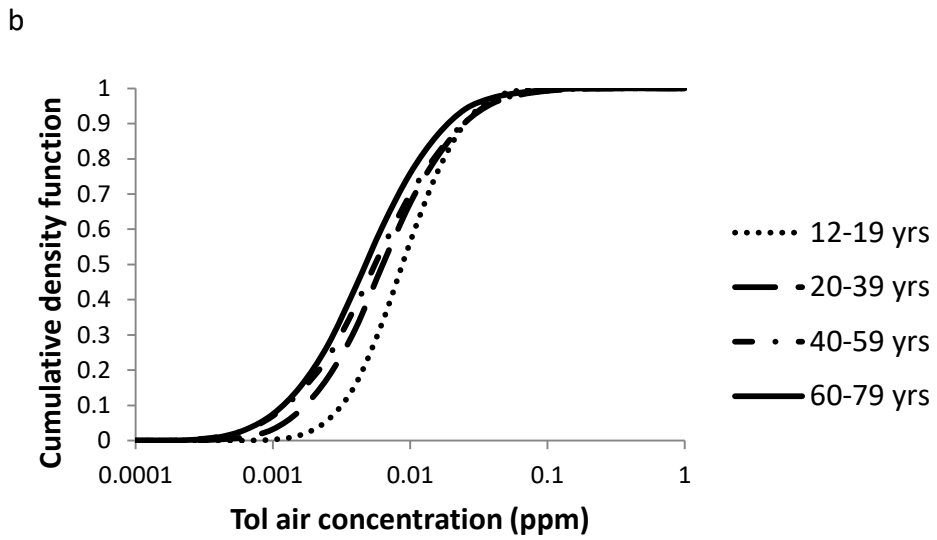
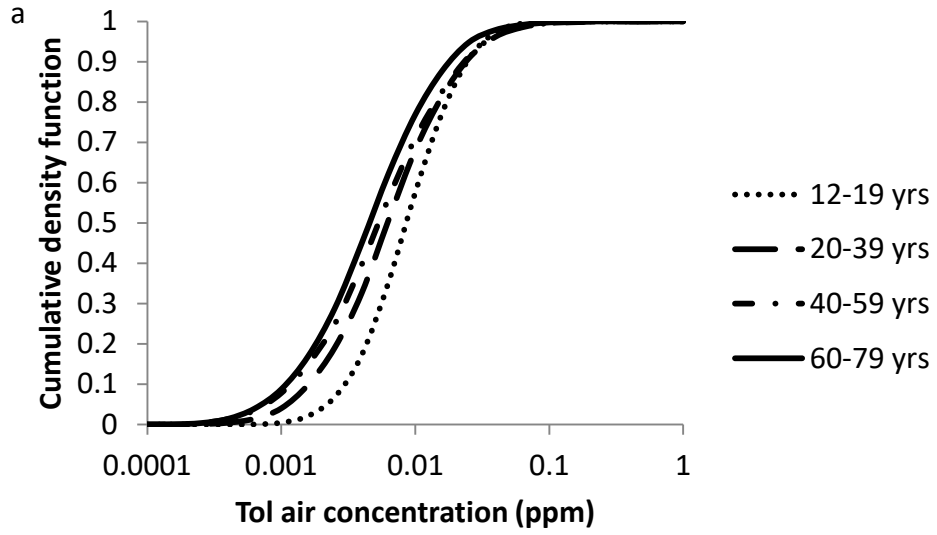


Table 4-1: Toluene’s physico-biochemical parameters required for PBPK modeling.

	Value	SD^e	Range^f	CV (%)^e
Molecular weight (g/mol)	92.1 ^c	-	-	-
Partition coefficients ^a				
Blood : air	15.6 ^d	1.7	(13.9-17.3)	10.9
Liver : air	83.6 ^d	5.8	(77.8-89.4)	6.9
Fat : air	1021.0 ^d	11.0	(1009.8-1032.2)	1.1
Highly perfused : air	83.6 ^d	5.8	(77.8-89.4)	6.9
Rest of the body : air	27.7 ^d	4.0	(23.6-31.80)	14.8
Metabolic constants ^b				
Vmaxc (µg/min/kg ^{0.75})	57.3 ^d	-	-	-
Km (µg/L)	130 ^d	-	-	-

Notes: SD, standard deviation; CV, coefficient of variation.

^a : Mean values, Lognormal distribution; ^b: kept constant, Vmaxc used to compute Vmax_{adj} in each subpopulation studied; ^c : From Fabri et al. (2012); ^d: From Haddad et al. (2001); ^e : From Tardif et al. (2002); ^f: Estimated from Tardif et al. (2002).

Table 4-2: Probability Density Functions of the parameters used to define the subpopulation-specific determinants in the PBPK models.

	Subpopulations ^a			
	Ad ₁	Ad ₂	Ad ₃	Tng
Probabilistic variables^b				
AGE (mean, range) ^a	29 (20 – 39)	49 (40 – 59)	69 (60 – 79)	15 (12 – 19)
Body weight (BW, kg, mean ±SD, range) ^c	80 ± 17, 45 - 152	83 ± 16, 45 - 152	82 ± 17, 45 - 152	66 ± 15, 37.6 – 97.5
Body height (BH, cm, mean ±SD, range) ^d	168 ± 10, 149 – 206	170 ± 11, 149 – 206	169 ± 10, 149 – 206	160.4 ± 10, 145 – 177
CYP2E1 concentration (pmol/mg MSP, mean ±SD, range) ^e	49 ± 2, 11 – 130 ^f	g	g	62.2 ± 2, 23.1 – 86.1 ^h
Variability terms^b				
Cardiac output (CVQc, mean ±SD, range)	1 ± 0.09 0.77 – 1.23 ⁱ	g	g	g
Alveolar ventilation rate (CVQalv, mean ±SD, range)	1 ± 0.1 0.8 – 1.2 ^j	g	g	g
Liver volume (CVVl, mean ±SD, range)	1 ± 0.14 0.66 – 1.34 ^k	g	g	g
Liver blood flow (CVQl, mean ±SD, range)	1 ± 0.13	g	g	g

	0.67 – 1.33 ^l			
Fat blood flow (CVQf, mean \pm SD, range)	1 \pm 0.07 0.86 – 1.14 ⁱ	g	g	g

Notes: Ad1 : Adults (20- 39 yrs); Ad2 : Adults (40-59 yrs); Ad3 : Adults (60-79 yrs); Tng : Teenagers (12-19 yrs); CYP2E1, cytochrome P-450 2E1; MSP, microsomal protein; SD, standard deviation.

a : Obtained from the third report on CHMS; b : Log-normal distributions for probabilistic variables, normal distributions for VT (VT for adults assumed to be the same in all the subpopulations in study, as in Valcke and Krishnan (2011a)); c : Directly obtained from Statistics Canada; d : Size distributions correlated to 60% (Pearson's r) with those of weight; e : Geometric mean \pm geometric standard deviation; f : a microsomal protein hepatic content of 32 mg/g of liver (Lipscomb and Poet 2008); g : Same to Ad1; h : From Nong et al. (2006), assumed to be the same as for adolescent (12-17 yrs old); i : From Tan et al. (2007); j : Arbitrary chosen as in Valcke and Krishnan (2011a); k : From Thomas et al. (1996); l : From Taniguchi et al. (1996).

Table 4-3: Distributions of toluene blood concentrations in the subpopulations investigated.

	Toluene concentrations in blood (µg/L)	
	Measured distributions^a	Predicted distributions^b
Subpopulations		
Statistics		
12-19 yrs old (n = 732)		
Mean* (IC 95%**)	0.074 (0.066-0.083)	0.091 (0.073-0.11)
P50 (IC 95%**)	0.070 (0.058-0.082)	0.069 (0.054-0.084)
P90 (IC 95%**)	0.19 (0.14-0.24)	0.18 (0.16-0.20)
P95 (IC 95%**)	0.26 (0.19-0.32)	0.24 (0.22-0.27)
20-39 yrs old (n = 533)		
Mean* (IC 95%**)	0.089 (0.069-0.11)	0.11 (0.098-0.12)
P50 (IC 95%**)	0.074 (0.050-0.098)	0.073 (0.058-0.088)
P90 (IC 95%**)	0.29 (0.16-0.43)	0.26 (0.23-0.30)
P95 (IC 95%**)	0.42 (0.23-0.61)	0.35 (0.28-0.42)
40-59 yrs old (n = 594)		
Mean* (IC 95%**)	0.12 (0.10-0.14)	0.14 (0.12-0.16)
P50 (IC 95%**)	0.085 (0.071-0.10)	0.084 (0.059-0.11)
P90 (IC 95%**)	0.58 (0.38-0.79)	0.39 (0.37-0.41)
P95 (IC 95%**)	0.86 (0.64-1.1)	0.57 (0.55-0.59)
60-79 yrs old (n = 590)		
Mean* (IC 95%**)	0.086 (0.070-0.11)	0.12 (0.10-0.14)
P50 (IC 95%**)	0.080 (0.065-0.096)	0.079 (0.058-0.10)
P90 (IC 95%**)	0.31 (0.22-0.40)	0.30 (0.28-0.32)
P95 (IC 95%**)	0.46 (0.39-0.53)	0.40 (0.38-0.42)

Notes: a: From the third Canadian Health Measures Survey; b: Simulated with PBPK models and Monte Carlo; * : Geometric mean; ** : 95% confidence interval.

Table 4-4: Estimated distributions of toluene air concentrations in the studied subpopulations.

	Simulated air concentrations of Tol (ppm)								
	3-hr exposure			7-hr exposure			24-hr exposure		
Percentile	50	90	95	50	90	95	50	90	95
For 12-19 yrs	0.009	0.025	0.035	0.009	0.04	0.06	0.009	0.04	0.06
For 20-39 yrs	0.006	0.025	0.035	0.007	0.036	0.06	0.007	0.036	0.06
For 40-59 yrs	0.005	0.025	0.035	0.007	0.036	0.06	0.007	0.036	0.06
For 60-79 yrs	0.004	0.019	0.030	0.006	0.022	0.04	0.006	0.022	0.04

SUPPLEMENTARY MATERIALS

SUPPLEMENTARY MATERIALS 1 (SM1)

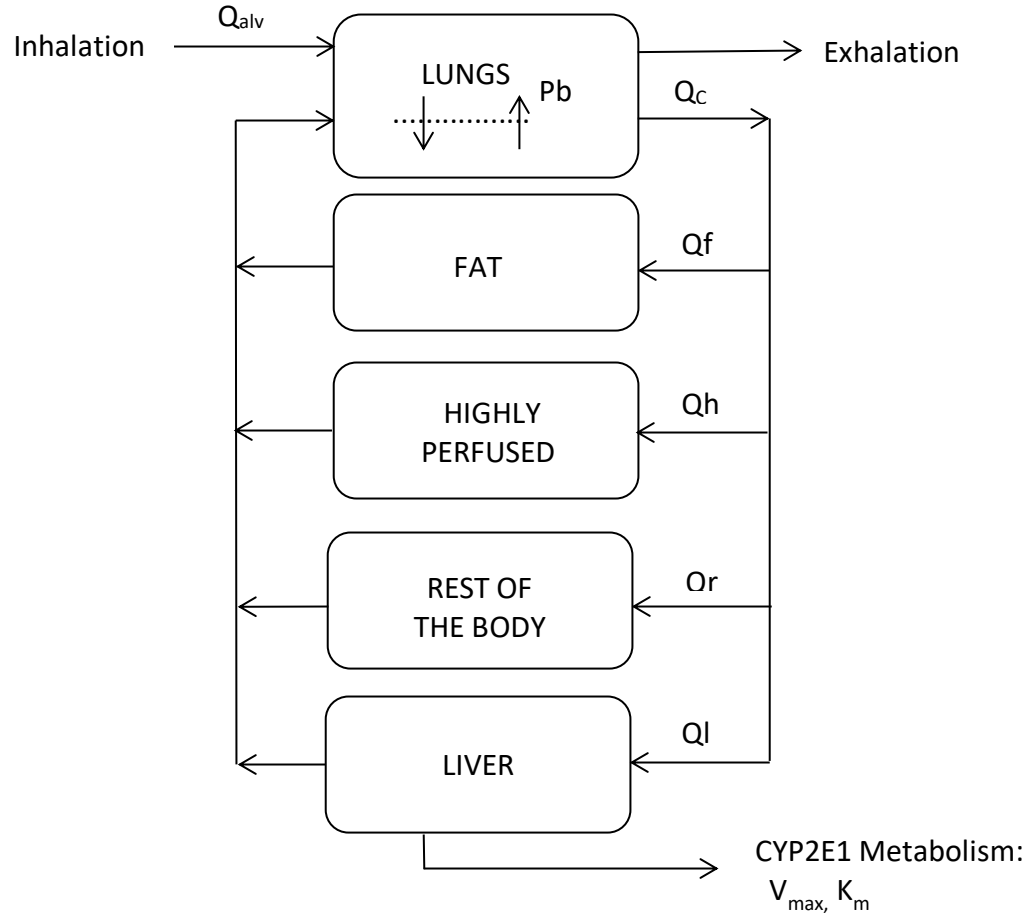


Figure 4.S.1: Conceptual representation of the inhalation PBPK model for toluene (K_m : Michaëlis–Menten constant, P_b : blood:air partition coefficient, Q_{alv} : alveolar ventilation, Q_c : cardiac output, Q_f : fat blood flow, Q_h : blood flow of high perfused tissues, Q_l : liver blood flow, Q_r : blood flow of the rest of the body, and V_{max} : maximum velocity of the enzyme (CYP2E1)).

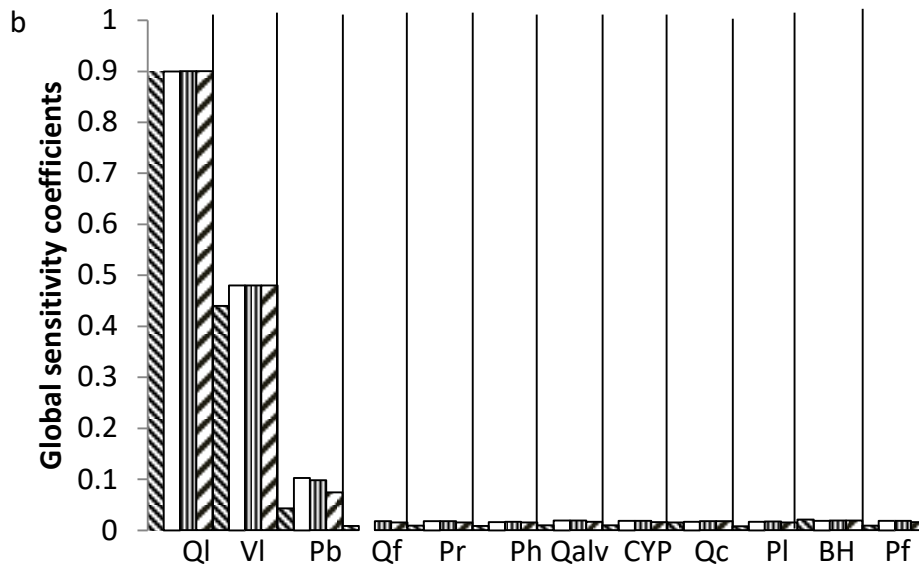
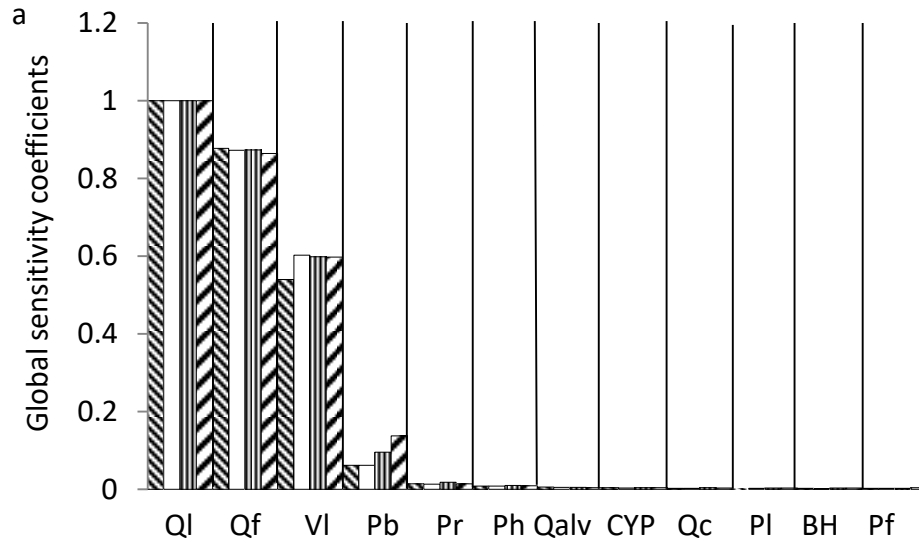


Figure 4.S.2 : The sensitivity of toluene venous blood concentration (VBC, $\mu\text{g/L}$) to PBPK model parameters in various age groups (from left to right: : 12-19 yrs, : 20-39 yrs, : 40-59 yrs, : 60-79 yrs) for a 3-hr exposure (Figure 4.S.2a) and the 7-hr and 24-hr exposures (Figure 4.S.2b); the global sensitivity coefficients (GSC, i.e. here Fourier coefficients) calculated as the change in VBC for a change in the values of model input parameters considered (alveolar ventilation (Qalv), body height (BH), cardiac output (Qc), CYP2E1

concentration (CYP), fat blood flow (Qf), liver blood flow (Ql), liver volume (Vl), and partition coefficients (liver:air (Pl), fat:air (Pf), highly perfused tissues:air (Ph), rest of the body:air (Pr), and blood:air (Pb))) over ranges presented in Table 4-1 (for partition coefficients) and Table 4-2 (for physiological parameters considered). VBC were obtained for exposure to 0.6 ppm. GSCs were directly generated for these input parameters from the ACSL software, based on Extended Fourier Amplitude Sensitivity Test (EFAST) method.

SUPPLEMENTARY MATERIALS 2 (SM2)

Table 4-S-1: Equations used to calculate the physiological parameters in the PBPK models for teenager (Tng) or adult (Ad) subpopulations using the data on body weight (BW), body height (BH) and age.

Parameters	Subpopulation	Equation	Reference
Body surface area* (SA, cm ²)	All	$= BW^{0.515} \times BH^{0.422} \times 234.9$	Haddad et al. (2006)
Tissue volumes (L)			
<i>Liver (Vl)</i>	All	$= 0.026 \times BW$	Brown et al. (1997)
<i>Fat (Vf)</i>	All	$= [((1.36 \times BW / (BH / 100)) - 42) + ((1.61 \times BW / (BH / 100)) - 38.3)] / 2$	Price et al. (2003a)
<i>Highly perfused (Vh)**</i>	Tng	$= [(0.026666 \times AGE + 15.62 \times (BW^2 / BH)^{0.08696} - 14.25) + (0.02515 \times AGE + 7.619 \times (BW^2 / BH)^{0.1499} - 6.098)] / 2 - Vl$	Haddad et al. (2006)
	Ad	$= [(-0.005309 \times AGE + 1.008 \times BW^{0.4930} + BH^{0.3765} - 7.952) + (-0.002331 \times AGE + 0.1253 \times BW^{0.8477} + BH^{0.3821} - 4.725)] / 2 - Vl$	Haddad et al. (2006)
<i>Bone and skeleton (Vb)</i>	All	$= 0.09 \times BW$	Valcke and Krishnan (2011b)

<i>Rest of the body (Vr)</i>	All	= BW-(Vl+Vf+Vh+Vb)	Valcke and Krishnan (2011b)
Blood flows (L/min)			
<i>Cardiac output (Qc)</i>	All	= (0.012xAGE ³ -1.2144xAGE ² +40.324xAGE+44.414)/60	Price et al. (2003b)
<i>Alveolar ventilation (Q_{alv})</i>	All	= (17.874xAGE+39.785)/60	Price et al. (2003b)
<i>Liver (Ql)</i>	All	= 0.92xVl	Haddad et al. (2006)
<i>Fat (Qf)</i>	All	= 0.0254xVf	Haddad et al. (2006)
<i>Highly perfused (Qh)</i>	All	= Qc-(Ql+Qf+Qr)	Haddad et al. (2006)
<i>Rest of the body (Qr)</i>	All	= ***	

Notes: Ad : Adults (20- 39, 40-59 and 60-79 yrs); Tng : Teenagers (12-19 yrs)

*: SA defined to compute the volume of the skeletal muscles in adults according to Haddad et al. (2006), this volume was used in the calculation of the blood flow to the rest of the body; **: The volume of liver were subtracted from the result of this equation to obtain

the volume of the highly perfused tissue in the PBPK models; *** : The blood flows to the rest of the body were calculated based on the blood flows to the tongue, the heart, the skin and the skeletal muscles, and were increased by a factor that corresponds to the ratio of the volume of the rest of the body (V_r) on the sum of the volumes of these tissues. Calculations of the volumes and blood flows for these tissues were conducted as per Haddad et al. (2001), and Haddad et al. (2006).

Table 4-S-2: Range of the model input variable parameters values during Monte Carlo simulations that led to similar concentrations.

Physiological parameters ^a	Range	
	Min	Max
Cardiac output (Qc)	0.79	1.22
Alveolar ventilation rate (Qalv)	0.80	1.20
Liver volume (Vl)	0.67	1.33
Liver blood flow (Ql)	0.69	1.31
Fat blood flow (Qf)	0.87	1.13
CYP2E1 concentration	42.61	54.90
Physicochemical parameters		
Partition coefficients ^b		
Blood : air	11.27	20.87
Liver : air	67.72	105.32
Fat : air	989.9	1051.9
Highly perfused : air	68.3	106.95
Rest of the body : air	18.46	43.41
Model input concentration^c	0.021	0.17

Notes: Ad : Adults (20- 39, 40-59 and 60-79 yrs); Tng : Teenagers (12-19 yrs)

a: The ranges for the physiological parameters values were the same regardless of the simulated duration and the subpopulation considered, except the 12-19 years of age subpopulation whose range for the CYP2E1 concentration was: 55.73-88.04; b: The ranges for the physicochemical parameters values were the same regardless of the simulated duration and the subpopulation considered, except the 12-19 years of age subpopulation whose ranges for partition coefficients (blood:air, liver:air, fat:air, and rest of the body:air) were respectively of : 11.21-20.87, 66.48-105.32, 985.85-1060.20 and 18.43-43.40; and c: Input concentration for a 3-hr exposure simulation in the 20-39 years of age subpopulation. The corresponding ranges for the model input concentrations values that led to blood levels similar to those of CHMS-3 in the 12-19 years of age, 40-59 years of age and 60-79 years of age were respectively of: 0.038-0.21, 0.019-0.16, and 0.006-0.15.

Chapitre 5 – Article 3

5. Article 3: *Estimation of toluene exposure in air from BMA (S-benzylmercapturic acid) urinary measurements using a reverse dosimetry approach based on physiologically based pharmacokinetic modeling.*

Tohon, H., Valcke, M., Aranda-Rodriguez, R., Nong, A. et Haddad, S.

ESTIMATION OF TOLUENE EXPOSURE IN AIR FROM BMA (S-BENZYL MERCAPTURIC ACID) URINARY MEASUREMENTS USING A REVERSE DOSIMETRY APPROACH BASED ON PHYSIOLOGICALLY BASED PHARMACOKINETIC MODELING.

Tohon H^a, Valcke M^{a,b}, Aranda-Rodriguez R^c, Nong A^c and Haddad S^a

^aDepartment of Environmental and Occupational Health, ESPUM, CReSP, Université de Montréal, C.P. 6128 Succ. Centre-ville, Montreal, (Qc.), Canada, H3C 3J7

^bDirection de la santé environnementale et de la toxicologie, Institut national de santé publique du Québec, Montréal, Quebec, Canada

^cExposure and Biomonitoring Division, Environmental Health Sciences and Research Bureau, Health Canada, Ottawa, ON, Canada

Honesty Tohon a réalisé tous les travaux de modélisation à la base de l'Article 3. Il a contribué de façon majeure à l'analyse et à l'interprétation des résultats de ces travaux, ainsi qu'à la rédaction et à la préparation du manuscrit.

Abstract

This study aimed to use a reverse dosimetry PBPK modeling approach to estimate toluene atmospheric exposure from urinary measurements of S-benzylmercapturic acid (BMA) in a small group of individuals and to evaluate the uncertainty associated to urinary spot-sampling compared to 24-hour collected urine samples. Each exposure assessment technique was developed namely to estimate toluene air exposure from BMA measurements in 24-hour urine samples (24-h-BMA) and from distributions of daily urinary BMA spot measurements (DUBSM). Model physiological parameters were described based upon age, weight, size and sex. Monte Carlo simulations with the PBPK model allowed converting DUBSM distribution (and 24-h-BMA) into toluene air levels. For the approach relying on DUBSM distribution, the ratio between the 95% probability of predicted toluene concentration and its 50% probability in each individual varied between 1.2 and 1.4, while that based on 24-h-BMA varied between 1.0 and 1.1. This suggests more variability in estimated exposure from spot measurements. Thus, estimating toluene exposure based on DUBSM distribution generated about 20% more uncertainty. Toluene levels estimated (0.0078-0.0138 ppm) are well below Health Canada's maximum chronic air guidelines. PBPK modeling and reverse dosimetry may be combined to interpret urinary metabolites data of VOCs and assess related uncertainties.

Keywords: Biomonitoring, PBPK modeling, reverse dosimetry, toluene, urinary BMA, uncertainty, and exposure assessment.

