

Université de Montréal

**Modélisation toxicocinétique de terres rares pour l'interprétation de données de  
biosurveillance**

Par

Mathieu Desrosiers

Département de santé environnementale et santé au travail

École de santé publique

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de maîtrise  
en Santé environnementale et santé au travail, option recherche

Avril 2021

© Mathieu Desrosiers, 2021



Université de Montréal

Unité académique: département de santé environnementale et santé au travail

*Ce mémoire intitulé*

**Modélisation toxicocinétique de terres rares pour l'interprétation de données de  
biosurveillance**

*Présenté par*

**Mathieu Desrosiers**

A été évalué(e) par un jury composé des personnes suivantes:

**Claude Emond**

Président-rapporteur

**Michèle Bouchard**

Directeur de recherche

**Mathieu Valcke**

Membre du jury

## Sommaire

La modélisation toxicocinétique est un outil efficace pour évaluer le devenir de contaminants dans l'organisme animal ou humain. Elle peut, entre autres, servir à reconstituer une exposition à ces contaminants dans le cadre d'études de biosurveillance de l'exposition populationnelle. Ce mémoire porte sur le développement d'un modèle toxicocinétique qui permet de relier des doses d'exposition aux métaux rares, aux concentrations dans le sang et les tissus ainsi qu'aux quantités excrétées de l'organisme. Ce modèle a été développé pour des terres-rares abondantes dans l'environnement et jusqu'ici peu étudiées: l'yttrium (Y), le cérium (Ce), le praséodyme (Pr) et le néodyme (Nd). Il est utile pour reconstruire des doses absorbées à partir de données dans des matrices biologiques accessibles comme l'urine et le sang et aider à mieux interpréter des données de biosurveillance de l'exposition à des contaminants. De nouvelles données expérimentales obtenues à partir d'études expérimentales chez le rat combinées à des données de la littérature ont servi à développer le modèle. Celui-ci comprend 20 compartiments représentant différents organes, la circulation sanguine, l'urine et les fèces. Les paramètres du modèle incluent des coefficients de transfert entre les compartiments, qui décrivent la vitesse de transfert d'un compartiment à l'autre et donc la cinétique de ces métaux. Un système d'équations différentielles a été utilisé pour décrire les échanges entre les compartiments. Une fois les paramètres déterminés à partir de la littérature et par ajustement aux données expérimentales acquises, le modèle a donné une bonne adéquation aux données expérimentales disponibles sur les profils temporels des quatre métaux dans le sang, l'urine et les fèces, ainsi que sur les niveaux présents dans les organes au sacrifice.

Ce modèle a ensuite servi à dériver un niveau biologique correspondant à une dose critique établie à partir d'études de toxicité chez le rat, soit la dose maximale sans effet nocif observé (NOAEL) chez le rat utilisée par la *U.S. Environmental Protection Agency* (U.S. EPA) pour établir des doses de référence par ingestion provisoires (p-RfD) chez l'humain à ne pas dépasser pour prévenir des effets sur la santé. Le modèle a ainsi été utilisé pour dériver les niveaux urinaires de métaux rares dans des collectes de 24 h et les concentrations urinaires correspondantes suite à la simulation d'une exposition quotidienne répétée par voie orale à cette dose critique (NOAEL) chez l'animal jusqu'à ce que l'état d'équilibre soit atteint. Afin d'obtenir une valeur biologique limite chez l'humain définie comme « équivalent biologique ou BE (de l'anglais : *Biomonitoring Equivalent*) », le facteur d'incertitude de 1000 utilisé par la U.S. EPA pour extrapoler le NOAEL animal à une dose de référence RfD chez l'humain a été utilisé pour les éléments disponibles. Les niveaux urinaires pouvant servir d'équivalents biologiques (BE) ont ainsi été établis à 0.03 et 0.07 µg/L pour le Pr et Nd uniquement. Les niveaux biologiques de métaux rares dans des populations exposées (niveaux urinaires ici) peuvent donc être directement comparés avec ces BE pour vérifier si des mesures devraient être prises pour réduire l'exposition. L'approche de modélisation peut être appliquée à d'autres terres rares dans une approche plus complète d'évaluation des risques associés à l'exposition à ces contaminants émergents. Il est aussi possible de recalculer les BE pour de nouvelles doses critiques.

**Mots-clés** : Lanthanides, terres-rares, modélisation, toxicocinétique, Yttrium, Néodyme, Cérium, Praséodyme, biosurveillance.

## **Abstract**

Toxicokinetic modeling is an effective tool for evaluating the fate of contaminants in the animal or human body. It can, among other things, be used to reconstruct exposure to these contaminants in biomonitoring studies of population exposure. This thesis focuses on the development of a toxicokinetic model allowing to link exposure doses of rare earth elements (REEs) to concentration in blood and tissues as well as to amounts excreted from the body. This model was developed for abundant REEs in the environment and so far poorly studied: yttrium (Y), cerium (Ce), praseodymium (Pr) and neodymium (Nd). It is useful to reconstruct doses absorbed from data in accessible biological matrices such as urine and blood and to help better interpret biomonitoring data for exposure assessment to contaminants. New data obtained from experimental studies in rats combined with data from the literature were used to develop the model. It consists of 20 compartments representing different organs, blood circulation, urine and faeces. The model parameters include transfer coefficients between compartments, which describe the rate of transfer from one compartment to another and therefore the kinetics of these metals. A differential equation system was used to describe the exchanges between the compartments. Once the parameters were determined from the literature and by adjustment to the experimental data acquired, the model gave a good match to the data available on the temporal profiles of the four metals in blood, urine and faeces, as well as levels present in the organs at sacrifice. This model was then used to establish a biological level corresponding to a critical dose established from toxicity studies in rats, i.e. the maximum “no observed adverse effect level” (NOAEL) dose in rats used by the U.S. Environmental Protection Agency to

establish provisional ingestion reference doses (RfD) in humans not to be exceeded to prevent health effects. The model was thus used to derive the urine levels of REEs in 24-h urine collections and the corresponding urine concentrations following the simulation of repeated daily oral exposure to this critical dose (NOAEL) in animals up until a state of equilibrium was reached. In order to obtain a biological limit value in humans defined as "biological equivalent or BE", the uncertainty factor of 1000 used by the U.S. EPA to extrapolate the animal NOAEL to a RfD reference dose in humans was used. Urinary levels that can serve as biological equivalents (BE) were thus established at 0.03 and 0.07  $\mu\text{g/L}$  for Pr and Nd. Biological levels of REEs in exposed populations (urinary levels here) can therefore be directly compared with these BEs to verify whether measures should be taken to reduce exposure. The modeling approach can be applied to other REEs in a more detailed risk assessment approach associated with exposure to these emerging contaminants. It is also easily possible to recalculate the BEs for new critical doses.

**Keywords:** Rare earth elements, toxicokinetics, modeling, lanthanides, yttrium, cerium, neodymium, praseodymium.

## Table des matières

Sommaire .....	i
Abstract.....	iii
Table des matières.....	v
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures .....	xi
Liste des sigles et abréviations.....	xiii
1 Introduction.....	1
1.1 Les terres rares et leurs propriétés physico-chimiques .....	1
1.2 Historique d'utilisation .....	2
1.3 Effets sur la santé .....	4
1.3.1 Études animales .....	5
1.3.2 Études humaines .....	8
1.4 Réglementation et valeurs de référence .....	9
1.5 Exposition de la population .....	10
1.5.1 Méthodes utilisées pour évaluer l'exposition .....	11
1.5.2 Exposition aux métaux rares.....	12
1.6 Toxicocinétique.....	13
1.7 Modélisation cinétique.....	16



1.8	Problématique .....	18
1.9	Objectif du mémoire .....	19
2	Méthode .....	21
2.1	Animaux et soins.....	21
2.2	Dosage et échantillonnage .....	21
2.3	Analyse des échantillons.....	22
2.4	Analyse des données expérimentales.....	23
2.5	Développement du modèle .....	23
2.6	Détermination des paramètres.....	26
2.7	Analyse de sensibilité .....	27
2.8	Détermination des équivalents de biosurveillance.....	27
3	Article .....	29
3.1	Introduction.....	31
3.2	Materials and Methods.....	35
3.2.1	Animals, care and acclimatization .....	35
3.2.2	Dosing and sample collection .....	35
3.2.3	Sample analysis.....	36
3.2.4	Experimental data analysis .....	37
3.2.5	Model development .....	38

3.2.6	Determination of parameter values .....	42
3.2.7	Sensitivity analysis.....	43
3.2.8	Determination of biomonitoring equivalents .....	44
3.3	Results.....	46
3.3.1	Experimental study in rats .....	46
3.3.2	Model parameters, simulation of experimental data and sensitivity analysis 52	
3.3.3	Biomonitoring equivalents.....	61
3.4	Discussion.....	62
3.4.1	Novel kinetic data in rats .....	62
3.4.2	A biologically-based toxicokinetic model for the studied REEs .....	64
3.4.3	Determination of biomonitoring equivalents for the studied REEs with the toxicokinetic model.....	69
3.5	Conclusion .....	70
	References.....	72
4	Discussion.....	79
4.1	Description des résultats et comparaison avec la littérature .....	79
4.2	Développement du modèle .....	81
4.3	Flexibilité du modèle pour évaluer l'exposition par voie orale ou à fortes doses 82	

4.4	Modification du modèle pour l'exposition par inhalation .....	84
4.5	Forme d'exposition aux métaux rares .....	85
4.6	Impact de la dose .....	86
4.7	Extrapolation à l'humain.....	87
5	Conclusion et perspectives.....	88
	Références.....	91

## Liste des tableaux

Table 1 – Available oral reference doses for rare earth elements and derivation.....	33
Table 2 – Parameters of the toxicokinetic model of rare earth elements (REEs). .....	40
Table 3 – Sequential steps for the determination of parameter values .....	43
Table 4 – Toxicokinetic parameters determined from the blood time course of Ce, Pr, Nd and Y over 72 h after intravenous injection in rats. ....	48
Table 5 – Contents of rare earth elements (REEs) in tissues at 168 h after intravenous injection in rats.....	51
Table 6 - Model parameter values of rare earth elements (REEs). ....	53
Table 7 - Biomonitoring equivalents (BEs) for the rare earth elements (REEs) .....	61
Table 8 – Model validation of similar experiments from literature.....	68



## Liste des figures

- Figure 1 Model representation of the kinetics of rare earth elements (Ce, Pr, Nd, Y). **Bold arrows represent blood flows. Parameters over arrows represent the transfer rates between the different compartments.** ..... 39
- Figure 2 Model simulations (lines) compared with experimental data (mean  $\pm$  SD; symbols and vertical bars) on the time courses of Ce (A), Pr (B), Nd (C) and Y (D) elements in blood following intravenous injection of CeCl<sub>3</sub>, PrCl<sub>3</sub>, NdCl<sub>3</sub>, and YCl<sub>3</sub>, respectively, in rats (n = 5 except for PrCl<sub>3</sub> and YCl<sub>3</sub> exposure where n = 4). ..... 47
- Figure 3 Model simulations (lines) compared with experimental data (mean  $\pm$  SD; symbols and vertical bars) on the cumulative excretion of Ce (A), Pr (B), Nd (C) and Y (D) in feces following intravenous injection of CeCl<sub>3</sub>, PrCl<sub>3</sub>, NdCl<sub>3</sub> and YCl<sub>3</sub>, respectively, in rat (n = 5 except for PrCl<sub>3</sub> and YCl<sub>3</sub> exposure where n = 4). ..... 49
- Figure 4 Model simulations (lines) compared with experimental data (mean  $\pm$  SD; symbols and vertical bars) on the cumulative excretion of Ce (A), Pr (B), Nd (C) and Y (D) in urine following intravenous injection of CeCl<sub>3</sub>, PrCl<sub>3</sub>, NdCl<sub>3</sub> and YCl<sub>3</sub> in rats (n = 5 except for PrCl<sub>3</sub> and YCl<sub>3</sub> exposure where n = 4). ..... 50
- Figure 5 Sensitivity analysis of model parameters as determined by the normalized sensitivity coefficients in blood at 1 h (A), 12 h (B) and 72 h (C). Parameters were individually varied by a factor of 1%. Darker columns have a negative impact. Blood transfer parameters are indicated in bold (See Table 2 and Figure 1). ..... 55

Figure 6 Sensitivity analysis of model parameters as determined by the normalized sensitivity coefficients in urine at 24 h (A) and 168 h (B), and feces at 24 h (C) and 168 h (D). Parameters were individually varied by a factor of 1%. Darker columns have a negative impact. Blood transfer parameters are indicated in bold..... 56

Figure 7 Model simulations (solid lines) of cumulative excretion of the rare earth elements in feces with default parameter values compared with variations (dashed lines) of a single parameter value by a factor of 0.2, 0.5, 0.75, 1.5 and 2. Parameter values were changed for  $k_{LBH}$  (A),  $k_{LBN}$  (B),  $k_{LHG}$  (C) and  $k_{GLF}$  (D)..... 57

Figure 8 Model simulations (solid lines) of the rare earth elements in blood with default parameter values compared with variations (dashed lines) of a single parameter by a factor of 0.2, 0.5, 0.75, 1.5 and 2. Parameter values were changed for  $k_{LBH}$  (A),  $k_{LBN}$  (B),  $k_{LHB}$  (C) and  $k_{LNB}$  (D)..... 58

Figure 9 Model simulations (solid lines) of the rare earth elements in blood with default parameter values compared with variations (dashed lines) of a single parameter by a factor of 0.2, 0.5, 0.75, 1.5 and 2. Parameter values were changed for  $k_{RBT}$  (A),  $k_{RTB}$  (B), and  $k_{LHG}$  (C)..... 59

Figure 10 Model simulations (solid lines) of cumulative excretion of the rare earth elements in urine with default parameter values compared with variations (dashed lines) of a single parameter value by a factor of 0.2, 0.5, 0.75, 1.5 and 2. Parameter values were changed for  $k_{KBT}$  (A),  $k_{KTL}$  (B),  $k_{KBR}$  (C) and  $k_{KLU}$  (D)..... 60

## Liste des sigles et abréviations

BE : Équivalent de biosurveillance (*Biomonitoring equivalent*)

Ce : Cérium

Dy : Dysprosium

Eu : Europium

Gd : Gadolinium

L : Litre

La : Lanthane

Ln : Lanthanides

Lu : Lutécium

mg : Milligramme

mL : Millilitre

Nd : Néodyme

ng : Nanogramme

Pr : Praséodyme

p-RfD : Valeur toxicologique de référence subchronique provisoire (subchronic oral provisional reference dose)

RfD : Valeur toxicologique de référence (Reference dose)

Sm : Samarium

TGI : Transit gastro-intestinal

VTR : Valeurs toxicologique de référence

Y : Yttrium



Yb : Ytterbium

μg : Microgramme

# 1 Introduction

## 1.1 Les terres rares et leurs propriétés physico-chimiques

Les terres rares sont un groupe d'éléments regroupant les lanthanides (Ln), éléments 57 à 71 du tableau périodique, ainsi que le scandium (21) et l'yttrium (39) (Atwood, 2013). Elles ont une apparence métallique, sont ductiles et très réactives à l'air ambiant. Malgré leur nom, elles sont relativement abondantes, mais leur prévalence dans la croûte terrestre descend lorsque leur masse moléculaire augmente (Atwood, 2013). Les terres rares, telles que le cérium (Ce) et le lanthane (La), sont donc plus présentes que l'or ou l'argent (Yaroshevsky, 2006). Les terres rares sont principalement présentes dans trois différents types de minerais : la monazite, la bastnaésite et le xénotime (Krishnamurthy et Gupta, 2005). Chacun de ces minerais contient plusieurs terres rares en proportions variables. Les similitudes au niveau des propriétés physiques de ces éléments fait en sorte qu'ils se comportent similairement et se retrouvent ensemble. Ces éléments peuvent être séparés en deux groupes, léger et lourd, sur la base de leur masse atomique (Schüler et al., 2011).

Ces éléments métalliques sont caractérisés par leur configuration électronique similaire (Krishnamurthy et Gupta, 2005). Leurs sous-couches électroniques se remplissent lorsque qu'ils passent du plus léger au plus lourd et ces différences affectent certaines de leurs propriétés (Atwood, 2013). Ils forment tous des cations trivalents en solution, leur dernière couche électronique étant la même (Atwood, 2013). L'effet progressif du remplissage des sous-couches électroniques a comme effet le phénomène connu sous le nom de contraction des lanthanides : leur rayon ionique diminue lorsque leur masse augmente (Krishnamurthy

et Gupta, 2005). La contraction du rayon ionique est aussi la raison pour laquelle l'yttrium (Y) est inclus avec les lanthanides ; son rayon ionique est comparable aux lanthanides les plus lourds malgré sa masse moléculaire beaucoup plus faible (Atwood, 2013). Le rayon ionique des terres rares est similaire à celui des ions de calcium ; pour cette raison, les terres rares sous forme ionique peuvent interférer avec certains processus biologiques comme la formation des os ou le transport de certains éléments essentiels par des protéines (Harris, 1998; Zaichick et al., 2011). Le remplissage des sous-couches électroniques a aussi des impacts sur leurs propriétés paramagnétiques (Atwood, 2013). Certaines terres rares sont donc plus appropriées pour certaines applications, telles que la fabrication d'aimants permanents (Schüler et al., 2011).

## **1.2 Historique d'utilisation**

Certaines propriétés physiques ont rendu les métaux rares particulièrement intéressants dans une multitude de domaines (Krishnamurthy et Gupta, 2005). Le néodyme, par exemple, sert à la fabrication d'aimants permanents qui se retrouvent, entre autres, dans les moteurs électriques ainsi que les cellulaires (Schüler et al., 2011). Les autres lanthanides ont tous trouvé des applications bien précises dans nos technologies modernes (Krishnamurthy et Gupta, 2005). L'exploitation des terres rares a commencé au début du 20<sup>e</sup> siècle grâce à de nouvelles techniques de séparation (Krishnamurthy et Gupta, 2005). Leurs propriétés chimiques et physiques similaires les rendent difficile à séparer les unes des autres une fois extraites du minerai. Les États-Unis et l'Australie étaient les principaux producteurs de terres rares, mais de nos jours la Chine est la principale source (Binnemans et al., 2013; Mancheri et al., 2019). Des sites sont situés en Chine, aux États-Unis, en

Australie, en Namibie, en Inde, au Burundi, au Kenya, au Brésil et en moindres quantités dans certains autres pays (Krishnamurthy et Gupta, 2005). On retrouve, dans cette courte liste, la majorité des ressources en terres rares ; la Chine, à elle seule, possède 52% de ces ressources (Krishnamurthy et Gupta, 2005). En rajoutant, en ordre d'importance, la Namibie (22%), les États-Unis (15%), l'Australie (5%) et l'Inde (3%), on obtient 97% des ressources mondiales (Krishnamurthy et Gupta, 2005). Certaines tensions diplomatiques avec la Chine dans les dix dernières années ont poussé des producteurs comme les États-Unis et l'Australie à reprendre l'exploitation de leurs ressources en terre rares pour diminuer l'incertitude face à l'approvisionnement de ces métaux (Binnemans et al., 2013). Par exemple, la Chine a menacé de couper l'exportation au Japon comme moyen de pression dans le cadre de tensions politiques (Dreyer, 2020).

Les usages des terres rares sont multiples : batteries, super-conducteurs, aimants permanents, fertilisants, radio-imagerie, alliages métalliques, verres, céramiques, etc (Krishnamurthy et Gupta, 2005). Certains produits comme les voitures électriques et les cellulaires en sont donc très dépendants (Binnemans et al., 2013). Différentes applications demandent différents degrés de pureté. Certaines applications dont les alliages métalliques utilisent le minerai à des concentrations retrouvées lors de l'extraction (riche en Ce, La et Nd) (Krishnamurthy et Gupta, 2005). D'autres applications exigent une pureté plus élevée, incluant la fabrication d'aimants permanents (Krishnamurthy et Gupta, 2005). En électronique et recherche de pointe, une pureté de plus de 99,9% peuvent être nécessaires (Krishnamurthy et Gupta, 2005). Différentes formes de fertilisants contenant des terres rares sous forme de nitrate ou de chlorure sont utilisées en Chine depuis plusieurs décennies

(Li et al., 2010a). L'utilisation de terres rares comme fertilisant expose des populations à ces métaux (Li et al., 2010a).

### **1.3 Effets sur la santé**

Étant donné l'exploitation et l'utilisation accrue des terres rares au cours des dernières décennies, de nombreux articles traitent des effets potentiels sur la santé de ces xénobiotiques (Pagano et al., 2015). L'accumulation des terres rares s'effectue dans différentes matrices biologiques en fonction de la voie d'exposition, selon des études expérimentales animales (Molina et al., 2014). Après une injection intraveineuse unique (IV) de terres rares sous la forme chlorure chez le rat, le foie et les os sont les matrices qui accumuleront la plus grande part de la dose (Molina et al., 2014; Nakamura et al., 1997). Lorsqu'inhalé, la portion de la dose accumulée dans les poumons sera quand même transférée vers le foie et les os (Molina et al., 2014).

Une fois la dose distribuée aux différents organes, la toxicité des terres rares a été démontrée dans de nombreuses études animales (Pagano et al., 2015). Cependant, ces animaux sont généralement exposés à de fortes doses par voies intraveineuse, gavage ou inhalation. Les effets toxiques des terres rares peuvent être retrouvés dans de nombreux organes. On peut compter les poumons, le foie, les reins, les os et le cerveau parmi les organes affectés (Pagano et al., 2015). Des effets sur certaines cellules spécifiques à ces organes sont aussi répertoriés, ainsi que des effets sur le développement cognitif (He et al., 2008).

Certaines études se sont cependant penchées sur les potentiels avantages des terres rares (Pagano et al., 2015; Schubert et al., 2006). Celles-ci sont effectivement utilisées en agriculture comme fertilisants, et dans la nourriture de certains animaux (He et al., 2003; Li et al., 2010a). L'impact antioxydant de certaines terres rares a notamment été étudié, mais le nombre d'études portant sur les impacts négatifs l'emporte sur le nombre d'études qui rapportent les bénéfiques (Pagano et al., 2015). Pagano et al. (2015) ont recensé les études portant sur les effets sur la santé des terres rares. Leur conclusion concernant les effets bénéfiques des terres rares est que celles-ci suivent un effet d'hormèse ; certains effets bénéfiques sont observés à de très faibles doses, mais des effets néfastes se manifestent à des doses plus élevées. Néanmoins, des études rapportent plusieurs effets négatifs, tels que des effets cytogénétiques, une inhibition de croissance et une toxicité localisée aux organes où celles-ci s'accumulent (Pagano et al., 2015).

### **1.3.1 Études animales**

Les effets sur la santé ont été principalement documentés à partir d'études animales. Il a été observé dans une étude *in vivo* sur la souris que l'injection journalière de chlorure de terres rares ( $\text{CeCl}_3$ ,  $\text{LaCl}_3$  et  $\text{NdCl}_3$ ) dans la cavité nasale, à une dose journalière de 20 mg/kg de poids corporel (pc) pendant 14 jours, a causé un stress oxydant au niveau des cellules pulmonaires (Li et al., 2010b). Une diminution des mécanismes antioxydants a aussi été observée.

Des études ont démontré l'effet inverse (Schubert et al., 2006). Dans cette étude *in vitro*, des nanoparticules de terres rares (Ce et Y) sous forme oxyde ont été mis en contact avec des macrophages pulmonaires puis de manière subséquente, ces macrophages ont subi un

stress oxydant en étant exposé à des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Schubert et al., 2006). L'étude a montré qu'un effet protecteur (antioxydant) a été associé à la préexposition aux oxydes de terres rares.

Dans une autre étude, la croissance de rats a été mesurée en comparant différents groupes nourris avec différentes diètes enrichies en terres rares (He et al., 2003). Deux diètes de terres rares ont été utilisées : une composée uniquement de  $\text{LaCl}_3$  et une autre d'un mélange de  $\text{LaCl}_3$ ,  $\text{CeCl}_3$  et de  $\text{PrCl}_3$ . Deux groupes par diète ont été nourris avec de la nourriture contenant des concentrations de 75 et 150 mg de terres rares/kg de nourriture, pour un total de 4 groupes de rats exposés. En considérant un apport alimentaire de 10 g par jour, on peut estimer leur exposition à environ 0,75 et 1,5 mg/jour. Les auteurs ont observé une croissance plus élevée chez les rats exposés aux terres rares. Quelques indicateurs sanguins ont été mesurés, tels que les taux de glucose et de créatinine dans le sang qui ont respectivement diminués et augmentés.

Hong et al. (2014) ont exposé quotidiennement des souris à 1, 2 ou 5 mg/kg pc de  $\text{CeCl}_3$  par instillation nasale pour une durée de 90 jours. Les auteurs rapportent une accumulation dans les poumons ainsi qu'une inflammation. Une augmentation des indicateurs suivant a été mesurée : le nombre de cellules inflammatoires, la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la quantité de protéines. Les résultats suggèrent une réduction des capacités antioxydantes.

Une étude par voie orale, a exposé des souris à du  $\text{LaCl}_3$ ,  $\text{CeCl}_3$  ou  $\text{NdCl}_3$  à des doses de 2, 10 ou 20 mg/kg pc durant 30 jours (Cheng et al., 2014). Parmi les effets observés, une diminution de la croissance des souris a été observée à la dose de 20 mg/kg pc/j ainsi qu'une

diminution des comptes cellulaires (globules blancs, plaquettes et réticulocytes). Une diminution de la fonction hépatique, où s'accumule la majorité de la dose, a également été rapportée. Cette diminution se manifeste par l'augmentation d'alanine aminotransférase, de bilirubine, de bile et de triglycérides, ainsi qu'une diminution du glucose et du ratio d'albumine/globuline. À 20 mg/kg pc/jour, la structure des cellules hépatiques était également affectée et une stéatose hépatique a été observée.

Huang et al. (2011) ont investigué l'accumulation du La, Ce et Nd au niveau des hépatocytes en exposant des souris par gavage à des doses de 10, 20 et 40 mg/kg pc/j pendant 42 jours. L'accumulation a été principalement mesurée au niveau du noyau et des dommages oxydants ont été observés au niveau du noyau et des mitochondries.

Zhao et al. (2013) ont par ailleurs étudié l'effet de métaux rares sur le rein, comme autre organe cible des terres rares. Des souris ont été exposées au  $\text{LaCl}_3$ ,  $\text{CeCl}_3$  et  $\text{Nd Cl}_3$  par voie orale à des doses journalières de 2, 5 et 10 mg/kg pc/j pendant 90 jours (Zhao et al., 2013). Suivant la période d'exposition, les auteurs ont observé les effets suivant sur le rein : néphrite, nécroses des cellules épithéliales et stress oxydant.

He et al. (2008) ont étudié l'impact d'une exposition à long terme (0-6 mois) sur le développement et le comportement de souris exposés par voie orale à des doses de 0,1, 2 et 40 mg/kg pc de  $\text{LaCl}_3$ . Seules les doses les plus élevées (2 et 40 mg/kg) ont eu un impact négatif sur les aspects étudiés : le stress oxydant, les performances comportementales, les niveaux de  $\text{Ca}^{2+}$  et l'activité de  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase dans les cellules hippocampiques. Les auteurs concluent que les terres rares pourraient avoir un impact négatif sur la mémoire et l'orientation spatiale.



### 1.3.2 Études humaines

Il y a peu d'études épidémiologiques ayant évalué les effets néfastes des terres rares et celles-ci portent le plus souvent sur les effets pulmonaires chez des travailleurs (Shin et al., 2019). Des fibroses pulmonaires ont été reliées à l'exposition respiratoire de différentes formes de terres rares (Sabbioni et al., 1982; U.S. EPA, 2018).

Au niveau de la population générale, on peut notamment citer l'étude de Zhu et al. (1996) chez des enfants de trois régions de la Chine (A, B et C). Le score de tests d'intelligence (*Hiskey-Nebraska's Test of Learning Aptitude*) chez ces enfants (6 à 9 ans) a été comparé entre ces régions. Il a été établi que dans les régions où la concentration dans le sol était la plus forte (A et B), les marqueurs d'intelligence des enfants étaient plus bas. La concentration dans la région C est environ deux fois moins élevée que les deux autres régions. Les auteurs ont conclu que les niveaux d'exposition aux métaux rares auxquels ces enfants étaient exposés étaient suffisants pour affecter leur développement cognitif (Zhu et al., 1996).

Zhu et al. (2005) ont par ailleurs rapporté des effets de l'ingestion chronique de terres rares sur certaines enzymes digestives. Les populations étudiées, situées en Chine, vivaient dans des zones riches en terres rares. Les maux rapportés incluaient, entre autres, indigestion, diarrhée et fatigue. L'exposition environnementale mesurée chez les populations par des prises de sang étaient proportionnelles aux quantités relatives de terres rares retrouvées dans les sols ; les terres rares les plus prévalentes sont les plus légères (i.e., La, Ce, Pr et Nd).

Zaichick et al. (2011) ont montré que les métaux rares s'accumulaient dans les os avec une corrélation positive avec l'âge, tel qu'attendu considérant la demi-vie très longue de ces éléments dans les os. Cette accumulation dans les os a été directement associée à un effet néfaste puisque ces éléments remplacent les molécules de calcium dans la structure des os et dans certains processus.

#### **1.4 Réglementation et valeurs de référence**

Compte tenu des effets possibles sur la santé, les organismes gouvernementaux établissent des valeurs toxicologiques de référence (VTR) : des niveaux d'exposition à ne pas dépasser dans la population pour prévenir des effets sur la santé (Government of Canada, 2019; U.S. EPA, 2018). Ces VTR sont établis à partir d'études toxicologiques ou épidémiologiques sur la substance d'intérêt. Actuellement, il n'y a pratiquement pas de VTR pour les terres rares et peu de réglementations existent à leur sujet. Parmi les métaux étudiés dans ce projet, des doses maximales acceptables par voie orale, autrement nommées doses de référence par ingestion (ou *reference dose* (RfD) en anglais) ont été établies pour le praséodyme et le néodyme aux États-Unis (U.S. EPA, 2009a; b). Ces RfD ont été établis pour des expositions subchroniques et sont considérées des doses de référence provisoires (p-RfD). Les p-RfD du Pr et Nd sont toutes les deux établies à 0,5 mg/kg bw/ jour (US EPA 2012). Cela correspond à une dose journalière de 35 mg pour un poids de 70 kg. D'autres RfD et p-RfD ont été établies pour la forme chlorure des métaux rares suivants : Eu, La et Y (RfD) ainsi que Lu et Sm (p-RfD). Des références comme les coefficients d'absorption sont aussi disponibles pour des expositions par inhalation ou ingestion pour la plupart des terres rares afin d'estimer les doses absorbées équivalentes (ICRP, 2012).

## 1.5 Exposition de la population

En se basant sur les RfD et l'évaluation de l'exposition aux métaux rares de la population, il est possible de mieux évaluer les risques. Plusieurs sources, voies d'exposition et formes de métaux rares sont possibles. Parmi les sources d'exposition, on peut nommer l'exploitation des matières premières, le traitement du minerai, la transformation en usine, la consommation d'aliments contaminés et la proximité de champs enrichis de terre rares (U.S. EPA, 2012). Les deux principales voies d'exposition sont les voies orale et respiratoire. Les métaux rares sont aussi utilisés à des fins thérapeutiques en milieu hospitalier, entre autres, injectés par voie intraveineuse comme agent contrastant (Zaichick et al., 2011).

L'utilisation de fertilisants à base de terres rares est une source d'exposition importante pour les populations demeurant à proximité. Les plantes enrichies de terres rares accumulent celles-ci et l'exposition se fait par l'ingestion des récoltes. Il est à noter que l'accumulation par ingestion est relativement faible, mais peut néanmoins avoir des impacts sur la santé et le développement (He et al., 2008; Molina et al., 2014; Zhu et al., 1996). Les populations vivant à proximité de champs fertilisés sont aussi exposées, par inhalation, aux poussières pouvant contenir des terres rares (Liang et al., 2014).

Les populations vivant à proximité des mines, où sont exploitées les terres rares, sont aussi susceptibles d'être exposées aux terres rares via différentes sources contaminées (Liang et al., 2014). Les sols et des cours d'eau sont grandement susceptibles d'être contaminés par la proximité d'une mine.

Tout comme les agriculteurs et les travailleurs des mines, les travailleurs du secteur du recyclage des terres rares constituent une population de travailleurs à risque (Shin et al. 2019). Les produits contenant des terres rares, tels que les appareils électroniques, contiennent aussi d'autres produits nocifs pour la santé. Notamment, des acides permettant de les séparer ou de les isoler peuvent aussi être problématiques (Shin et al., 2019).

### **1.5.1 Méthodes utilisées pour évaluer l'exposition**

La demi-vie dans le sang des terres rares est plutôt courte (moins de 30 min) et les concentrations urinaire sont très faibles quelques jours seulement suivant une exposition intraveineuse (Damment et Pennick, 2007; Molina et al., 2014). Certaines matrices biologiques vont accumuler les terres rares pour une longue période de temps tels que les os ou le foie, mais ne permettent pas d'être facilement échantillonnés (Nakamura et al., 1997). Plusieurs indicateurs sanguins ont donc été mesurés dans plusieurs études pour permettre d'évaluer l'exposition aux terres rares (Li et al., 2013; Zhang et al., 1999; Zhu et al., 2005). L'évaluation d'os et de cheveux a aussi été utilisée dans certaines études (Li et al., 2013; Peng et al., 2003; Zaichick et al., 2011).

Zhu et al. (1996) ont mesuré les concentrations de métaux rares dans les cheveux, ainsi que les concentrations dans l'eau consommée, la nourriture et dans les sols de certaines régions de la Chine riches en terres rares. L'exposition journalière a été calculée pour évaluer les impacts sur le développement. Dans une étude subséquente sur les mêmes territoires, Zhu et al. (2005) ont analysé certains indicateurs sanguins pour évaluer l'impact de l'exposition environnementale sur le foie des résidents. Il a été mesuré par les auteurs que les protéines

sériques, incluant la globuline, étaient significativement diminuées dans les régions riches en terres rares.

Li et al. (2010a) ont analysé les concentrations dans la faune et la flore d'une région minière riche en terres rares comparativement à des sites de contrôles. Il a été confirmé par les auteurs que le niveau d'imprégnation en métaux rares au niveau de la faune et de la flore corrélait négativement avec la distance des sites miniers. Certains insectes ont été identifiés comme étant de bons indicateurs de la pollution présente dans l'environnement.

### **1.5.2 Exposition aux métaux rares**

Zhu et al. (1996), ont rapporté une exposition environnementale de 6 et 6,7 mg totale ingéré/jour chez des enfants dans des régions riches en terres rares en Chine. Les terres rares mesurées étaient le La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy et Ho. Ces doses seraient suffisamment élevées pour affecter le développement des enfants (Zhu et al., 1996). Elles sont aussi plus élevées que les dernières valeurs toxicologiques de référence rapportées dans la littérature (Zhuang et al., 2017). Ces données indiquent qu'il est important de mettre en place des outils pour effectuer de la surveillance biologique en prévision de l'augmentation probable de l'exposition aux terres rares due à l'exploitation et au recyclage accru (Binnemans et al., 2013; Pagano et al., 2015).

Zaichick et al. (2011) ont par ailleurs évalué l'exposition de source environnementale par la mesure de l'accumulation de terres rares dans les os de cadavres humains. La concentration d'une dizaine de terres rares (Ce, Dy, Er, Gd, La, Nd, Pr, Sm, Tb et Yb) a été mesurée. Quatre des éléments (Ho, Lu, Tm et Y) étaient en concentrations trop faibles et des valeurs limites supérieures ont été déterminées. Grâce aux résultats de l'étude, il a

été déterminé que l'accumulation dans les os était corrélée à l'âge, confirmant que l'exposition environnementale peut contribuer à la charge corporelle en terres rares.

Dans une étude récente, Zhuang et al. (2017) ont estimé l'exposition aux lanthanides en considérant uniquement la consommation de céréales dans une région riche en lanthanides. L'exposition journalière calculée de  $\sim 1 \mu\text{g}/\text{kg pc}$  à partir de cet estimé était très faible, mais ne considérait qu'une seule source d'exposition. Cette exposition est basée sur la concentration moyenne en lanthanide dans les céréales.

## **1.6 Toxicocinétique**

Comprendre le devenir des terres rares dans l'organisme, autrement dit leur cinétique, permettra de mieux interpréter les données d'exposition environnementale ou professionnelle aux terres rares dans la population. Cependant, la majorité des données toxicocinétiques publiées ont porté sur des études animales ainsi que sur les isotopes radioactifs des terres rares (Durbin et al., 1955; Leggett et al., 2014). Les résultats d'études portant sur les isotopes comparativement aux éléments stables sous formes de sels ou d'oxydes ne correspondent pas toujours. Les terres rares, dans leur ensemble, ont une cinétique globalement similaire selon les données disponibles ; le changement progressif de leur rayon ionique peut toutefois expliquer certaines différences toxicocinétiques (Atwood, 2013).