5.1 Introduction

Biomonitoring is used to assess human exposure to chemical contaminants in the environment. It is now an essential component of national health surveys in several countries and targets a multitude of chemicals, including volatile organic compounds (VOCs) (Haines et al., 2017; Phillips et al., 2014 ; Kolossa-Gehring et al., 2017; Schwedler et al., 2017; Tohon et al., 2018; Exley et al., 2015). This tool allows for the identification and quantification of chemical exposure by measuring chemicals and / or their biotransformation products in biological samples (blood, urine, hair or milk) (NRC, 2006; Sexton et al., 2004; Haines et al., 2017).

In exposure assessment, the interpretation of human biomonitoring data assumes that the relative magnitude and variation of the concentration of a biomarker measured in a biological fluid is reflected by the magnitude and variation in the external exposure of the parent chemical (Aylward et al., 2012). Biomonitoring data can be interpreted by comparing them with equivalent reference toxicological values such as Biomonitoring Equivalents that can be obtained with biological models (Angerer et al., 2011; Aylward et al., 2010; 2013; Hay et al., 2008; Phillips et al., 2014). In other cases, equivalent exposure levels can be reconstructed from biomonitoring data and a reverse dosimetry approach with physiologically based pharmacokinetic (PBPK) models (Clewell et al., 2008; Lyons et al., 2008; Tan et al., 2006; 2007; Tohon et al., 2018). Indeed, a PBPK model is a simplified representation of the absorption, distribution, metabolism and excretion in humans and animals that has well-defined compartments corresponding to its tissues, organs or biological fluids (Andersen et al., 1987; Krishnan and Andersen, 1994; Clewell and Clewell 3rd, 2008; WHO/IPCS, 2010; Tohon et al., 2019). Reverse dosimetry method combines computer models, statistical calculations and population data (including the biomarkers ones) to estimate external exposure as a distribution (Tohon et al., 2018).

Whatever the interpretation method used, the biomonitoring measures found in large health surveys such as the Canadian Health Measures Survey (CHMS) are generally a compilation of spot samples of biological fluid collected from a sample population. There is evidence that biomonitoring a non-persistent environmental chemical (such as toluene) from a single spot biological measurement of this chemical contaminant (in a day) may be unreliable (Lakind et al., 2019). Further, the study by Aylward et al. (2012) showed that there is a difference in variability in biomonitoring data, depending on whether these data result from measurements made on spot urines collected at different times of a day or on 24-h urines. All of this suggests a certain uncertainty on the interpretation of biological data collected regarding the corresponding possible dose estimate.

Tohon et al. (2018) proposed a reverse dosimetry approach to reconstitute air exposure of toluene (VOC) for an adult population in various age groups of the Canadian population from toluene blood measurements obtained for these groups during the third cycle of the Canadian Health Measures Survey (CHMS-3). By extending the reverse dosimetry approach demonstrated by Tan et al. (2007), interindividual physiological variability (through equations expressing physiological parameters as a function of age, weight and size) as well as interindividual physicochemical variability were measured using PBPK models. Tohon et al. (2018) went a step further than previous reverse dosimetry studies by probabilistically accounted for different subgroups of a given population. However, it is conceivable that the approach developed by Tohon et al. (2018) may also use, instead of blood toluene but also urinary metabolites of this chemical, namely o-cresol (ortho-cresol) and BMA (S-benzylmercapturic acid) which are both products of the metabolism of toluene involving CYP2E1 enzymes (Marchand et al., 2015; ATSDR, 2017).

In a study conducted by Health Canada, urine samples from eleven adult individuals from different households in Canada were collected (Nong and Rodriguez, Health Canada, personal communication from 11/29/2016). The data available consist of BMA spot measurements taken on individual's urine samples collected at different moments of a day (a period of 24 h) and concentrations of BMA measured on a composite 24-h urine samples.

BMA was detected in six of these urine samples obtained. The current availability of repeated data in a few individuals on the same day represents an opportunity to explore (at least in part) the uncertainties associated with toluene air exposure estimates based on a reverse dosimetry approach relying on urine spot samples. This was not possible for the study of Tohon et al. (2018) and could have been considered as a limitation of the study. The objectives of this study are: 1) to estimate, for each individual, the toluene air exposure from urinary BMA measurements, and 2) to evaluate the variability in urinary spot-sample measurements against the overall uncertainty of toluene exposure estimates using a reverse dosimetry approach.

5.2 Materials and Method

5.2.1 Modeling approach

The PBPK model by Marchand et al. (2015) for urinary excretion of o-cresol following inhalation exposure to toluene was used as the basis for the current study. This model was chosen since it is the only biological model in the literature adapted for the study of the urinary excretion of BMA. Inoue et al. (2004) described experimental kinetic data for the same urinary toluene biomarkers resulting from inhalation exposure of adult human individuals at low exposure concentrations. These data of Inoue et al. suggest that a BMA/o-cresol ratio can be defined which would help to convert any modeled urinary o-cresol to corresponding BMA values. Only the inhalation route was used in the model because exposure to toluene generally results from air pollution (ATSDR, 2017; Health Canada, 2016; Héroux et al., 2008; Won et al., 2005; Oliveira et al., 2017).

The urinary excretion pathways of o-cresol and BMA as the result of toluene metabolism involving CYP2E1 enzymes are illustrated in Figure 5.1 (Marchand et al., 2015; ATSDR, 2017). The formation of o-cresol is represented as a fraction of the metabolism of toluene (Tardif et al., 2002; Marchand et al., 2015) and its formation/concentration is described by stoichiometric yield (SY, % of metabolism that corresponds to the formation of the

metabolite, see Table 5-1) and an excretion constant (K_{CRE}) (Tardif et al., 2002; Marchand et al., 2015). The BMA/o-cresol ratio (r) was defined in Table 5-1 by an iterative visual model fitting process based on data from Inoue et al. (2004) and integrated into the current study models. This process consisted of testing several arbitrarily chosen ratio values. With the ratio value of 0.06 (Table 5-1) the predicted distribution (geometric mean, geometric standard deviation, 50th, 90th and 95th percentile values) were similar to distribution values obtained from the spot measurements of urinary BMA for each individual in 24 h (Table 5-3). This ratio ultimately made it possible to convert urinary o-cresol levels into their corresponding BMA levels for all the simulations performed with the PBPK models in this research. All the formation and urinary excretion parameters of these two metabolites required for modeling are summarized in Table 5-1.

A five-compartment PBPK model was developed using ACSL® (Advanced Continuous Simulation Language) software version 3.0.2.1., based on the model of Marchand et al. (2015). The physicochemical and biochemical parameters needed for model construction (Table 5-2) were obtained from the literature (Fabri et al., 2012; Haddad et al., 2001; Tardif et al., 2002). The physiological parameters required (blood flow and tissue volumes) were calculated for each individual from equations also extracted from the literature and presented in Table 5-A-1 of Appendix; thus the interindividual physiological variability of toxicokinetics (dependent on age, weight, size and sex) was directly taken into account in the new models build. The anthropometric characteristics of individuals studied are presented in Table 5-A-2 (see Appendix).

Metabolism of toluene, a substrate of cytochrome P450 CYP2E1 enzymes, was presumed to be limited to the liver involving only these enzymes that are the major isoenzymes involved in the biotransformation of low molecular weight VOCs (Ronis et al., 1996; Nong et al., 2006; Neafsey et al., 2009; ATSDR, 2017; Tohon et al., 2018). As in Nong et al. (2006) and Tohon et al. (2018; 2019), the intrinsic clearance of toluene was calculated by adjusting the catalytic activity of toluene metabolism (which follows Michaelis-Menten kinetics) as a function of hepatic ontogeny of this isozyme. Thus, for a given individual,

the maximal rate of metabolism ($V_{max_{adj}}$) was adjusted from the V_{max_c} as shown in Equation 1.

$$V_{max_{adj}} = \frac{V_{max_c}}{[CYP2E1]_{ad} \times V_{l_{ad}}} \times [CYP2E1]_{ind} \times V_{l_{ind}} \quad [\text{Eq. 1}]$$

where V_{max_c} was presumed to result from catalytic activity associated with the hepatic mean concentration (51.7 pmol/mg of microsomal protein, MSP) of CYP2E1 ($[CYP2E1]_{ad}$) measured in a reference adult population described by Lipscomb et al. (2003) and Neafsey et al. (2009), $[CYP2E1]_{ind}$ and $V_{l_{ind}}$ are, respectively, CYP2E1 concentration and volume of liver of the simulated individual (Nong et al., 2006; Valcke and Haddad, 2015; Valcke and Krishnan, 2011b). Indeed, $[CYP2E1]_{ad}$ is the mean CYP2E1 hepatic concentration in a reference group of 20 adults, for which the mean body weight (77.25 kg) was available and corresponding liver volume ($V_{l_{ad}}$) calculated accordingly (Valcke and Krishnan, 2011a). Content of hepatic microsomal protein concentration was considered constant in all the individuals in study, that is, it does not vary with age (Lipscomb and Poet, 2008).

Moreover, terms of variability (for which probability distributions were available in the literature, see Table 5-A-3 of Appendix), similarly defined for each person in study (because they were originally defined for adults), were incorporated into the equations for the following physiological parameters: cardiac output, alveolar ventilation rate, liver volume, liver blood flow and fat blood flow. For the equations used to define the physiological determinants of models (Table 5-A-1), the variability terms are used to account for interindividual differences in physiology of individuals of identical age and BMI (Valcke and Krishnan, 2011a; 2011b; Tohon et al., 2018; 2019).

5.2.2 Reverse dosimetry approach

The reverse dosimetry method used in the present study is the same as that described in Tohon et al. (2018) and summarized in Figure 5.2. Overall, the PBPK model of toluene built for each subject was combined with Monte Carlo simulations and probability calculations in order to convert each daily distribution of urinary BMA spot measurements into a probability distribution of atmospheric concentrations of toluene. Two exposure assessment techniques were used in this reverse dosimetry study, namely estimate toluene air exposure using BMA measured on 24-h urine samples (24-h-BMA), and the estimate of toluene air exposure using a daily urinary BMA spot measurements (DUBSM) distribution.

Briefly, for each of the exposure assessment techniques used, the distributions of urinary BMA concentrations are simulated first. The second step calculates for probabilities of being exposed to simulated toluene air concentrations for groups of urinary BMA concentrations created in the first step. In the third step, distributions of urinary BMA concentrations similar to those obtained with the individual data were simulated. Finally, in the fourth step, air concentrations of toluene corresponding to the BMA urinary measurements for the individuals were obtained from the probability of simulated air concentrations.

Step 1: Exposure scenario, probabilistic modeling, and distribution of urinary BMA concentrations for different simulated atmospheric concentrations of toluene.

The PBPK model of toluene built for each individual was used to simulate 24-h exposures to air concentrations of toluene ranging from $10^{-2.43}$ ppm (3.72 ppb) to $10^{-1.83}$ ppm (14.7 ppb), increasing the power by 0.03 between two simulated concentrations (i.e.: $10^{-2.43}$, $10^{-2.40}$, $10^{-2.37}$, ..., $10^{-1.89}$, $10^{-1.86}$, $10^{-1.83}$). Concentrations in this range allowed simulating values of the urinary BMA spot measurements reported in each individual in a day, including the minimum and maximum of these measurements. The increase in power by 0.03 was selected using a process of trial and error and corresponds to a level of precision

which makes it possible to obtain these urinary BMA spot measurements simulated. The 24-hour exposure duration was chosen to be consistent with the extent of the period in which different spot measurements of urinary BMA were performed for each individual within a same day. The distribution of these spot measurements obtained in 24 hours for each person in the study was chosen in the present exercise of reverse dosimetry, and not each spot measurement. Each distribution is summarized in Table 5-3 in the Results section, including the values of its geometric mean (with geometric standard deviation) and of 50th, 90th and 95th percentiles. Moreover, an exposure of 24 hours, such as considered here, enabled us to assume a steady-state inhalation exposure (Tohon et al., 2018), and thus simulating maximum urinary BMA concentrations for a given exposure concentration on a given day.

For each simulated input concentration of toluene in the model, 1000 urinary BMA concentrations (in µg/g of creatinine) were obtained through Monte Carlo simulations performed directly with the ACSL software. Monte Carlo simulations were used to capture interindividual toxicokinetic variabilities of toluene induced by the physiological interindividual variability (depending on variations in age, body weight, size and sex; see Table 5-A-1 and Table 5-A-3 in Appendix) and the physicochemical one (depending on tissue composition, i.e.: partition coefficients; see Table 5-2). Each series of 1000 urinary BMA concentrations obtained following Monte Carlo simulations was organized into small groups of urinary BMA concentrations, each group corresponding to an interval of $10^{0.02}$ [(10^{0.2}, 10^{0.22}); (10^{0.22}, 10^{0.24}); ...; (10^{1.34}, 10^{1.36}); (10^{1.36}, 10^{1.38})]. At the end of this step, the number of simulated individuals (among 1000) belonging to each created group of urinary BMA concentrations was computed for each simulated input concentration of toluene in the model. Distributions of urinary BMA concentrations were thus obtained.

Step 2: Inversion of distributions of urinary BMA levels from Step 1

This step resulted in the calculation of probabilities of being exposed to the simulated air concentrations of toluene for each group of urinary BMA concentrations created in the first

step. This was achieved by dividing the number of individuals exposed to a simulated air concentration of toluene and whose urinary BMA concentration belongs to a group by the total number of subjects in this group (Tohon et al., 2018). A first probability matrix (Matrix 1) was thus obtained for each person examined in the current study, using the output Monte Carlo data from the first step.

Step 3: Simulation of the distribution of DUBSM reported for each individual

In this step, the model parameter values specific to each individual was combined with the Monte Carlo technique to simulate the interindividual variabilities accounted for in Step 1, but also an interindividual variability in the exposure to toluene in air. Several Monte Carlo simulation trials were conducted for each subject under study in order to obtain a distribution similar to the one for DUBSM. In each test, an input toluene level in the model (between $10^{-2.43}$ and $10^{-1.83}$ ppm), considered as an arithmetic mean, and a standard deviation (SD) were chosen. These values were then transformed to follow a lognormal distribution in the ACSL software. It is in fact an iterative process of trial and error (as in Tohon et al., 2018) that ultimately resulted in the desired distribution. The input concentrations distributions of toluene in the models employed to simulate DUBSM distributions similar to those obtained in individuals are presented in Table 5-A-12 (see Appendix).

Step 4: Estimation of distributions of air concentrations of toluene for each individual

A distribution of air concentrations of toluene inhaled was estimated for each individual using different matrices from the previous steps. To do so, the similar DUBSM distribution simulated in Step 3 for each individual was linked to the urinary BMA concentration groups created in step 1 [i.e.: ($10^{0.2}$, $10^{0.22}$); ($10^{0.22}$, $10^{0.24}$); ...; ($10^{1.34}$, $10^{1.36}$); ($10^{1.36}$, $10^{1.38}$)], and a second probability matrix (Matrix 2) was deduced for each person. This second matrix was multiplied by the first probability matrix obtained in Step 2 (Matrix 1). From the matrix resulting from the product of Matrix 1 and Matrix 2, a sum of probabilities was made for each simulated input concentration of toluene in the models. Cumulative

probabilities were then calculated to estimate the distribution of inhaled toluene air levels corresponding to the DUBSM distribution obtained with data provided for each individual. Cumulative probability curves of air concentrations of toluene were also performed from the cumulative probabilities calculated, as in Tohon et al. (2018).

In the case of the use of the 24-h-BMA reported for each individual, the estimation of its corresponding distribution of toluene air levels inhaled was carried out following the same steps described above, but the aforementioned Matrix 2 was obtained as follows. This Matrix 2 was constructed by linking to each of the 24-h-BMA a probability of 1 (i.e.: 100%). Thus, it was assigned to the group of urinary BMA concentrations created in Step 1 and containing the urinary BMA measure of interest the probability of 1, and to the other groups respectively the probability of 0.

5.2.3 Evaluation of the relative contribution of the specific uncertainty resulting from the use of urinary spot-sample when evaluating toluene air exposure levels by the proposed reverse dosimetry approach

The relative contribution (RC) of the specific uncertainty resulting from the use of urinary spot-sample on the overall uncertainty when evaluating toluene air exposure levels by the proposed reverse dosimetry approach was determined as per equation 2:

$$RC = 100 \times (R_{DUBSM} - R_{24-h-BMA}) / R_{24-h-BMA} \quad [Eq.2]$$

Where: R_{DUBSM} is the intra-individual variability ratio calculated by dividing the 95th percentile value by that of the 50th percentile for the distribution of toluene air exposure estimated in each individual using the DUBSM distribution, and $R_{24-h-BMA}$ the intra-individual variability ratio calculated by dividing the 95th percentile value by that of the 50th percentile for the distribution of toluene air exposure estimated in each individual using the 24-h-BMA.

5.3 Results

5.3.1 Simulated distributions of urinary BMA concentrations for the examined individuals

Table 5-3 presents, for each individual, on one hand, the DUBSM distribution obtained with data reported by Health Canada, as well as the one simulated similar using PBPK model, and the value of the 24-h-BMA on the other hand. The distributions were summarized by the corresponding mean (with standard deviation) and the 50th, 90th and 95th percentiles values. They suggest a small variation between the spot measurements reported for each individual for 24 hours (with coefficients of variation calculated in all individuals varying between 8 and 19% (results not shown)). Predicted distributions of urinary o-cresol concentrations corresponding to the simulated DUBSM distributions for these individuals are presented in Table 5-A-4 (in Appendix) which indicate a variation like that mentioned above. All these distributions suggest that Individual 6 is the most exposed to toluene in air and Individual 5 the least exposed. But based on the values of 24-h-BMA, Individual 3 is the most exposed and Individual 2 the least exposed.

5.3.2 Estimation of toluene concentrations in air

Figure 5.3 depicts, for each individual (1-6), the two exposure assessment techniques used in the reconstitution of toluene air concentrations inhaled by the individuals. These are the estimate of toluene air exposure using the 24-h-BMA and the estimate of toluene air exposure using the DUBSM distribution. For each individual, the cumulative probabilities obtained for a same simulated toluene air concentration may differ according to the exposure assessment technique. This figure also indicates a small variation in the air concentrations of toluene estimated for each individual using the 24-h-BMA, compared to those estimated using the DUBSM distribution. Table 5-4, which presents the 50th, 90th and 95th percentile values of the distributions of air toluene concentrations predicted for the individuals considered in this study, confirms this last observation (see the calculated ratios of the 95th percentile values to the 50th percentile values in this table). According to this table, for each individual, the range of probable values for the estimated toluene air

concentrations based on the DUBSM distribution is wider than that resulting from the use of the 24-h-BMA. However, for each investigated person, the levels of toluene estimated in air for the 24-h-BMA are within the range of variation of those simulated for the DUBSM distribution obtained (Figure 5.3). Moreover, based on the levels of toluene estimated in air in the study subjects (Table 5-4), the most or the least exposed individuals agree with those identified in the section 5.3.1.

5.4 Discussion

This study aims to estimate air concentrations of toluene inhaled corresponding to the urinary BMA concentrations in six adults. It also contributes to evaluate the contribution of uncertainty related to urinary spot-sample measurements on the overall uncertainty to modeling toluene exposure for each individual considered. To reach these objectives, a reverse dosimetry approach was applied by combining PBPK modeling, Monte Carlo simulations and probability calculations (Tohon et al., 2018).

The observations made in this study suggest that the probability of being exposed to a given estimated air concentration of toluene varies in each individual according to the technique of exposure assessment used (based on 24-h-BMA or on DUBSM, see Figure 5.3). They also show a narrower range of possible toluene air concentrations estimated in each individual based on the 24-h-BMA, as compared to those based on the DUBSM distribution (see Figure 5.3 and Table 5-4). The range of variation of toluene air concentrations estimated from 24-h-BMA appears to be included in that of those corresponding to the DUBSM distribution for each investigated person. These are very important observations from this study that highlight uncertainties related to estimates of toluene levels in air made with one or the other exposure assessment technique mentioned above. In this regard, the present study suggests an approach to quantify the relative contribution (RC) of the specific uncertainty resulting from the use of the DUBSM distribution on the overall uncertainty when evaluating toluene air exposure levels by the

proposed reverse dosimetry approach; RC was evaluated here at about 20% in each individual, although the results showed that two (over six) of the 95th values of the levels of toluene estimated in air are higher with the 24-h-BMA approach (see Table 5-4). This specific uncertainty is illustrated by the “large” variation observed on the distribution of toluene air concentrations thus estimated from the DUBSM distribution for each individual. It stems from the variability in urinary BMA spot measurements obtained in each individual over an entire day. Indeed, such spot measurements are estimates made at very different times during a 24-h period (which may even lead to uncertain values, for example because of uncertainty in the analysis), and are therefore subject to variability due to many circumstances of measurements. This is not the case with the 24-h-BMA, which represents an estimate made from all urine sample collected in 24 hours (thus a single measurement), as it integrates the variations in the exposure. This is consistent with the study from Lakind et al. (2019) indicating that studies based on the use of spot measurements of a non-persistent chemical may be of more limited reliability for exposure assessment. Our modeling study also suggests that 24-hours urine remains the gold standard in risk assessment studies. In the absence of 24-hour urine, the first spot urine emitted in the morning might be, in our opinion, the best, compared to other spot urine of the same day, since it will represent a constant exposure during a longer period as suppose different activities during the day and will also integrate a longer duration of urinary excretion (Valcke and Bouchard, 2009). The observation that two (over six) of the 95th percentile values of the levels of toluene estimated in air are higher with the 24-h-BMA approach may be due to an imperfection of the models built for the two individuals concerned. Indeed, such imperfection might result from variability on input parameters which may have been too restrictive in order to adequately reflect the TK behavior at the extremes of the input parameter’s distributions, with resulting impact on the distributions of spot measurements of urinary BMA simulated in Step 1 of the reverse dosimetry approach, and therefore an impact on the extremes of the estimated distributions of toluene concentrations in air in these two individuals.

For the first time, a reverse dosimetry approach was used to estimate toluene air exposure concentrations based on measurements of BMA, its urinary metabolite. The latter is indeed one of toluene exposure biomarkers reported in the literature (Maestri et al., 1997; Inoue et al., 2004; Ukai et al., 2007; Ikeda et al., 2008; Lovreglio et al., 2010; Cosnier et al., 2013; Marchand et al., 2015; INRS, 2017). It has been described as an indicator of both occupational exposure (Maestri et al., 1997; Inoue et al., 2004; Ukai et al., 2007; Ikeda et al., 2008; Lovreglio et al., 2010) and environmental exposure (Maestri et al., 1997; Lovreglio et al., 2010; INRS, 2017). For some authors, it would not be specific to toluene because it could also result from the biotransformation of benzyl compounds (such as benzyl acetate or benzyl alcohol contained in cosmetics) (INRS, 2017). However, others consider it as a potential biomarker of toluene exposure that is higher than the traditional biomarkers such as urinary or blood toluene, urinary o-cresol or hippuric acid, even in the cases of environmental exposure (Maestri et al., 1997; Inoue et al., 2004; Ukai et al., 2007; Cosnier et al., 2013). It should be noted here that the urinary BMA spot measurements reported in the six individuals are comparable to those found in the study of Maestri et al. (1997) for a daily excretion following environmental exposure. Also, the small variation observed between the individual spot measurements of urinary BMA reported for one day (Table 5-A-5, in Appendix) and mentioned earlier in section 5.3.1. is likely to suggest an internal exposure to toluene approaching steady state, even if the number of the examined individuals is limited.

The results obtained in the present study describe the toluene air exposure consistent with the urinary BMA measurements in the form of a distribution for each individual (Table 5-4, Figure 5.3). The medians of these distributions are comparable to those obtained by Tohon et al. (2018) (0.007 ppm) for the Canadian subpopulations of 20-39 and 40-59 years. They also appear consistent with the median indoor concentrations of toluene measured in Canada by various investigators ranging from 0.0015 to 0.0066 ppm (Health Canada, 2016; Héroux et al., 2008; Zhu et al., 2005; Health Canada, 2010a; 2010b). In contrast, they are much higher than the median toluene concentrations reported in outdoor air by some studies in Canada ranging from 0.0005 to 0.001 ppm (Health Canada, 2010a; 2010b). These

observations suggest that biomonitoring data used herein rather reflect exposure to toluene via indoor air. This is consistent with past reports suggesting that Canadians' exposure to toluene is attributed predominantly to indoor air (Health Canada, 2016). Moreover, the distributions of toluene air concentrations estimated for the individuals investigated here are at least an order of magnitude below Health Canada's recommended guideline levels for toluene for a continuous exposure 24 h/day (i.e., 0.6 ppm) and for a short term exposure (i.e., 4 ppm for 8 h), which respectively protect against neurobehavioral effects and neurologically-related symptoms (headaches, dizziness, and feelings of intoxication) (Health Canada, 2016; Tohon et al., 2018). Thus, the neurotoxicological risk associated with exposure levels estimated in this study appears to be low, if present, for the individuals examined.

The simulations correlated that higher urinary BMA concentration is linked to higher estimated toluene exposure in air (see Table 5-3 and Table 5-4). The urinary BMA concentrations reported or simulated in this work do not exceed the biological interpretation value for the general population proposed by the "Institut National de Recherche et de Sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles" in France (INRS, <22 µg/g of creatinine (95th percentile value)) (INRS, 2017; Lovreglio, 2010). Also, the corresponding urinary o-cresol concentrations simulated in this study (Table 5-A-4) do not exceed the reporting threshold recommended by the "Institut National de Santé Publique du Québec" (INSPQ, 4.6 µmol/L, approximately 288 µg/g of creatinine) (INSPQ, 2004). The interindividual differences in the estimated toluene air exposure levels may be due to differences in several physiological and exposure factors. For example, the consumption of ethanol, an inducer of CYP2E1 (enzymes involved in toluene metabolism) may impact the blood concentration of toluene (Badger et al., 1993), and eventually urinary BMA concentration. Moreover, variations in exposure to toluene from other sources than air that the individuals experience may also generate variations between these individuals. In these cases, such unknown variations may be considered as an inherent limitation not captured in the model simulations.