Bien que quelques études aient été publiées sur la cinétique de terres rares à partir d'études expérimentales, les données sont limitées à quelques éléments tels que le cérium (Ce) et le lanthane (La) (Pagano et al., 2015). Il existe peu d'études animales ayant été réalisées par

voie orale. Selon Damment et Pennick (2007), une des rares études expérimentales disponibles chez des rats exposés par voie orale au La sous forme de carbonate, l'absorption par le tractus gastro-intestinal (TGI) était très faible. Seulement 0,05% de la dose était absorbée après ingestion et ceci est compatible avec les données sur les formes d'isotopes radioactifs (ICRP, 2012). L'étude de Damment et Pennick (2007) a aussi montré que la majorité de l'excrétion s'effectue par les fèces. Les métaux rares sont rapidement distribués dans différents organes et le foie, les os et la rate sont les principales matrices d'accumulation des métaux rares (Leggett et al., 2014; Molina et al., 2014; Nakamura et al., 1997). Les métaux s'accumulent dans d'autres organes, comme les poumons et les reins, mais à un niveau moindre. Damment et Pennick (2007) ont démontré que la principale voie d'excrétion vers les fèces est par sécrétion biliaire (transfert des hépatocytes vers la bile puis le TGI). Ces auteurs ont documenté une certaine sécrétion intestinale à partir du sang (transfert direct du sang systémique vers le TGI). Cette voie d'excrétion est petite par rapport à la contribution de la sécrétion biliaire. Compte tenu de la faible absorption dans le TGI, il n'y a pas de recirculation entéro-hépatique significative. L'étude de Damment et Pennick (2007) a aussi observé une excrétion urinaire de moins de 2 % de la dose sur 42 jours.

Les études expérimentales par inhalation sont peu nombreuses, mais ces dernières ont montré que la distribution se fait principalement dans les mêmes organes que ceux identifiés par voies intraveineuse et orale (Molina et al., 2014). Suivant une exposition par inhalation, une distribution lente vers le foie et les os est observée (Molina et al., 2014).

L'ensemble des études disponibles chez l'animal ont montré que le foie est une des deux matrices d'accumulation principales des métaux rares, ainsi que la principale voie d'excrétion. Selon des études d'imagerie, les terres rares peuvent s'accumuler dans les cellules de Kupffer, les sinusoides et les hépatocytes (Bingham et Dobrota, 1994).

La rate est un important organe d'accumulation des terres rares selon les études publiées (Nakamura et al., 1997). La rate est riche en macrophages ; relativement au foie, il y a environ dix fois plus de macrophages par unité de masse (Carlander et al., 2016). La demi-vie des terres rares dans la rate est relativement longue (plus d'une centaine de jours) ; elles y sont accumulés dans les macrophages (Hirano et al., 1993; Nakamura et al., 1997).

Les études disponibles montrent en outre que la demi-vie des terres rares dans les os est particulièrement longue : jusqu'à 5 ans selon certaines études (Leggett et al., 2014). Nakamura et al. (1997) ont démontré qu'après injection intraveineuse chez le rat de Ce, Y, Pr, Eu, Yb, Dy et Lu, une partie de la dose se retrouvait dans les os. La demi-vie dans les os est si longue que leur charge continue à augmenter légèrement au courant des mois suivant l'injection. Ce phénomène est dû à une redistribution par les autres matrices (Nakamura et al., 1997).

Les études ont par ailleurs montré que les poumons accumulent peu les métaux rares après injection intraveineuse (Hirano et al., 1993; Molina et al., 2014). La dose se retrouve, comme dans la plupart des organes dans les macrophages (Molina et al., 2014). L'importance de la clairance mucociliaire dans l'élimination des terres rares des poumons et l'excrétion reste à être déterminé.



L'étude de Höllriegl et al. (2017) est l'une des seules études portant sur l'exposition intraveineuse d'un lanthanide sous forme de sel chez des volontaires. Une dose unique de 1 µg de citrate de Ce a été injectée par voie intraveineuse à des participants et l'excrétion urinaire a été mesurée. Les participants ont aussi été exposés par voie orale à une dose de 100 µg. Les auteurs ont utilisé le modèle de Taylor et Leggett (2003) comme point de comparaison des données cinétiques observées. Ils ont observé que l'excrétion urinaire modélisée sous-estimait grandement l'excrétion mesurée dans leur étude. Les auteurs ont suggéré que la forme utilisée (citrate versus chlorure) explique cette différence. D'autres facteurs tel que la faible dose relativement au poids et une cinétique différente pour l'humain pourraient être responsables de l'excrétion relativement plus élevée dans l'urine (Höllriegl et al., 2017).

Les autres études sur des humains portent sur des formes autres que la forme chlorure (Newton, 2003; Pennick et al., 2006). Selon Molina et al. (2014), la forme a un impact significatif sur la cinétique. Les données basées sur des isotopes radioactifs doivent aussi être utilisées avec prudence, puisqu'*a priori* ceux-ci ont aussi une cinétique qui peut dévier des éléments stables.

### **1.7 Modélisation cinétique**

Malgré les données cinétiques disponibles dans la littérature, un modèle est nécessaire pour joindre celles-ci et permettre une compréhension plus complète du devenir des terres rares dans l'organisme. Le modèle toxicocinétique permet de mieux comprendre le lien entre les doses absorbées, les vitesses de distribution et d'excrétion dans les différentes matrices et

organes et d'extrapoler les données disponibles à d'autres espèces et évaluer différents scénarios.

À notre connaissance, le seul modèle toxicocinétique publié à ce jour et permettant de simuler la cinétique de terres rares est celui de Taylor et Leggett (1998). Taylor et Leggett (1998) ont développé un modèle pour décrire la cinétique d'un ensemble d'éléments, incluant les métaux rares. Ce modèle a été spécifiquement optimisé pour représenter la cinétique des isotopes radioactifs, puisqu'il s'agissait de la forme utilisée dans la plupart des études de l'époque (Durbin et al., 1955). Le modèle développé par ces auteurs inclut plusieurs compartiments non-spécifiques mais également des compartiments physiologiques d'importance, tels que le foie, les reins et les os (Taylor et Leggett, 1998). L'excrétion via l'urine et les fèces a aussi été modélisée. Néanmoins, la rate et les poumons, deux organes importants, n'ont pas été représentés dans le modèle. Plusieurs paramètres du modèle ont été déterminés en se basant sur la famille des actinides et d'autres métaux comme le plomb. En analysant les paramètres du modèle, on peut observer une distribution qui semble favoriser l'accumulation dans les os. Cette accumulation dans les os semble être représentative du comportement observé dans les études expérimentales sur les radio-lanthanides, mais cette distribution semble beaucoup trop importante pour les éléments stables évalués dans des études plus récentes (Molina et al., 2014). Le modèle ne compte pas non plus de compartiment spécifique pour les poumons et, en ce sens, permet moins de flexibilité pour simuler l'exposition par cette voie d'entrée. Il est à noter que les auteurs ont répertorié, à partir de la littérature, que la distribution pourrait varier significativement selon que la voie d'exposition était intraveineuse ou intratrachéale et ont conclu qu'un modèle spécifique pour l'inhalation devrait être développé (Leggett et al., 2014).

Le développement de ce modèle a démontré que la valeur de certains paramètres de transfert des terres rares sont partagés par plusieurs éléments ; les autres sont au moins du même ordre de grandeur (Taylor et Leggett, 2003). Un modèle établi à partir de la cinétique d'isotopes stables et pour des expositions à plus faibles doses, devrait être développé avec une visée d'être applicable à toutes les terres rares et aux différentes expositions.

## **1.8 Problématique**

Des études expérimentales ont documenté la distribution et l'excrétion de certaines terres rares après exposition par différentes voies. Des modèles biomathématiques décrivant la cinétique d'éléments dont les métaux rares ont été développés (e.g. (Taylor et Leggett, 2003)). Plusieurs aspects rendent ces modèles peu appropriés à l'analyse de données de biosurveillance. Taylor et Leggett (2003), par exemple, utilisent des données basées sur des doses trop élevées et la forme chimique étudiée n'est pas toujours la même (isotopes radioactifs). Une disparité dans la distribution tissulaire selon les études expérimentales est notable entre les études expérimentales utilisant des isotopes et ceux utilisant d'autres formes stables (comme des sels). Les isotopes radioactifs semblent s'accumuler davantage dans les os (Durbin et al., 1955; Leggett et al., 2014). Il ne s'agit pas non plus de la forme à laquelle les populations sont le plus souvent exposées. Les modèles disponibles ne sont donc pas adéquats pour interpréter les données de biosurveillance disponibles pour les terres rares les plus abondantes (Höllriegl et al., 2017).

## 1.9 Objectif du mémoire

L'objectif du mémoire était de développer un modèle toxicocinétique physiologique pour mieux comprendre le devenir de terres rares dans l'organisme et de relier les doses aux niveaux dans les organes ainsi qu'aux quantités excrétées. Le développement de ce modèle se voulait un outil de base pour déterminer des valeurs biologiques de référence définies comme « équivalents biologiques ou BE (de l'anglais : *Biomonitoring Equivalent*) » et correspondant à une dose critique établie à partir d'études de toxicité.



## **2 Méthode**

### **2.1 Animaux et soins**

Afin de développer un modèle toxicocinétique pour les métaux rares, une étude expérimentale a été réalisée afin d'obtenir des données cinétiques manquantes. Cette expérience a été mise en œuvre dans le respect de la ligne directrice 417 de l'OCDE. Les animaux ont aussi été pris en charge en respectant les recommandations du Comité de déontologie de l'expérimentation sur les animaux (CDEA) de l'Université de Montréal (protocole 16-048) ainsi que celles de Santé Canada (protocole 2016-001).

L'expérience a été réalisée sur des rats Sprague-Dawley mâles provenant de Charles River Canada Inc. (St-Constant, Québec, Canada). Le poids des rats, avant l'acclimatation, était entre 200 et 250 g. La température et l'humidité ont été contrôlées et gardées à respectivement  $22 \pm 3$  °C et 40-70%. Le cycle de luminosité a été fixé à un cycle de 12 h jour/nuit. Durant leur acclimatation ainsi que l'expérience, les rats ont eu un accès *ad libitum* à de l'eau et leur nourriture. La durée de l'expérience, suivant l'injection, était de 168 h. La quantité d'eau et de nourriture consommée, leur poids et leur comportement ont été suivis durant cette période.

### **2.2 Dosage et échantillonnage**

Les rats ont été exposés par injection intraveineuse dans la veine jugulaire à l'une des terres rares suivantes sous forme de chlorure :  $\text{PrCl}_3$ ,  $\text{YCl}_3$ ,  $\text{NdCl}_3$  or  $\text{CeCl}_3$ . La dose utilisée a été de 1 mg/kg pc dissoute dans une solution saline physiologique. Basé sur une étude pilote,

la dose a été sélectionnée pour obtenir des concentrations mesurables dans les matrices et permettre d'observer la cinétique tout en évitant des effets délétères pour le rat et ses tissus (Li et al., 2015). Cinq rats par métaux ont été exposés et 10 rats supplémentaires ont reçu une dose de solution saline pour servir de contrôles, pour un total de 30 rats.

Les fèces et l'urine ont été collectés 24 h précédant l'exposition et sur 168 h suivant l'exposition à des périodes fixes : 0-3, 3-6, 6-9, 9-12, 12-24, 24-30, 30-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 h. Suivant l'injection, le sang a aussi été collecté via une incision au niveau de la queue à des moments fixes : 5 min, 15 min, 30 min, et 1, 3, 6, 9, 12, 24, 30, 48, 72 h. Les échantillons ont été collectés, traités, pesés, puis entreposés adéquatement jusqu'à l'analyse.

À la fin de la période d'observation, les rats ont été anesthésiés, puis sacrifiés par ponction cardiaque. Les organes suivants ont été récoltés : foie, rate, poumons et reins. Ils ont été lavés avec une solution saline puis congelés en attendant l'analyse.

### **2.3 Analyse des échantillons**

La préparation et digestion des échantillons prélevés durant l'expérience a été réalisée dans une salle blanche adaptée à ces manipulations (*ISO 2 standards 146442-1*). L'analyse par spectrométrie de masse couplée à plasma inductif (ICP-MS) s'est déroulée dans une salle blanche (*ISO 3 standards 146442-1*). Les échantillons ont été préparés pour permettre d'effectuer cette analyse de manière appropriée. Les tissus et les fèces ont été homogénéisés, puis tous les échantillons (sang, urine, tissus) ont subi une digestion acide. Les échantillons

ont été dilués et préparés pour l'analyse par ICP-MS. Les valeurs obtenues pour les rats utilisés comme contrôle ont été soustraites aux valeurs obtenues pour les rats exposés.

#### **2.4 Analyse des données expérimentales**

Les données expérimentales ont été représentées par le pourcentage molaire de la dose dans le sang à différents moments suivant l'injection, le pourcentage molaire cumulatif de la dose dans les fèces ou l'urine pour des périodes fixes et le pourcentage molaire de la dose accumulé dans les organes au moment du sacrifice.

Ces données ont été analysées, dans un premier temps, dans un cadre d'analyse non-compartimentale. Les paramètres calculés (e.g. la demi-vie) ont prouvé que cette analyse non-compartimentale est inadaptée pour ces séries de données. La concentration dans le sang présente une forme bi-exponentielle qui nécessite des formules adaptées à cette cinétique. Une analyse non-compartimentale adaptée à la nature biphasique des données a donc été effectuée.

#### **2.5 Développement du modèle**

Le modèle a été développé pour décrire la cinétique des terres rares suivantes : Ce, Pr, Nd et Y. Le modèle est basé sur des considérations physiques et la biosurveillance ; plusieurs organes d'intérêt (foie, rate, reins et poumons) sont représentés dans le modèle, et l'accent a été mis sur la concentration dans le sang et l'excrétion dans l'urine et les fèces. Le modèle comporte 20 compartiments incluant les organes, la distribution sanguine et l'excrétion. Les organes sont représentés par plusieurs compartiments pour permettre de modéliser la cinétique propre à chacun. Les paramètres de transfert sont représentés dans le modèle par



des flèches qui indiquent la direction du transfert de terres rares entre deux compartiments. Une valeur est associée à chaque paramètre de transfert et quantifie la vitesse à laquelle le transfert s'effectue. Les paramètres de transfert ont été déterminés en se basant sur les mécanismes connus (e.g. transfert de la bile vers le TGI) et la littérature appropriée (terres rares, ions métalliques, métaux, etc.). Le modèle peut être représenté mathématiquement par un système d'équation différentielle de premier ordre. Cette représentation permet de l'évaluer numériquement pour tester le modèle et le comparer aux résultats expérimentaux.

Le modèle a été développé et validé en se basant sur les données toxicocinétiques de rats exposés au Ce, Pr, Nd et Y par une injection intraveineuse. Ces données expérimentales incluent la concentration dans le sang à différents suivants l'exposition, la concentration dans l'urine et les fèces durant la période d'observation et l'accumulation dans le foie, la rate, les poumons et les reins au moment du sacrifice (168 h suivant l'injection). Il s'agit des données que le modèle devait reproduire et sur lequel il a été développé.

Selon nos données et la littérature, le foie est le compartiment d'accumulation principale suivant une injection intraveineuse de terres rares (Leggett et al., 2014). La rate peut aussi accumuler une quantité substantielle de la dose lorsque celle-ci est élevée (Nakamura et al., 1997). En incluant les os, la grande majorité de la dose se retrouve dans ces trois compartiments. Suivant une injection, les poumons et les reins n'accumulent qu'une faible portion de la dose (Molina et al., 2014; Nakamura et al., 1997).

L'accumulation dans ces organes devait être modélisé à partir des données expérimentales, ceux-ci ont donc été incorporés dans le modèle. Leur inclusion permet aussi d'effectuer un bilan de masse et d'utiliser certaines informations pour aider la déterminations les

paramètres. Avoir ces compartiments qui représentent les organes permet de comparer et valider nos résultats à des valeurs retrouvées dans la littérature (e.g. la demi-vie) qui ne sont pas nécessairement attachées à des modèles toxicocinétiques.

Les compartiments d'excrétion et le sang systémiques sont les compartiments autour desquels gravite le modèle; ce sont les données que le modèle reproduit. Pour cette raison, certains compartiments doivent être présents pour permettre de représenter la cinétique des métaux rares. Outre, les organes récupérés au sacrifice, le TGI est aussi représenté et permet de mieux décrire l'excrétion biliaire, tout en permettant de représenter plusieurs autres mécanismes tels que l'absorption du TGI vers la veine porte et le transfert direct du sang systémique vers le TGI (Damment et Pennick, 2007). Le modèle est aussi plus flexible, par la présence de ce compartiment et peut plus facilement simuler une exposition orale si nécessaire. La représentation des poumons permet la même chose, soit de simuler des expositions par les voies respiratoires sans avoir à modifier le modèle en entier.

Les échanges entre les différents organes sont représentés dans le modèle par la circulation sanguine et sont basés sur la partition du débit cardiaque entre les différents organes. Les organes ont été séparés en différents sous-compartiments puisque l'accumulation dans ces organes n'est pas homogène. Par exemple, dans le foie, les cellules de Kupffer et les hépatocytes accumulent une partie de la dose, mais la cinétique qui en découle est très différente puisque les hépatocytes vont transférer cette fraction de la dose vers la bile (Bingham et Dobrota, 1994).

## 2.6 Détermination des paramètres

Certains paramètres de transfert du modèle ont été déterminés à partir de la littérature, tels que la partition du débit sanguin aux organes. Les paramètres restants ont été ajustés pour obtenir une bonne adéquation aux valeurs expérimentales.

Les paramètres tirés de la littérature incluent la partition du débit cardiaque, la demi-vie dans les poumons, le transfert entre le TGI et la veine porte, le transfert du sang systémique directement au TGI et la demi-vie dans la rate (Damment et Pennick, 2007; Hirano et al., 1993; Malik et al., 1976; Molina et al., 2014; Nakamura et al., 1997). Les paramètres restants ont été ajustés dans un ordre particulier basé sur leur impact respectif sur les données expérimentales. L'ajustement des paramètres s'est déroulé en minimisant la différence entre les résultats du modèle et certaines valeurs expérimentales. Des scripts Matlab ont été utilisés pour évaluer l'adéquation du modèle, et varier plusieurs paramètres simultanément lorsque nécessaire. Certains paramètres, tels que ceux associés aux compartiments du foie ont en effet un grand impact sur les concentrations sanguines et l'excrétion dans les fèces. L'ajustement des paramètres a donc débuté par la distribution du sang vers les organes, en se basant sur les données expérimentales de concentrations sanguines dans le temps et les quantités accumulées dans les organes au moment du sacrifice. Les valeurs d'excrétion cumulatives dans les fèces ont ensuite pu être utilisées pour estimer les valeurs des paramètres de transfert associées à l'excrétion dans les fèces. L'accumulation finale de terres rares dans le foie est une information qui a pu être utilisée afin de concilier l'accumulation et l'excrétion dans les fèces qui se passe principalement au niveau du foie (hépatocytes et macrophages) et du TGI.

Des opérations similaires pour l'excrétion dans l'urine et l'accumulation dans les reins ont pu être effectuées par la suite, sans affecter grandement les courbes de concentrations dans le sang (puisque l'excrétion dans l'urine est faible).

## **2.7 Analyse de sensibilité**

Une analyse de sensibilité a été effectuée pour évaluer l'impact des paramètres sur la cinétique du modèle. Les changements observés sont au niveau de l'excrétion fécale et urinaire, les concentrations dans le sang, ainsi que l'accumulation dans les organes. Les paramètres ont été multipliés par des valeurs de 0,2, 0,5, 0,75, 1,5 et 2. Les résultats obtenus ont été comparés aux valeurs par défaut obtenues précédemment par le modèle. La nature du modèle permet d'effectuer ces comparaisons aisément. Malgré l'absence de données expérimentales sur l'accumulation dans les os, le modèle permet de simuler la présence d'un compartiment pour observer l'impact sur les autres compartiments. Des valeurs basées sur Molina et al. (2014) et Leggett et al. (2014) ont été utilisées pour déterminer des paramètres réalistes du nouveau compartiment des os dans cette version du modèle.

## **2.8 Détermination des équivalents de biosurveillance**

Il n'y a pas de doses de références qui ont été développées pour les terres rares en se basant sur des études chroniques. Cependant, des doses de références provisoires basées sur des études subchroniques animales sont disponibles, ainsi que des valeurs d'absorption orale. Une exposition quotidienne d'une dose unitaire absorbée a donc été simulée jusqu'à ce qu'un équilibre au niveau de l'excrétion urinaire soit atteint. À partir des données d'absorptions, d'excrétions journalière à l'équilibre et de la NOAEL animale, nous avons

calculé un équivalent de biosurveillance animale basé sur une exposition orale correspondant à la dose unitaire absorbée par jour. Un facteur d'incertitude de 1000 (inter-espèce [10], inter-individuelle [10] et incertitude des données [10]) a été appliqué à cette valeur pour déterminer la valeur de BE pour l'humain (U.S. EPA, 2009a; b). La valeur de BE a été ajustée en considérant un poids de masse corporel de 70 kg et un volume d'urine quotidien de 1.5 L. Les doses de références obtenues dans la littérature pourront facilement être utilisées pour calculer des équivalents de biosurveillance basées sur les données les plus à jour.

### 3 Article

#### **Toxicokinetics in rats and modeling to support the interpretation of biomonitoring data for rare-earth elements**

Mathieu Desrosiers<sup>a</sup>, Guillaume Pelletier<sup>b</sup>, Denis Dieme<sup>a</sup>, Jonathan Côté<sup>a</sup>, Malek Jomaa<sup>a</sup>, Andy Nong<sup>b</sup>, Michèle Bouchard<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Environmental and Occupational Health, Chair in Toxicological Risk Assessment and Management, and Public Health Research Center (CReSP), University of Montreal, Roger-Gaudry Building, U424, P.O. Box 6128, Main Station, Montreal, Quebec, Canada, H3C 3J7

<sup>b</sup> Environmental Health Science and Research Bureau, Health Canada, K1A 0K9, Ottawa, ON, Canada

\* Correspondence to:  
Michèle Bouchard  
Department of Environmental and Occupational Health  
University of Montreal  
Roger-Gaudry Building, U424  
P.O. Box 6128, Main Station, Montreal, Quebec, Canada, H3C 3J7.  
E-mail: [michele.bouchard@umontreal.ca](mailto:michele.bouchard@umontreal.ca)  
Telephone number: (514) 343-6111 ext 1640  
Fax number: (514) 343-2200

## **Abstract**

Toxicokinetic models are useful tools to better understand the fate of contaminants in the human body and to establish biological guidance values to interpret biomonitoring data in human populations. This research aimed to develop a biologically-based toxicokinetic model for four rare earth elements (REEs), cerium (Ce), praseodymium (Pr), neodymium (Nd) and yttrium (Y), and to establish biomonitoring equivalents (BE) serving as biological guidance values. The model was constructed using physiological data taken from the literature as well as new experimental kinetic data. These new data indicated that REEs readily disappeared from blood and accumulated mostly in the liver; excretion occurred mainly through feces although a small fraction was eliminated in urine. To properly reproduce the observed kinetics, the model was represented as 19 compartments, which include main tissues and their components (such as retention by macrophages) supplied by blood, as well as routes of excretion. The transfer coefficients between compartments were determined numerically by adjustments to experimental data. Simulations gave good fits to available experimental kinetic data and confirmed that the same model structure is applicable to the four elements. BEs of 0.03 and 0.07  $\mu\text{g/L}$  of Pr and Nd were derived from the provisional RfD of 0.5 mg/kg bw/day established by the U.S. EPA. These BEs can be updated according to new reference dose values (RfD). Overall, the model can contribute to a better understanding of the significance of biological measurements and to the inference of exposure levels; it can also be used for the modeling of other REEs. The BEs will further allow rapid screening of different populations using biological measurements in order to guide risk assessments.

**Keywords:** Rare-earth elements; lanthanides; toxicokinetics; biomonitoring; modeling

### 3.1 Introduction

Rare-earth elements (REEs) are among the priority inorganic substances assessed under Phase 3 of the Chemicals Management Plan established by the Government of Canada (Government of Canada, 2019). They are naturally occurring elements in mineral ores extracted during mining activities (Krishnamurthy and Gupta, 2005; U.S. EPA, 2012). In the past decades, there has been an increasing extraction and use of REEs in several sectors (U.S. EPA, 2012), including metallurgical and metal alloys, electronics and clean energy technologies (Shin et al., 2019; U.S. EPA, 2012). This has led to their release in the surrounding environment and transfer into the food chain (Pagano et al., 2015; Zhuang et al., 2017).

While REEs have many novel applications, epidemiological studies are limited to date (Shin et al., 2019). However, there have been case reports of pneumoconiosis and interstitial lung disease in workers occupationally exposed to REEs (Gong, 1996; McDonald et al., 1995; Sabbioni et al., 1982; Waring and Watling, 1990; Yoon et al., 2005). One of the rare epidemiological investigations further revealed that children living in REE-rich regions had lower intelligence quotients (IQ) and worse memory than those living in areas with normal REE levels (Zhu et al., 1996).

Most toxicological data come from animal studies with a particular attention to oxidative stress and inflammatory response, while a few studies focussed on neurotoxicity and developmental studies in addition to the classical body weight changes, serum biochemistry and tissue histopathology (Pagano et al., 2015; Shin et al., 2019; U.S. EPA, 2009a; b; 2018; Zhao et al., 2011; Zhao et al., 2013). Recently, the U.S. EPA (2018) established a provisional subchronic and chronic reference dose (RfDs) for lanthanum of



$5 \times 10^{-5}$  mg La/kg bw. The U.S. EPA also derived a provisional subchronic reference dose (p-RfD) of 0.8 mg/kg bw for neodymium chloride ( $\text{NdCl}_3$ ) and praseodymium chloride ( $\text{PrCl}_3$ ) (U.S. EPA, 2009a; b). This is equal to a provisional RfD of 0.5 mg/kg bw for Pr and Nd (see Table 1 for the derivation of the RfD). More recently, in a 30-day oral toxicity study with soluble cerium chloride ( $\text{CeCl}_3$ ) in mice, a lowest-observed adverse effect level (LOAEL) of 10 mg/kg bw was observed, based on liver toxicity, as assessed by histopathological changes, fatty degeneration, and increased alanine aminotransferase (Cheng et al., 2014).

To estimate absorbed doses of metals, measurements in accessible biological matrices have been conducted in the general population and in workers. For rare earth metals specifically, there is little data on biological levels in the general population. Some authors have studied the impact of living near mining areas on biological levels of REEs, through hair measurements, and have shown bioaccumulation of these elements related to distance from mining sites (Peng et al., 2003; Tong et al., 2004). There is a paucity of biomonitoring data for REEs using other biological matrices such as blood or urine to assess exposure and more specifically absorbed doses in groups of the population.

Table 1 – Available oral reference doses for rare earth elements and derivation

Studied REE and form	Oral reference dose (RfD) value	Principal reference study/Species	Point of departure (POD)	Composite uncertainty factor (UF <sub>c</sub> )	Specific uncertainty factors <sup>a</sup>	Critical effects	References
Lanthanum chloride (LaCl <sub>3</sub> )	Subchronic and chronic RfD of 5 x 10 <sup>-5</sup> mg La/kg bw	He et al. (2008)/ Rats	Benchmark dose lower confidence limit (BMDL) of 0.016 mg/kg bw	UF <sub>c</sub> = 300	UF <sub>A</sub> = 10 UF <sub>H</sub> = 10 UF <sub>D</sub> = 3	Long-term neurotoxicity: decreased number of pyramidal cells in the hippocampus	U.S. EPA (2018)
Neodymium chloride (NdCl <sub>3</sub> )	Provisional subchronic p-RfD of 0.8 mg/kg bw NdCl <sub>3</sub> . This is equal to a provisional RfD of 0.5 mg Nd/kg bw	Haley et al. (1964)/ Rats	No-observed adverse effect level (NOAEL) of 840 mg NdCl <sub>3</sub> /kg bw	UF <sub>c</sub> = 1000	UF <sub>A</sub> = 10 UF <sub>H</sub> = 10 UF <sub>D</sub> = 10	90-day oral toxicity study based on the absence of effect on the body weight, hematology and histopathology of selected tissues of male rats (higher NOAEL in females)	U.S. EPA (2009a)
Praseodymium chloride (PrCl <sub>3</sub> )	Provisional subchronic p-RfD of 0.8 mg/kg bw PrCl <sub>3</sub> . This is equal to a provisional RfD of 0.5 mg Pr/kg bw	Haley et al. (1964)/ Rats	No-observed adverse effect level (NOAEL) of 840 mg PrCl <sub>3</sub> /kg bw	UF <sub>c</sub> = 1000	UF <sub>A</sub> = 10 UF <sub>H</sub> = 10 UF <sub>D</sub> = 10	90-day oral toxicity study based on the absence of effect on the body weight, hematology and histopathology of selected tissues of male rats (higher NOAEL in females)	U.S. EPA (2009b)

<sup>a</sup> UF<sub>A</sub> = interspecies uncertainty factor to account for potential pharmacokinetic and pharmacodynamic differences between rats and humans; UF<sub>H</sub> = intraspecies uncertainty factor for interindividual variations; UF<sub>D</sub> = database uncertainty factor for data deficiencies.

For a better assessment of the exposure-effect continuum and interpretation of biomonitoring results in the population, it becomes important to understand the fate of REEs in the body. Tissue distribution and retention of some REEs has been documented in rodents (Cheng et al., 2014; Hirano and Suzuki, 1996; Leggett et al., 2014). The time courses of some REEs in blood and excreta have also been studied in rats after exposure to the chloride form, such as those of lanthanum (La) (Damment and Pennick, 2007) and of yttrium (Y) published in Japanese journals (Nakamura et al., 1991a; Nakamura et al., 1991b; Nakamura et al., 1991d; Nakamura et al., 1993). However, the toxicokinetics of other REEs such as neodymium (Nd), praseodymium (Pr) and cerium (Ce) are still poorly documented, and in particular the detailed time courses in accessible biological matrices, such as blood and urine.

While data from various studies contributed to our understanding of the biodisposition of REEs, integration of these data within a toxicokinetic model is needed. This project aimed to use biodisposition data from the literature and generate missing toxicokinetic data from laboratory animal experiments to develop a toxicokinetic model to be used by risk assessors to interpret biomonitoring data for these REEs. The biologically-based toxicokinetic modeling approach is similar to prior work (Carrier et al., 2001; Heredia-Ortiz et al., 2011). Modeling was conducted using a bottom-up approach based on experimental data and known mechanisms from the literature to specifically fit REE kinetic data. With the toxicokinetic model, it is possible to translate exposure doses associated with potential toxicity in rodents into human biomarker-equivalent metrics. The focus was put on four REEs (Pr, Ce, Nd and Y) in the chloride form, which were identified by Health Canada as lacking suitable toxicokinetic information.

## 3.2 Materials and Methods

### 3.2.1 Animals, care and acclimatization

The experiment was conducted in compliance with the OECD 417 guideline and animals were cared for in accordance with the Ethics principles of the Animal Care Committees of the University of Montreal (protocol 16-048) and Health Canada (protocol 2016-001). Male Sprague-Dawley rats (weighing between 200 and 250 g) were purchased from Charles River Canada Inc. (St-Constant, Québec, Canada). The temperature and humidity of the room were respectively kept at  $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$  and between 40-70%. The lighting switched between a 12-h day/night cycle. During the 3-day acclimatization period as well as the whole study, rats had access to food (*Teklad Global Diets*<sup>®</sup> #2018 from Envigo, Canada) and water *ad libitum*. Twenty-four hours before exposure, rats were placed in their metabolic cage for the remaining duration of the experiment and they were given sweetened water, to induce an aqueous diuresis (Bouchard et al., 1998). Following treatment, food and water intake of rats were monitored along with their body weight and general behavior.

### 3.2.2 Dosing and sample collection

Rats were intravenously (IV) injected with 1 mg  $\text{PrCl}_3$ ,  $\text{YCl}_3$ ,  $\text{NdCl}_3$  or  $\text{CeCl}_3$ /kg bw (n=5 per dose and per REE).  $\text{PrCl}_3$ ,  $\text{YCl}_3$ ,  $\text{NdCl}_3$  and  $\text{CeCl}_3$  salts in powder form were dissolved in physiological saline (0.9%) for dosing. A volume of one mL was administered per kg of body weight. Another ten rats served as controls and were treated with the vehicle used to administer the REEs (that is an equivalent volume of physiological saline).

To determine levels of REEs excreted with time and allow to perform a mass-balance study, urine and feces were collected at fixed intervals for up to 7 days: 0-24 h prior to dosing and 0-3, 3-6, 6-9, 9-12, 12-24, 24-30, 30-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 h after IV injection. The seven-day period was based on a prior pilot study showing that elimination from blood was very rapid with near complete elimination after 1 day and urinary excretion was almost complete after one week. Immediately after collection, urinary volumes were measured, and samples were frozen at -20°C until analysis. Feces were also weighed prior to being frozen at -20°C until analysis.

To follow blood levels of metals as a function of time, sequential withdrawals of blood were conducted (150-200 µL per time point) by the caudal vein (incision at the end of the tail) at times 20 h prior to dosing and at fixed time points during the 72-h period after IV injection: at 5 min, 15 min, 30 min, and then 1, 3, 6, 9, 12, 24, 30, 48, 72 h postdosing. The time of blood sampling and blood volumes collected were revised with the veterinarian to respect the maximal volume of blood that can be withdrawn from a rat during the course of a week. On day 7 postdosing, rats were anaesthetized with isoflurane and sacrificed by cardiac puncture; main organs (liver, kidneys, spleen and lungs) were collected, washed with physiological saline (0.9%), weighted and then kept frozen at -80°C until analysis.

### **3.2.3 Sample analysis**

Sample preparation and digestion for elemental (Ce, Pr, Nd and Y) analysis by ICP-MS was performed in a cleanroom (ISO 2 standards 146442-1). This wet digestion method used was adapted from Pujalte et al. (2017) and is described elsewhere (Jomaa et al., 2021). Elemental analysis was conducted with an Agilent ICP-MS 7700x (Agilent, Mississauga, Ontario, Canada) in a cleanroom (ISO 3 standards 146442-1). Quantification method is

also described elsewhere (Jomaa et al., 2021). The limit of detection was in the order of 0.05 ppb, which is equivalent to 0.05 ng/g of tissue/feces or 0.5 ng/mL of urine.

### 3.2.4 Experimental data analysis

The time courses of Ce, Pr, Nd and Y elements in blood were expressed as a percent of administered molar dose. The time courses of Ce, Pr, Nd and Y elements in urine and feces were expressed as a cumulative percent of administered molar dose. Levels of REEs in liver, kidneys, lungs and spleen on day 7 postdosing were expressed as concentrations ( $\mu\text{g/g}$ ) and percent of administered molar dose.

Several toxicokinetic parameters can be derived from a non-compartmental analysis of the time courses of the REEs in blood. The analysis was carried out considering a bi-exponential elimination time-course. The rate constants for each of the two elimination phases were determined by least-square fit adjustments to observed individual blood concentration-time profiles of each REE by using “curve fitting” tool in MATLAB (MathWorks) and apparent half-life ( $t_{1/2}$ ) values were calculated (Hayes, 2007). The area under the concentration-curve (AUC), the area under the first moment of the concentration-curve (AUMC), the mean residence time (MRT), the apparent blood clearance ( $Cl_{\text{blood}}$ ) and the apparent volume of distribution ( $V_{\text{ss}}$ ) were also calculated from the individual time course of the REEs (Gibaldi and Perrier, 1982; Hayes, 2007; Weiss, 1990). The volume of blood ( $V_{\text{blood}}$ ) of each rat was estimated for each sample of blood based on its weight ( $m_{\text{rat}}$ ) with equation (1). An average blood volume per rat ( $k_v$ ) of 60 mL/kg bw was used.

$$V_{\text{blood}} = \frac{k_v}{m_{\text{rat}}} \quad (1)$$

### **3.2.5 Model development**

A multi-compartment dynamical model was developed to describe the biodisposition kinetics of Ce, Pr, Nd and Y elements. The model is depicted in Figure 1 and symbols and abbreviations used in the functional representation of the model are described in Table 2. The model seeks to predict the essential biological features of the kinetics of these REEs. Blood, key organs or tissues, urine and feces were each represented by a compartment. Arrows stand for the transfer rates of the REEs from one compartment to another; compartment interconnection is represented by the systemic circulation where tissue blood represents a fraction of cardiac output. The variations with time in compartment burdens were described mathematically by a system of differential equations where the rate of change in a compartment burden is the difference between its input and output rates (see Appendix). Evaluating numerically the system of differential equations with MATLAB (R2020a) yields the time courses of the element in the different compartments.