It is important to emphasize here that establishing the conversion ratio of the predicted urinary o-cresol data to their corresponding BMA data was really a challenge for our study. All the more so since there is no such conversion in the literature. The trial and error process described in the “method” section that involved arbitrary choices of ratio value ultimately led to the selection of a ratio (0.06) that was incorporated into all of our built PBPK models. Thus, this ratio made it possible to simulate with a very good precision the distributions similar to those obtained in the individuals under study from the spot measurements reported by Health Canada. Also, this ratio made it possible to estimate, for each individual, an exposure to toluene similar to that described in indoor air by several studies in Canada. For all the simulations carried out with our models, this ratio varies between 0.057 and 0.063. Considering all of the above, we infer that the BMA-o-cresol association considered in this work is adequate and presumably may not lead to erroneous determination of the level of safety.

The present study accounted for interindividual physiological variability of TK, as probability density functions (PDF) were used to describe some model parameter values utilized in the Monte Carlo simulations (see Table 5-A-3, in Appendix). Individual-specific data on age, BW, BH and sex were employed in equations expressing physiological parameters of PBPK models (see Tables 5-A-1 and 5-A-2, in Appendix) in order to interpret individual biomarker measures, thus reducing the uncertainty associated to the use of generic PBPK models. Also, the interindividual variability of physicochemical parameters that depend upon tissue composition (i.e.: the partition coefficients) was considered in this study through Monte Carlo simulations, using the conditions of variability of these parameters for toluene reported in adults by Tardif et al. (2002) (see Table 5-2). This contributes to reduce the risk of error in the simulation of urinary BMA concentrations made on the basis of biomonitoring data, which are intrinsically variable. The ranges of the values of these variable input parameters of the model during the Monte Carlo simulations which led to similar urinary concentrations of BMA in individuals are presented in Tables 5-A-6 to 5-A-11 (see Appendix). They are concordant with the distributions introduced in the models with regard to these parameters and reflect an

efficiency of our models in their prediction. Note, moreover, here that the computational times are similar for all the Monte Carlo simulations performed (less than one minute).

There is a large literature for urinary excreted drugs, which would allow to consider kidney function and sensitive populations for reverse dosimetry predictions (DeWoskin and Thompson, 2008; Kenakin, 2017; Lu and Xue, 2019). But the computational effort described in the current study represents the most simple form of relating urine metabolites to inhaled concentrations. This study did not take into account the possible impact of environmental co-exposures on the toxicokinetics and thus on the internal dose (BMA) of interest of individual chemicals. Indeed, in the case of co-exposure to VOCs, competitive inhibition (CYP2E1), the most plausible mechanism of interaction could induce a variation in the internal dose (Ronis et al., 1996; Haddad et al., 2010; Tohon et al., 2018). But according to the results of Valcke and Haddad (2015) and Tohon et al. (2019), when low environmental concentrations, such as those estimated in this study, are simulated, there is no marked impact of co-exposure on the internal dose of individual substances.

To limit the impact of the uncertainty of the time duration between the onset-and end- of toluene exposure and the time of urine collection, we conducted 24-hour exposure simulations for each individual. The simulations enabled us to generate maximum toluene blood concentrations (i.e.: those obtained at steady state) and maximum urinary concentrations of BMA for a given exposure concentration. But additional information such as lifestyle factors (alcohol consumption, smoking, nutrition, and health status) that may be helpful in interpreting biomonitoring data are not considered in model simulations done here. These are all factors that can modulate the relationship between the internal exposure dose of a chemical in the human body and its response (Pierce et al., 1998; Dorne et al., 2004; Dorne, 2007; Gomez-Lechon, et al., 2007; Kato et al., 2010; Parkinson et al., 2004; Chambers et al., 2011; Talhout et al., 2011; ATSDR, 2017).

5.5 Conclusion

Toluene air exposure concentrations were estimated by means of a reverse dosimetry approach based on measurement of BMA, its urinary metabolite. In doing so, more uncertainty was associated to toluene air concentrations estimates based on distributions of daily spot measurements than those based on 24-h collected urine samples, as expected. The toluene air levels estimated in the present study are well below the maximum chronic air guidelines for toluene by Health Canada. PBPK modeling can be used (combined with Monte Carlo simulations and statistical calculations) in reverse dosimetry to quantify individual air exposure to environmental volatile chemical contaminants from biomonitoring data of their urinary metabolites, and to assess the magnitude of the uncertainty related to the estimate of the exposure.

Acknowledgements

This study was supported by Health Canada's CMP Monitoring and Surveillance fund.

5.6 References

- Andersen, M.E., Clewell 3rd, H.J., Gargas, M.L., Smith, F.A., Reitz, R.H., 1987. Physiologically-based pharmacokinetics and the risk assessment process for methylene chloride. *Toxicol Appl Pharmacol.* 87 (2), 185-205.
- Angerer, J., Aylward, L.L, Hay, S.M., Heinzow, B., Wilhelm, M., 2011. Human biomonitoring assessment values: Approaches and requirements. *Int J Hyg Environ Health.* 214 (5), 348-360.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 2017. Toxicological profile for toluene. Atlanta (GA): U.S. Department of Public Health Services. Available at <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp56.pdf>

- Aylward, L.L., Kirman, C.R., Adgate, J.L., McKenzie, L.M., Hays, S.M., 2012. Interpreting variability in population biomonitoring data: Role of elimination kinetics. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 22 (4), 398–408.
- Aylward, L.L., Kirman, C.R., Blount, B.C., Hays, S.M., 2010. Chemical-specific screening criteria for interpretation of biomonitoring data for volatile organic compounds (VOCs)-Application of steady-state PBPK model solutions. *Regul Toxicol Pharmacol.* 58 (1), 33-44.
- Aylward, L.L., Kirman, R.C., Schoeny, R., Portier, J.C, Hays, M.S., 2013. Evaluation of Biomonitoring Data from the CDC National Exposure Report in a Risk Assessment Context: Perspectives across Chemicals. *Environ Health Perspect.* 121 (3), 287-94
- Badger, T.M., Huang, J., Ronis, M., Lumpkin, C.K., 1993. Induction of cytochrome P4502E1 during ethanol exposure occurs via transcription of the CYP2E1 gene when blood concentrations are high. *Biochem Biophys Res Commun.* 190 (3), 780-785.
- Brown, R.P., Delp, M.D., Lindstedt, S.L., Rhomberg, L.R., Beliles, R.P., 1997. Physiological parameter values for physiologically based pharmacokinetic models. *Toxicol Ind Health.* 13 (4), 407- 484.
- Chambers, D.M., Ocariz, J.M., McGuirk, M.F., Blount, B.C., 2011. Impact of cigarette smoking on Volatile Organic Compound (VOC) blood levels in the U.S. population: NHANES 2003–2004. *Environ Int.* 37 (8), 1321–1328.
- Clewell, R.A., Clewell 3rd, H.J., 2008. Development and specification of physiologically based pharmacokinetic models for use in risk assessment. *Regul Toxicol Pharmacol.* 50 (1), 129-143.
- Clewell, H., Tan, Y-M., Campbell, J., Andersen, M., 2008. Quantitative interpretation of human biomonitoring data. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 231 (1), 122-133.
- Cosnier, F., Cossec, B., Burgart, M., Nunge, H., Brochard, C., Décret, M-J, Rémy, A., 2013. Biomarkers of toluene exposure in rats: mercapturic acids versus traditional

- indicators (urinary hippuric acid and o-cresol and blood toluene). *Xenobiotica*. 43 (8), 651-660.
- DeWoskin, R.S., Thompson, C.M., 2008. Renal clearance parameters for PBPK model analysis of early lifestage differences in the disposition of environmental toxicants. *Regul Toxicol Pharmacol*. 51 (1), 66-86.
- Dorne, J.L., 2007. Human variability in hepatic and renal elimination: Implications for risk assessment. *J Appl Toxicol*. 27 (5), 411-420.
- Dorne, J. L., Walton, K., Renwick, A.G., 2004. Human variability in the renal elimination of foreign compounds and renal excretion-related uncertainty factors for risk assessment. *Food Chem Toxicol*. 42 (2), 275-298.
- Exley, K., Cano, N., Aerts, D., Biot, P., Casteleyn, L., Kolossa-Gehring, M., Schwedler, G., Castaño, A., Angerer, J., Koch, H.M., Esteban, M., Schoeters, G., Den Hond, E., Horvat, M., Bloemen, L., Knudsen, L.E., Joas, R., Joas, A., Dewolf, M.C., Van de Mieroop, E., Katsonouri, A., Hadjipanayis, A., Cerna, M., Krskova, A., Becker, K., Fiddicke, U., Seiwert, M., Mørck, T.A., Rudnai, P., Kozepesy, S., Cullen, E., Kellegher, A., Gutleb, A.C., Fischer, M.E., Ligočka, D., Kamińska, J., Namorado, S., Reis, M.F., Lupsa, I.R., Gurzau, A.E., Halzlova, K., Jajcaj, M., Mazej, D., Tratnik, J.S., Huetos, O., López, A., Berglund, M., Larsson, K., Sepai, O., 2015. Communication in a Human biomonitoring study: Focus group work, public engagement and lessons learnt in 17 European countries. *Environ Res*. 141, 31-41.
- Fabri, J., Graeser, U., Simo, T.A., 2012. Toluene. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag. Vol. 37, pp. 109-118.
- Gomez-Lechon, M.J., Castell, J.V., Donato, M.T., 2007. Hepatocytes—the choice to investigate drug metabolism and toxicity in man: In vitro variability as a reflection of in vivo. *Chem Biol Interact*. 168 (1), 30–50.
- Haddad, S., Béliveau, M., Tardif, R., Krishnan, K., 2001. A PBPK modeling-based approach to account for interactions in the health risk assessment of chemical mixtures. *Toxicol Sci*. 63 (1), 125-131.

- Haddad, S., Poulin, P., Funk, C., 2010. Extrapolating in vitro metabolic interactions to isolated perfused liver: Predictions of metabolic interactions between R-bufurarol, bunitrolol and debrisoquine. *J Pharm Sci.* 99 (10), 4406-4426.
- Haddad, S., Tardif, G.C., Tardif, R., 2006. Development of physiologically based toxicokinetic models for improving the human indoor exposure assessment to water contaminants: Trichloroethylene and trihalomethanes. *J Toxicol Environ Health A.* 69 (23), 2095–2136.
- Haines D.A., Saravanabhavan G., Werry K., Khoury C., 2017. An overview of human biomonitoring of environmental chemicals in the Canadian Health Measures Survey: 2007–2019. *Int J Hyg Environ Health.* 220 (2), 13-28.
- Hays, S.M., Aylward, L.L., LaKind, J.S., Bartels, M.J., Barton, H.A., Boogaard, P.J., Brunk, C., DiZio, S., Dourson, M., Goldstein, D.A., Lipscomb, J., Kilpatrick, M.E., Krewsky, D., Krishnan, K., Nordberg, M., Okino, M., Tan, Y-M., Viau, C., Yager, J.W., 2008. Biomonitoring Equivalents Expert Workshop. Guidelines for the derivation of Biomonitoring Equivalents: report from the Biomonitoring Equivalents Expert Workshop. *Regul Toxicol Pharmacol.* 51 (3 Suppl), S4-15.
- Health Canada, 2010a. Regina Indoor Air Quality Study (2007): Data Summary for Volatile Organic Compound Sampling. Available at: http://publications.gc.ca/collections/collection_2012/sc-hc/H128-1-10-617-eng.pdf
- Health Canada, 2016. Residential Indoor Air Quality Guideline: Toluene. Available at: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/publications/healthy-living/residential-indoor-air-quality-guideline-toluene.html>
- Health Canada, 2010b. Windsor Exposure Assessment Study (2005–2006): Data Summary for Volatile Organic Compound Sampling. Available at: http://publications.gc.ca/collections/collection_2012/sc-hc/H128-1-10-618-eng.pdf

- Héroux, M-È., Gauvin, D., Gilbert, N.L., Guay, M., Dupuis, G., Legris, M., Lévesque, B., 2008. Housing characteristics and indoor concentrations of selected volatile organic compounds (VOCs) in Quebec City, Canada. *Indoor Built Environ* 17 (2), 128-137.
- Ikeda, M., Ukai, H., Kawai, T., Inoue, O., Maejima, Y., Fukui, Y., Ohashi, F., Okamoto, S., Takada, S., and Sakurai, H., 2008. Changes in correlation coefficients of exposure markers as a function of intensity of occupational exposure to toluene. *Toxicol Lett.* 179 (3), 148–154.
- Inoue, O., Kanno, E., Kasai, K., Ukai, H., Okamoto, S., Ikeda, M., 2004. Benzylmercapturic acid is superior to hippuric acid and o-cresol as a urinary marker of occupational exposure to toluene. *Toxicol Lett.* 147 (2), 177–186.
- INRS (Institut National de Recherche et de Sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles), 2017. Publications et outils. Biotox. Toluène. Nature du dosage : Acide S-benzylmercapturique (S-BMA) urinaire. Available at http://www.inrs.fr/publications/bdd/biotox/dosage.html?refINRS=DosageN_429
- INSPQ (Institut National de Santé publique du Québec), 2004. SUBSTANCES CHIMIQUES AVEC INDICATEUR BIOLOGIQUE. SEUIL DE DÉCLARATION PAR LES LABORATOIRES. RAPPORT FINAL. Available at <https://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/327-SeuilsDeclarationLabo-RapporFinal.pdf>
- Kato, M., Chiba, K., Ito, T., Koue, T., Sugiyama, Y., 2010. Prediction of interindividual variability in pharmacokinetics for CYP3A4 substrates in humans. *Drug Metab Pharmacokinet.* 25 (4), 367-378.
- Kenakin, T.P., 2017. Pharmacokinetics II: Distribution and Multiple dosing. In: *Pharmacology in Drug Discovery and Development*, T.P. Kenakin ed., North Carolina: Academic Press. pp. 193-224.

- Kolossa-Gehring, M., Fiddicke, U., Leng, G., Angerer, J., Wolz, B., 2017. New human biomonitoring methods for chemicals of concern-the German approach to enhance relevance. *Int J Hyg Environ Health*. 220 (2), 103-112.
- Krishnan, K., Andersen, M.E., 1994. Physiologically based pharmacokinetic modeling in toxicology. In: *Principles and methods of toxicology*, W. Hayes ed., New-York : Raven press Ltd. pp. 149-188.
- LaKind, J.S., Idri, F., Naiman, D.Q., Verner, M-A., 2019. Biomonitoring and Nonpersistent Chemicals—Understanding and Addressing Variability and Exposure Misclassification. *Curr Envir Health Rpt*. 6, 16–21.
- Lipscomb, J. C., Poet, T.S., 2008. In vitro measurements of metabolism for application in pharmacokinetic modeling. *Pharmacol Ther*. 118 (1), 82–103.
- Lovreglio, P., Barbieri, A., Carrieri, M., Sabatini, L., Fracasso, M.E., Doria, D., Drago, I., Basso, A., D’Errico, M.N., Bartolucci, G.B. , Violante, F.S., Soleo, L., 2010. Validity of new biomarkers of internal dose for use in the biological monitoring of occupational and environmental exposure to low concentrations of benzene and toluene. *Int Arch Occup Environ Health*. 83 (3), 341–356.
- Lu, J-D., Xue, J., 2019. Poisoning : Kinetics to Therapeutics. In: *Critical Care Nephrology*, C. Ronco, R. Bellomo, J.A. Kellum, Z. Ricci eds., Third Edition, Elsevier. pp. 600-629.
- Lyons, M.A., Yang, R.S.H., Mayeno, A.N., Reisfeld, B., 2008. Computational Toxicology of Chloroform: Reverse Dosimetry Using Bayesian Inference, Markov Chain Monte Carlo Simulation, and Human Biomonitoring Data. *Environ Health Perspect*. 116 (8), 1040-6.
- Maestri, L., Ghittori, S., Imbriani, M., 1997. Determination of specific mercapturic acids as an index of exposure to environmental benzene, toluene, and styrene. *Ind Health*. 1997 35(4), 489-501.
- Marchand, A., Aranda-Rodriguez, R., Tardif, R., Nong, A., Haddad, S., 2015. Human inhalation exposures to toluene, ethylbenzene, and m-xylene and physiologically

- based pharmacokinetic modeling of exposure biomarkers in exhaled air, blood, and urine. *Toxicol Sci.* 144 (2), 414-424.
- Neafsey, P., Ginsberg, G., Hattis, D., Johns, D.O., Guyton, K.Z., Sonawane, B., 2009. Genetic polymorphism in CYP2E1: Population distribution of CYP2E1 activity. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 12 (5-6), 362-388.
- Nong, A., McCarver, D.G., Hines, R.N., Krishnan, K., 2006. Modeling interchild differences in pharmacokinetics on the basis of subject-specific data on physiology and hepatic CYP2E1 levels: a case study with toluene. *Toxicol Appl Pharmacol.* 214 (1), 78-87.
- NRC (National Research Council), 2006. National Research Council's Human Biomonitoring for Environmental Chemicals. National Academy of Sciences, Washington, DC. Available at: https://books.google.ca/books?hl=fr&lr=&id=PAGcAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT18&ots=kKRehAKi72&sig=ABJ2nNsaUS0rjEeaOVtiCd-aEjQ&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Oliveira, M., Slezakova, K., Delerue-Matos, C., Pereira, M.D.C., Morais, S., 2017. Indoor air quality in preschools (3- to 5-year-old children) in the Northeast of Portugal during spring-summer season: Pollutants and comfort parameters. *J Toxicol Environ Health A.* 80 (13-15), 740-755.
- Parkinson, A., Mudra, D.R., Johnson, C., Dwyer, A., Carroll, K.M., 2004. The effects of gender, age, ethnicity, and liver cirrhosis on cytochrome P450 enzyme activity in human liver microsomes and inductibility in cultured human hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol.* 199 (3), 193-209.
- Phillips, M.B., Sobus, J.R., George, B.J., Isaacs, K., Conolly, R., Tan, Y-M., 2014. A new method for generating distributions of biomonitoring equivalents to support exposure assessment and prioritization. *Regul Toxicol Pharmacol.* 69 (3), 434-442.

- Pierce, C. H., Dills, R.L., Morgan, M.S., Vicini, P., Kalman, D.A., 1998. Biological monitoring of controlled toluene exposure. *Int Arch Occup Environ Health*. 71 (7), 433-444.
- Price, P.S., Conolly, R.B., Chaisson, C.F., Gross, E.A., Young, J.S., Mathis, E.T., Tedder, D.R., 2003a. Modeling interindividual variation in physiological factors used in PBPK models of humans. *Crit Rev Toxicol*. 33 (5), 469–503.
- Price, K., Haddad, S., Krishnan, K., 2003b. Physiological modeling of age-specific changes in the pharmacokinetics of organic chemicals in children. *J Toxicol Environ Health A*. 66 (5), 417–433.
- Ronis, M. J. J., Lindros, K.O., Ingelman-Sundberg, M., 1996. The CYP2E family. In: *Cytochrome P450 Metabolic and Toxicological Aspects*, ed. Costas Ioannides, 1st ed., CRC Press: Boca Raton, Florida. pp. 211-240
- Schwedler, G., Seiwert, M., Fiddicke, U., Ißleb, S., Hölzer, J., Nendza, J., Wilhelm, M., Wittsiepe, J., Koch, H.M., Schindler, B.K., Göen, T., Hildebrand, J., Joas, R., Joas, A., Casteleyn, L., Angerer, J., Castano, A., Esteban, M., Schoeters, G., Den Hond, E., Sepai, O., Exley, K., Bloemen, L., Knudsen, L.E., Kolossa-Gehring, M., 2017. Human biomonitoring pilot study DEMOCOPHES in Germany: Contribution to a harmonized European approach. *Int J Hyg Environ Health*. 220 (4), 686-696.
- Sexton, K., Needham, L.L., Pirkle, J.L., 2004. Human Biomonitoring of Environmental Chemicals: measuring chemicals in human tissues is the goldstandard for assessing people's exposure to pollution. *Am. Sci*. 92 (1), 38–45.
- Talhout, R., Schulz, T., Florek, E., van Benthem, J., Wester, P., Opperhuizen, A., 2011. Hazardous compounds in tobacco smoke. *Int J Environ Res Public Health*. 8(2), 613-28.
- Tan, Y-M., Liao, K.H., Clewell, H.J., 2007. Reverse dosimetry: interpreting trihalomethanes biomonitoring data using physiologically based pharmacokinetic modeling. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 17, 591–603.

- Tan, Y.-M., Liao, K.H., Conolly, R.B., Blount, B.C., Mason, A.M., Clewley, H.J., 2006. Use of a physiologically based pharmacokinetic model to identify exposures consistent with human biomonitoring data for chloroform. *J Toxicol Environ Health A*. 69 (18), 1727-1756.
- Taniguchi, H., Oguro, A., Koyama, H., Masuyama, M., Takahashi, T., 1996. Analysis of models for quantification of arterial and portal blood flow in the human liver using PET. *J Comput Assist Tomogr*. 20 (10), 135–144.
- Tardif, R., Droz, P.O., Charest-Tardif, G., Pierrehumbert, G., Truchon, G., 2002. Impact of human variability on the biological monitoring of exposure to toluene: I. Physiologically based toxicokinetic modelling. *Toxicol Lett*. 134 (1-3), 155-163.
- Thomas, R. S., Bigelow, P.L., Keefe, T.J., Yang, R.S., 1996. Variability in biological exposure indices using physiologically based pharmacokinetic modeling and Monte Carlo simulation. *Am Ind Hyg Assoc J*. 57 (91), 23–32.
- Tohon, H., Nong, A., Moreau, M., Valcke, M., Haddad, S., 2018. Reverse dosimetry modeling of toluene exposure concentrations based on biomonitoring levels from the Canadian health measures survey. *J Toxicol Environ Health A*. 81(20), 1066-1082.
- Tohon, H., Valcke, M., Haddad, S., 2019. An assessment of the impact of multi-route co-exposures on human variability in toxicokinetics: A case study with binary and quaternary mixtures of volatile drinking water contaminants. *J Appl Toxicol.*, 1–18.
- Ukai, H., Kawai, T., Inoue, O., Maejima, Y., Fukui, Y., Ohashi, F., Okamoto, S., Takada, S., Sakurai, H., Ikeda, M., 2007. Comparative evaluation of biomarkers of occupational exposure to toluene. *Int Arch Occup Environ Health*. 81(1), 81-93.
- UMVF (Université Médicale Virtuelle Francophone), 2013. Campus de Sémiologie. Urologie, Néphrologie. 2.1- Diurèse. Available at http://campus.cerimes.fr/semiologie/enseignement/esemio10/site/html/2_2.html

- Valcke, M., Bouchard, M., 2009. Determination of no-observed effect level (NOEL)-biomarker equivalents to interpret biomonitoring data for organophosphorus pesticides in children. *Environ Health*. 8 (5).
- Valcke, M., Haddad, S., 2015. Assessing human variability in kinetics for exposures to multiple environmental chemicals: A physiologically based pharmacokinetic modeling case study with dichloromethane, benzene, toluene, ethylbenzene, and m-xylene. *J Toxicol Environ Health A*. 78 (7), 409-431.
- Valcke, M., Krishnan, K., 2011a. 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. *Inhal Toxicol*. 23 (14), 863–877.
- Valcke, M., Krishnan, K., 2011b. Evaluation of the impact of the exposure route on the human kinetic adjustment factor. *Regul Toxicol Pharmacol*. 59 (2), 258–269.
- WHO/IPCS (World Health Organization/International Program on Chemical Safety), 2010. Characterization and application of physiologically based pharmacokinetic models in risk assessment. IPCS Harmonization document, n° 9. World Health Organization. Geneva. Available at http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/pbpbk_models.pdf?ua=1.
- Won, D., Magee, R.J., Yang, W., Luszyk, E., Nong, G., Shaw, C.Y., 2005. A material emission database for 90 target VOCs. NRC Publications Archive (NRCC- 48314). Available at: <https://nparc.nrc-cnrc.gc.ca/eng/view/accepted/?id=68dda0fe-cb9f-4afd-beb0-50cf817cc5d4>
- Zhu, J., Newhook, R., Marro, L., Chan, C.C., 2005. Selected volatile organic compounds in residential air in the city of Ottawa, Canada. *Environ. Sci. Technol*. 39 (11), 3964-3971.

FIGURE CAPTIONS

Figure 5.1: Conceptual representation of the formation and urinary excretion of o-cresol and BMA following toluene metabolism in humans using CYP2E1 enzymes (see Marchand et al. (2015) and ATSDR (2017), SY refers to the stoichiometric yield and K_{CRE} to the urinary excretion constant of o-cresol).

Figure 5.2: Schematic representation of the reverse dosimetry using a PBPK model and Monte Carlo simulations (for the proposed DUBSM-based exposure assessment technique). The same approach was repeated for the evaluation of exposure to toluene in air on the basis of 24-h-BMA which replaces DUBSM in the last box of the figure at the bottom.

Figure 5.3: Cumulative probability curves of atmospheric concentrations of toluene estimated for the examined individuals (24-h-BMA: BMA concentration measured on 24-h urines; DUBSM: daily urinary BMA spot measurements; Figure 5.3a for Individual 1; Figure 5.3b for Individual 2; Figure 5.3c for Individual 3; Figure 5.3d for Individual 4; Figure 5.3e for Individual 5 and Figure 5.3f for Individual 6).

Figure 5.1

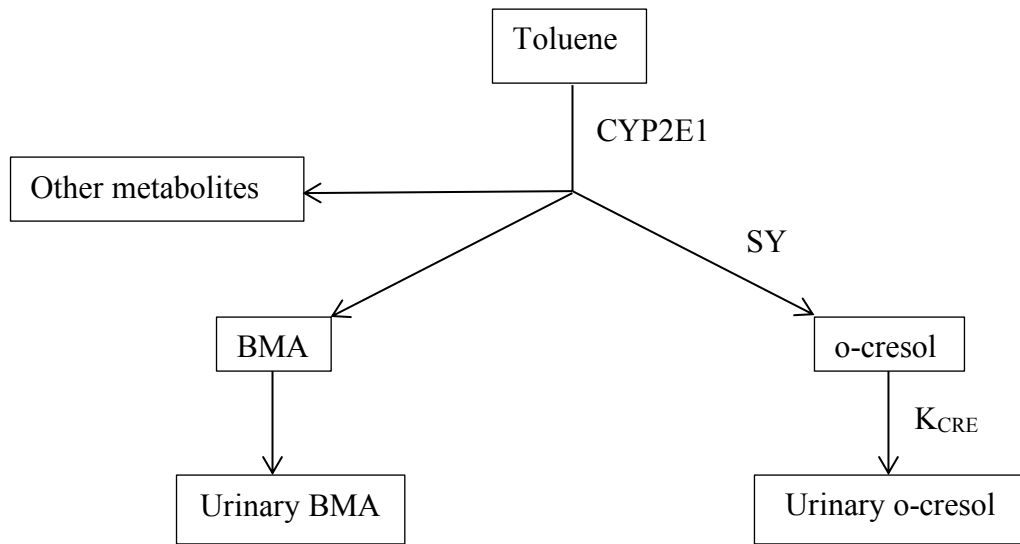


Figure 5.2

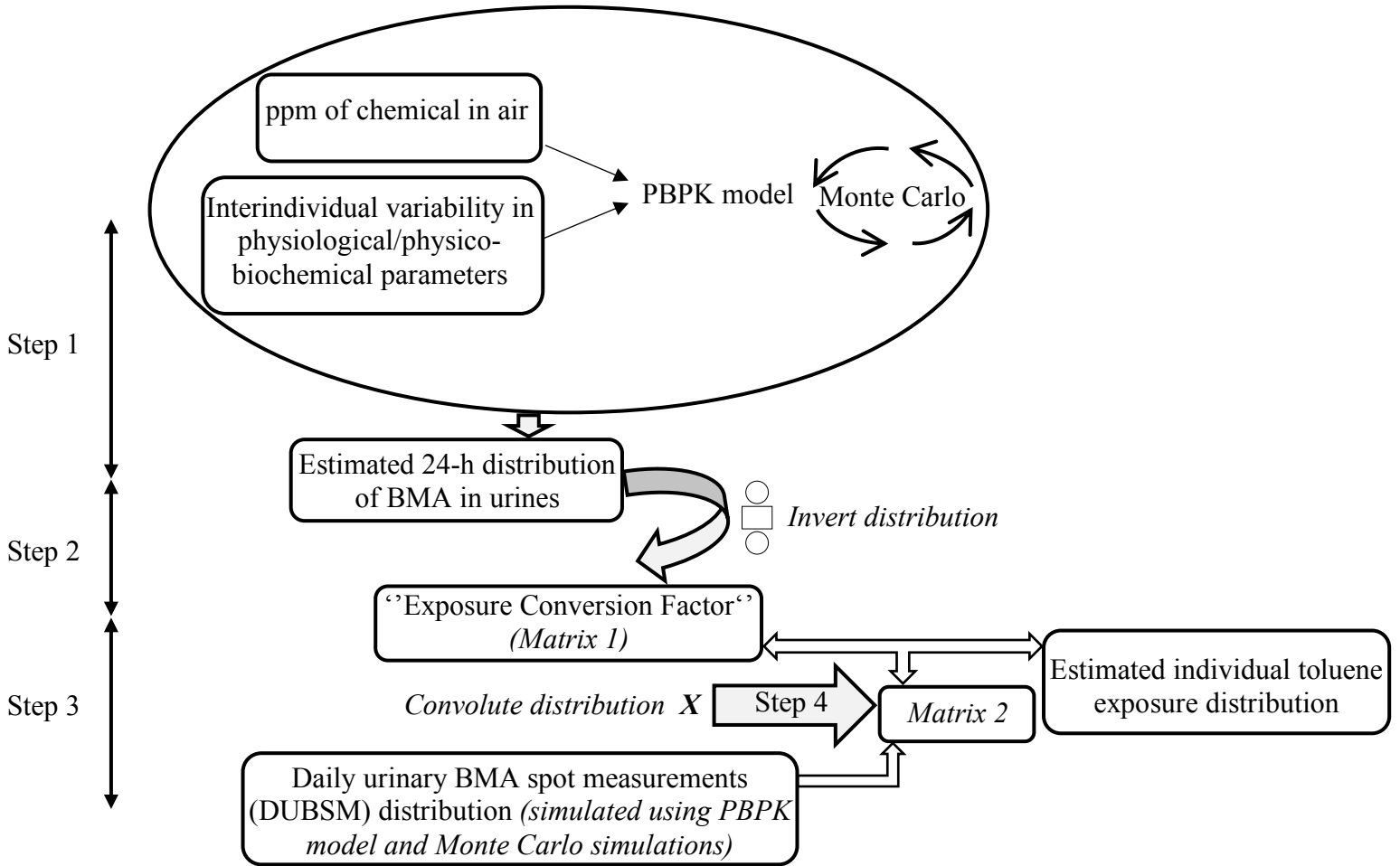
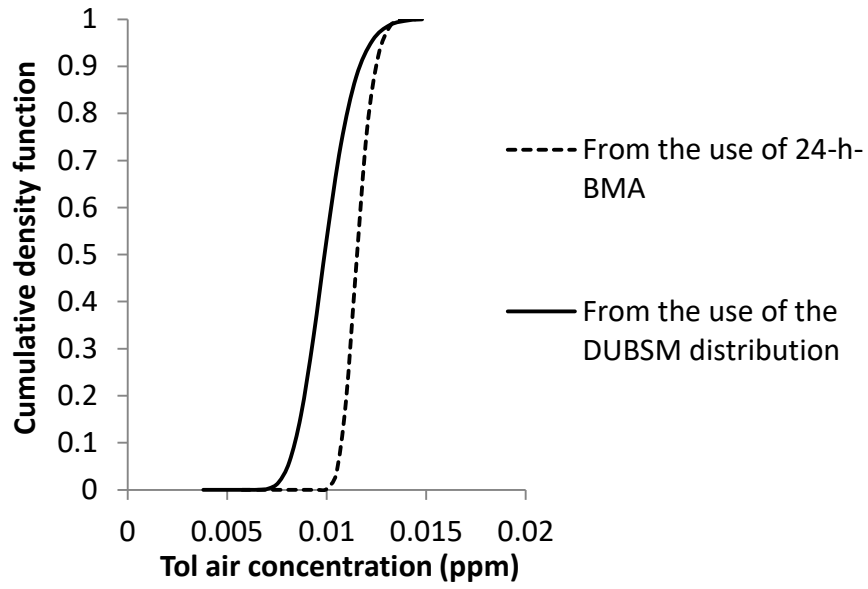
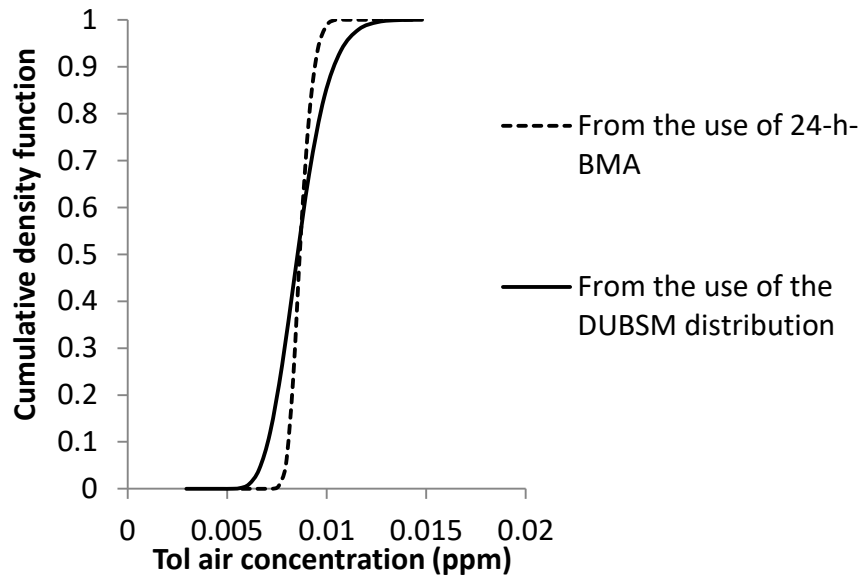


Figure 5.3

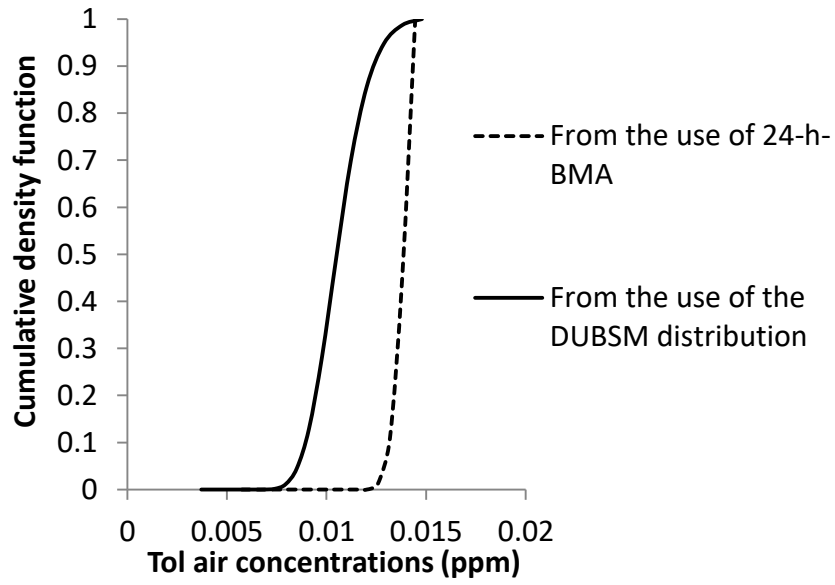
a



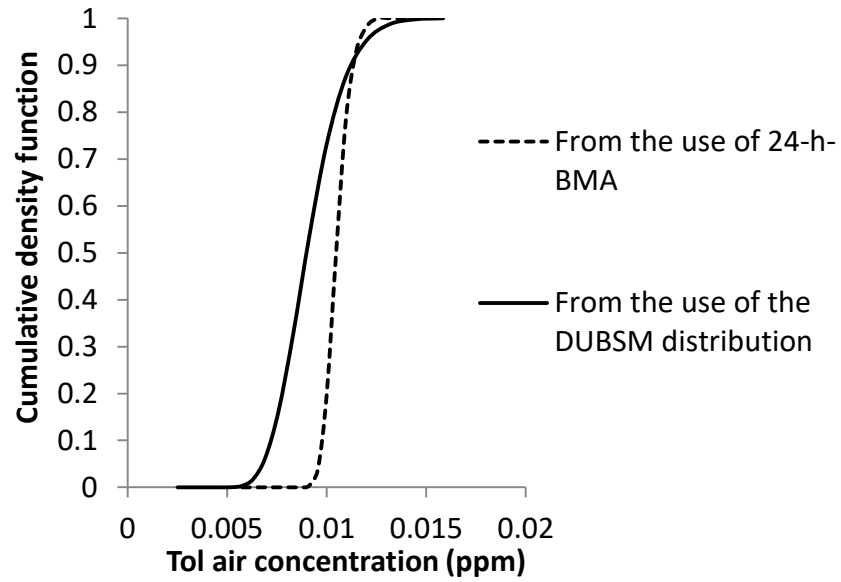
b



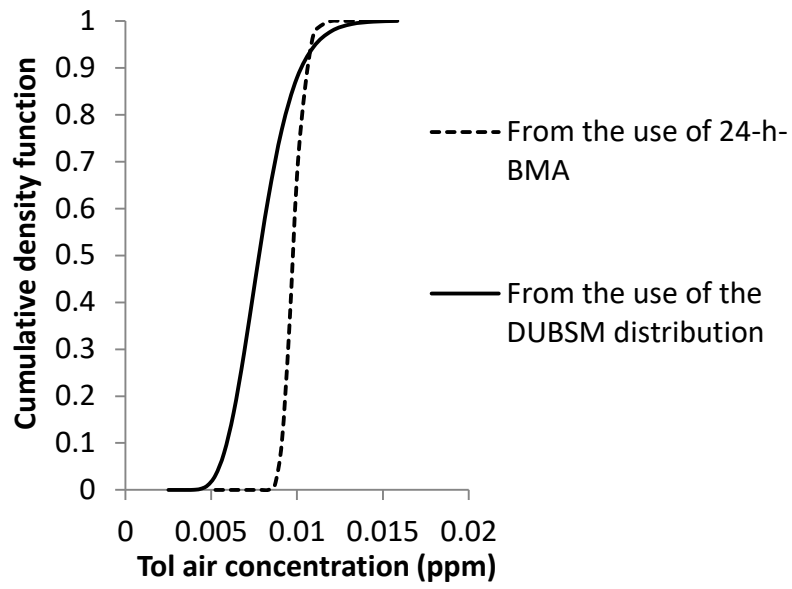
c



d



e



f

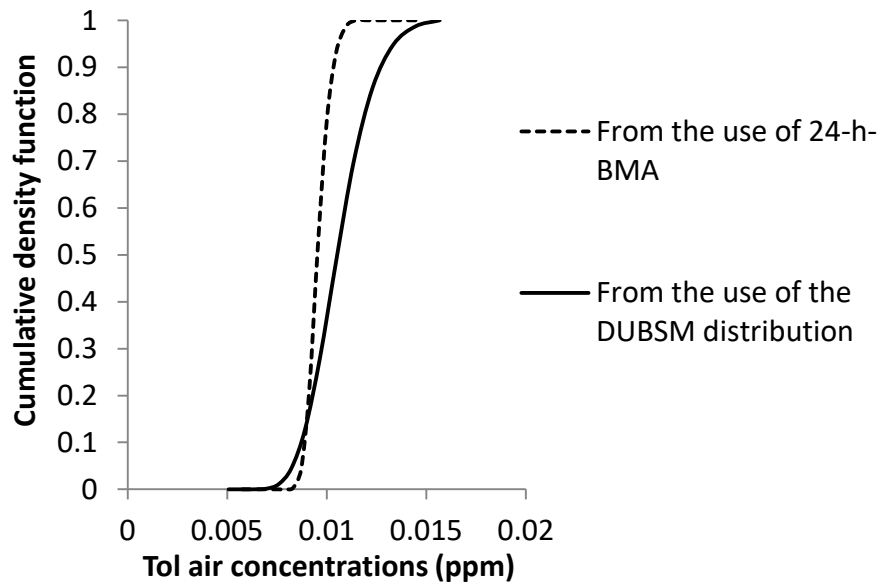


Table 5-1: Parameter Values for o-cresol and BMA formation and excretion.

Urinary Biomarker	Parameters	Symbol	Value / Expression	Extrapolation
o-cresol	<i>CYP2E1 Model</i>			
	Stoichiometric yield	SY	0.00078 ^a	BW ^{-0,3a}
	o-cresol excretion Constant (h ⁻¹ . kg ⁻¹)	K _{CRE}	0.715 ^a	
Diuresis (L. (24 h) ⁻¹)	D	0.85 ^b		
BMA/o-cresol	Ratio of conversion ^c	r	0.06	

Notes : ^a : Data obtained from Marchand et al. (2015); ^b: Daily urine volume assumed for all the individuals in the study (from UMVF (2013)); ^c : r = 0.06 was defined by an iterative visual model fitting process based on data from Inoue et al. (2004) and integrated into the current study models.

Table 5-2: Toluene’s physico-biochemical parameters required for PBPK modeling.

	Value	SD ^e	Range ^f	CV (%) ^e
Molecular weight (g/mol)	92.1 ^c	-	-	-
Partition coefficients ^a				
Blood : air	15.6 ^d	1.7	(13.9-17.3)	10.9
Liver : air	83.6 ^d	5.8	(77.8-89.4)	6.9
Fat : air	1021.0 ^d	11.0	(1009.8-1032.2)	1.1
Highly perfused : air	83.6 ^d	5.8	(77.8-89.4)	6.9
Rest of the body : air	27.7 ^d	4.0	(23.6-31.8)	14.8
Metabolic constants ^b				
Vmaxc ($\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}^{0.75}$)	57.3 ^d	-	-	-
Km ($\mu\text{g}/\text{L}$)	130 ^d	-	-	-

Notes: CV, coefficient of variation; SD, standard deviation.

^a : Mean values, Lognormal distribution; ^b: kept constant, Vmaxc used to compute Vmaxadj in each subpopulation studied; ^c : From Fabri *et al.* (2012); ^d: From Haddad *et al.* (2001); ^e : From Tardif *et al.* (2002); ^f: Estimated from Tardif *et al.* (2002).

Table 5-3: Distributions of urinary BMA concentrations in the examined individuals in the current study.

Examined individuals	Urinary BMA concentrations (µg/g of creatinine)								
	Value of 24-h-BMA ^a	DUBSM distribution ^b				Simulated similar distributions ^c			
		Mean ^d (SD ^e)	P50	P90	P95	Mean ^d (SD ^e)	P50	P90	P95
Individual 1	11.8	12.2 (1.7)	12.1	13.7	13.8	12.3 (1.9)	12.0	13.6	13.7
Individual 2	6.8	8.0 (1.3)	8.0	8.8	8.9	8.1 (1.4)	7.9	8.7	8.8
Individual 3	17.5	12.9 (1.2)	12.8	13.9	14.0	13.0 (1.3)	12.8	13.8	13.9
Individual 4	9.6	8.2 (1.6)	8.1	9.6	9.7	8.3 (1.7)	8.0	9.5	9.6
Individual 5	8.7	4.9 (0.4)	4.9	5.1	5.2	5.0 (0.5)	4.8	5.1	5.2
Individual 6	8.2	13.4 (1.4)	13.3	14.5	14.6	13.5 (1.5)	13.2	14.4	14.5

Notes: 24-h-BMA, BMA concentration measured on 24-h urines; DUBSM, daily urinary BMA spot measurements; SD, standard deviation.

^a: Values obtained from Health Canada; ^b: Distributions obtained for each individual from data provided by Health Canada and presented in Table 5-A-5 (see Appendix); ^c: Distribution similar to the one for DUBSM in each individual and simulated using PBPK models built and Monte Carlo simulations; ^d: Geometric mean; ^e: Geometric standard deviation.

Table 5-4: Distributions of atmospheric toluene concentrations estimated in the examined individuals.

	Levels of toluene in air (ppm) estimated from the DUBSM distributions			Ratio (R_{DUBSM}^a): percentile 95/ percentile 50	Levels of toluene in air (ppm) estimated from the 24-h-BMA			Ratio ($R_{24-h-BMA}^b$): percentile 95/ percentile 50	RC ^c of the specific uncertainty resulting from the use of DUBSM distributions
	Percentiles				Percentiles				
Individuals	50	90	95		50	90	95		
Individual 1	0.0099	0.0117	0.0124	1.3	0.0116	0.0124	0.0127	1.1	15
Individual 2	0.0084	0.0105	0.0114	1.4	0.0086	0.0094	0.0097	1.1	21
Individual 3	0.0105	0.0124	0.0131	1.2	0.0138	0.0143	0.0144	1	17
Individual 4	0.0090	0.0113	0.0120	1.3	0.0105	0.0113	0.0116	1	23
Individual 5	0.0078	0.0103	0.0112	1.4	0.0098	0.0106	0.0109	1.1	21
Individual 6	0.0106	0.0128	0.0136	1.3	0.0095	0.0103	0.0106	1.1	15

Notes: 24-h-BMA, BMA concentration measured on 24-h urines; DUBSM, daily urinary BMA spot measurements.

^a : R_{DUBSM} is an intra-individual variability ratio calculated by dividing the 95th percentile value by that of the 50th percentile for the distribution of toluene air exposure estimated in each individual using the DUBSM distribution; ^b : $R_{24-h-BMA}$ is an intra-individual variability ratio calculated by dividing the 95th percentile value by that of the 50th percentile for the distribution of toluene air exposure estimated in each individual using the 24-h-BMA; ^c : RC, relative contribution, expresses the evaluation of the relative contribution of the specific uncertainty resulting from the use of urinary spot-sample on the overall uncertainty when evaluating toluene air exposure levels by the proposed reverse dosimetry approach.

Appendix

Table 5-A-1: Equations used to calculate the physiological parameters of PBPK models built for the studied male (M) or female (F) individuals using their body weight (BW), body height (BH) and age (AGE) data.

Parameters	Sex	Equation	Reference
Body surface area* (SA, cm ²)	All	= $BW^{0.515} \times BH^{0.422} \times 234.9$	Haddad et al. (2006)
Tissue volumes (L)			
<i>Liver (Vl)</i>	All	= $0.026 \times BW$	Brown et al. (1997)
<i>Fat (Vf)</i>	M	= $(1.36 \times BW / (BH/100)) - 42$	Price et al. (2003a)
	F	= $(1.61 \times BW / (BH/100)) - 38.3$	Price et al. (2003a)
<i>Highly perfused (Vh)**</i>	M	= $(-0.005309 \times AGE + 1.008 \times BW^{0.4930} + BH^{0.3765} - 7,952) - Vl$	Haddad et al. (2006)
	F	= $(-0.002331 \times AGE + 0.1253 \times BW^{0.8477} + BH^{0.3821} - 4,725) - Vl$	Haddad et al. (2006)
<i>Bone and skeleton (Vb)</i>	All	= $0.09 \times BW$	Valcke and Krishnan (2011a)
<i>Rest of the body (Vr)</i>	All	= $BW - (Vl + Vf + Vh + Vr)$	Valcke and Krishnan (2011a)
Blood flows (L/min)			
<i>Cardiac output (Qc)</i>	All	= $(0.012 \times AGE^3 - 1.2144 \times AGE^2 + 40.324 \times AGE + 44.414) / 60$	Price et al. (2003b)
<i>Alveolar ventilation (Q_{alv})</i>	All	= $(17.874 \times AGE + 39.785) / 60$	Price et al. (2003b)
<i>Liver (Ql)</i>	M	= $0.84 \times Vl$	Haddad et al. (2006)
	F	= $1 \times Vl$	Haddad et al. (2006)
<i>Fat (Qf)</i>	M	= $0.0209 \times Vf$	Haddad et al. (2006)
	F	= $0.03 \times Vf$	Haddad et al. (2006)
<i>Highly perfused (Qh)</i>	All	= $Qc - (Ql + Qf + Qr)$	Haddad et al. (2006)
<i>Rest of the body (Qr)</i>	All	= ***	

Notes: *: SA defined to compute the volume of the skeletal muscles in adults according to Haddad et al. (2006), this volume was used in the calculation of the blood flow to the rest of the body; **: The volume of liver were subtracted from the result of this equation to

obtain the volume of the highly perfused tissue in the PBPK models; *** : The blood flows to the rest of the body were calculated based on the blood flows to the tongue, the heart, the skin and the skeletal muscles, and were increased by a factor that corresponds to the ratio of the volume of the rest of the body (V_r) on the sum of the volumes of these tissues. Calculations of the volumes and blood flows for these tissues were conducted as per Haddad et al. (2001), and Haddad et al. (2006).

Table 5-A-2: Anthropometric characteristics of the individuals investigated in this study.

Examined individuals	Sexe	Age (ans)	Body weight (Kg)	Body height (cm)
Individual 1	M	50	60	170
Individual 2	M	50	58	168
Individual 3	F	50	57	152
Individual 4	F	30	70.3	176
Individual 5	F	30	79.4	170.2
Individual 6	F	30	60.3	165

Table 5-A-3: Probability density functions of the parameters used to define the determinants specific to each individual in the PBPK models.

	Values used for all individuals in study
Probabilistic variable^a	
CYP2E1 concentration (pmol/mg MSP, mean \pm SD, range) ^b	49 \pm 2, 11 – 130 ^c
Variability terms^a	
Cardiac output (CVQc, mean \pm SD, range)	1 \pm 0.09 (0.77 – 1.23) ^d
Alveolar ventilation rate (CVQalv, mean \pm SD, range)	1 \pm 0.1 (0.8 – 1.2) ^e
Liver volume (CVVl, mean \pm SD, range)	1 \pm 0.14 (0.66 – 1.34) ^f
Liver blood flow (CVQl, mean \pm SD, range)	1 \pm 0.13 (0.67 – 1.33) ^g
Fat blood flow (CVQf, mean \pm SD, range)	1 \pm 0.07 (0.86 – 1.14) ^d

Notes : CYP2E1, cytochrome P-450 2E1; MSP, microsomal protein; SD, standard deviation.

^a: Log-normal distributions for probabilistic variables, normal distributions for variability terms; ^b : Geometric mean \pm geometric standard deviation; ^c : a microsomal protein hepatic content of 32 mg/g of liver (Lipscomb and Poet, 2008); ^d : From Tan et al. (2007); ^e : Arbitrary chosen as in Valcke and Krishnan (2011b); ^f : From Thomas et al. (1996); ^g : From Taniguchi et al. (1996).

Table 5-A-4: Predicted distributions of the 24-h urinary o-cresol concentrations by the PBPK models built for the investigated individuals.