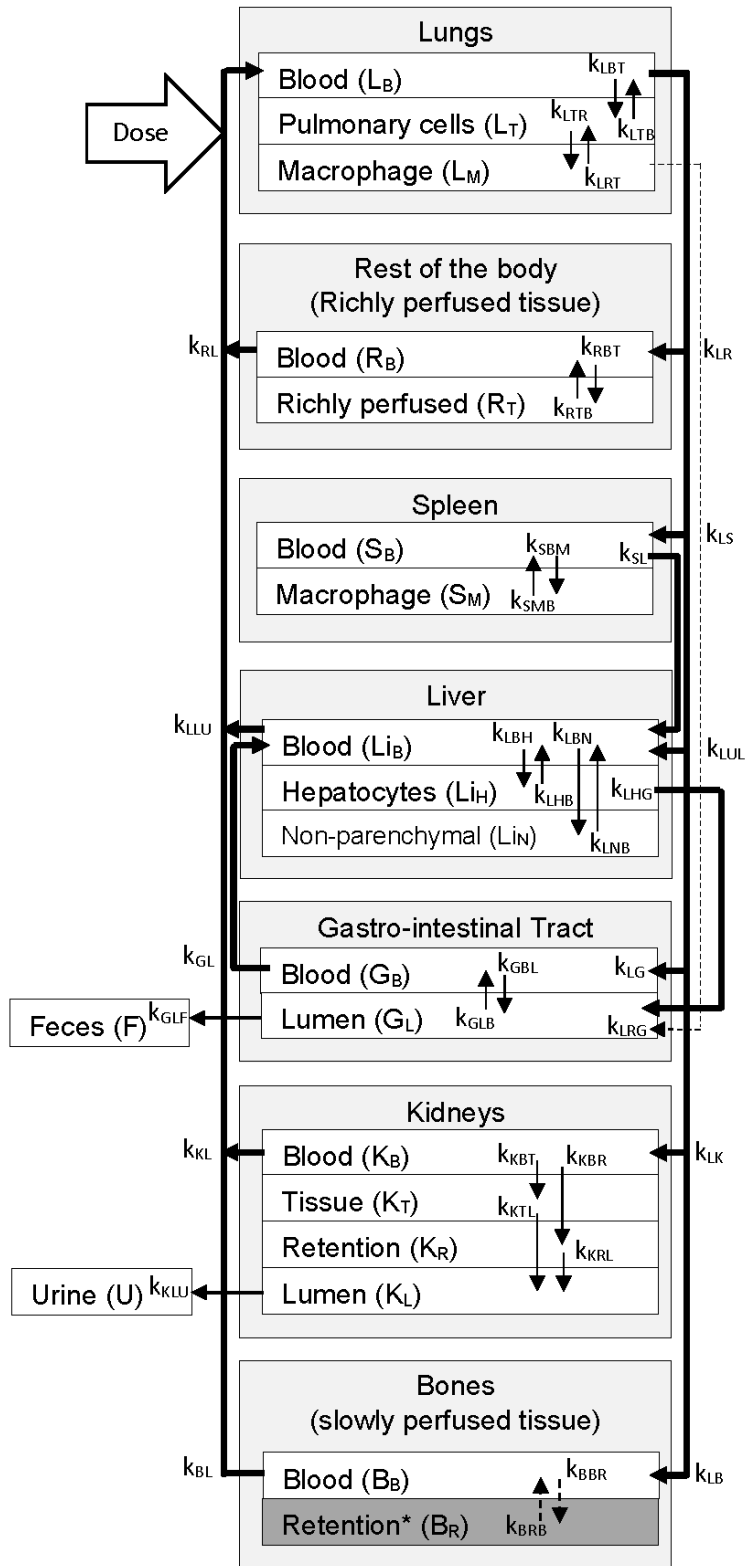


Figure 1 Model representation of the kinetics of rare earth elements (Ce, Pr, Nd, Y). Bold arrows represent blood flows. Parameters over arrows represent the transfer rates between the different compartments.



The model representation was based on the new data collected by our team (*sections 2.1 to 2.5*) on the time-courses of Ce, Pr, Nd and Y elements in blood, urine, feces after IV injection in rats together with tissue levels (liver, spleen, kidneys, lungs) at the time of sacrifice 7 days postdosing. Other data from the literature were used to define accumulation in certain tissues (Bingham and Dobrota, 1994; Damment and Pennick, 2007; Hirano et al., 1993; Molina et al., 2014; Nakamura et al., 1997) (see Supplementary file S1.1 for details of model representation).

Table 2 – Parameters of the toxicokinetic model of rare earth elements (REEs).

Variables	From	To
$k_{LS}$	Lungs (blood)	Spleen (blood)
$k_{LR}$	Lungs (blood)	Rest of the body (blood)
$k_{LUL}$	Lungs (blood)	Liver (blood)
$k_{LK}$	Lungs (blood)	Kidneys (blood)
$k_{LG}$	Lungs (blood)	GIT (blood)
$k_{LB}$	Lungs (blood)	Bones (blood)
$k_{RL}$	Rest of the body (blood)	Lungs (blood)
$k_{BL}$	Bones (blood)	Lungs (blood)
$k_{KL}$	Kidneys (blood)	Lungs (blood)
$k_{SL}$	Spleen (blood)	Liver (blood)
$k_{LLU}$	Liver (blood)	Lungs (blood)
$k_{GL}$	GIT (blood)	Liver (blood)
$k_{LRG}$	Lungs (retention)	GIT (lumen)
$k_{LRT}$	Lungs (retention)	Lungs (pulmonary cells)
$k_{LBT}$	Lungs (blood)	Lungs (pulmonary cells)
$k_{LTB}$	Lungs (pulmonary cells <sup>a</sup> )	Lungs (blood)
$k_{GBL}$	GIT (blood)	GIT (lumen)
$k_{GLB}$	GIT (lumen)	GIT (blood)

k <sub>KRL</sub>	Kidney (retention)	Kidney (lumen)
k <sub>SBM</sub>	Spleen (blood)	Spleen (retention)
k <sub>BBR</sub>	Bone (blood)	Bone (retention)
k <sub>BRB</sub>	Bone (retention)	Bone (blood)
k <sub>LTR</sub>	Lungs (pulmonary cells <sup>a</sup> )	Lungs (retention)
k <sub>RBT</sub>	Rest of the body (blood)	Rest of the body (richly perfused tissue)
k <sub>RTB</sub>	Rest of the body (richly perfused tissue)	Rest of the body (blood)
k <sub>LBH</sub>	Liver (blood)	Liver (hepatocytes)
k <sub>LHB</sub>	Liver (hepatocytes)	Liver (blood)
k <sub>LBN</sub>	Liver (blood)	Liver (non-parenchymal)
k <sub>LNB</sub>	Liver (non-parenchymal)	Liver (blood)
k <sub>LHG</sub>	Liver (hepatocytes)	GIT (lumen)
k <sub>GLF</sub>	GIT (lumen)	Feces
k <sub>SMB</sub>	Spleen (retention)	Spleen (blood)
k <sub>KBT</sub>	Kidneys (blood)	Kidneys (tissue)
k <sub>KBR</sub>	Kidneys (blood)	Kidneys (retention)
k <sub>KTL</sub>	Kidney (tissue <sup>b</sup> )	Kidney (lumen)
k <sub>KLU</sub>	Kidney (lumen)	Urine

---

<sup>a</sup> Pulmonary cells = Tissue components of the lungs with rapid exchange

<sup>b</sup> Tissue = Tissue components of the kidneys with rapid exchange

In our model, some tissues had to be subcompartmentalized to account for the transfer from tissue blood to the cellular matrix with fast exchange rate and tissue retention components; this is the case for the liver, spleen, kidneys and lungs. The sum of amounts modeled in these tissue subcompartments was used to compare to the contents observed in those organs at the end of the experiment. The liver was split into subcompartments representing parenchymal (hepatocyte) and non-parenchymal cells. Biliary secretion is represented by the link between the hepatocyte compartment and the GIT compartment. The GIT was also

considered to receive a negligible fraction of soluble REE cleared from the lungs through the mucociliary escalator (Molina et al., 2014). It was further necessary to consider a transmembrane transfer of the REE from blood to the intestinal lumen (intestinal secretion), a phenomenon also observed for other elements (Carrier et al., 2001). As for the liver tissue, the lungs were both split into cellular tissue matrix with fast exchange (pulmonary cells) and a retention compartment (macrophages) to allow modeling both the rapid turnover and accumulation observed in Hirano et al. (1993). Similarly, the kidneys were split up in two compartments to accommodate for the excretion in urine from cellular tissue matrix with fast exchange as well as the retention in the tissue. The spleen included a retention compartment represented by macrophages.

### **3.2.6 Determination of parameter values**

The transfer rates between compartments were either determined by extracting information from the literature or by fitting them using the data from the experiment presented in this study. The literature was used to determine the appropriate fraction of the cardiac output to the organs. Parameters from the literature were also used for known mechanisms that did not have a significant impact on the time-courses and thus did not need to be fitted. Otherwise, adjusted parameters were determined by fits to the experimental data gathered in our study using the sequential steps presented in Table 3 (see also Supplementary file S1.2 for the detailed estimation of parameter values).

Table 3 – Sequential steps for the determination of parameter values

Broad steps	Parameters	Experimental data / Sources
Set blood distribution parameter values	$k_{LS}, k_{LR}, k_{LUL}, k_{LK}, k_{LG}, k_{LB}, k_{RL}, k_{BL}, k_{KL}, k_{SL}, k_{LLU}$	Malik et al. (1976)
Set parameter transfer rates calculated from literature	$k_{LRT}, k_{LBT}, k_{LTB}, k_{GLB}, k_{GBL}, k_{SMB}$	Molina et al. (2014), Hirano et al. (1993), ICRP (2012), Damment and Pennick (2007), and (Nakamura et al., 1997)
Rough estimate of remaining parameters	---	---
Fit blood distribution to liver	$k_{LBH}$	Total fecal excretion, liver accumulation and blood time course (0 to 9 h)
Partition between liver compartments and total excretion in feces	$k_{LBH}, k_{LBN}$	Liver accumulation and total fecal excretion
Fit fecal excretion	$k_{LHG}, k_{GLF}$	Fecal excretion time course
Fit lung and spleen accumulation	$k_{LTR}, k_{SBM}$	Accumulation in lungs and accumulation in spleen
Fit last points of blood time course	$k_{LHB}, k_{LNB}$	Blood time course (144 and 168 h)
Fit middle section of blood time course	$k_{LBH}, k_{LBN}, k_{RBT}, k_{LTR}, k_{SBM}, k_{RTB}$	Blood time course (12 to 72 h)
Fit kidney accumulation and urinary excretion	$k_{KBT}, k_{KBR}, k_{KTL}, k_{KRL}$	Total urinary excretion and accumulation in kidneys
Fit urinary excretion	$k_{KLU}$	Urinary time course

### 3.2.7 Sensitivity analysis

Once the parameters of the model were fitted, they were varied individually to assess their impact on the blood time-curves and cumulative urinary and fecal excretion. MATLAB

(R2020a) was used to compute the changes. The impact of each parameter was calculated with equation (2). The normalized sensitivity coefficient indicates the impact of a change in the parameter value. A high sensitivity coefficient (close to 1 or -1) indicates that a change in the parameters has a large impact on a specified section of the model (*i.e.* cumulative excretion in urine and feces or blood concentration at different time points).

$$\text{Normalized sensitivity} = \frac{\% \text{ change in target}}{\% \text{ change in parameter value}} \quad (2)$$

The parameter values were varied by 0.2, 0.5, 0.75, 1, 1.5 and 2 and the modified time-courses were graphed against the original curves obtained with default parameter values (see Supplementary file S1.3 for more details).

### **3.2.8 Determination of biomonitoring equivalents**

The model serves to relate absorbed doses and urinary levels. Firstly, a daily absorbed dose of 1 unit was used as input in the model until steady state equilibrium was reached and corresponding urinary fraction in 24-h collections was determined and reported. Secondly, a human biomonitoring equivalent (BE) was also determined based on links between a point-of-departure dose established from a key toxicity study and urinary levels using the model. The U.S. EPA has established a provisional p-RfD from an oral NOAEL dose derived from a subchronic animal study to which an uncertainty factor of 1000 was applied (U.S. EPA, 2009a; b) (see Table 1). The model was used to simulate an oral repeated daily exposure to this animal NOAEL dose until steady state was reached and corresponding 24-h urinary level postexposure was obtained. An oral absorption fraction of 0.0005 (ICRP, 2012) was used for this simulation. A human BE expressed in terms of daily amounts was then established by applying the 1000-fold uncertainty factor to the predicted rat urinary

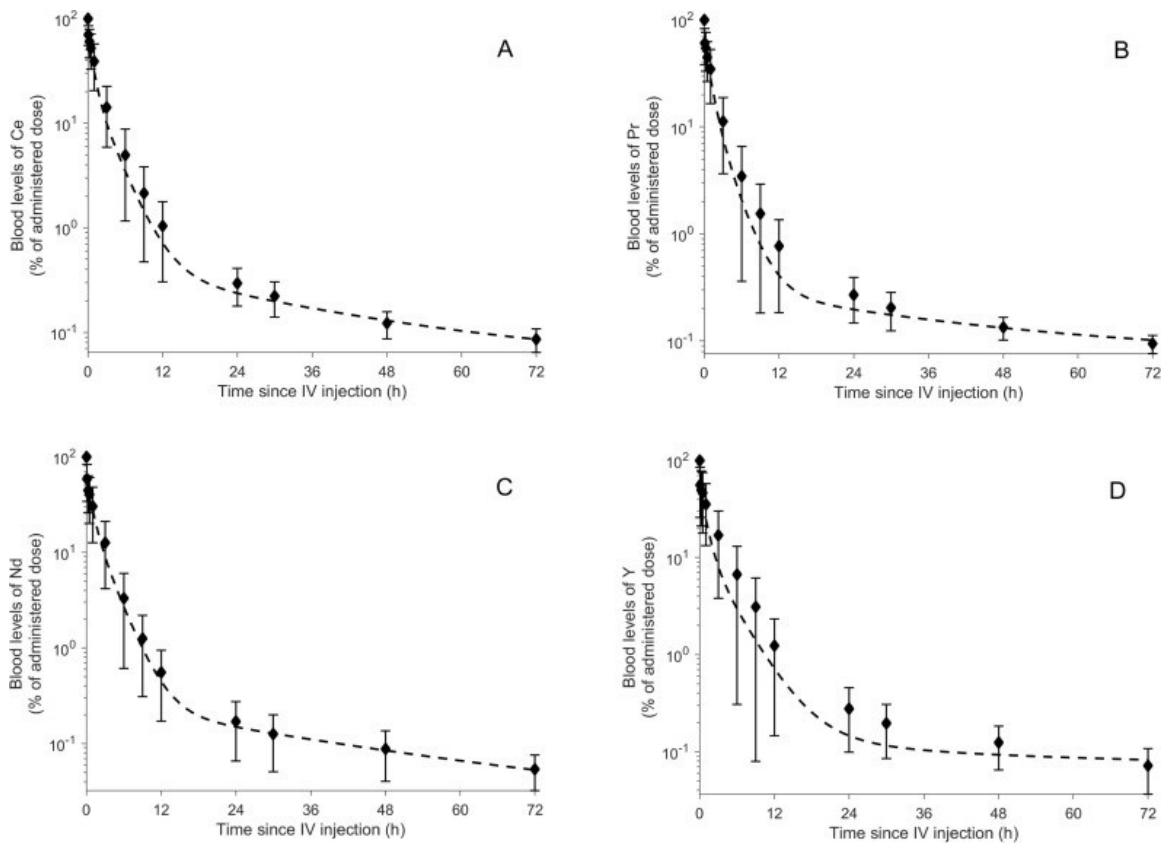
excretion levels. The human BE expressed as daily amounts was converted into concentrations by considering a 70 kg body weight, an average daily urinary volume of 1.5 L and the following equation (3).

$$BE = \frac{\text{Cumulative excretion}_{24h} \times \text{Absorbed oral dose} \times RfD \times \text{Body weight}}{\text{Urine volume}_{24h}} \quad (3)$$

### 3.3 Results

#### 3.3.1 Experimental study in rats

Figure 2 on the time courses of Ce, Pr, Nd and Y in blood following intravenous injection of the four metals in chloride form showed that peak values observed at the first sampling time point, hence at 5 min post-dosing, represented 52 to 70% of injected dose depending on the animals. For all REEs, an initial rapid elimination from blood was observed followed by a slower elimination phase. The initial elimination phase indicates a rapid tissue distribution, because feces and urine contained almost no amounts of the studied REEs during the first few hours postdosing (less than 1% of dose cumulated after 12 h). The slower elimination phase from blood is coherent with elimination of REEs retained in a tissue. For each rat, the total mass recovered from blood, tissues and excreta was proportional to blood levels at initial time point. Toxicokinetic parameters were determined based on these blood time courses and are described in Table 4. Results show a similar rapid elimination from blood for Ce, Pr, Nd and Y, with apparent elimination half-lives for the initial phase of 1.5, 1.2, 1.3 and 1.8 h, respectively. The elimination half-lives for the terminal phase were also similar for all four metals with respective values of 42, 54, 35 and 35 h. The AUC, AUMC, MRT,  $Cl_{\text{blood}}$  and  $V_{\text{ss}}$  were also in the same range for all four metals. The  $V_{\text{ss}}$  of all four metals shows substantial tissue distribution. Mean values ranged between 120 and 206 mL for the different REEs.



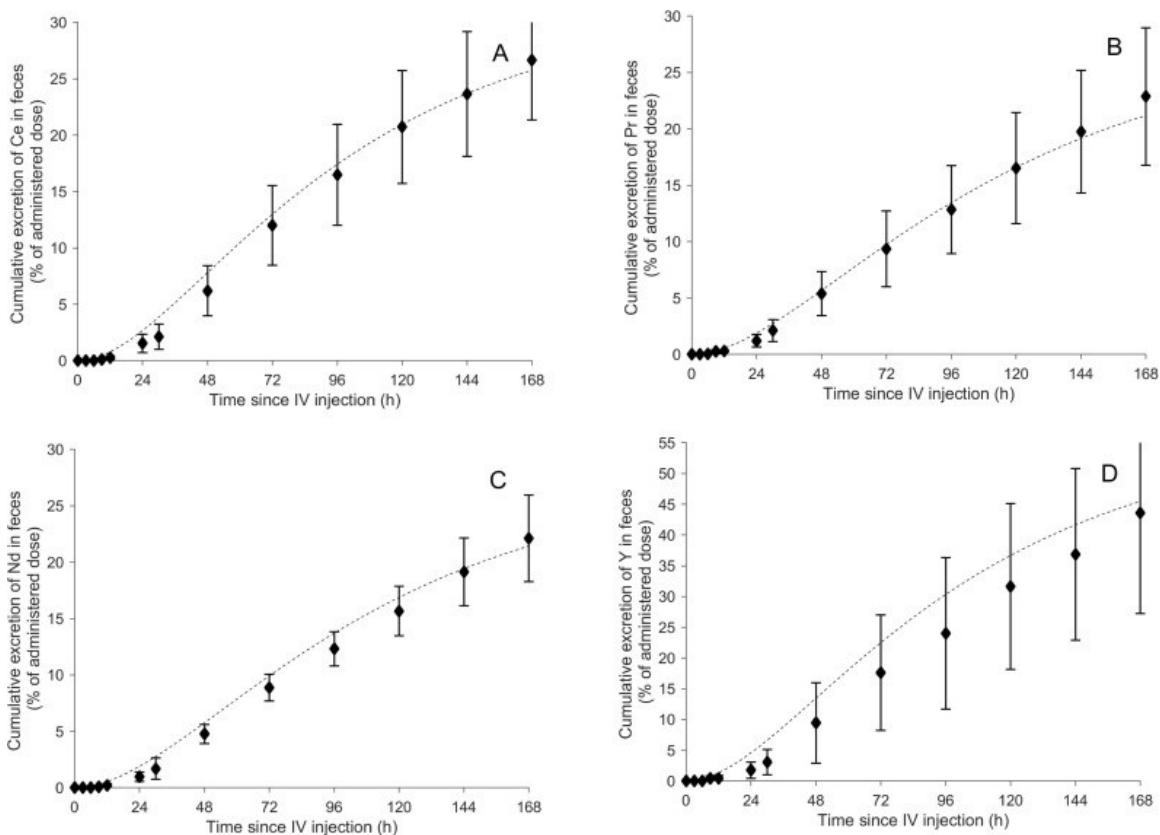
**Figure 2** Model simulations (lines) compared with experimental data (mean  $\pm$  SD; symbols and vertical bars) on the time courses of Ce (A), Pr (B), Nd (C) and Y (D) elements in blood following intravenous injection of CeCl<sub>3</sub>, PrCl<sub>3</sub>, NdCl<sub>3</sub>, and YCl<sub>3</sub>, respectively, in rats (n = 5 except for PrCl<sub>3</sub> and YCl<sub>3</sub> exposure where n = 4).