Individuals under study	Urinary o-cresol concentrations (µg/g of creatinine)			
	Mean ^a (SD ^b)	P50	P90	P95
Individual 1	203.5 (27.5)	202.7	221.1	225.0
Individual 2	128.1 (20.4)	127.5	137.1	142.5
Individual 3	216.2 (19.5)	215.5	226.1	2308
Individual 4	138.1 (25.5)	137.5	15.6	159.2
Individual 5	85.5 (7.0)	84.9	88.1	90.3
Individual 6	224.3 (23.0)	223.6	238.3	242.4

Notes SD, standard deviation.

^a : Geometric mean; ^b : Geometric standard deviation.

Table 5-A-5: Raw data of urinary BMA spot measurements directly obtained from Health Canada

Individuals	Value ^a of urinary BMA spot measurement ($\mu\text{g/g}$ of creatinine)	Corresponding urine collection time
Individual 1		
	11.7	11:45 am
	10.1	15:30 pm
	12.2	23:23 pm
	11.9	04:50 am
	13.9	08:40 am
	13.7	11:30 am
Individual 2		
	4.9	09:40 am
	6.9	12:50 pm
	7.5	15:30 pm
	8.0	18:50 pm
	8.5	22:30 pm
	9.0	02:00 am
	8.7	05:40 am
	7.9	09:30 am
Individual 3		
	12.6	08:26 am
	13.7	14:31 pm
	12.0	19:25 pm
	14.1	02:00 am
	12.3	08:13 am
Individual 4		
	7.7	09:00 am
	7.1	11:35 am
	8.1	13:20 pm
	7.2	15:30 pm
	6.8	18:10 pm
	7.5	19:12 pm
	9.0	22:10 pm
	10.1	23:50 pm
	10.5	03:13 am
	8.4	06:45 am
	8.1	08:47 am
Individual 5		
	4.8	12:00 am
	5.0	18:45 pm
	5.2	02:30 am

	4.9	11:45 am
Individual 6		
	14.6	12:00 am
	11.6	22:15 pm
	13.3	06:30 am
	14.3	11:50 am

Notes:

^a: Values obtained from Health Canada.

Table 5-A-6: Range of the model input variable parameters values during Monte Carlo simulations that led to similar urinary concentrations of BMA in Individual 1

Physiological parameters	Range	
	Min	Max
Cardiac output (Qc)	0.82	1.22
Alveolar ventilation rate (Qalv)	0.84	1.18
Liver volume (Vl)	0.67	1.30
Liver blood flow (Ql)	0.68	1.29
Fat blood flow (Qf)	0.87	1.10
CYP2E1 concentration	43.10	52.20
Physicochemical parameters		
<i>Partition coefficients</i>		
Blood : air	14.21	16.15
Liver : air	78.28	87.89
Fat : air	1010.8	1029.7
Highly perfused : air	78.29	87.89
Rest of the body : air	24.83	31.01

Notes: Min, minimum; Max, maximum.

Table 5-A-7: Range of the model input variable parameters values during Monte Carlo simulations that led to similar urinary concentrations of BMA in Individual 2

Physiological parameters	Range	
	Min	Max
Cardiac output (Qc)	0.81	1.21
Alveolar ventilation rate (Qalv)	0.83	1.17
Liver volume (Vl)	0.66	1.29
Liver blood flow (Ql)	0.67	1.28
Fat blood flow (Qf)	0.86	1.10
CYP2E1 concentration	42.80	52.00
Physicochemical parameters		
<i>Partition coefficients</i>		
Blood : air	14.11	16.07
Liver : air	77.97	87.61
Fat : air	1010.4	1029.2
Highly perfused : air	77.97	87.62
Rest of the body : air	24.61	30.87

Notes: Min, minimum; Max, maximum.

Table 5-A-8: Range of the model input variable parameters values during Monte Carlo simulations that led to similar urinary concentrations of BMA in Individual 3

Physiological parameters	Range	
	Min	Max
Cardiac output (Qc)	0.80	1.21
Alveolar ventilation rate (Q _{alv})	0.82	1.17
Liver volume (V _l)	0.66	1.28
Liver blood flow (Q _l)	0.67	1.27
Fat blood flow (Q _f)	0.88	1.11
CYP2E1 concentration	42.61	51.90
Physicochemical parameters		
<i>Partition coefficients</i>		
Blood : air	14.03	16.03
Liver : air	77.85	87.32
Fat : air	1010.0	1028.7
Highly perfused : air	77.85	87.32
Rest of the body : air	23.96	30.49

Notes: Min, minimum; Max, maximum.

Table 5-A-9: Range of the model input variable parameters values during Monte Carlo simulations that led to similar urinary concentrations of BMA in Individual 4

Physiological parameters	Range	
	Min	Max
Cardiac output (Qc)	0.78	1.19
Alveolar ventilation rate (Qalv)	0.80	1.16
Liver volume (Vl)	0.68	1.32
Liver blood flow (Ql)	0.69	1.31
Fat blood flow (Qf)	0.89	1.12
CYP2E1 concentration	44.5	53.4
Physicochemical parameters		
<i>Partition coefficients</i>		
Blood : air	15.20	17.10
Liver : air	79.82	89.10
Fat : air	1012.1	1031.2
Highly perfused : air	79.82	89.10
Rest of the body : air	25.80	32.01

Notes: Min, minimum; Max, maximum.

Table 5-A-10: Range of the model input variable parameters values during Monte Carlo simulations that led to similar urinary concentrations of BMA in Individual 5

Physiological parameters	Range	
	Min	Max
Cardiac output (Qc)	0.79	1.20
Alveolar ventilation rate (Qalv)	0.81	1.16
Liver volume (Vl)	0.69	1.33
Liver blood flow (Ql)	0.70	1.32
Fat blood flow (Qf)	0.90	1.13
CYP2E1 concentration	45.61	54.90
Physicochemical parameters		
<i>Partition coefficients</i>		
Blood : air	14.90	16.75
Liver : air	79.22	88.62
Fat : air	1013.7	1032.4
Highly perfused : air	79.22	88.62
Rest of the body : air	25.56	31.79

Notes: Min, minimum; Max, maximum.

Table 5-A-11: Range of the model input variable parameters values during Monte Carlo simulations that led to similar urinary concentrations of BMA in Individual 6

Physiological parameters	Range	
	Min	Max
Cardiac output (Qc)	0.78	1.18
Alveolar ventilation rate (Qalv)	0.80	1.15
Liver volume (Vl)	0.67	1.31
Liver blood flow (Ql)	0.68	1.30
Fat blood flow (Qf)	0.88	1.11
CYP2E1 concentration	43.40	52.50
Physicochemical parameters		
<i>Partition coefficients</i>		
Blood : air	14.72	16.69
Liver : air	78.63	88.12
Fat : air	1011.3	1030.5
Highly perfused : air	78.63	88.12
Rest of the body : air	25.19	31.31

Notes: Min, minimum; Max, maximum.

Table 5-A-12: Input concentrations distributions of toluene in the models that led to DUBSM distributions similar to those obtained with data reported by Health Canada in each individual.

	Simulated distribution of toluene concentrations in air (ppm)			
	Mean* (SD**)	P50	P90	P95
Individual 1	0.0347 (0.028)	0.0367	0.087	0.12
Individual 2	0.0232 (0.017)	0.0241	0.064	0.089
Individual 3	0.0385 (0.024)	0.0425	0.095	0.14
Individual 4	0.0236 (0.019)	0.0251	0.069	0.093
Individual 5	0.0176 (0.011)	0.0193	0.041	0.067
Individual 6	0.0471 (0.034)	0.0494	0.11	0.15

Notes: SD, standard deviation.

* : Arithmetic mean ; ** : arithmetic standard deviation.

Table 5-A-13: Information on urine samples collected in the individuals considered in this article.

Individual 1		US1	US2	US3	US4	US5	US6						24 h total
	Urine weight (g)	124.7	219.9	292.4	393.2	197.4	101.4						2410.3
	Volume for 30 ml Composite (mL)	1.552	2.738	3.639	4.894	2.457	1.263						30
Individual 2		US1	US2	US3	US4	US5	US6	US7	US8				
	Urine weight (g)	116.3939	147.1	99.9	114.9	58.0	68.7	111.4	237.1				953.5
	Volume for 30 ml Composite (mL)	3.662	4.629	3.142	3.616	1.824	2.161	3.505	7.461				30
		US1	US2	US3	US4	US5							24 h total
Individual 3	Urine weight (g)	47.8	204.0	143.8	216.8	275.1							2625.2
	Volume for 30 ml Composite (mL)	0.547	2.331	1.643	2.477	3.144							30
Individual 4		US1	US2	US3	US4	US5	US6	US7	US8	US9	US10	US11	
	Urine weight (g)	31.4	59.3	62.4	97.9	85.9	34.5	88.1	72.5	137.9	115.8	83.2	868.9
	Volume for 30 ml Composite (mL)	1.083	2.047	2,155	3.381	2.964	1.193	3.040	2.504	4.762	3.998	2.872	30
Individual 5		US1	US2	US3	US4								
	Urine weight (g)	79.3	94.6	44.7	116.6								1769.2
	Volume for 30 ml Composite (mL)	1.344	1.604	0.757	1.977								30
Individual 6		US1	US2	US3	US4								
	Urine weight (g)	91.2	168.0	77.0	94.3								1445.5
	Volume for 30 ml Composite (mL)	1.893	3.488	1.597	1.958								30

Notes: US, urine sample.

Chapitre 6 – Intégration et synthèse

6. Discussion générale

6.1 Liens entre les trois articles objets de la présente thèse

L'objectif général de cette thèse consistait à développer des outils de modélisation TCBP pour mieux interpréter les données de biosurveillance des COVs à travers l'évaluation de l'exposition externe correspondante à ces données, en tenant compte des multiples voies d'exposition, de la variabilité interindividuelle et des co-expositions. Ainsi, les travaux réalisés ont d'abord permis de mettre en évidence des conditions dans lesquelles il peut avoir un impact des co-expositions multivoies aux COVs sur la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique des substances individuelles. Ensuite, ces travaux ont conduit à mettre au point des outils de dosimétrie inverse pouvant être utilisés chez différent(e)s sous-populations ou individus d'âges différents, comparativement à d'autres antérieurement décrits dans la littérature pour des adultes de 70 kg de poids corporel (Tan *et al.*, 2006 ; 2007 ; Clewell *et al.*, 2008). Ceci afin d'interpréter les données de biosurveillance relatives aux COVs (ex. : toluène) recueillies pour différentes sous-populations canadiennes lors de l'ECMS ou pour des individus canadiens.

6.2 Approche méthodologique de la recherche doctorale

L'idée motrice de la présente thèse étant la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique, la modélisation TCBP a été choisie plutôt que la modélisation à compartiments classique. Et ceci pour plusieurs raisons. En effet, les travaux ayant conduit à la rédaction des trois articles de cette thèse (Article 1, Article 2 et Article 3) envisageaient, d'une part, de comparer les résultats de modélisation simulés pour des adultes à ceux simulés chez d'autres sous-populations d'âges différents (incluant des sous-populations présumées sensibles comme les nourrissons, les enfants, etc). D'autre part, les résultats de ces travaux devraient permettre de proposer deux approches de dosimétrie inverse : l'une consistant en une approche améliorée à partir de celle bayésienne de Tan *et al.* (2007) et développée pour des sous-groupes d'âges différents d'une population générale, et l'autre

une nouvelle approche pour des individus. Ces deux approches pouvant être aussi utilisées pour des sous-groupes ou individus présumés sensibles. Il aurait été impossible d'utiliser la modélisation à compartiments classique pour obtenir de tels résultats (impliquant de grands nombres de simulations) car ces modèles, pour être construits, se basent sur des données expérimentales de cinétique du composé chimique étudié chez l'humain (Gibaldi et Perrier, 1982 ; Krishnan et Andersen, 2008 ; Valcke, 2011), et pour des considérations éthiques, de telles données sont difficilement disponibles chez les sous-groupes présumés sensibles de la population. Mais la modélisation TCBP offre une alternative en permettant d'utiliser les caractéristiques physiologiques des individus ou d'une population plutôt que les mesures expérimentales.

Pour l'Article 2 ayant interprété des données sanguines de biosurveillance du toluène, une simple modélisation tendance centrale/état d'équilibre telle que celle décrite par Aylward *et al.* (2010) aurait pu être utilisée en lieu et place de la modélisation complète réalisée (Tohon *et al.*, 2018). Mais comme il a été souligné dans cet article, notre étude permet de confirmer la possibilité de recourir à une telle modélisation. Aussi, la modélisation complète TCBP revêtait-elle un grand intérêt pour cet article en ce sens qu'elle a permis de simuler différentes durées d'exposition dans l'air au toluène (3h, 7h et 24h), assumant la présence ou l'absence d'état d'équilibre, et de comparer leurs résultats. Ce que le modèle tendance centrale/état d'équilibre de Aylward *et al.* n'aurait pas permis de faire. En considérant les durées d'exposition de 7 h et de 24 h simulées, les résultats des analyses de sensibilité effectuées afin de mettre en évidence l'influence d'une variation simultanée de certains paramètres d'entrée des modèles TCBP construits sur les niveaux sanguins de toluène prédits ont révélé une très faible sensibilité de ces concentrations sanguines de toluène à une variation du débit sanguin aux tissus gras. Ce qui suggère que des concentrations sanguines de toluène à l'état d'équilibre pourraient être déjà obtenues à la suite d'une exposition externe continue au toluène de 7 h. Il s'agit là d'une information intéressante qui permet désormais de simuler une exposition externe continue au toluène de 7 h (au lieu de 24 h) lorsqu'on envisage de modéliser les concentrations maximales sanguines de ce composé, par exemple dans des contextes de dosimétrie inverse (comme

décrit dans le présent document) où il y a un défaut d'informations sur les réelles durées (certainement variables) d'exposition par l'air des sous-populations ou individus investigués.

À l'instar des travaux de Valcke (2011) et Valcke et Haddad (2015) ayant porté sur la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique en contexte d'exposition externe par une seule voie, l'approche de modélisation TCBP utilisée tout au long de cette étude doctorale permet de réaliser des simulations probabilistes de doses internes reflétant les différences en fonction de l'âge des relations entre paramètres physiologiques et données morphologiques (comme le poids et la taille). Ceci s'est fait grâce à l'incorporation des paramètres physiologiques dans tous les modèles probabilistes utilisés sous la forme d'équations spécifiques à l'âge et/ou au sexe (associées parfois à des termes de variabilité) et, surtout, au calcul de ces paramètres à partir de l'âge et des distributions corrélées de poids et de taille (avec un r de Pearson égal à 60% en respect de la distribution du BMI dans la population canadienne) (Faustman et Ribeiro, 1990 ; Thomas *et al.*, 1996 ; Brown *et al.*, 1997 ; Clewell *et al.*, 2002 ; Price *et al.*, 2003a ; 2003b ; Clewell *et al.*, 2004 ; Krishnan et Johanson, 2005 ; Bjorkman, 2005 ; Haddad *et al.*, 2006 ; Valcke et Krishnan, 2009 ; Valcke et Krishnan, 2011a ; 2011c ; Valcke, 2011).

Par ailleurs, la variabilité toxicocinétique interindividuelle induite par les paramètres physicochimiques et dépendante de la composition des tissus (c'est-à-dire les coefficients de partage) a été également incorporée dans les modèles utilisés dans cette thèse. Dans l'Article 1, aussi bien cette variabilité physicochimique inter-groupe que celle intra-groupe ont été considérées. La variabilité inter-groupe a été intégrée aux modèles à travers des équations obtenues de Haddad *et al.* (2006) décrivant la composition de certains compartiments (ex. : tissus adipeux, tissus faiblement perfusés, peau) en eau et en lipides en fonction de l'âge. Celle intra-groupe a été incorporée aux modèles en appliquant les conditions de variations sur les paramètres physicochimiques du toluène rapportées chez l'adulte par Tardif *et al.* (2002) à tous les sous-groupes d'âge et à tous les composés chimiques (COVs) investigués. Ceci faute d'informations spécifiques aux autres sous-

groupes d'âge et aux autres substances chimiques dans la littérature. Pour l'Article 2 et l'Article 3 ayant porté exclusivement sur le toluène, la variabilité interindividuelle toxicocinétique liée à la composition des tissus a été prise en compte en utilisant les mêmes conditions de variations sur les paramètres physicochimiques du toluène ci-dessus mentionnées. Ceci parce que ce sont des adultes ou des adolescents qui ont fait l'objet de ces études et les adolescents n'ont pas beaucoup de différences physiologiques comparativement aux adultes.

Ainsi, la prise en compte de la variabilité toxicocinétique interindividuelle liée aux paramètres physicochimiques dans cette thèse constituait une avancée dans les études de modélisation de la variabilité toxicocinétique interindividuelle sur laquelle se sont concentrés les travaux de Valcke (2011), même si une incertitude pouvait résider dans l'application des mêmes conditions de variations sur les paramètres physicochimiques pour tous les groupes d'âge (ou individus) et/ou composés chimiques. En outre, tout au long des travaux de cette thèse, les différences interindividuelles dans la clairance intrinsèque ont été prises en compte en ajustant cette dernière en fonction du contenu hépatique en enzyme de biotransformation (CYP2E1) et en protéines microsomales selon l'approche proposée par Nong *et al.* (2006) et illustrée dans les trois articles; ceci pour tous les contaminants chimiques investigués.

Le choix des substances chimiques dans les trois articles a été fait de façon cohérente avec les objectifs poursuivis. Dans l'Article 1 où il s'est agi de caractériser l'impact des co-expositions chimiques multivoies sur la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique des substances individuelles, nous avons eu recours à deux mélanges différents de composés organiques volatiles : d'une part un mélange de benzène, de toluène, d'éthylbenzène et de m-xylène (BTEX); et un mélange de trichloroéthylène et de chlorure de vinyle (TCE-CV) d'autre part. Ces mélanges sont constitués de COVs tous connus pour leur capacité potentielle d'être présents dans l'eau de boisson (U.S. EPA, 2012 ; Health Canada, 2017), et donc pouvant faire l'objet de co-exposition multivoies (inhalation, ingestion, voie cutanée) (Fayemiwol *et al.*, 2017 ; WHO, 2004 ; 2005). Puisque la

principale voie de biotransformation de tous ces COVs est celle des enzymes CYP2E1 présentes en grande quantité dans le foie, les interactions métaboliques impliquant ces enzymes ont été intégrées au compartiment hépatique de nos modèles TCBP probabilistes multivoies (inhalation, ingestion et voie cutanée) construits pour les sous-groupes d'âge étudiés en assumant une inhibition compétitive de ces enzymes (Ronis *et al.*, 1996) et en considérant toutes les interactions binaires entre les composés de chaque mélange (Krishnan *et al.*, 2002 ; Haddad *et al.*, 2010 ; Valcke et Haddad, 2015). Signalons que le mélange TCE-CV a surtout été choisi pour permettre l'étude de l'impact des interactions métaboliques sur la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique influencé par deux voies métaboliques : celle des CYP2E1 à haute affinité/faible capacité et celle de la glutathion-S-transférase (GST) à faible affinité/haute capacité. Ainsi, un compartiment rénal a été ajouté au modèle d'interaction TCE-CV pour prendre en compte le métabolisme du TCE via la GST qui s'y déroule (ATSDR, 2014 ; Valcke et Krishnan, 2010).

Pour l'Article 2, les travaux ont porté sur le toluène car des niveaux sanguins de ce composé ont été souvent détectés parmi les données biologiques de COVs recueillies lors du troisième cycle de l'ECMS et il fallait les interpréter. Autrement dit, les niveaux sanguins mesurés dans cette enquête des autres COVs étaient souvent beaucoup plus basses et parfois même non détectables. Afin d'interpréter ces mesures biologiques de toluène, la dosimétrie inverse par modélisation TCBP a été utilisée pour reconstituer l'exposition au toluène dans l'air correspondant aux niveaux détectés. Les travaux en vue de l'Article 3 se sont concentrés sur un métabolite du toluène, l'acide S-benzylmercapturique (en anglais : benzylmercapturic acid, ou en abrégé : BMA), pour lequel Santé Canada disposaient de données de biosurveillance pour des individus adultes Canadiens. Ces données consistaient, par individu, en des mesures urinaires ponctuelles de ce métabolite (obtenues le même jour) et une mesure sur les urines de 24 h. Elles offraient une opportunité d'évaluer la contribution de l'utilisation de mesures faites sur des échantillons d'urines ponctuelles dans l'incertitude globale liée aux estimations de l'exposition au toluène dans l'air effectuées selon une approche de dosimétrie inverse par modélisation TCBP impliquant des mesures biologiques ponctuelles. L'Article 3 permet ainsi de compléter les

informations contenues dans l'Article 2 en abordant une question essentielle non prise en compte dans ce dernier, à savoir l'incertitude pouvant découler de l'utilisation de mesures ponctuelles de biomarqueur dans l'estimation de l'exposition externe réalisée selon l'approche de dosimétrie inverse proposée par cette thèse. Il suggère aussi aux évaluateurs de risque ainsi qu'aux régulateurs en santé environnementale une approche alternative à celle développée dans l'Article 2 en termes d'interprétation de données de biosurveillance du toluène. Il importe de souligner ici que les données relatives aux paramètres nécessaires à la construction des modèles TCBP en ce qui concerne les substances chimiques ayant fait l'objet de la présente étude étaient disponibles dans la littérature.

6.3 Principaux résultats novateurs de la présente thèse

Comparés à la revue de littérature résumée au Chapitre 1, les résultats de cette thèse apportent des informations très utiles pouvant permettre d'améliorer les processus d'évaluation de risque toxicologique. Dans les travaux résumés dans l'Article 1 (Chapitre 3), le modèle TCBP multivoies (inhalation, ingestion et voie cutanée) validé et publié par Haddad *et al.* (2006), puis utilisé par Valcke et Krishnan (2011a), a été modifié afin de simuler des expositions simultanées par inhalation, ingestion et contact cutané aux mélanges chimiques binaire (TCE-CV) et quaternaire (BTEX) déjà mentionnés ci-dessus, en considérant cinq sous-populations humaines, à savoir les adultes (18 à 64 ans), les nourrissons (2 à 6 mois), les enfants de 7 mois à 2 ans, les enfants de 2 à 10 ans, et les adolescents (11 à 17 ans). Les résultats de ces travaux suggèrent que les co-expositions chimiques multivoies peuvent avoir un impact sur la variabilité humaine de la toxicocinétique des substances individuelles et que cet impact peut être observé si le niveau d'exposition externe à ces substances est plus élevé que ce qu'on trouve généralement dans l'environnement. Aussi, cet impact peut-il dépendre de la sous-population exposée, de l'entité toxique d'intérêt et même des caractéristiques des mélanges chimiques qui sont liées à celles de leurs composés. En effet, en simulant des expositions multivoies aux valeurs guides d'une journée de la U.S. EPA pour les composés du mélange BTEX (U.S.

EPA, 2012), soit des niveaux d'exposition considérées ici comme faibles, l'impact de la co-exposition multivoies avec les TEX apparaît sur la variabilité interindividuelle toxicocinétique du benzène. Cet impact a été aussi noté lorsqu'on simule des niveaux d'exposition égaux à 10 fois ces valeurs guides d'une journée (niveaux d'expositions considérées ici comme élevés). Mais l'impact d'une co-exposition multivoies TCE-CV sur la variabilité interindividuelle toxicocinétique du trichloroéthylène ou du chlorure de vinyle n'apparaît que lorsque des niveaux d'exposition élevés à ces substances en mélange (soit 10 fois leur valeur guide d'une journée (U.S. EPA, 2012)) ont été simulés (voir Tableaux 3-4 (Table 3-4) et 3-5 (Table 3-5) de l'Article 1). L'observation selon laquelle la survenue d'impact de co-expositions chimiques multivoies sur la variabilité toxicocinétique dépend du type de mélange en jeu est un apport novateur découlant de la présente thèse qui interpelle les acteurs de régulation en santé environnementale quant au processus d'établissement ou d'actualisation des normes pour les polluants chimiques environnementaux. Ces processus qui, jusqu'à date, ne prennent pas en compte les co-expositions chimiques multivoies possibles dans l'environnement (notamment avec les COVs).

En outre, pour les niveaux d'expositions chimiques faibles simulés dans le cadre des travaux de l'Article 1, aucun des index de variabilité interindividuelle, calculés comme étant le rapport du 95e centile de la distribution d'une dose interne chez les autres sous-populations à l'étude au 50e centile de la même distribution chez l'adulte, n'excède la valeur de la composante toxicocinétique (de 3,16) du facteur d'incertitude liée à la variabilité humaine généralement utilisée en évaluation du risque toxicologique pour les substances non cancérigènes (Tableaux 3-4 et 3-5 de l'Article 1). Les valeurs guides d'une journée pour la qualité de l'eau potable et de la santé recommandées par la U.S. EPA (U.S. EPA, 2012) et simulées dans cette thèse n'induisent donc pas une remise en cause de la valeur de cette composante toxicocinétique. Toutefois, il ressort de notre étude qu'en cas de co-exposition chimie multivoies à des niveaux élevés de substances individuelles, des valeurs d'index de variabilité plus élevées que celle de cette composante toxicocinétique pourraient être obtenues chez certains groupes d'individus considérés comme sensibles,

contrairement à une exposition chimique simple multivoies (cas du benzène pour les enfants de 2 à 10 ans, désignés par "Children" dans le Tableau 3-4 (Table 3-4) de l'Article 1). Les travaux de cette thèse suggèrent aussi que les interactions métaboliques observées peuvent ne pas se produire à des niveaux d'exposition correspondant à des expositions environnementales chroniques faibles telles que celles généralement vécues par la population.