Table 4 – Toxicokinetic parameters determined from the blood time course of Ce, Pr, Nd and Y over 72 h after intravenous injection in rats.

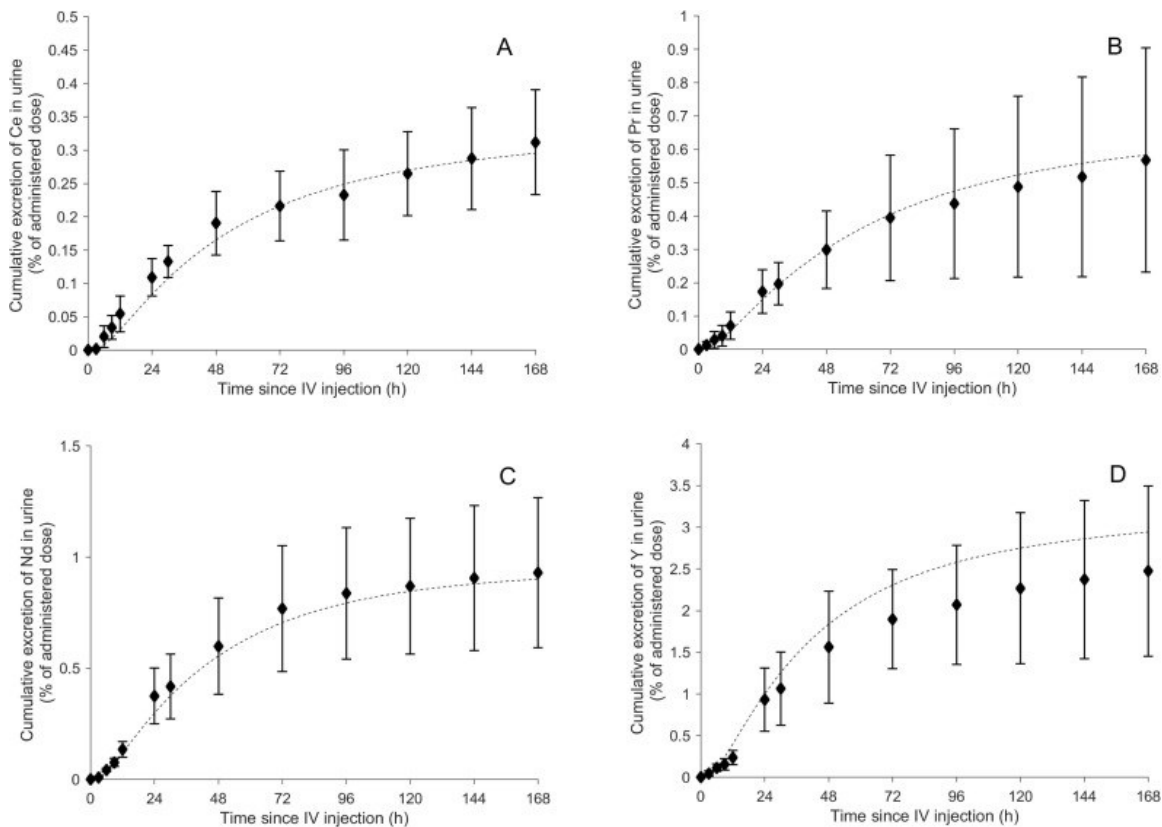
Mean $\pm$ SD values of the toxicokinetic parameters				
Toxicokinetic parameters	Ce (n=5)	Pr (n=4)	Nd (n=5)	Y (n=4)
$k_{\alpha}$ ( $h^{-1}$ )	$0.52 \pm 0.18$	$0.60 \pm 0.17$	$0.57 \pm 0.18$	$0.49 \pm 0.24$
$t_{1/2\alpha}$ (h)	$1.49 \pm 0.53$	$1.22 \pm 0.36$	$1.31 \pm 0.41$	$1.75 \pm 0.86$
$k_{\beta}$ ( $h^{-1}$ )	$0.017 \pm 0.003$	$0.015 \pm 0.005$	$0.022 \pm 0.007$	$0.020 \pm 0.001$
$t_{1/2\beta}$ (h)	$41.9 \pm 7.9$	$54.0 \pm 26.9$	$34.8 \pm 11.6$	$34.7 \pm 2.1$
AUC [(mg/L x h)]	$15.6 \pm 7.6$	$13.7 \pm 7.6$	$11.9 \pm 7.0$	$13.0 \pm 10.9$
AUMC [(mg/L x h <sup>2</sup> )]	$144 \pm 74$	$121 \pm 53$	$79.9 \pm 48.3$	$93.2 \pm 65.4$
MRT (h)	$8.9 \pm 2.1$	$9.2 \pm 1.6$	$7.1 \pm 2.5$	$8.6 \pm 2.3$
CL (mL/h)	$13 \pm 7$	$13 \pm 6$	$22 \pm 17$	$20 \pm 18$
V <sub>ss</sub> (mL)	$120 \pm 79$	$125 \pm 72$	$171 \pm 191$	$206 \pm 210$

Figure 3 shows the cumulative excretion of Ce, Pr, Nd and Y in feces as a function of time (expressed as a molar percent of dose) over the 7-day period following intravenous injection of 1 mg/kg bw of the four metals as chlorides in rats. Fecal profiles were similar for all four metals. It is also clearly evident that most of the excretion of the REEs is through feces and that excretion was not complete 7 days postdosing, given that asymptotic values were not reached at that time point. The mean ( $\pm$  SD) percentages of injected dose recovered in feces as Ce, Pr, Nd and Y were calculated to be  $27 \pm 5$ ,  $22 \pm 7$ ,  $22 \pm 4$  and  $48 \pm 15$  %, respectively, during the 0-7-day period (0-168 h) postdosing. Y had the highest excretion of the 4 metals but also the largest variation even after subtracting background excretion observed prior to injection (background excretion only observed for Y).



**Figure 3** Model simulations (lines) compared with experimental data (mean  $\pm$  SD; symbols and vertical bars) on the cumulative excretion of Ce (A), Pr (B), Nd (C) and Y (D) in feces following intravenous injection of CeCl<sub>3</sub>, PrCl<sub>3</sub>, NdCl<sub>3</sub> and YCl<sub>3</sub>, respectively, in rat (n = 5 except for PrCl<sub>3</sub> and YCl<sub>3</sub> exposure where n = 4).

Figure 4 depicts the cumulative excretion of Ce, Pr, Nd and Y in urine as a function of time (expressed as a percent of dose) over the 7-day period following intravenous injection of the metals as chlorides. Levels of REEs detected in urine were significantly lower than in feces. Mean ( $\pm$  SD) percentages of injected dose recovered in urine as Pr, Ce, Nd and Y amounted to  $0.6 \pm 0.3$ ,  $0.3 \pm 0.1$ ,  $0.9 \pm 0.3$  and  $2.4 \pm 1.0\%$ , respectively, during the 0-7-day period (0-168 h) postdosing. The urinary excretion time courses were similar for all four metals, although Y appeared to be excreted in slightly higher amounts in urine compared to the other three studied rare earth metals over the 0-168 h period postdosing.



**Figure 4** Model simulations (lines) compared with experimental data (mean  $\pm$  SD; symbols and vertical bars) on the cumulative excretion of Ce (A), Pr (B), Nd (C) and Y (D) in urine following intravenous injection of CeCl<sub>3</sub>, PrCl<sub>3</sub>, NdCl<sub>3</sub> and YCl<sub>3</sub> in rats (n = 5 except for PrCl<sub>3</sub> and YCl<sub>3</sub> exposure where n = 4).

Table 5 on tissue levels of Ce, Pr, Nd and Y (in liver, kidneys, lungs and spleen expressed as % of dose) on day 7 following intravenous injection of 1 mg/kg bw of the four metals as chlorides depicts that highest levels were found in the liver, followed in decreasing order by the spleen, kidney and lungs. In all cases, amounts of Y remaining in the liver after 7 days were less than those of the other REEs analyzed.

Table 5 – Contents of rare earth elements (REEs) in tissues at 168 h after intravenous injection in rats.

Contents of REEs in tissues (mean $\pm$ SD percent of molar dose)			
REEs (n of rats per group)	Tissues	% of administered dose <sup>a</sup>	% of recovered dose <sup>b</sup>
Ce (n = 4)	Lungs	0.22 $\pm$ 0.24	0.27 $\pm$ 0.29
	Spleen	1.38 $\pm$ 0.51	1.77 $\pm$ 0.73
	Kidneys	0.42 $\pm$ 0.12	0.54 $\pm$ 0.12
	Liver	49.3 $\pm$ 12.3	62.7 $\pm$ 5.4
Pr (n = 5)	Lungs	0.106 $\pm$ 0.043	0.173 $\pm$ 0.059
	Spleen	0.796 $\pm$ 0.627	1.14 $\pm$ 0.64
	Kidneys	0.50 $\pm$ 0.13	0.83 $\pm$ 0.22
	Liver	39.0 $\pm$ 13.7	61.2 $\pm$ 3.7
Nd (n = 5)	Lungs	0.067 $\pm$ 0.034	0.105 $\pm$ 0.023
	Spleen	0.47 $\pm$ 0.39	0.66 $\pm$ 0.44
	Kidneys	0.42 $\pm$ 0.17	0.70 $\pm$ 0.15
	Liver	37.4 $\pm$ 17.5	58.2 $\pm$ 9.3
Y (n = 4)	Lungs	0.070 $\pm$ 0.045	0.103 $\pm$ 0.041
	Spleen	0.35 $\pm$ 0.35	0.45 $\pm$ 0.37
	Kidneys	0.44 $\pm$ 0.15	0.76 $\pm$ 0.43
	Liver	12.7 $\pm$ 12.2	17.6 $\pm$ 12.7

<sup>a</sup> Administered dose was 1 mg/kg bw.

<sup>b</sup> Recovered dose consists of cumulative excretion in feces and urine as well as organ contents.

### 3.3.2 Model parameters, simulation of experimental data and sensitivity analysis

With the parameter values presented in Table 6, Figures 2 to 4 show that model simulations provided good fits to the available experimental time course data. Figures 5 and 6 report normalized sensitivity coefficients obtained when varying parameter values. Almost all of the parameters had somewhat an impact on the predicted time courses, but variations in the time courses are not explained by a shift in a single parameter value. However, sensitivity analysis showed that the liver transfer rates from blood to the liver subcompartments  $k_{LBH}$  and  $k_{LBN}$  had one of the largest impact on the cumulative excretion of REEs in feces over 168 h post-injection (Figs. 7A and B for Pr; modifying constants by a specific value had similar effects across all REEs). The transfer from the hepatocytes to the GI tract  $k_{LHG}$  had an even more important influence on the cumulative excretion time course in feces (Fig. 7C) while the parameter  $k_{GLF}$  had less influence (Fig. 7D). Tissue contents at the time of sacrifice (168 h or 7 days) also varied when changing these transfer rates. The relative transfer rate values of the two liver subcompartments,  $k_{LBH}$  and  $k_{LBN}$ , determine amounts that are readily excreted in feces from the hepatocytes subcompartment. A longer retention in the liver is associated with a more rapid transfer to the non-parenchymal subcompartment.

Table 6 - Model parameter values of rare earth elements (REEs).

Parameter values for the different REEs (mean $\pm$ SD) in h <sup>-1</sup>				
Variables	Ce	Pr	Nd	Y
Fixed parameters <sup>a</sup>				
k <sub>LS</sub>	15.5	15.5	15.5	15.5
k <sub>LR</sub>	223	223	223	223
k <sub>LUL</sub>	3.78	3.78	3.78	3.78
k <sub>LK</sub>	58.0	58.0	58.0	58.0
k <sub>LG</sub>	84	84	84	84
k <sub>LB</sub>	29.0	29.0	29.0	29.0
k <sub>RL</sub>	60	60	60	60
k <sub>BL</sub>	60	60	60	60
k <sub>KL</sub>	60	60	60	60
k <sub>SL</sub>	75	75	75	75
k <sub>LLU</sub>	60	60	60	60
k <sub>GL</sub>	75	75	75	75
k <sub>LRG</sub>	0	0	0	0
k <sub>LRT</sub>	0.00058	0.00058	0.00058	0.00058
k <sub>LBT</sub>	6.72	6.72	6.72	6.72
k <sub>LTB</sub>	60	60	60	60
k <sub>GBL</sub>	0.1	0.1	0.1	0.1
k <sub>GLB</sub>	0	0	0	0
k <sub>KRL</sub>	0.0003	0.0003	0.0003	0.0003
k <sub>SMB</sub>	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
k <sub>BBR</sub>	0	0	0	0
k <sub>BRB</sub>	0	0	0	0

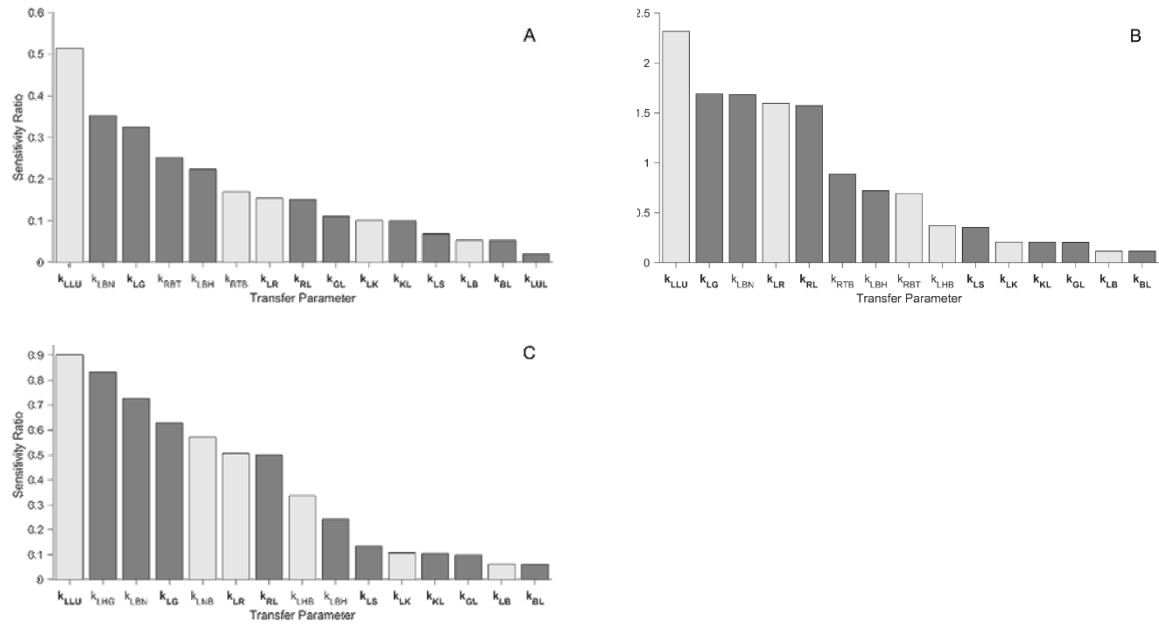
Fitted

parameters<sup>b</sup>

k <sub>LTR</sub>	0.118 ± 0.117	0.0830 ± 0.0444	0.0513 ± 0.0108	0.0438 ± 0.0095
k <sub>RBT</sub>	0.568 ± 0.145	0.296 ± 0.050	0.563 ± 0.171	0.619 ± 0.054
k <sub>RTB</sub>	0.739 ± 0.140	0.573 ± 0.296	0.700 ± 0.189	0.621 ± 0.275
k <sub>LBH</sub>	4.46 ± 1.92	4.80 ± 1.36	5.45 ± 2.57	7.97 ± 4.68
k <sub>LHB</sub>	0.00919 ± 0.00110	0.00746 ± 0.00075	0.00561 ± 0.00210	0.00175 ± 0.00152
k <sub>LBN</sub>	5.15 ± 1.38	5.28 ± 1.41	4.88 ± 0.68	0.706 ± 0.226
k <sub>LNB</sub>	0.000702 ± 0.000576	0.00127 ± 0.00123	0.000360 ± 0.000272	0.00456 ± 0.00378
k <sub>LHG</sub>	0.0290 ± 0.0041	0.0247 ± 0.0042	0.0245 ± 0.0049	0.0185 ± 0.0085
k <sub>GLF</sub>	0.0147 ± 0.0020	0.0133 ± 0.0014	0.0142 ± 0.0024	0.0306 ± 0.0139
1k <sub>SBM</sub>	0.404 ± 0.224	0.270 ± 0.163	0.147 ± 0.066	0.0851 ± 0.0364
k <sub>KBT</sub>	0.0211 ± 0.0137	0.0518 ± 0.0234	0.0823 ± 0.0270	0.215 ± 0.105
k <sub>KBR</sub>	0.0259 ± 0.0099	0.0381 ± 0.0190	0.0367 ± 0.0150	0.0326 ± 0.0278
k <sub>KTL</sub>	0.0315 ± 0.0200	0.0244 ± 0.0116	0.0292 ± 0.0058	0.0263 ± 0.0065
k <sub>KLU</sub>	0.200 ± 0.016	0.201 ± 0.004	0.259 ± 0.055	0.200 ± 0.010