Les travaux de modélisation TCBP probabiliste en lien avec l'Article 1 ont aussi permis de mettre en exergue des considérations importantes en ce qui concerne le facteur d'ajustement dépendant de l'âge (en anglais : age-dependant adjustment factor, ou en abrégé : ADAF) recommandé par la U.S. EPA dans les processus d'évaluation des risques toxicologiques afin de tenir compte des susceptibilités précoces aux agents cancérigènes mutagènes. La valeur de l'ADAF a été établie à x10 pour les enfants âgés de moins de 2 ans et à x3 pour ceux âgés de 2 à 16 ans (U.S. EPA, 2005). En effet, le trichloroéthylène (TCE) peut produire des métabolites mutagènes par la voie de la GST dans les reins et le foie (U.S. EPA, 2011), alors que les métabolites du chlorure de vinyle (CV) issus de sa biotransformation par les enzymes CYP2E1 dans le foie (les oxydes de chloroéthylène) peuvent déclencher une cancérogénicité hépatique et sont aussi considérés comme des entités mutagènes par leur mode d'action (U.S. EPA, 2000). Il est donc pertinent de vérifier si des données cinétiques spécifiques à chacune de ces substances appuient l'application des valeurs d'ADAF mentionnées ci-dessus et utilisées par défaut. Il a été considéré dans cette étude que ces valeurs d'ADAF utilisées par défaut intègrent chacune celle d'une composante toxicocinétique et celle d'une composante toxicodynamique, à l'instar du facteur d'incertitude lié à la variabilité humaine recommandé dans les processus d'évaluation du risque toxicologique (Haber, 2007). Eu égard aux estimations effectuées pour la composante toxicocinétique de l'ADAF sur base des données de modélisation TCBP probabiliste du TCE, du CV et du mélange TCE-CV dans notre étude, il apparaît, tel que discuté dans l'Article 1, que ce facteur, en ce qui concerne le CV, peut ne pas être suffisamment protecteur pour certains sous-groupes étudiés ici. Ce sont le sous-groupe des enfants de 2-10 ans dans le cas de l'exposition élevée simulée à ce composé et les sous-

groupes des enfants de 2-10 ans et de 11-17 ans dans le cas de l'exposition élevée simulée au mélange CV-TCE. La co-exposition chimique multivoies étudiée ici semble ainsi pouvoir aussi avoir un impact sur l'estimation des valeurs d'ADAF, puisque les valeurs d'ADAF estimées, dans le cadre la présente étude (et non présentées), chez les enfants de 11-17 ans, conduisent à des conclusions différentes (facteur protecteur en cas de simple exposition multivoies au CV, et facteur non protecteur en cas de co-exposition multivoies au CV-TCE).

Faisons enfin remarquer ici qu'il ressort des résultats de nos travaux en vue de l'Article 1 que la faible exposition multivoies simulée aux mélanges chimiques a généré une contribution relative à l'exposition interne au trichloroéthylène d'environ 56 % pour l'inhalation, 25 % pour la voie cutanée et 19 % pour la voie orale. En ce qui concerne le chlorure de vinyle, les parts des voies respiratoire, cutanée et orale dans l'exposition interne à ce composé sont respectivement de 52 %, 26 % et 22 %. Pour le benzène, les parts sont respectivement de 54 %, 25 % et 21 %. Ces chiffres (non présentés dans l'article) sont basés sur l'aire sous la courbe de la concentration artérielle à ces substances chimiques, donc sur la mesure de la substance mère. En considérant les quantités métabolisées de ces composés chimiques via la voie des enzymes CYP2E1 dans le foie, les parts des voies respiratoire, cutanée et orale dans l'exposition interne au trichloroéthylène sont respectivement de 45 %, 17 % et 38 % (résultats non présentés dans l'article). Ces parts dans l'exposition interne au chlorure de vinyle sont respectivement de 43 %, 22 % et 35 % (résultats non présentés). Elles sont respectivement de 46 %, 21 % et 33 % (résultats non présentés) pour l'exposition interne du benzène. En considérant la quantité métabolisée du TCE via la voie de la GST (dans le foie et dans les reins), les parts des voies respiratoire, cutanée et orale dans l'exposition interne à ce composé sont respectivement de 53 %, 26 % et 21 % (résultats non présentés dans l'article). Ces résultats de modélisations, qu'ils soient basés sur l'entité toxique d'intérêt ou pas, montrent que les voies orale et cutanée peuvent contribuer pour une part non négligeable (plus de 40 %) à l'exposition interne aux COVs étudiés. Ainsi, ils mettent en évidence l'importance de considérer au moins ces deux voies, en plus de la voie respiratoire, dans les processus d'évaluation du risque toxicologique de

ces COVs. Toutefois, d'autres études sont nécessaires pour soutenir toutes ces suggestions ci-dessus formulées. Les résultats de cette thèse confirment, par ailleurs, les observations antérieures faites par d'autres études selon lesquelles plus on est jeune, plus l'exposition interne aux substances mères est élevée pour des expositions externes équivalentes (Valcke et Krishnan, 2011a ; 2011b ; 2011c ; Valcke *et al.*, 2012 ; Valcke et Haddad, 2015 ; Price *et al.*, 2003a).

Une autre contribution novatrice de cette étude doctorale en ce qui concerne l'évaluation du risque toxicologique, notamment l'évaluation de l'exposition chimique externe, réside dans le fait qu'elle a permis de proposer deux approches de dosimétrie inverse pour interpréter des données de biosurveillance humaine de plus en plus disponibles pour de nombreux polluants chimiques (parmi lesquels des COVs) dans plusieurs pays (Haines *et al.*, 2017; Phillips *et al.*, 2014 ; Kolossa-Gehring *et al.*, 2017; Schwedler *et al.*, 2017; Tohon *et al.*, 2018; Exley *et al.*, 2015). En effet, il s'est agi, pour l'une des deux approches mises au point, d'améliorer la technique de dosimétrie inverse par modélisation TCBP souvent décrite dans la littérature et qui permet de reconstituer l'exposition externe des adultes à des contaminants chimiques de l'environnement en partant des mesures sanguines des substances mères obtenues lors d'enquêtes de biosurveillance (Tan *et al.*, 2006 ; Liao *et al.*, 2007 ; Tan *et al.*, 2007 ; Clewell *et al.*, 2008). L'amélioration de cette technique a consisté à intégrer désormais dans le modèle TCBP utilisé les paramètres physiologiques sous forme d'équations spécifiques à l'âge et dépendantes du poids et de la taille corporelle. Ce qui a permis d'obtenir un outil de dosimétrie inverse avec lequel des doses externes de COV parent ont pu être prédites pour des sous-populations d'âges différents (voir Article 2). C'est l'approche de dosimétrie inverse développée basée sur le toluène sanguin. L'autre approche de dosimétrie inverse mise au point (ou approche individuelle alternative basée sur le BMA urinaire) permet de reconstruire l'exposition externe d'individus aux COVs à partir de mesures de métabolites urinaires de ces composés (voir Article 3). Dans cette approche individuelle alternative de dosimétrie inverse conçue, les paramètres physiologiques ont été aussi incorporés dans le modèle TCBP utilisé sous forme

d'équations spécifiques à l'âge, mais aussi au sexe, et dépendantes du poids et de la taille corporelle.

Toutefois, il importe de souligner que lors du développement de ces deux approches de dosimétrie inverse dans cette thèse, l'impact des interactions chimiques sur la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique des substances individuelles n'a plus été pris en compte, comme annoncé dans nos deuxième et troisième objectifs spécifiques au Chapitre 1er de ce document. En effet, notre intention initiale était de tenir compte des interactions; mais compte tenu des faibles valeurs d'exposition interne aux autres COVs investigués lors de l'ECMS-3, cela fut considéré comme un exercice inutile. Ce choix final de ne plus prendre en compte les interactions peut se justifier aussi par des résultats de notre première série de travaux (Tohon *et al.*, 2019), ainsi que ceux de Valcke et Haddad (2015). Selon ces travaux, lorsque de faibles concentrations chimiques dans l'environnement telles que celles estimées avec les méthodes de dosimétrie inverse ainsi mises au point sont simulées, il n'y a pas d'impact significatif de la co-exposition sur la variabilité interindividuelle de la dose interne de chaque produit chimique. Par ailleurs, seule l'exposition au toluène par inhalation a été considérée et l'exposition multivoies également annoncée dans les deuxième et troisième objectifs spécifiques de la thèse a semblé être omise. En effet, le toluène a été finalement retenu pour faire l'objet des travaux de l'Article 2 en raison de ce que, comme déjà expliqué plus haut (et dans l'Article 2 lui-même), parmi les COVs dont les mesures de biosurveillance ont été rapportées par l'ECMS-3, c'est le composé dont des niveaux sanguins ont été souvent détectés. Il a été aussi retenu pour les travaux en vue de l'Article 3 car des données biologiques sur un de ses métabolites pouvant permettre d'approfondir son étude commencée avec l'Article 2 étaient disponibles et accessibles. Or, selon la littérature, l'exposition au toluène découle généralement de la pollution de l'air (ATSDR, 2017 ; Santé Canada, 2016 ; Héroux *et al.*, 2008; Won *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2017). Alors, seule l'inhalation a été modélisée dans les deux approches de dosimétrie inverse qui sont proposées dans ce travail car c'est la principale voie d'exposition pertinente au toluène.

Chaque approche de dosimétrie inverse ainsi mise au point pour interpréter des données de biosurveillance canadiennes du toluène a conduit à l'estimation des distributions de concentrations de toluène dans l'air qui concordent avec celles rapportées par divers investigateurs au Canada (Santé Canada, 2016 ; Héroux *et al.*, 2008 ; Zhu *et al.*, 2005 ; Health Canada, 2010a ; 2010b). Ces approches sont ainsi validées. Elles pourraient être très intéressantes pour interpréter les données de biosurveillance populationnelles ou individuelles d'autres COVs ou xénobiotiques sans avoir à les comparer à des valeurs dites bio-équivalentes aux VTRs, lesquelles VTRs ont été généralement établies grâce à l'utilisation de modèles animaux, et à condition de disposer des données sur les paramètres nécessaires aux modélisations envisagées.

Enfin, un autre apport majeur de cette recherche doctorale résulte des travaux en lien avec l'Article 3. En effet, ces travaux ont proposé, pour une première fois en évaluation du risque toxicologique (plus précisément en évaluation de l'exposition), une méthode pouvant permettre de quantifier l'incertitude spécifique associée aux estimations d'exposition externe faites grâce à une approche de dosimétrie inverse par modélisation TCBP appliquée à des mesures biologiques ponctuelles. La méthode ainsi proposée est basée ici sur la comparaison des distributions estimées de concentrations atmosphériques de toluène (voir Figure 5.3, Article 3) faites en utilisant les deux techniques testées d'évaluation de l'exposition à ce composé dans l'air (voir section 2.3 de la méthodologie de recherche doctorale). Il ressort de cette comparaison, pour chaque individu à l'étude, une grande variation sur la distribution de concentrations de toluène dans l'air estimée à partir des mesures ponctuelles de BMA urinaire effectuées en une même journée et une faible variation sur celle estimée à partir des urines de 24 h (confère Figure 5.3, Article 3). Ces observations suggèrent plus d'incertitudes (et donc une incertitude spécifique) associées à l'estimation de l'exposition au toluène dans l'air réalisée en utilisant des mesures ponctuelles de BMA urinaire obtenues en une journée, comparativement à l'estimation faite en utilisant les urines de 24 h. L'incertitude spécifique sur l'estimation de l'exposition externe provient vraisemblablement de l'utilisation des mesures ponctuelles variables de BMA urinaires obtenues chez chaque individu en 24 h. Ces mesures ponctuelles de BMA

effectuées en une même journée sont, en fait, des estimations obtenues à des moments très différents au cours d'une période de 24 h, et donc sont sujettes à variabilité en raison de circonstances variées de mesures. Ces circonstances variées de mesures peuvent conduire à une distribution de l'exposition interne d'une journée chez chaque individu qui ne reflète pas vraiment l'exposition interne mesurée à partir des urines de 24 h qui, elle, peut toutefois intégrer plus de variation dans l'exposition externe d'une journée et ses déterminants. L'incertitude spécifique générée par l'utilisation des mesures ponctuelles de BMA urinaire obtenues en une même journée pour prédire l'exposition au toluène dans l'air correspondante a été quantifiée à environ 20% dans notre étude doctorale (voir Tableau 5-4 (Table 5-4) de l'Article 3).

Rappelons, toutefois, ici, quelques réflexions sur le BMA urinaire. Si ce dernier est l'un des biomarqueurs du toluène qu'on peut retrouver dans la littérature (Maestri *et al.*, 1997 ; Inoue *et al.*, 2004 ; Ukai *et al.*, 2007 ; Ikeda *et al.*, 2008 ; Lovreglio *et al.*, 2010 ; Cosnier *et al.*, 2013 ; Marchand *et al.*, 2015 ; INRS, 2017), sa spécificité au toluène ne fait pas encore l'objet d'une confiance entière au sein de la communauté scientifique. Selon l'Institut National de Recherche et de Sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles (INRS, 2017), il ne serait pas spécifique au toluène, car il pourrait également résulter de la biotransformation de composés benzyliques tels que l'acétate de benzyle ou l'alcool benzylique contenus dans les produits cosmétiques. Mais plusieurs auteurs le considèrent comme un biomarqueur potentiel d'exposition au toluène supérieur aux biomarqueurs traditionnels tels que le toluène urinaire ou sanguin, l'o-crésol urinaire ou l'acide hippurique, même pour les cas d'exposition environnementale (Maestri *et al.*, 1997 ; Inoue *et al.*, 2004 ; Ukai *et al.*, 2007 ; Cosnier *et al.*, 2013). L'approche individuelle alternative de dosimétrie inverse développée dans cet Article 3 et basée sur le BMA urinaire a néanmoins conduit à l'estimation pour chacun des six individus Canadiens considérés d'une distribution d'exposition au toluène dans l'air similaire à celle obtenue par Tohon *et al.* (2018) pour les sous-groupes d'âge de l'ECMS-3 dans lesquels ils peuvent être classés (à savoir les sous-populations canadiennes de 20-39 et 40-59 ans). Nos prédictions d'exposition externe pour ces six individus canadiens sont aussi similaires aux

mesures de toluène effectuées dans l'air intérieur au Canada par différents investigateurs (Health Canada, 2016 ; Héroux *et al.*, 2008 ; Zhu *et al.*, 2005 ; Health Canada, 2010a ; 2010b). Ces résultats suggèrent que l'association o-crésol-BMA qui sous-tend les travaux de l'Article 3 est adéquate. Ils confortent l'opinion de ceux qui soutiennent que le BMA urinaire est un biomarqueur potentiel d'exposition au toluène et peuvent justifier l'intérêt porté par Santé Canada ou même d'autres organismes d'étude ou de régulation en santé environnementale pour le recueil de données de biosurveillance humaine sur ce biomarqueur en considérant que c'est celui du toluène. L'approche individuelle ainsi développée est très pertinente car elle peut permettre de reconstituer l'exposition chimique externe tant environnementale que professionnelle.

6.4 Limites des travaux de la présente thèse

Certaines limites liées aux méthodes utilisées dans cette thèse ne sauraient être ignorées. L'une d'entre elles est relative au fait qu'il soit assumé, tout au long de cette thèse, que le métabolisme impliquant les enzymes CYP2E1 n'avait lieu que dans le foie. En effet, toute modélisation TCBP impose d'opérer des choix dans les divers paramètres retenus (y compris ceux physiologiques) afin d'assurer un juste équilibre entre robustesse et complexité du modèle. Ce choix opéré ici quant à l'organe dans lequel a lieu ce métabolisme n'aurait pas d'impact important sur les résultats des modélisations toxicocinétiques effectuées (Yoon *et al.*, 2011).

Lors de nos travaux, les incertitudes possibles sur les valeurs des paramètres d'entrée de nos modèles n'ont pas été prises en compte, faute de données disponibles sur ces incertitudes. Aussi, seules les variabilités physiologique et physicochimique (liée aux coefficients de partage) ont-elles été intégrées à nos modèles (à travers des fonctions de densité de probabilité retrouvées dans la littérature) et simulées grâce à des simulations de Monte Carlo. Il ne s'agit donc pas ici de simulations de Monte Carlo en deux dimensions qui peuvent permettre de simuler à la fois la variabilité et l'incertitude sur chacun des

paramètres d'entrée du modèle TCBP (paramètres physiologiques et paramètres spécifiques aux composés chimiques). On peut imaginer que cela pourrait affecter les expositions internes simulées et conduire à observer un impact de la co-exposition chimique sur la variabilité interindividuelle toxicocinétique dans les cas où cet impact n'était pas apparu (voir Tableaux 3-4 et 3-5, Article 1), ou augmenter cet impact (dans les cas où il était perceptible). Cela pourrait même conduire, pour les faibles expositions aux COVs étudiés dans l'Article 1, à la remise en cause des valeurs de la composante toxicocinétique du facteur d'incertitude liée à la variabilité humaine et de l'ADAF mentionnées ci-dessus. Cependant, l'approche de modélisation similaire utilisée tout au long de la présente thèse a été validée (comme expliquée ci-dessus) pour ce qui concerne nos deux séries de travaux de dosimétrie inverse dont les résultats sont très pertinents. Il ne saurait en être autrement des résultats de notre première série de travaux (sur les trois séries au total, voir Article 1) ayant porté sur l'étude de l'impact de co-expositions chimiques multivoies sur la variabilité toxicocinétique interindividuelle.

Par ailleurs, la variabilité populationnelle du contenu hépatique en enzyme de biotransformation des composés chimiques étudiés et en protéines microsomiales pourrait représenter une autre source d'erreur qu'il importe de souligner. La méthode utilisée dans les trois articles a consisté à ajuster la clairance intrinsèque en fonction de ces variables. Mais les données sur ce contenu sont basées sur un échantillon restreint d'individus analysés (Lipscomb et Poet, 2008 ; Johnsrud *et al.*, 2003 ; Lipscomb *et al.*, 2003 ; Shimada *et al.*, 1994 ; Valcke, 2011), et la représentativité de cet échantillon pour les sous-populations ou individus étudiés dans le présent travail pourrait être incertaine. Aussi, l'impact du polymorphisme des enzymes hépatiques sur la variabilité populationnelle de la toxicocinétique n'a pas été considéré lors des travaux en vue des trois articles. En effet, selon Neafsey *et al.* (2009), le polymorphisme ne contribue que peu à la variabilité de l'expression à l'échelle populationnelle de l'enzyme CYP2E1 qui a fait l'objet de nos travaux. Toutefois, il existe des évidences scientifiques de l'impact du polymorphisme à l'échelle populationnelle en ce qui concerne la GST, une deuxième enzyme considérée dans l'Article 1 pour le métabolisme du TCE (Blackburn *et al.*, 2000 ; El-Masri *et al.*, 1999

; Jonsson et Johanson, 2001 ; Valcke, 2011 ; Valcke et Haddad, 2015). Mais sa prise en compte apparaissait compliquée et moins pertinente pour les objectifs de cette étude.

Pour cet Article 1, qui consistait en une étude de cas, le nombre d'inhibiteurs impliqués dans les mélanges pourrait en constituer aussi une limite. En effet, selon les résultats de cet article concordants avec ceux de Valcke et Haddad (2015), la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique d'une substance chimique dans un mélange peut dépendre de la composition (en termes de nombre et de nature des substances) de ce mélange. Dans cet article, les interactions toxicodynamiques n'ont pas été prises en compte car allant au-delà des considérations de cette étude doctorale. La principale limite liée aux travaux de l'Article 2 ou de l'Article 3, ayant porté sur la reconstitution de l'exposition au toluène dans l'air à partir de sa mesure sanguine ou des mesures urinaires de BMA en utilisant une approche de dosimétrie inverse par modélisation TCBP, résulte de l'absence d'informations sur la durée réelle de l'exposition au toluène des sous-populations ou individus investigués et sur la durée qui s'est écoulée entre la fin de l'exposition et le moment du prélèvement des sous-populations ou personnes examinées. Pour réduire les incertitudes résultant de ce manque d'informations, nous avons réalisé des simulations d'expositions externes continues de 24 h au toluène afin de simuler des concentrations sanguines maximales de toluène (c'est-à-dire celles obtenues à l'état d'équilibre).

Enfin, d'autres limites de cette recherche doctorale pourraient avoir trait aux informations concernant le style de vie (consommation d'alcool et tabagisme pour les adolescents et les adultes, nutrition, état de santé (ex. : maladies du foie et/ou des reins)) des sous-populations ou individus étudiés qui n'ont pu être prises en compte lors des simulations effectuées. Ce sont autant d'informations qui peuvent aider à mieux interpréter les données biologiques ayant fait l'objet de cette thèse. Par exemple, considérer la consommation d'alcool (inducteur des enzymes CYP2E1) aurait eu pour conséquence de prendre en compte la possibilité d'augmentation du métabolisme du toluène (induit par l'alcool) dans l'organisme humain ainsi que la possibilité de sous-estimation de l'exposition interne à ce composé (avec nos modèles) et, par conséquent, de l'exposition externe reconstituée.

Savoir que le foie est malade informe sur la possibilité de réduction du métabolisme hépatique et donc de l'excrétion de BMA dans les urines. Cela pourrait conduire à adopter l'approche de dosimétrie inverse basée sur le toluène sanguin plutôt que celle basée sur le BMA urinaire, dans la reconstitution de l'exposition externe au toluène. Ce sont aussi des informations qui concernent des facteurs qui peuvent moduler la relation entre la dose d'exposition interne d'un produit chimique dans le corps humain et sa réponse (Badger *et al.*, 1993 ; Pierce *et al.*, 1998 ; Dorne *et al.*, 2004b ; Dorne, 2007 ; Gomez-Lechon *et al.*, 2007 ; Kato *et al.*, 2010 ; Parkinson *et al.*, 2004 ; Chambers *et al.*, 2011 ; Talhout *et al.*, 2011 ; ATSDR, 2017).

6.5 Perspectives de recherche découlant de la présente recherche doctorale

Plusieurs perspectives de recherche découlent de la présente thèse. Il peut être ici mis l'accent sur d'autres études de cas de modélisation probabiliste de co-expositions multivoies (avec si possible des simulations de Monte Carlo exécutées en deux dimensions), impliquant d'autres substances chimiques et/ou d'autres aînés que ceux considérés dans l'Article 1 (situés dans la tranche d'âge supérieur à 64 ans) et/ou plus d'inhibiteurs des enzymes CYP2E1 et/ou considérant l'inhibition d'autres voies de biotransformation (ex. : celle de la GST). Elles sont nécessaires pour constituer ou renforcer une évidence scientifique en ce qui concerne l'impact des co-expositions chimiques multivoies sur la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique des substances individuelles. Aussi, le facteur ADAF brièvement évalué dans l'Article 1 nécessite-t-il encore d'être vérifié avec d'autres données de cinétique chimique chez l'humain obtenues à partir d'études de modélisation, en considérant éventuellement les interactions chimiques environnementales possibles. Des études de dosimétrie inverse par modélisation TCBP, telles que celles conduites dans cette thèse, peuvent être envisagées chez des sous-populations d'âges différents (et non plus seulement chez la sous-population adulte de 70 kg comme dans l'étude de Tan *et al.* (2007)) ou chez des individus pour des

substances faisant l'objet de plus de voies d'exposition que l'inhalation considérée dans cette thèse (ex. : exposition simultanée par inhalation, voie orale et voie cutanée). Ces études pourront porter, par exemple, sur des contaminants chimiques volatiles de l'eau de boisson et prendre éventuellement en compte l'impact des interactions chimiques sur la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique. Enfin, d'autres études procédant par les approches proposées dans cette thèse viendraient conforter leur utilisation en évaluation du risque toxicologique.

Chapitre 7 – Conclusion générale

7. Conclusion et portée de la recherche doctorale

7.1 Conclusion

La présente recherche doctorale a contribué à l'avancement des connaissances en matière d'évaluation de risque en santé environnementale. En effet, elle a caractérisé l'impact que peuvent avoir les co-expositions environnementales multivoies à des COVs sur la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique des substances individuelles dans l'organisme humain, en prenant en compte le fait que cet impact puisse être influencé par l'implication d'une autre voie de métabolisme (telle celle de la GST) dans la biotransformation de ces composés. Il s'agit d'une première en évaluation de risque toxicologique. Il en ressort que cet impact peut dépendre notamment des caractéristiques du mélange en question et des niveaux d'exposition à chacun des COVs impliqués. Cette étude doctorale a, par ailleurs, permis de raffiner une approche populationnelle existante de dosimétrie inverse (basée sur des mesures sanguines de COVs) et de mettre au point une autre approche individuelle, alternative (basée sur des mesures urinaires de métabolites de COVs) et novatrice, afin d'évaluer l'exposition externe humaine à ces composés à partir de leurs données de biosurveillance recueillies dans la population. La mise au point de l'approche individuelle a conduit à proposer une méthode pouvant permettre de quantifier l'incertitude spécifique associée aux estimations d'exposition externe faites grâce aux approches de dosimétrie inverse par modélisation TCBP impliquant des mesures biologiques ponctuelles de contaminants chimiques volatiles issues des enquêtes de santé. Ce qui représente aussi un apport majeur de cette thèse. Il en ressort une contribution de la variabilité dans les mesures réalisées sur des échantillons d'urines ponctuelles à l'incertitude globale associée aux estimations de l'exposition au toluène dans l'air basées sur une approche de dosimétrie inverse par modélisation PBPK appliquée aux mesures urinaires ponctuelles.