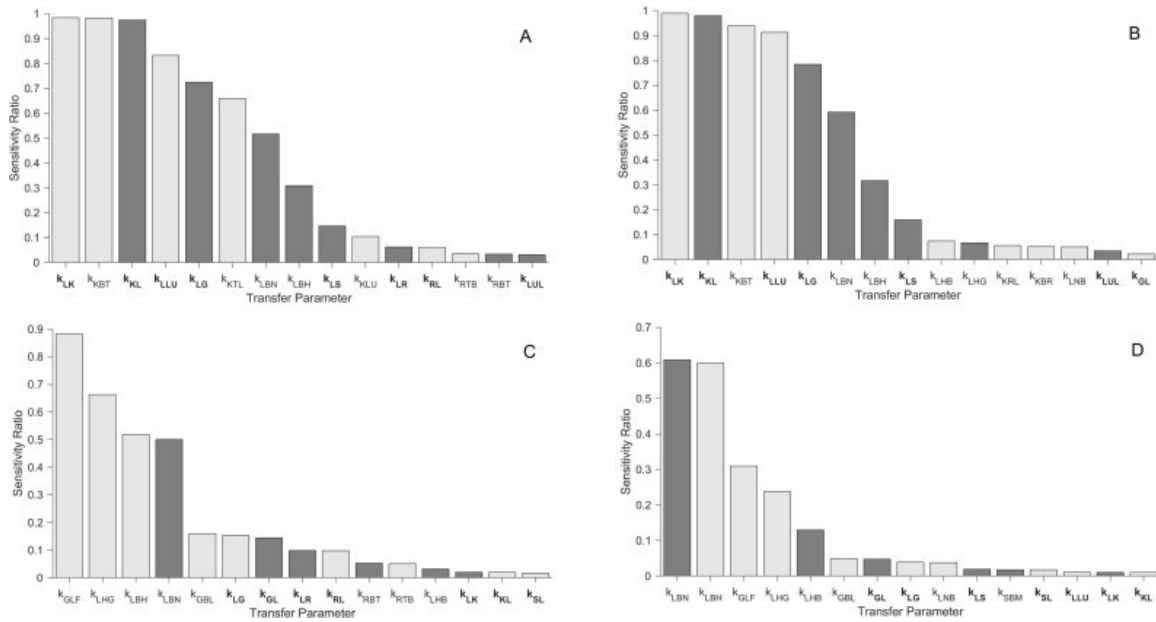
<sup>a</sup> Taken from the literature or calculated from values reported in the literature

<sup>b</sup> Determined based data obtained in the experiment conducted in the current work



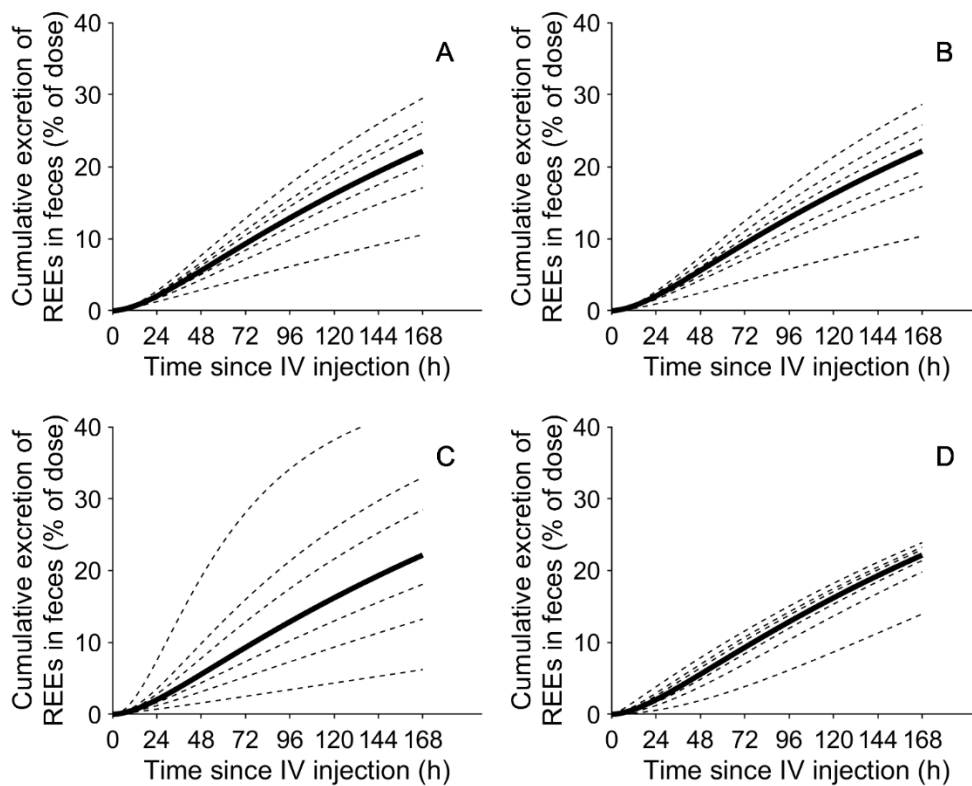
**Figure 5** Sensitivity analysis of model parameters as determined by the normalized sensitivity coefficients in blood at 1 h (A), 12 h (B) and 72 h (C). Parameters were individually varied by a factor of 1%. Darker columns have a negative impact. Blood transfer parameters are indicated in bold (See Table 2 and Figure 1).



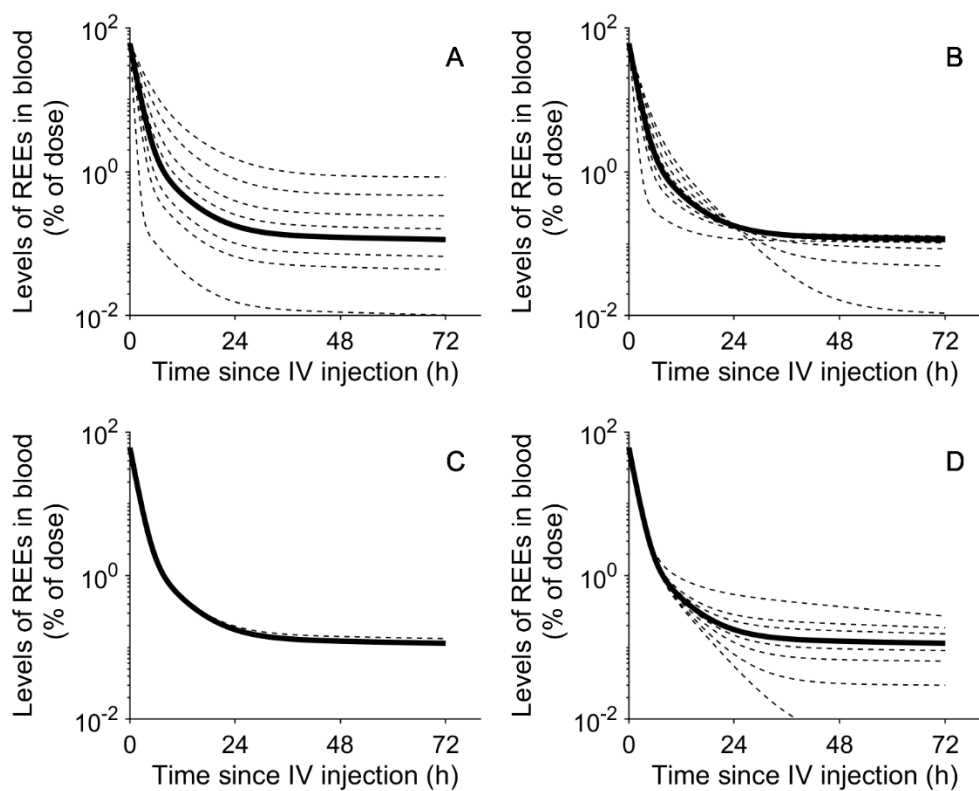


**Figure 6** Sensitivity analysis of model parameters as determined by the normalized sensitivity coefficients in urine at 24 h (A) and 168 h (B), and feces at 24 h (C) and 168 h (D). Parameters were individually varied by a factor of 1%. Darker columns have a negative impact. Blood transfer parameters are indicated in bold.

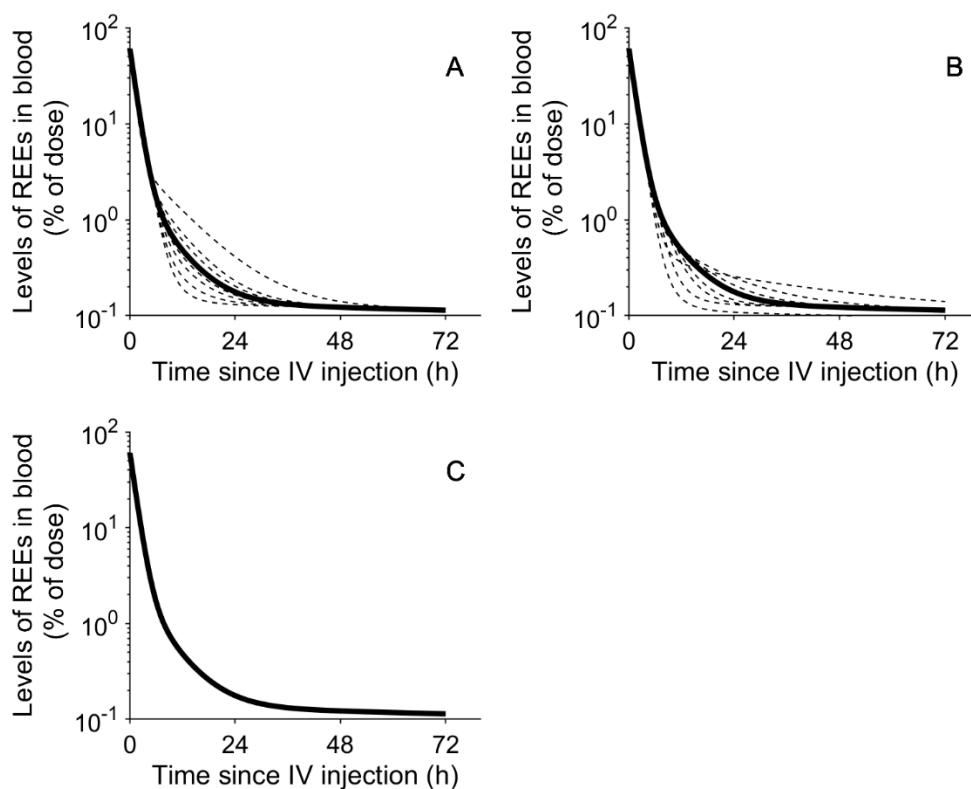
Consistently, varying the liver transfer rates from blood to the liver subcompartments  $k_{L_{BH}}$  and  $k_{L_{BN}}$  also affected the blood time curves after initial distribution phase (Figs. 8A and B). The transfer rate from the hepatocyte subcompartment to blood  $k_{L_{HB}}$  had little influence on the blood profile (Fig. 8C) while the transfer rate from the non-parenchymal subcompartment to blood  $k_{L_{NB}}$  affected the time course after initial distribution phase (Fig. 8D). Variations in the transfer rates from blood to the richly perfused tissues compartment  $k_{R_{BT}}$  and from this compartment back to blood  $k_{R_{TB}}$  changed the shape of the curve between 6 and 24 h after injection, but without substantially affecting blood levels at later time points (Figs. 9A and B). Varying the transfer rate from hepatocytes to the GI tract  $k_{L_{HG}}$  had little impact on the blood curve (Fig. 9C).



**Figure 7** Model simulations (solid lines) of cumulative excretion of the rare earth elements in feces with default parameter values compared with variations (dashed lines) of a single parameter value by a factor of 0.2, 0.5, 0.75, 1.5 and 2. Parameter values were changed for  $k_{LBH}$  (A),  $k_{LBN}$  (B),  $k_{LHG}$  (C) and  $k_{GLF}$  (D).



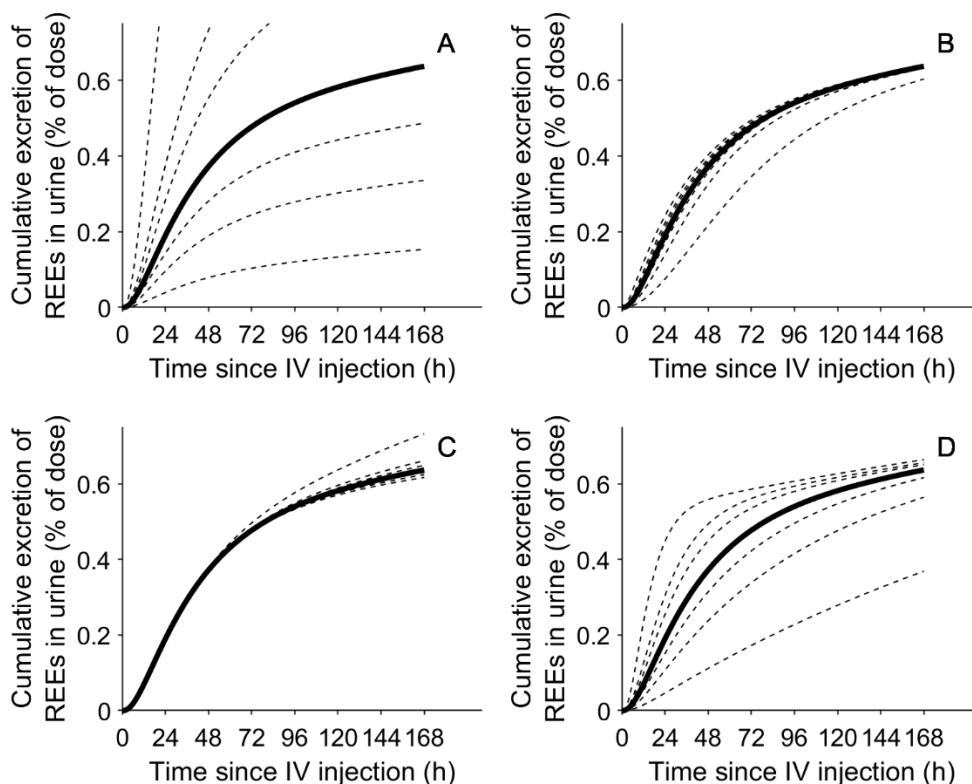
**Figure 8** Model simulations (solid lines) of the rare earth elements in blood with default parameter values compared with variations (dashed lines) of a single parameter by a factor of 0.2, 0.5, 0.75, 1.5 and 2. Parameter values were changed for  $k_{LBH}$  (A),  $k_{LBN}$  (B),  $k_{LHB}$  (C) and  $k_{LNB}$  (D).



**Figure 9** Model simulations (solid lines) of the rare earth elements in blood with default parameter values compared with variations (dashed lines) of a single parameter by a factor of 0.2, 0.5, 0.75, 1.5 and 2. Parameter values were changed for  $k_{RBT}$  (A),  $k_{RTB}$  (B), and  $k_{LHG}$  (C).

Urinary excretion is impacted by the amounts accumulated in the liver, but two parameters specific to the kidneys,  $k_{KBT}$  and  $k_{KLU}$ , have a more direct impact on the urinary excretion (Fig. 10). The transfer rate from blood to tissue subcompartment of the kidney with rapid exchange rate  $k_{KBT}$  directly increases amounts excreted in urine (Fig. 10A). Varying the transfer rates from this tissue subcompartment to the lumen of tubules  $k_{KTL}$  and from blood to the retention subcompartment  $k_{KBR}$  had less or little impact on the urinary time course (Figs. 10B and C). On the other hand, increasing the transfer rate value from the lumen

subcompartment to urine  $k_{KLU}$  increased the initial rate at which the REE is excreted in urine (Fig. 10D).



**Figure 10** Model simulations (solid lines) of cumulative excretion of the rare earth elements in urine with default parameter values compared with variations (dashed lines) of a single parameter value by a factor of 0.2, 0.5, 0.75, 1.5 and 2. Parameter values were changed for  $k_{KBT}$  (A),  $k_{KTL}$  (B),  $k_{KBR}$  (C) and  $k_{KLU}$  (D).

Changes in parameter values related to the spleen or lungs do not have any notable impact on the simulated blood time courses or excretion in urine and feces; changes in their respective transfer rate values will only affect amounts accumulated in these organs over time (Table 7). Also, the addition of a bone compartment to the model did not have a significant impact on the blood time-courses (see supplementary file S3).

### 3.3.3 Biomonitoring equivalents

Table 7 presents the urinary fraction of each REE in 24-h collections equivalent to an absorbed unit dose, repeated daily until steady state. Y had the highest urinary fraction of all four metals. Table 7 also shows the urinary BEs derived by considering the provisional subchronic p-RfD of 0.8 mg/kg for neodymium chloride and praseodymium chloride proposed by the U.S. EPA (2009a), which is equal to a provisional RfD of 0.5 mg Pr or Nd/kg bw. This method, which is based on urinary levels corresponding to an input dose, can be used to calculate new BEs provided new RfDs are made available or considering different body weights or absorption fractions.

Table 7 - Biomonitoring equivalents (BEs) for the rare earth elements (REEs)

Urinary excretions in 24-h collections corresponding to a daily absorbed unit dose near steady state (% of daily unit dose)				Biomonitoring equivalents (BEs) based on the available provisional RfDs ( $\mu\text{g/L}$ )			
Ce	Pr	Nd	Y	Ce	Pr	Nd	Y
1.2	2.2	2.8	5.3	--- <sup>a</sup>	0.3 <sup>b</sup>	0.3 <sup>b</sup>	--- <sup>a</sup>

<sup>a</sup> RfD not available.

<sup>b</sup> Considering a 70 kg body weight, a RfD of 0.5 mg/kg bw/d (U.S. EPA, 2009a; b) and an oral absorption of 0.0005 (ICRP, 2012).

### 3.4 Discussion

#### 3.4.1 Novel kinetic data in rats

This is the first study to document the kinetic time courses in rats intravenously exposed to the naturally occurring stable isotopes of  $^{140}\text{Ce}$ ,  $^{141}\text{Pr}$ ,  $^{146}\text{Nd}$  and Y ( $^{89}\text{Y}$ ) administered separately but within the same experimental framework. Some authors had documented the *in vivo* kinetic profiles of stable isotope of Y ( $^{89}\text{Y}$ ) after intravenous and oral exposure to the hydrated salt form in animals, but most studies were published in Japanese and had to be translated. Those studies were used in the present work for comparison purpose. The other *in vivo* kinetic studies in animals published in the literature for these metal elements were on synthetic and radioactive isotopes of cerium ( $^{141}\text{Ce}$  and  $^{144}\text{Ce}$ ) and on a radioisotope of yttrium ( $^{91}\text{Y}$ ).