7.2 Portée de la présente thèse

La portée de la présente thèse concerne les autorités de santé publique et les régulateurs ou les évaluateurs de risque en santé environnementale qui s'intéressent aux contaminants chimiques de l'eau potable ou aux polluants chimiques de l'air intérieur, puisqu'ils concernent leurs priorités respectives d'évaluation de risque. Ils y trouveront un effort de modélisations ayant permis de réaliser et de valider une évaluation de risque à la santé de composés organiques volatiles (par exemple BTEX, trichloroéthylène, chlorure de vinyle). Ils pourront y puiser des informations pertinentes à l'amélioration des processus d'établissement ou de révision des normes des contaminants chimiques volatiles de l'environnement qui, jusqu'à date, n'intègrent pas les co-expositions environnementales multivoies. Deux approches différentes de dosimétrie inverse (mentionnées ci-dessus) y sont aussi proposées pour estimer l'exposition chimique externe à partir des données de biosurveillance humaine relatives aux COVs parents dans le sang ou à leurs métabolites urinaires (avec possibilité dans l'une de ces approches de quantifier l'incertitude sur cette estimation de l'exposition externe). Ceci dans le cadre de l'interprétation de ces données et la communication pour une gestion pertinente des risques liés à ces données, notamment celles qui proviennent de l'ECMS. De façon plus spécifique, ces deux approches peuvent permettre i) de mesurer la pertinence entre les données sur l'exposition externe (air intérieur ou extérieur) et celles de biosurveillance (sang, urine), ii) d'identifier des COVs pour lesquels d'autres actions protectrices en santé publique doivent être envisagées, iii) d'analyser la pertinence de l'applicabilité et les limites de l'approche récente soutenue financièrement par Santé Canada et consistant à développer des valeurs-guides basées sur l'exposition interne dite 'doses biologiquement équivalentes' et iv) d'évaluer les normes de COVs existantes.

Références bibliographiques

- Abass, K., Reponen, P., Mattila, S., Rautio, A., Pelkonen, O. 2014. Human variation and CYP enzyme contribution in benfuracarb metabolism in human in vitro hepatic models. *Toxicol Lett.* 224, 300-309.
- Andersen, M.E., Clewell 3rd, H.J., Gargas, M.L., Smith, F.A., Reitz, R.H. 1987. Physiologically-based pharmacokinetics and the risk assessment process for methylene chloride. *Toxicol Appl Pharmacol.* 87, 185-205.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2017. Toxicological profile for toluene. Repéré à: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp56.pdf>
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2014. Toxicological profile for trichloroethylene. Atlanta (GA): U.S. Department of Public Health Services. Repéré à: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp19.pdf>
- Aylward, L.L., Kirman, C.R., Blount, B.C., Hay, S.M. 2010. Chemical-specific screening criteria for interpretation of biomonitoring data for volatile organic compounds (VOCs)- Application of steady-state PBPK model solutions. *Regul Toxicol Pharmacol.* 58, 33-44.
- Badger, T.M., Huang, J., Ronis, M., Lumpkin, C.K. 1993. Induction of cytochrome P4502E1 during ethanol exposure occurs via transcription of the CYP2E1 gene when blood concentrations are high. *Biochem Biophys Res Commun.* 190, 780-785.
- Baranczewski, P., Stanczak, A., Sundberg, K., Svensson, R., Wallin, A., Jansson, J., Garberg, P., Postlind H. 2006. Introduction to in vitro estimation of metabolic stability and drug interactions of new chemical entities in drug discovery and development. *Pharmacol Rep.* 58, 453-472.
- Björkman, S. 2005. Prediction of drug disposition in infants and children by means of physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modelling: theophylline and midazolam as model drugs. *Br J Clin Pharmacol.* 59, 691-704.

- Blackburn, A.C., Tzeng, H.F., Anders, M.W., Board, P.G. 2000. Discovery of a functional polymorphism in human glutathione transferase zeta by expressed sequence tag database analysis. *Pharmacogenetics*. 10, 49-57.
- Bois, F.Y., Jamei, M., Clewell, H.J. 2010. PBPK modelling of inter-individual variability in the pharmacokinetics of environmental chemicals. *Toxicology*. 278, 256–267.
- Brochot, C., Casas, M., Manzano-Salgado, C., Zeman, F.A., Schettgen, T., Vrijheid, M., Bois, F.Y. 2019. Prediction of maternal and foetal exposures to perfluoroalkyl compounds in a Spanish birth cohort using toxicokinetic modelling. *Toxicol Appl Pharmacol*. 379, 114640.
- Brown, R.P., Delp, M.D., Lindstedt, S.L., Rhomberg, L.R., Beliles, R.P. 1997. Physiological parameter values for physiologically based pharmacokinetic models. *Toxicol Ind Health*. 13, 407- 484.
- Campbell Jr., J.L., Fisher, J.W. 2007. A PBPK modeling assessment of the competitive metabolic interactions of JP-8 vapor with two constituents, m-xylene and ethylbenzene. *Inhal Toxicol*. 19, 265-273.
- Carrier, G., Bard, D. 2005. Analyse du risque toxicologique. Dans M. Gérin, P. Gosselin, S. Cordier, C. Viau, P. Quénel, E. Dewailly (Eds.). ENVIRONNEMENT ET SANTÉ PUBLIQUE. Fondements et pratiques, Edisem, Québec, QC. pp. 203-226.
 Répéré à :
https://espum.umontreal.ca/fileadmin/espum/documents/DSEST/Environnement_et_sante_publique_Fondements_et_pratiques/EnvSantPubWeb-web2.pdf
- Chambers, D.M., Ocariz, J.M., McGuirk, M.F., Blount, B.C. 2011. Impact of cigarette smoking on Volatile Organic Compound (VOC) blood levels in the U.S. population: NHANES 2003–2004. *Environ Int*. 37, 1321–1328.
- Cheikh, R.M., Rheault, I., Haddad, S. 2013. Modulation of trichloroethylene in vitro metabolism by different drugs in rats. *Toxicol In Vitro*. 27, 34–43.

- Chiu, W.A. 2007. Statistical Issues in Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling. Dans J.C. Lipscomb, E.V. Ohanian (Eds.), *Toxicokinetics and Risk Assessment*, Informa healthcare, New York, NY. pp. 269-283.
- Clewell 3rd, H.J., Andersen, M.E. 1996. Use of physiologically based pharmacokinetic modeling to investigate individual versus population risk. *Toxicology* 111, 315–329.
- Clewell, R.A., Clewell 3rd, H.J. 2008. Development and specification of physiologically based pharmacokinetic models for use in risk assessment. *Regul Toxicol Pharmacol.* 50, 129-143.
- Clewell, H.J., Gearhart, J.M., Gentry, P.R., Covington, T.R., VanLandingham, C.B., Crump, K.S., Shipp, A.M. 1999. Evaluation of the uncertainty in an oral reference dose for methylmercury due to interindividual variability in pharmacokinetics. *Risk Anal.* 19, 547-558.
- Clewell, H.J., Gentry, P.R., Covington, T.R., Sarangapani, R., Teeguarden, J.G. 2004. Evaluation of the potential impact of age- and gender-specific pharmacokinetic differences on tissue dosimetry. *Toxicol Sci.* 79, 381–393.
- Clewell, H.J., Tan, Y.M., Campbell, J.L., Andersen, M.E. 2008. Quantitative interpretation of human biomonitoring data. *Toxicol Appl Pharmacol.* 231, 122-133.
- Clewell, H.J., Teeguarden, J., McDonald, T., Sarangapani, R., Lawrence, G., Covington, T., Gentry, R., Shipp, A. 2002. Review and evaluation of the potential impact of age- and gender-specific pharmacokinetic differences on tissue dosimetry. *Crit Rev Toxicol.* 32, 329-389.
- Cosnier, F., Cossec, B., Burgart, M., Nunge, H., Brochard, C., Décret, M-J, Rémy, A. 2013. Biomarkers of toluene exposure in rats: mercapturic acids versus traditional indicators (urinary hippuric acid and o-cresol and blood toluene). *Xenobiotica.* 43, 651-660.
- Covington, T.R., Gearhart, J.M. 2020. Sensitivity and Monte Carlo analysis techniques and their use in uncertainty, variability, and population analysis. Dans J.W. Fisher, J.M.

- Gearhart, Z. Lin (Eds.). Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling. Methods and Applications in Toxicology in Toxicology and Risk Assessment, Academic Press, India, Chennai. pp. 211-242.
- Crespi, C.L., Miller, V.P., Penman, B.W. 1997. Microtiter plate assays for inhibition of human, drug-metabolizing cytochromes P450. *Anal Biochem.* 248, 188–190.
- Cullen, A.C., Frey, H.C. 1999. Probabilistic techniques in Exposure assessment. Plenum Press, New York.
- Desalegn, A., Bopp, S., Asturiol, D., Lamon, L., Worth, A., Paini, A. 2019. Role of physiologically based Kinetic modelling in addressing environmental chemical mixtures – A review. *Computational Toxicology* 10, 158–168.
- Dennison, J.E., Andersen, M.E., Dobrev, I.D., Mumtaz, M.M., Yang, R.S. 2004. PBPK modeling of complex hydrocarbon mixtures: gasoline. *Env Toxicol Pharmacol.* 16, 107-119.
- Dorne, J.L. 2007. Human variability in hepatic and renal elimination: Implications for risk assessment. *J Appl Toxicol.* 27, 411-420.
- Dorne, J.L., Walton, K., Renwick, A.G. 2004a. Human variability for metabolic pathways with limited data. (CYP2A6, CYP2C9, CYP2E1, ADH, esterases, glycine and sulphate conjugation). *Food Chem Toxicol.* 42, 397-421.
- Dorne, J.L., Walton, K., Renwick, A.G. 2003b. Human variability in CYP3A4 metabolism and CYP3A4-related uncertainty factors. *Food Chem Toxicol.* 41, 201-224.
- Dorne, J.L., Walton, K., Renwick, A.G. 2001b. Human variability in glucuronidation in relation to uncertainty factors for risk assessment. *Food Chem Toxicol.* 39, 1153-1173.
- Dorne, J.L., Walton, K., Renwick, A.G., 2004b. Human variability in the renal elimination of foreign compounds and renal excretion-related uncertainty factors for risk assessment. *Food Chem Toxicol.* 42, 275-298.

- Dorne, J.L., Walton, K., Renwick, A.G. 2005. Human variability in xenobiotic metabolism and pathway-related uncertainty factors for chemical risk assessment: a review. *Food Chem Toxicol.* 43, 203-216.
- Dorne, J.L., Walton, K., Renwick, A.G. 2003a. Polymorphism CYP2C19 and N-acetylation: human variability in kinetics and pathway-related uncertainty factors. *Food Chem Toxicol.* 41, 225-245.
- Dorne, J.L., Walton, K., Renwick, A.G. 2001a. Uncertainty factors for chemical risk assessment. Human variability in the pharmacokinetics of CYP1A2 probe substrates. *Food Chem Toxicol.* 39, 681-696.
- Dorne, J.L., Walton, K., Slos, W., Renwick, A.G. 2002. Human variability in polymorphic CYP2D6 metabolism: is the kinetic default uncertainty factor adequate? *Food Chem Toxicol.* 40, 1633-1656.
- Edgington, A.N., Schmitt, W., Willmann, S. 2006. Development and evaluation of a generic physiologically based pharmacokinetic model for children. *Clin Pharmacokinet.* 45, 1013–1034.
- El-Masri, H.A., Bell, D.A., Portier, C.J. 1999. Effects of glutathione transferase theta polymorphism on the risk estimates of dichloromethane to humans. *Toxicol Appl Pharmacol.* 158, 221-230.
- El-Masri, H.A., Mumtaz, M.M., Yushak, M.L. 2004. Application of physiologically-based pharmacokinetic modeling to investigate the toxicological interaction between chlorpyrifos and parathion in the rat. *Env Toxicol Pharmacol.* 16, 57-71.
- Exley, K., Cano, N., Aerts, D., Biot, P., Casteleyn, L., Kolossa-Gehring, M., Schwedler, G., Castaño, A., Angerer, J., Koch, H.M., Esteban, M., Schoeters, G., Den Hond, E., Horvat, M., Bloemen, L., Knudsen, L.E., Joas, R., Joas, A., Dewolf, M.C., Van de Mieroop, E., Katsonouri, A., Hadjipanayis, A., Cerna, M., Krskova, A., Becker, K., Fiddicke, U., Seiwert, M., Mørck, T.A., Rudnai, P., Kozepesy, S., Cullen, E., Kellegher, A., Gutleb, A.C., Fischer, M.E., Ligocka, D., Kamińska, J., Namorado S., Reis, M.F., Lupsa, I.R., Gurzau, A.E., Halzlova, K., Jajcaj, M., Mazej, D.,

- Tratnik, J.S., Huetos, O., López, A., Berglund, M., Larsson, K., Sepai, O. 2015. Communication in a Human biomonitoring study: Focus group work, public engagement and lessons learnt in 17 European countries. *Environ Res.* 141, 31-41.
- Faustman, E.M., Ribeiro, P.L. 1990. Pharmacokinetic considerations in developmental toxicity. Dans R.D. Hood (Ed.), *Developmental toxicology: risk assessment and the future*, Van Nostrand Reinhold, New York, NY. pp. 109-135.
- Fayemiwol, O.M., Daramolall, M.O., Moothil, K. 2017. BTEX compounds in water - future trends and directions for water treatment. *Water SA* 43, 602-613.
- Fisher, J.W., Yang, X., Mehta, D., Housand, C., Lin, Z. 2020. Fundamentals of physiologically based pharmacokinetic modeling. Dans J.W. Fisher, J.M. Gearhart, Z. Lin (Eds.). *Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling. Methods and Applications in Toxicology in Toxicology and Risk Assessment*, Academic Press, India, Chennai. pp. 57-80.
- Gearhart, J.M., Jepson, G.W., Clewell, H.J., Andersen, M.E., Conolly, R.B. 1994. Physiologically based pharmacokinetic model for the inhibition of acetylcholinesterase by organophosphate esters. *Env Health Perspect.* 102, 51-60.
- Gentry, P.R., Clewell III, H.J. 2007. Use of Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling to Evaluate Implications of Human Variability. DANS J.C. Lipscomb, E. Ohanian (Eds.), *Toxicokinetics and Risk Assessment*, Informa Healthcare USA, New York. pp. 211-229.
- Gibaldi, M., Perrier, D. (Eds.). 1982. *Pharmacokinetics*, Marcel Dekker Inc., New York, NY.
- Gomez-Lechon, M.J., Castell, J.V., Donato, M.T. 2007. Hepatocytes—the choice to investigate drug metabolism and toxicity in man: In vitro variability as a reflection of in vivo. *Chem Biol Interact.* 168, 30–50.
- Haber, L. 2007. Overview of Approach to Noncancer Risk Assessment. Dans J.C. Lipscomb, E.V. Ohanian (Eds.), *Toxicokinetics and Risk Assessment*, Informa healthcare, New York, NY. pp. 1-25.

- Hack, C.E., Efremenko, A.Y., Pendse, S.N., Ellison, C.A., Najjar, A., Hewitt, N., Schepky, A., Clewell III, H.J. 2020. Physiologically based pharmacokinetic modeling software. Dans J.W. Fisher, J.M. Gearhart, Z. Lin (Eds.). Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling. Methods and Applications in Toxicology in Toxicology and Risk Assessment, Academic Press, India, Chennai. pp. 81-126.
- Haddad, S., Béliveau, M., Tardif, R., Krishnan, K. 2001a. A PBPK modeling-based approach to account for interactions in the health risk assessment of chemical mixtures. *Toxicol Sci.* 63, 125-131.
- Haddad, S., Charest-Tardif, G., Krishnan, K. 2000a. Physiologically based modeling of the maximal effect of metabolic interactions on the kinetics of components of complex chemical mixtures. *J Toxicol Environ Health A.* 61, 209-223.
- Haddad, S., Charest-Tardif, G., Tardif, R., Krishnan, K. 2000b. Validation of a physiological modeling framework for simulating the toxicokinetics of chemicals in mixtures. *Toxicol Appl Pharmacol* 167, 199-209.
- Haddad, S., Krishnan, K. 1998. Physiological modeling of toxicokinetic interactions: implications for mixture risk assessment. *Environ Health Perspect.* 106, 1377-84.
- Haddad, S., Pelekis, M., Krishnan, K. 1996. A methodology for solving physiologically based pharmacokinetic models without the use of simulation softwares. *Toxicol Lett.* 85, 113–126.
- Haddad, S., Restieri, C., Krishnan, K. 2001b. Characterization of age-related changes in body weight and organ weights from birth to adolescence in humans. *J Toxicol Environ Health A.* 64, 453-464.
- Haddad, S., Tardif, R., Boyd, J., Krishnan, K. 2010. Physiologically based modeling of the pharmacokinetic interactions in chemical mixtures. Dans K. Krishnan, M. E. Andersen (Eds.), *Quantitative modeling in toxicology*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK. pp. 83-105.

- Haddad, S., Tardif, R., Charest-Tardif, G., Krishnan, K. 1999. Physiological modeling of the toxicokinetic interactions in a quaternary mixture of aromatic hydrocarbons. *Toxicol Appl Pharmacol.* 161, 249-257.
- Haddad, S., Tardif, G-C., Tardif, R. 2006. Development of Physiologically Based Toxicokinetic Models for Improving the Human Indoor Exposure Assessment to Water Contaminants: Trichloroethylene and Trihalomethanes. *J Toxicol Environ Health A.* 69, 2095-2136.
- Haines, D.A., Saravanabhavan, G., Werry, K., Khoury, C. 2017. An overview of human biomonitoring of environmental chemicals in the Canadian Health Measures Survey: 2007–2019. *Int J Hyg Environ Health.* 220, 13-28.
- Hays, S.M., Aylward, L.L., LaKind, J.S., Bartels, M.J., Barton, H.A., Boogaard, P.J., Brunk, C., DiZio, S., Dourson, M., Goldstein, D.A., Lipscomb, J., Kilpatrick, M.E., Krewski, D., Krishnan, K., Nordberg, M., Okino, M., Tan, Y.M., Viau, C., Yager, J.W. 2008. Biomonitoring Equivalents Expert Workshop. Guidelines for the derivation of Biomonitoring Equivalents: report from the Biomonitoring Equivalents Expert Workshop. *Regul Toxicol Pharmacol.* 51, S4-15.
- Health Canada. 2017. Guidelines for Canadian Drinking Water Quality—Summary Table. Water and Air Quality Bureau, Healthy Environments and Consumer Safety Branch, Health Canada, Ottawa, Ontario. Repéré à : https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/ewh-semt/alt_formats/pdf/pubs/water-eau/sum_guide-res_recom/sum_guide-res_recom-eng.pdf
- Health Canada. 2010a. Regina Indoor Air Quality Study (2007): Data Summary for Volatile Organic Compound Sampling. Repéré à : http://publications.gc.ca/collections/collection_2012/sc-hc/H128-1-10-617-eng.pdf
- Health Canada. 2016. Residential Indoor Air Quality Guideline: Toluene. Repéré à : <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/publications/healthy-living/residential-indoor-air-quality-guideline-toluene.html>

- Health Canada. 2010b. Windsor Exposure Assessment Study (2005–2006): Data Summary for Volatile Organic Compound Sampling. Repéré à : http://publications.gc.ca/collections/collection_2012/sc-hc/H128-1-10-618-eng.pdf
- Héroux, M-È., Gauvin, D., Gilbert, N.L., Guay, M., Dupuis, G., Legris, M., Lévesque, B. 2008. Housing characteristics and indoor concentrations of selected volatile organic compounds (VOCs) in Quebec City, Canada. *Indoor Built Environ.* 17, 128-137.
- Heys, K.A., Shore, R.F., Pereira, M.G., Jones, K.C., Martin, F.L. 2016. Risk assessment of environmental mixture effects. *RSC Adv.* 6, 47844–47857.
- Hsieh, N.-H., B. Reisfeld, F. Y. Bois, and W. A. Chiu. 2018. Applying a global sensitivity analysis workflow to improve the computational efficiencies in physiologically-based pharmacokinetic modeling. *Front Pharmacol* 9:588.
- Huizer, D., Oldenkamp, R., Ragas, Ad M.J., van Rooij, J.G.M, Huijbregts, M.A.J. 2012. Separating uncertainty and physiological variability in human PBPK modelling: The example of 2-propanol and its metabolite acetone. *Toxicol Lett.* 214, 154-165.
- Ikeda, M., Ukai, H., Kawai, T., Inoue, O., Maejima, Y., Fukui, Y., Ohashi, F., Okamoto, S., Takada, S., Sakurai, H. 2008. Changes in correlation coefficients of exposure markers as a function of intensity of occupational exposure to toluene. *Toxicol Lett.* 179, 148–154.
- Inoue, O., Kanno, E., Kasai, K., Ukai, H., Okamoto, S., Ikeda, M. 2004. Benzylmercapturic acid is superior to hippuric acid and o-cresol as a urinary marker of occupational exposure to toluene. *Toxicol Lett.* 147, 177–186.
- INRS (Institut National de Recherche et de Sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles) 2017. Publications et outils. Biotox. Toluène. Nature du dosage : Acide S-benzylmercapturique (S-BMA) urinaire. Repéré à : http://www.inrs.fr/publications/bdd/biotox/dosage.html?refINRS=DosageN_429

- INSPQ (Institut National de Santé Publique du Québec) 2012. Lignes directrices pour la réalisation des évaluations du risque toxicologique d'origine environnementale au Québec. Auteur.
- Jamei, M., Dickinson, G.L., Rostami-Hodjegan, A. 2009. A framework for assessing interindividual variability in pharmacokinetics using virtual human populations and integrating general knowledge of physical chemistry, biology, anatomy, physiology and genetics: a tale of 'bottom-up' vs 'top-down' recognition of covariates. *Drug Metab Pharmacokinet* 24, 53–75.
- Johnsrud, E.K., Koukouritaki, S.B., Divakaran, K., Brunengraber, L.L., Hines, R.N., McCarver, D.G. 2003. Human hepatic CYP2E1 expression during development. *J Pharmacol Exp Ther.* 307, 402-407.
- Jonsson, F., Johanson, G. 2001. A Bayesian analysis of the influence of GSTT1 polymorphism on the cancer risk estimate for dichloromethane. *Toxicol Appl Pharmacol.* 174, 99-112.
- Kato, M., Chiba, K., Ito, T., Koue, T., Sugiyama, Y. 2010. Prediction of interindividual variability in pharmacokinetics for CYP3A4 substrates in humans. *Drug Metab Pharmacokinet.* 25, 367-378.
- Kienzler, A., Bopp, S.K., Van Der Linden, S., Berggren, E., Worth, A. 2016. Regulatory assessment of chemical mixtures: requirements, current approaches and future perspectives. *Regul Toxicol Pharm.* 80, 321–334.
- Kolossa-Gehring, M., Fiddicke, U., Leng, G., Angerer, J., Wolz, B. 2017. New human biomonitoring methods for chemicals of concern-the German approach to enhance relevance. *Int J Hyg Environ Health.* (Pt A): 220, 103-112.
- Krauer, B., Krauer, F., Hytten, F.E. 1980. Drug disposition and pharmacokinetics in the maternal-placental-fetal unit. *Pharmacol Ther.* 10, 301-328.
- Krishnan, K., Andersen, M.E. 2008. Physiologically based pharmacokinetic and toxicokinetic models. Dans A.W. Hayes (Ed.), *Principles and Methods of Toxicology*, CRC Press, Boca Raton. pp.231-292.

- Krishnan, K., Andersen, M.E. 1994. Physiologically based pharmacokinetic modeling in toxicology. Dans W. Hayes (Ed.), Principles and methods of toxicology, Raven press Ltd, New-York. pp. 149-188.
- Krishnan, K., Anderson, M.E (Eds.). 2010. Quantitative modeling in toxicology, John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey.
- Krishnan, K., Carrier, R. 2008. Approaches for evaluating the relevance of multiroute exposures in establishing guideline values for drinking water contaminants. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 26, 300-16.
- Krishnan, K., Haddad, S., Béliveau, M., Tardif, R. 2002. Physiological Modeling and Extrapolation of Pharmacokinetic Interactions from Binary to More Complex Chemical Mixtures. *Environ Health Perspect.* 110, 989-994.
- Krishnan, K., Johanson, G. 2005. Physiologically-based pharmacokinetic and toxicokinetic models in cancer risk assessment. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 23, 31-53.
- Liao, K. H., Tan, Y-M., Clewell, H.J. 3rd. 2007. Development of a screening approach to interpret human biomonitoring data on volatile organic compounds: Reverse dosimetry on biomonitoring data for trichloroethylene. *Risk Anal.* 27, 1223–1236.
- Limtrakul, P., Khantamat, O., Pintha, K. 2005. Inhibition of P-Glycoprotein function and expression by Kaempferol and Quercetin. *J Chemother* 17, 86-95.
- Lin, Z., Fisher, J.W. 2020. A history and recent efforts of selected physiologically based pharmacokinetic modeling topics. Dans J.W. Fisher, J.M. Gearhart, Z. Lin (Eds.). *Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling. Methods and Applications in Toxicology in Toxicology and Risk Assessment*, Academic Press, India, Chennai. pp. 1-26.
- Lin, J.H., Lu, A.Y.H. 1998. Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. *Clin Pharmacokinet* 35, 361–390.
- Lipscomb, J.C., Poet, T.S. 2008. In vitro measurements of metabolism for application in pharmacokinetic modeling. *Pharmacol Ther.* 118, 82-103.

- Lipscomb, J.C., Teuschler, L.K., Swartout, J., Popken, D., Cox, T., Kedderis, G.L. 2003. The impact of cytochrome P450 2E1-dependent metabolic variance on a risk-relevant pharmacokinetic outcome in humans. *Risk Anal.* 23, 1221-1238.
- Loizou, G., Spendiff, M., Barton, H.A., Bessems, J., Bois, F.Y., d'Yvoire, M.B, Buist, H., Clewell 3rd, H.J., Meek, B., Gundert-Remy, U., Goerlitz, G., Schmitt, W. 2008. Development of good modelling practice for physiologically based pharmacokinetic models for use in risk assessment: The first steps. *Regul Toxicol Pharmacol.* 50, 400-411.
- Lovreglio, P., Barbieri, A., Carrieri, M., Sabatini, L., Fracasso, M.E., Doria, D., Drago, I., Basso, A., D'Errico, M.N., Bartolucci, G.B., Violante, F.S., Soleo, L. 2010. Validity of new biomarkers of internal dose for use in the biological monitoring of occupational and environmental exposure to low concentrations of benzene and toluene. *Int Arch Occup Environ Health.* 83, 341–356.
- Maestri, L., Ghittori, S., Imbriani, M. 1997. Determination of specific mercapturic acids as an index of exposure to environmental benzene, toluene, and styrene. *Ind Health.* 35, 489-501.
- Marchand, A., Aranda-Rodriguez, R., Tardif, R., Nong, A., Haddad, S. 2015. Human inhalation exposures to toluene, ethylbenzene, and m-xylene and physiologically based pharmacokinetic modeling of exposure biomarkers in exhaled air, blood, and urine. *Toxicol Sci.* 144, 414-424.
- Martin, S.A., Campbell, J.L., Tremblay, R.T., Fisher, J.W. 2012a. Development of a physiologically based pharmacokinetic model for inhalation of jet fuels in the rat. *Inhal Toxicol.* 24, 1-26.
- Martin, S.A., McLanahan, E.D., El-Masri, H., LeFew, W.R., Bushnell, P.J., Boyes, W.K., Choi, K., Clewell 3rd, H.J., Campbell Jr, J.L. 2012b. Development of multi-route physiologically-based pharmacokinetic models for ethanol in the adult, pregnant, and neonatal rat. *Inhal Toxicol.* 24, 698-722.

- Martiny, V.Y., Miteva, M.A. 2013. Advances in molecular modeling of human cytochrome P450 polymorphism. *J Mol Biol.* 425, 3978-3992.
- Mattison, D.R. 1990. Fetal pharmacokinetic and physiological models. Dans R.D. Hood (Ed.), *Developmental toxicology: risk assessment and the future*, Van Nostrand Reinhold, New York. pp. 137-154.
- Mattison, D.R., Blann, E., Malek, A. 1991. Physiological alterations during pregnancy: impact on toxicokinetics. *Fundam Appl Toxicol.* 16, 215-218.
- Meek, M.E., Renwick, A., Ohanian, E., Dourson, M., Lake, B., Naumann, B.D., Vu, V. 2002. Guidelines for application of chemical-specific adjustment factors in dose/concentration-response assessment. *Toxicology* 2002, 181-182, 115-120.
- Millennium Ecosystem Assessment. 2005. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Island Press, Washington, DC. Repéré à: <http://www.millenniumassessment.org/documents/document.356.aspx.pdf>
- Mörk, A.K., Johanson, G. 2010. Chemical-specific adjustment factors for intraspecies variability of acetone toxicokinetics using a probabilistic approach. *Toxicol Sci.* 116, 336-348.
- Mumtaz, M.M., Ray, M., Crowell, S.R., Keys, D., Fisher, J., Ruiz, P. 2012. Translational research to develop a human PBPK models tool kit-volatile organic compounds (VOCs). *J Toxicol Environ Health A.* 75, 6-24.
- Neafsey, P., Ginsberg, G., Hattis, D., Johns, D.O., Guyton, K.Z., Sonawane, B. 2009. Genetic polymorphism in CYP2E1: Population distribution of CYP2E1 activity. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 12, 362-388.
- Nestorov, I. 2001. Modelling and simulation of variability and uncertainty in toxicokinetics and pharmacokinetics. *Toxicol Lett.* 120, 411-420.
- Nong, A., Krishnan, K. 2007. Estimation of interindividual pharmacokinetic variability factor for inhaled volatile organic chemicals using a probability-bounds approach. *Regul Toxicol Pharmacol.* 48, 93-101.

- Nong, A., McCarver, D.G., Hines, R.N., Krishnan, K. 2006. Modeling interchild differences in pharmacokinetics on the basis of subject-specific data on physiology and hepatic CYP2E1 levels: a case study with toluene. *Toxicol Appl Pharmacol.* 214, 78-87.
- NRC (National Research Council), Committee on the Institutional Means for Assessment of Risks to Public Health 1983. *Risk Assessment in the Federal Government: Managing the process.* Nat Acad Press. Washington DC (USA).
- Oliveira, M., Slezakova, K., Delerue-Matos, C., Pereira, M.D.C., Morais, S. 2017. Indoor air quality in preschools (3- to 5-year-old children) in the Northeast of Portugal during spring-summer season: Pollutants and comfort parameters. *J Toxicol Environ Health A.* 80, 740-755.
- Paini, A., Leonard, J.A., Kliment, T., Tan, Y.M., Worth, A. 2017. Investigating the state of physiologically based kinetic modelling practices and challenges associated with gaining regulatory acceptance of model applications. *Regul Toxicol Pharmacol.* 90, 104-115.
- Parkinson, A., Mudra, D.R., Johnson, C., Dwyer, A., Carroll, K.M. 2004. The effects of gender, age, ethnicity, and liver cirrhosis on cytochrome P450 enzyme activity in human liver microsomes and inductibility in cultured human hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol.* 199, 193-209.
- Pelekis, M., Gephart, L.A, Lerman S.E. 2001. Physiologically-model-based derivation of the adult and child pharmacokinetic intraspecies uncertainty factors for volatile organic compounds. *Regul Toxicol Pharmacol.* 33, 12-20.
- Pelekis, M., Nicolich, M.J., Gauthier, J.S. 2003. Probabilistic framework for the estimation of the adult and child toxicokinetic intraspecies uncertainty factors. *Risk Anal.* 23, 1239-1255.
- Phillips, M.B., Sobus, J.R., George, B.J., Isaacs, K., Conolly, R., Tan, Y-M. 2014. A new method for generating distributions of biomonitoring equivalents to support

- exposure assessment and prioritization. *Regul Toxicol Pharmacol.* 69, 434-442.
doi: 10.1016/j.yrtph.2014.05.008
- Pierce, C.H., Dills, R.L., Morgan, M.S., Vicini, P., Kalman, D.A. 1998. Biological monitoring of controlled toluene exposure. *Int Arch Occup Environ Health.* 71, 433-444.
- Pouillot, R., Delignette-Muller, M-L., Kelly, D.L., Denis, J-B. 2016. The mc2d package.
Répéré à :
<https://cran.rproject.org/web/packages/mc2d/vignettes/docmcEnglish.pdf>
- Prasad, B., Lai, Y., Lin, Y., Unadkat, J.D. 2013. Interindividual Variability in the Hepatic Expression of the Human Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2): Effect of Age, Sex, and Genotype. *J Pharm Sci.* 102, 787-793.
- Price, P.S., Conolly, R.B., Chaisson, C.F., Gross, E.A., Young, J.S., Mathis, E.T., Tedder, D.R. 2003b. Modeling interindividual variation in physiological factors used in PBPK models of humans. *Crit Rev Toxicol.* 33, 469–503
- Price, K., Haddad, S., Krishnan, K. 2003a. Physiological modeling of age-specific changes in the pharmacokinetics of organic chemicals in children. *J Toxicol Environ Health A.* 66, 417-433.
- Purcell, K.J., Cason, G.H., Gargas, M.L., Andersen, M.E., Travis, C.C. 1990. In vivo metabolic interactions of benzene and toluene. *Toxicol Lett.* 52, 141–152.
- Rasmussen, B.B., Brix, T.H., Kyvik, K.O., Brosten, K. 2002. The interindividual differences in the 3-demethylation of caffeine alias CYP1A2 is determined by both genetic and environmental factors. *Pharmacogenetics* 12, 473–478.
- Renwick, A.G. 1993. Data-derived safety factors for the evaluation of food additives and environmental contaminants. *Food Addit Contam.* 10, 275–305.
- Renwick, A.G., Lazarus, N.R. 1998. Human variability and non-cancer risk assessment—an analysis of the default uncertainty factor. *Regul Toxicol Pharmacol* 27:3–20.

- Robinson, P.J., Gearhart, J.M., Mahle, D.A., Merrill, E.A., Sterner, T.R., Yu, K.O. 2007. Overview of Approach to Noncancer Risk Assessment. Dans J.C. Lipscomb, E.V. Ohanian (Eds.), *Toxicokinetics and Risk Assessment*, Informa healthcare, New York, NY. pp. 141-166.
- Ronis, M.J.J., Lindros, K.O., Ingelman-Sundberg, M. 1996. The CYP2E family. Dans C. Ioannides (Ed.), *Cytochrome P450 Metabolic and Toxicological Aspects*, CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 211-240.
- Rowland, A., Miners, J.O., Mackenzie, P.I. 2013. The UDP-glucuronosyltransferases: Their role in drug metabolism and detoxification. *Int J Biochem Cell Biol.* 45, 1121–1132.
- Ruark, C.D., Song, G., Yoon, M., Verner, M.A., Andersen, M.E., Clewell 3rd, H.J., Loongnecker, M.P. 2017. Quantitative bias analysis for epidemiological associations of perfluoroalkyl substance serum concentrations and early onset of menopause. *Environ Int.* 99, 245-254.
- Sager, J.E., Lutz, J.D., Foti, R.S., Davis, C., Kunze, K.L., Isoherranen, N. 2014. Fluoxetine and norfluoxetine mediated complex drug-drug interactions: in vitro to in vivo correlation of effects on CYP2D6, CYP2C19 and CYP3A4. *Clin Pharmacol Ther.* 95, 653-662.
- Santé Canada. 2016. Ligne directrice sur la qualité de l'air intérieur résidentiel : Toluène. Repéré à : <http://canadiensensante.gc.ca/publications/healthy-living-vie-saine/toluene/index-fra.php>
- Sarangapani, R., Gentry, P.R., Covington, T.R., Teeguarden, J.G., Clewell 3rd, H.J. 2003. Evaluation of the potential impact of age- and gender-specific lung morphology and ventilation rate on the dosimetry of vapor. *Inhal Toxicol.* 15, 987-1016.
- Sarigiannis, D.A., Karakitsios, S., Dominguez-Romero, E., Papadaki, K., Brochot, C., Kumar, V., Schuhmacher, M., Sy, M., Mielke, H., Greiner, M., Mengelers, M., Martin Scheringer, M. 2019. Physiology-based toxicokinetic modelling in the

- frame of the European Human Biomonitoring Initiative. *Environ Res.* 172, 216–230.
- Schwedler, G., Seiwert, M., Fiddicke, U., Ißleb, S., Hölzer, J., Nendza, J., Wilhelm, M., Wittsiepe, J., Koch, H.M., Schindler, B.K., Göen, T., Hildebrand, J., Joas, R., Joas, A., Casteleyn, L., Angerer, J., Castano, A., Esteban, M., Schoeters, G., Den Hond, E., Sepai, O., Exley, K., Bloemen, L., Knudsen, L.E., Kolossa-Gehring, M. 2017. Human biomonitoring pilot study DEMOCOPHES in Germany: Contribution to a harmonized European approach. *Int J Hyg Environ Health.* 220, 686-696.
- Shimada, T., Yamazaki, H., Mimura, M., Inui, Y., Guengerich, F.P. 1994. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther.* 270, 414-423.
- Sica, D.A. 2006. Interaction of grapefruit juice and calcium channelblockers. *Am J Hypertens.* 19, 768–773.
- Singh, S.S. 2006. Preclinical pharmacokinetics: an approach towards safer and efficacious drugs. *Curr Drug Metab.* 7, 165–182.
- Statistique Canada. 2019. Enquête canadienne sur les mesures de la santé (ECMS). Repéré à : https://www23.statcan.gc.ca/imdb/p2SV_f.pl?Function=getInstanceList&Id=251160
- Strikwold, M., Spenkelink, B., Woutersen, R.A., Rietjens, I., Punt, A. 2017. Development of a combined in vitro physiologically based kinetic (PBK) and Monte Carlo modelling approach to predict interindividual human variation in phenol-induced developmental toxicity. *Toxicol Sci.* 157, 365-376.
- Talhout, R., Schulz, T., Florek, E., van Benthem, J., Wester, P., Opperhuizen, A. 2011. Hazardous compounds in tobacco smoke. *Int J Environ Res Public Health.* 8, 613-628.

- Tan, Y.-M., Clewell, H., Campbell, J., Andersen, M. 2011. Evaluating pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions with computational models in supporting cumulative risk assessment. *Int J Environ Res. Public Health* 8, 1613–1630.
- Tan, Y.M., Liao, K.H., Clewell, H.J. 3rd. 2007. Reverse dosimetry: interpreting trihalomethanes biomonitoring data using physiologically based pharmacokinetic modeling. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 17, 591–603.
- Tan, Y.M., Liao, K.H., Conolly, R.B., Blount, B.C., Mason, A.M., Clewell, H.J. 2006. Use of a physiologically based pharmacokinetic model to identify exposures consistent with human biomonitoring data for chloroform. *J Toxicol Environ Health A.* 69, 1727-1756.
- Tardif, R., Charest-Tardif, G., Brodeur, J., Krishnan, K. 1997. Physiologically based pharmacokinetic modeling of a ternary mixture of alkyl benzenes in rats and humans. *Toxicol Appl Pharmacol.* 144, 120-34.
- Tardif, R., Droz, P.O., Charest-Tardif, G., Pierrehumbert, G., Truchon, G. 2002. Impact of human variability on the biological monitoring of exposure to toluene: I. Physiologically based toxicokinetic modelling. *Toxicol Lett.* 134, 155–163.
- Tardif, R., Lapare, S., Charest-Tardif, G., Brodeur, J., Krishnan, K. 1995. Physiologically-based pharmacokinetic modeling of a mixture of toluene and xylene in humans. *Risk Anal.* 15, 335–342.
- Tardif, R., Lapare, S., Krishnan, K., Brodeur, J. 1993. Physiologically based modeling of the toxicokinetic interaction between toluene and m-xylene in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol.* 120, 266–273.
- Timchalk, C., Kousba, A., Poet, T.S. 2002. Monte Carlo analysis of the human chlorpyrifos-oxonase (PON1) polymorphism using a physiologically based pharmacokinetic and pharmacodynamic (PBPK/PD) model. *Toxicol Lett.* 135, 51-59.

- Tohon, H., Nong, A., Moreau, M., Valcke, M., Haddad, S. 2018. Reverse dosimetry modeling of toluene exposure concentrations based on biomonitoring levels from the Canadian health measures survey. *J Toxicol Environ Health A*. 81, 1066-1082.
- Tohon, H., Valcke, M., Haddad, S. 2019. An assessment of the impact of multi-route co-exposures on human variability in toxicokinetics: A case study with binary and quaternary mixtures of volatile drinking water contaminants. *J Appl Toxicol*. 39, 974-991.
- Thomas, R.S., Bigelow, P.L., Keefe, T.J., Yang, R.S. 1996. Variability in biological exposure indices using physiologically based pharmacokinetic modeling and Monte Carlo simulation. *Am Ind Hyg Assoc J*. 57, 23–32.
- Ukai, H., Kawai, T., Inoue, O., Maejima, Y., Fukui, Y., Ohashi, F., Okamoto, S., Takada, S., Sakurai, H., Ikeda, M. 2007. Comparative evaluation of biomarkers of occupational exposure to toluene. *Int Arch Occup Environ Health*. 81, 81-93.
- U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency) 2012. 2012 Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories (EPA/822/S/12/001). Repéré à : https://rais.ornl.gov/documents/2012_drinking_water.pdf
- U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency) 1989. Risk assessment guidance for Superfund. Volume 1 : Human health evaluation manual (Part A). Auteur. Washington, DC (USA), 248 p
- U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency) 2005. Supplemental Guidance for Assessing Susceptibility from Early-Life Exposure to Carcinogens. Document no. EPA/630/R-03/003F. Repéré à : https://www3.epa.gov/airtoxics/childrens_supplement_final.pdf
- U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency) 2011. Toxicological review of trichloroethylene. Document no. EPA/635/R-09/011F. Repéré à : https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/toxreviews/0199tr/0199tr.pdf

- U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency) 2000. Toxicological review of vinyl chloride. Document no EPA/635R-00/004. Repéré à : https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/toxreviews/1001tr.pdf
- Valcke, M. 2011. Caractérisation de la composante toxicocinétique du facteur d'ajustement pour la variabilité interindividuelle utilisé en analyse du risque toxicologique (Thèse de doctorat). Repéré à : https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/bitstream/handle/1866/6098/Valcke_Mathieu_2011_these.pdf?sequence=4&isAllowed=y
- Valcke, M., Haddad, S. 2015. Assessing Human Variability in Kinetics for Exposures to Multiple Environmental Chemicals: A Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling Case Study with Dichloromethane, Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and m-Xylene. *J Toxicol Environ Health A*. 78, 409-431.
- Valcke, M., Krishnan, K. 2010. An assessment of the interindividual variability of internal dosimetry during multi-route exposure to drinking water contaminants. *Int J Environ Res Public Health*. 7, 4002-4022.
- Valcke, M., Krishnan, K. 2013. Assessing the impact of child/adult differences in hepatic first-pass effect on the human kinetic adjustment factor for ingested toxicants. *Regul Toxicol Pharmacol*. 65, 126-134.
- Valcke, M., Krishnan, K. 2011ac. 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. *Inhal Toxicol*. 23, 863-877.
- Valcke, M., Krishnan, K. 2011cb. An assessment of the impact of physico-chemical and biochemical characteristics on the human kinetic adjustment factor for systemic toxicants. *Toxicology*. 286, 36-47.
- Valcke, M., Krishnan, K. 2014. Characterization of the human kinetic adjustment factor for the health risk assessment of environmental contaminants. *J Appl Toxicol*. 34, 227-240.

- Valcke, M., Krishnan, K. 2011ba. Evaluation of the impact of the exposure route on the human kinetic adjustment factor. *Regul Toxicol Pharmacol.* 59, 258-269.
- Valcke, M., Krishnan, K. 2009. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling in the Risk assessment of Developmental Toxicants. Dans D.K. Hansen, B.D. Abbott (Eds.), *Developmental Toxicology*, Informa Health Care, New York, NY, pp. 243-274.
- Valcke, M., Nong, A., Krishnan, K. 2012. Modeling the human kinetic adjustment factor for inhaled volatile organic chemicals: whole population approach versus distinct subpopulation approach. *J Toxicol.*
- Vesell, E. S., Page, J. G. 1968. Genetic control of dicumarol levels in man. *J Clin Invest* 47, 2657–2663.
- Walker, K., Hattis, D., Russ, A., Sonawane, B., Ginsberg, G. 2007. Approaches to acrylamide physiologically based toxicokinetic modeling for exploring child-adult dosimetry differences. *J Toxicol Environ Health A.* 70, 2033-2055.
- WHO (World Health Organization) 2000. Evaluation and Use of Epidemiological Evidence for Environmental Health Risk Assessment: WHO Guideline Document. Workshop summary. World Health Organization, WHO working group. *Environmental Health Perspectives* 10. Repéré à : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1240136/pdf/ehp0108-000997.pdf>
- WHO (World Health Organization) 2005. Trichloroethene in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. WHO/SDE/WSH/05.08/22. Repéré à http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/trichloroethenemay05.pdf
- WHO (World Health Organization) 2004. Vinyl Chloride in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. WHO/SDE/WSH/03.04/119. Repéré à http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/vinylchloride.pdf

- WHO/IPCS (World Health Organization/International Program on Chemical Safety) 2010. Characterization and application of physiologically based pharmacokinetic models in risk assessment. IPCS Harmonization document, n° 9. World Health Organization. Geneva. Repéré à : http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/pbpbk_models.pdf?ua=1.
- WHO/IPCS (World Health Organization/International Program on Chemical Safety). 2005. Chemical-Specific Adjustment Factors (CSAFs) for Inter-species Differences and Human Variability: Guidance Document for the Use of Data in Dose/Concentration-Response Assessment. World Health Organization. Geneva. Repéré à : https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43294/9241546786_eng.pdf;jsessionid=940EC5850E7F520025AF7A356FC3BD05?sequence=1
- Willmann, S., Edginton, A.N., Kleine-Besten, M., Jantratid, E., Thelen, K., Dressman, J.B. 2009. Whole-body physiologically-based pharmacokinetic population modelling of oral drug administration: inter-individual variability of cimetidine absorption. *J Pharm Pharmacol.* 61, 891–899.
- Willmann, S., Höhn, K., Edginton, A., Sevestre, M., Solodenko, J., Weiss, W., Lippert, J., Schmitt, W. 2007. Development of a physiology-based whole-body population model for assessing the influence of individual variability on the pharmacokinetics of drugs. *J Pharmacokinetic Pharmacodyn.* 34, 401–431.
- Wolbold, R., Klein, K., Burk, O., Nussler, A.K., Neuhaus, P., Eichelbaum M., Schwab, M., Zanger, U.M. 2003. Sex is a major determinant of CYP3A4 expression in human liver. *Hepatology.* 38, 978-988.
- Won, D., Magee, R.J., Yang, W., Luszyk, E., Nong, G., Shaw, C.Y. 2005. A material emission database for 90 target VOCs. NRC Publications Archive (NRCC- 48314). Repéré à : <https://nparc.nrc-cnrc.gc.ca/eng/view/accepted/?id=68dda0fe-cb9f-4afd-beb0-50cf817cc5d4>

- Yang, R., Andersen, M. 1994. Pharmacokinetics. Dans E. Hodgson, P. Levi (Eds.), Introduction to biochemical toxicology, Appleton and Lange, Norwalk, CT. pp. 49-73.
- Yang, X., Wu, H., Sullivan, M.C., Wang, J., Burckart, G.J., Troutman, J.A., Fisher, J.W. 2019. Ontogeny equations with probability distributions for anthropomorphic measurements in preterm and term neonates and infants for use in a PBPK model. *Comp Toxicol.* 11, 101-119.
- Yoon, M., Kedderis, G.L., Yan, G.Z., Clewell 3rd, H.J. 2015. Use of in vitro data in developing a physiologically based pharmacokinetic model: Carbaryl as a case study. *Toxicology* 332, 52-66.
- Zanger, U.M., Schwab, M. 2013. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther.* 138, 103-141.
- Zevin, S., Benowitz, N. L. 1999. Drug interactions with tobacco smoking. An update. *Clin Pharmacokinet.* 36, 425-438.
- Zhu, J., Newhook, R., Marro, L., Chan, C.C. 2005. Selected volatile organic compounds in residential air in the city of Ottawa, Canada. *Environ Sci Technol.* 39, 3964-3971.

Annexes

Autres contributions réalisées durant et en lien avec les études doctorales

EXPOSÉS LORS DE CONGRÈS, CONFÉRENCES

1- **Tohon H**, Valcke M, Nong A, Haddad S (2020). Estimation of toluene exposure in air from BMA (S-benzylmercapturic acid) urinary measures using a reverse dosimetry approach based on physiologically based pharmacokinetic modeling. **ePoster**, Annual meeting of the Society of Toxicology, Anaheim, Californie, États-Unis, mars 2020.

2- **Tohon H**, Valcke M, Nong A, Haddad S (2016). Développement d'une approche de dosimétrie inverse par modélisation PBPK pour interpréter les mesures de biosurveillance rapportées par l'Enquête Canadienne sur les Mesures de la Santé (ECMS-3). **Communication orale**, Congrès annuel de l'Acfas, Montréal, Québec, Canada, mai 2016.

3- **Tohon H**, Moreau M, Valcke M, Haddad S, Nong A (2016). Reverse dosimetry of toluene exposure concentrations based on biomonitoring levels from the Canadian Health Measures Survey. **Poster**, Annual meeting of the Society of Toxicology, Nouvelles-Orléans, Louisiane, États-Unis, mars 2016.

4- Valcke M, **Tohon H**, Nong A, Haddad S (2016). Evaluation of the magnitude of the age-dependant adjustment factor (ADAF): a kinetic-based case study with trichloroethylene and vinyl chloride. **Poster**, Annual meeting of the Society of Toxicology, Nouvelles-Orléans, Louisiane, États-Unis, mars 2016.

5- **Tohon H**, Valcke M, Nong A, Haddad S (2015). An assessment of the impact of concomitant exposure and human variability (HV) on the calculation of LEQ for three drinking water contaminant (DWCs). **Poster**, Annual meeting of the Society of Toxicology, San Diego, Californie, États-Unis, mars 2015.

6- Valcke M, **Tohon H**, Nong A, Haddad S (2015). Evaluation of the impact of multiple chemical exposure on the measure of human variability in toxicokinetics. **Poster**, Annual meeting of the Society of Toxicology, San Diego, Californie, États-Unis, mars 2015.

7- **Tohon H**, Valcke M, Nong A, Haddad S (2014). Characterization of the impact of chemicals interactions on the interindividual variability in toxicokinetic from the co-exposure to chemicals. **Poster**, Colloque annuel de la Société de Toxicologie du Canada, Ottawa, décembre 2014.

BOURSES ET DISTINCTIONS

1- “2019 Best Published Paper Advancing the Science of Risk Assessment Award”. Annual meeting of the Society of Toxicology, Anaheim, Californie, États-Unis, mars 2020. **(For Article 1)**

2- “2020 Perry J. Gehring Biological Modeling Endowment Award”. Annual meeting of the Society of Toxicology, Anaheim, Californie, États-Unis, mars 2020. **(For Article 3)**

3- “Graduate Student Travel Award”. Annual meeting of the Society of Toxicology, Anaheim, Californie, États-Unis, mars 2020.

4- “Bourse du CRDI aux chercheurs candidats au doctorat 2017”. Centre de Recherches pour le Développement International (CRDI), Ottawa, Canada, juillet 2017.

5- “Toxicologist of African Origin Graduate Student Award”. Annual meeting of the Society of Toxicology, Nouvelles-Orléans, Louisiane, États-Unis, mars 2016. **(For Article 2)**