The kinetic time courses of the four assessed REEs were similar in the exposure conditions retained in our study. The kinetics were also similar to that obtained by Damment and Pennick (2007) on a lighter REE, lanthanum (La). The intravenous data of the current study showed that all four studied REEs were rapidly cleared from blood and the calculated volume of distribution ( $V_{ss}$ ) indicates substantial tissue distribution. Furthermore, the blood clearance rate and the  $V_{ss}$  were similar for all four REEs. Results also show that the liver was a major accumulation organ and significant levels remained in this tissue 7 days post-dosing. The spleen, kidney and lungs showed much lower values. The intravenous data also showed that the REEs were excreted primarily in feces. Excretion was not complete 7 days post-dosing, in line with the substantial amounts remaining in the body and in particular in liver at this time point. Urinary excretion values were very low (on average 0.3 to 2.4% depending on the REEs) and the time courses were similar for all four metals,

although Y appeared to be excreted in slightly higher amounts in urine compared to the other three studied REEs over the 0-168 h period post-dosing. The rapid elimination of the REEs in the ionic form from the blood and uptake by hepatocytes can be partly explained by transferrin-mediated transport (Harris, 1998).

Results of the present work are in line with the available Japanese data by Nakamura et al. (1991a, b, c) on the toxicokinetics of hydrated yttrium chloride ( $YCl_3 \cdot 6H_2O$ ) following intravenous injection of 10 mg/kg bw in male Wistar rats. Similar to our results, Nakamura et al. (1991d) reported that Y was cleared from blood within 4 h post-dosing. The mean ( $\pm$  SD) percent of dose recovered in feces as Y over the 7-day period post-injection of  $YCl_3 \cdot 6H_2O$  was  $5.4 \pm 0.5\%$ . No elements were detected in urine. Highest tissue levels of Y were found in the liver, reaching 81% of the injected dose at 8 h post-dosing; on day 45, up to 38.3% of the injected dose remained in the liver. Nakamura et al. (1991b) also reported that highest concentrations of Y were found in the liver followed by the spleen, femur and then kidneys on day 8 following injection. In line with our results, the mean percent ( $\pm$  SD) of dose recovered in liver, spleen, bones and kidneys as Y at that time point was  $54.7 \pm 5.6\%$ ,  $16.3 \pm 4.3\%$ ,  $9.6 \pm 1.8\%$  and  $0.36 \pm 0.04\%$ , respectively. Furthermore, Nakamura et al. (1993b) reported a mean elimination half-life of 0.43 h in whole blood of male Wistar rats after intravenous injection of 10 mg  $YCl_3 \cdot 6H_2O$ /kg bw and of 19.4 days in liver. Our results are further in line with those of Hirano et al. (1993) on the tissue distribution and elimination of Y after a single intravenous injection of  $YCl_3 \cdot 6H_2O$  in male Wistar rats dosed with 1 mg/rat as well as 0.1, 0.2, 0.5 and 2 mg/rat. As observed in our study, blood levels of Y decreased rapidly within 3 h following injection. The liver was a main accumulation tissue; about 75% of the dose was found in the liver at 7 h postdosing.



Clearance of Y from the liver was reported to be slow, with a monoexponential decrease from the 7 h to 144 days, for which an apparent elimination half-life of 144 days, on average, was calculated at the dose of 1 mg  $YCl_3 \cdot 6H_2O$ /rat.

### **3.4.2 A biologically-based toxicokinetic model for the studied REEs**

The experimental data acquired allowed the estimation of basic parameters for the development of a toxicokinetic model of REEs. The model developed focuses on the kinetics of absorbed REEs in the soluble form. The general structure of the model is biologically based (physiological compartments, tissue volumes and fraction of cardiac output to tissues taken from the literature); REE specific parameters or those not available in the literature were obtained by adjustments to novel experimental time course data in rats. The subdivision of tissue components into subcompartments was based on physiological considerations and known mechanisms. Good fits to experimental data were obtained only when introducing a kidney retention compartment, and liver and GI tract subcompartments to account for the delay in urinary and fecal excretion. The addition of a renal retention compartment is compatible with the observations by Kitamura et al. (2012) that REEs form colloidal conjugates in blood, leading to accumulation of these compounds in the reticuloendothelial system and glomeruli. The fact that fecal excretion was not complete after 7 days is also in line with the data of Hirano et al. (1993), which showed that Y in blood was found in the colloidal material, which then accumulates in liver and spleen phagocytic cells, contributing to a slow elimination phase in feces.

Furthermore, to keep the fraction of the dose to the different tissues accurate, the compartments of the model and several transfer rates had to be calibrated on the basis of observed data. For example, the hepatocyte subcompartment of the liver had to accumulate

a large portion of the dose directly after injection. The structure of the model could not allow the amounts of REEs accumulated in the liver and eventually excreted in feces to be apportioned substantially to any other compartment. As such, the model transfer rate from the hepatocyte subcompartment to the GIT can be compared to other studies more directly. In the same manner, the non-parenchymal subcompartment transfer rate to blood can be compared to studies where higher doses may lead to longer half-lives in the liver. The transfer rates to these liver subcompartments and out of these subcompartments had to be adjusted so that the subcompartments uptake and release rates of REEs allowed matching with the fecal time course. The base structure of the model can be easily adjusted with additional information; the bone compartment is already included with its fraction of the cardiac output, but any other organ can be added as a compartment with an adequately constructed set of parameters and their respective cardiac output.

The model can be modified to simulate exposure by different routes, provided that more kinetic data on exposure to the soluble REE forms by the oral or respiratory routes are made available. To date, the kinetics of stable REEs following exposure by routes other than intravenous injection are poorly documented. In one of the only studies on the kinetics of soluble forms of REEs after oral exposure, Nakamura et al. (1991d) showed negligible oral absorption of the REEs in rats. In their study, male Wistar rats were dosed orally with 100 and 1000 mg/kg of  $\text{DyCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{YbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  and  $\text{YCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (n = 3-4 rats per group); urine and feces were collected at times 0-1, 1-4 and 4-7 days post-dosing and liver, kidneys, spleen and femora levels were measured. For all four REEs, virtually all the contents were recovered in feces. Specifically for Y, the mean ( $\pm$  SD) percent of dose recovered in feces over the 7-day period post administration was  $96.9 \pm 1.31\%$  for the

100 mg/kg dose and  $93.9 \pm 3.52\%$  for the 1000 mg/kg dose ( $n = 3$ ). None of the REEs were detected in urine and tissues, at both doses. Other early studies on the biokinetics of REEs administered orally focused mainly on radioactive rather than stable isotopes, but gave insights into the biological behavior of these compounds. In particular, these studies revealed that oral REE absorption is very limited, as oral absorption fractions in the 0.0001-0.0005 range were reported (ICRP, 2012). This approximated oral absorption value can be used to infer on the kinetics of the REEs following oral exposure.

The model could also be modified to simulate inhalation exposure. The model would then apply to the fraction reaching systemic circulation and would require a full evaluation with kinetic data following inhalation exposure. To date, such data for the studied REEs are limited, but according to available data, a significant proportion of the dose is retained at the site of entry. Published inhalation studies focused mainly on particle (nano and micro) forms of stable cerium (Geraets et al., 2012) or of the radioactive isotope. In particular, the kinetics of radiocerium ( $^{144}\text{Ce}$ ) following deposition of relatively soluble forms of cerium (chloride and citrate) in the respiratory tract of rats, dogs, monkeys and hamsters are available and are detailed in ICRP (2012). It was shown that there is little absorption of  $^{144}\text{Ce}$  from the upper respiratory tract, although the absorption characteristics depend strongly on the methods of preparation and administration of the material. Based on the rare data on stable soluble forms of REEs after exposure by the respiratory route, it was also shown that REEs were slowly cleared from the lungs. Hirano et al. (1990) studied the time course and dose-related changes in distribution of Y between lung tissues and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) following rat intratracheal instillation of yttrium chloride. Pulmonary clearance of Y was very slow and the half-life was estimated to be

168 days. Transmission electron microscopy and X-ray microanalysis suggested that Y was localized in lysosomes of alveolar and interstitial macrophages, as well as basement membranes, explaining the long pulmonary half-life of Y after respiratory exposure.

The model only applies to the soluble form of REEs. Differences in the kinetics of REEs have been reported depending on the form of the compound (soluble or insoluble) (Molina et al., 2014). Molina et al. (2014) compared the bioavailability, tissue distribution, clearance and excretion of radioactive  $^{141}\text{Ce}$  after intratracheal instillation, gavage, or intravenous injection of  $^{141}\text{CeO}_2$  NPs and  $^{141}\text{CeCl}_3$  (ionic  $^{141}\text{Ce}$ ) in Wistar Han rats. While both intravenously injected ionic  $^{141}\text{CeCl}_3$  and  $^{141}\text{CeO}_2$  NPs were predominantly retained in the same organs, *i.e.* the liver, bone and spleen, sequential analyses of lungs over 28 days after intratracheal installation showed slower lung clearance of  $^{141}\text{CeO}_2$  NPs (half-life  $\approx$  140 days) compared to the ionic  $^{141}\text{Ce}$  (half-life  $\approx$  55 days). On the other hand, following gavage of all forms (5 mg/kg), nearly 100% of both test materials were excreted in feces.

The toxicokinetic model further considers first order kinetics, thus implying the absence of saturation, and main data-derived parameters were estimated from a single dose. Future studies are needed to establish the range of application of the model. The study of Hayashi et al. (2006) is among the very few studies where multiple doses of REEs were administered to rats. These authors documented the urinary excretion of stable  $\text{YCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  in 24-h urine collections of male Wistar rats given high oral doses of 14.6, 29.2, 58.3 and 116.7 mg/rat of  $\text{YCl}_3$  ( $n = 5$  per group). The average percent of dose recovered in urine was 0.216%, with a good dose-dependent urinary excretion ( $r=0.77$ ). However, significant decreases in urinary volume ( $>30\%$ ) and creatinine ( $>10\%$ ) were reported at  $\text{YCl}_3$  doses of 58.3–116.7 mg per rat. The authors concluded that high Y dosage alters glomerular

function rather than the proximal convoluted tubules. Other processes such as protein binding in blood are saturable, such that they might become relatively more important at high doses, *i.e.* increase in the uptake by the Kupffer cells or other types of cells (Harris, 1998; Hirano et al., 1993). High carrier levels are also linked to the formation of agglomerates of proteins which bind REEs (Takada et al., 1970). However, such shift in the kinetics at high dose is not likely to be observed under environmental conditions.

Finally, one of the limits of the presented data-based model is that it was developed mainly using the new kinetic time course data generated in the current work. Internal validity of the model was verified by reproducing the observed kinetics of four different REEs conducted using the same experimental framework. Partial biodisposition data are also available in the literature and our model simulations show good fits to these data (Table 8). However, to fully validate the model, complete independent sets of kinetic data would be needed.

Table 8 – Model validation of similar experiments from literature

Key studies for validation	Rare earth element in chloride form	Exposure conditions	Data used for validation	Observed (% dose)	Predicted (% dose)
Molina et al. (2014)	$^{141}\text{CeCl}_3$	IV 1 mg/kg bw <b>Radioisotope<sup>a</sup></b> <b>Wistar Han<sup>a</sup></b> rats	Cumulative urinary excretion over 24 h	$0.11 \pm 0.03$	Ce : $0.19 \pm 0.10$
Damment and Pennick (2007)	<b>LaCl<sub>3</sub><sup>a</sup></b>	IV <b>0.3 mg/kg bw<sup>a</sup></b> Sprague-Dawley rats	Cumulative urinary excretion over <b>42 days<sup>a</sup></b>	$1.94 \pm 0.24$	Ce : $0.74 \pm 0.25$ Pr : $1.94 \pm 0.67$ Nd : $2.24 \pm 0.74$

			Cumulative urinary excretion over 24 h	0.80 ± 0.20	Ce : 0.19 ± 0.10 Pr : 0.34 ± 0.14 Nd : 0.61 ± 0.16
Bingham and Dobrota (1994)	<sup>152</sup> EuCl <sub>3</sub> <sup>a</sup>	IV <b>0.1 mg/kg bw<sup>a</sup></b>	Cumulative urinary excretion over 24 h	1.10 ± 0.10	Ce : 0.19 ± 0.10 Pr : 0.34 ± 0.14 Nd : 0.61 ± 0.16 Y : 2.21 ± 0.95
Takada et al. (1970)	<sup>144</sup> CeCl <sub>3</sub>	IV <b>Radioisotope<sup>a</sup></b> <b>0.12 mg/dose<sup>a</sup></b> <b>pH 1.5<sup>a</sup></b> <b>Wistar albino<sup>a</sup></b> rats	Cumulative urinary excretion over 24 h	0.30 ± 0.11	Ce : 0.19 ± 0.10

<sup>a</sup> Bold information differs from our experiment.

### 3.4.3 Determination of biomonitoring equivalents for the studied REEs with the toxicokinetic model

Although the model is based on animal data, it could also be extrapolated to humans as was done with other toxicokinetic models (Nong et al., 2009; Yoon et al., 2009; Yoon et al., 2011). This would allow to reduce uncertainty factors when extrapolating to humans. However, our model can still be directly used to determine biomonitoring equivalents corresponding to point-of-departure doses of REEs established from toxicity dose-response studies in animals by deriving urinary levels corresponding to critical doses (NOAEL, LOAEL or BMD) and applying default uncertainty factors for extrapolation to humans. New biomonitoring equivalent values can be directly proposed once exposure limits or guidance values become available. The BEs will further allow rapid screening of the population using biological measurements in order to guide risk assessments and management.

### **3.5 Conclusion**

Overall, this study provided new data on the kinetic time courses of ionic Ce, Pr, Nd and Y administered intravenously as chloride salts. Direct comparison of these four REEs showed similarities between their kinetics. The studied REEs were readily cleared from blood and accumulated mostly in the liver. REE excretion occurred mainly through feces, although there was also a small fraction eliminated through the urinary route. Excretion was not complete 7 days postexposure, in line with the substantial amounts remaining in the body, particularly in the liver. These data served to build a robust biologically-based toxicokinetic model for absorbed REEs, which was then used for the establishment of BEs. It remains to be determined if or how saturation of protein binding and uptake by macrophages following administration of REEs at higher doses may affect their tissue distribution and excretion. The impact of the administered REE forms (salt versus oxides) should also be assessed. Further experimental studies will be necessary to assess the need for a more in-depth toxicokinetic model.

**Conflicts of interest statement**

The authors declare no conflicts of interest.

**Acknowledgements**

Authors wish to thank Marc Mantha for his expert technical assistance.

**Funding**

This study was funded by the Chemicals Management Plan from Health Canada.



## References

- Bingham, D., Dobrota, M., 1994. Distribution and excretion of lanthanides: comparison between europium salts and complexes. *Biometals*. 7, 142-148.
- Bouchard, M., Krishnan, K., Viau, C., 1998. Kinetics of tissue distribution and elimination of pyrene and 1-hydroxypyrene following intravenous administration of [<sup>14</sup>C] pyrene in rats. *Toxicological Sciences*. 46, 11-20.
- Carrier, G., Bouchard, M., Brunet, R.C., Caza, M., 2001. A toxicokinetic model for predicting the tissue distribution and elimination of organic and inorganic mercury following exposure to methyl mercury in animals and humans. II. Application and validation of the model in humans. *Toxicology and applied pharmacology*. 171, 50-60.
- Cheng, J., Cheng, Z., Hu, R., Cui, Y., Cai, J., Li, N., Gui, S., Sang, X., Sun, Q., Wang, L., 2014. Immune dysfunction and liver damage of mice following exposure to lanthanoids. *Environmental Toxicology*. 29, 64-73.
- Damment, S.J., Pennick, M., 2007. Systemic lanthanum is excreted in the bile of rats. *Toxicology letters*. 171, 69-77.
- Durbin, P.W., Asling, G.W., Johnston, M.E., Hamilton, J.G., Williams, M.H., 1955. The metabolism of the lanthanons in the rat II. Time studies of the tissue deposition of intravenously administered radioisotopes.
- Evans, C. The occurrence and metabolism of lanthanides. *Biochemistry of the Lanthanides*: Springer; 1990
- Galle, P., Berry, J.P., Galle, C., 1992. Role of alveolar macrophages in precipitation of mineral elements inhaled as soluble aerosols. *Environmental health perspectives*. 97, 145-147.
- Geraets, L., Oomen, A.G., Schroeter, J.D., Coleman, V.A., Cassee, F.R., 2012. Tissue distribution of inhaled micro- and nano-sized cerium oxide particles in rats: results from a 28-day exposure study. *Toxicological sciences*. 127, 463-473.
- Gibaldi, M., Perrier, D. Clearance concepts. *Pharmacokinetics*: Marcel Dekker New York; 1982
- Gong, J.H., 1996. Uncommon causes of occupational interstitial lung diseases. *Current opinion in pulmonary medicine*. 2, 405-411.
- Government of Canada, 2019. Third phase of the Chemicals Management Plan. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/chemical-substances/third-phase-chemicals-management-plan.html#s1> (accessed July 2020).
- Haley, T.J., Komesu, N., Efros, M., Koste, L., Upham, H., 1964. Pharmacology and toxicology of praseodymium and neodymium chlorides. *Toxicology and applied pharmacology*. 6, 614-620.
- Harris, W.R. Binding and transport of nonferrous metals by serum transferrin. *Less Common Metals in Proteins and Nucleic Acid Probes*: Springer; 1998
- Hayes, A.W. Principles and methods of toxicology : Crc Press; 2007
- He, X., Zhang, Z., Zhang, H., Zhao, Y., Chai, Z., 2008. Neurotoxicological evaluation of long-term lanthanum chloride exposure in rats. *Toxicological Sciences*. 103, 354-361.

- Heredia-Ortiz, R., Bouchard, M., Marie-Desvergne, C., Viau, C., Maître, A., 2011. Modeling of the internal kinetics of benzo (a) pyrene and 3-hydroxybenzo (a) pyrene biomarker from rat data. *Toxicological Sciences*. 122, 275-287.
- Hirano, S., Kodama, N., Shibata, K., Suzuki, K.T., 1993. Metabolism and toxicity of intravenously injected yttrium chloride in rats. *Toxicology and applied pharmacology*. 121, 224-232.
- Hirano, S., Suzuki, K.T., 1996. Exposure, metabolism, and toxicity of rare earths and related compounds. *Environmental health perspectives*. 104, 85-95.
- ICRP, 2012. ICRP publication 119: compendium of dose coefficients based on ICRP publication 60. *Annals of the ICRP*. 41, 1-130.
- Krishnamurthy, N., Gupta, C.K. *Extractive metallurgy of rare earths* : CRC press; 2005
- Leggett, R., Ansoborlo, E., Bailey, M., Gregoratto, D., Paquet, F., Taylor, D., 2014. Biokinetic data and models for occupational intake of lanthanoids. *International journal of radiation biology*. 90, 996-1010.
- Li, C.X., Ma, C., Fang, H.Q., Zhi, Y., Yu, Z., Xu, H.B., Jia, X.D., 2015. Neurobehavioral Assessment of Rats Exposed to Yttrium Nitrate during Development. *Biomed Environ Sci*. 28, 281-290.
- Malik, A.B., Kaplan, J.E., Saba, T.M., 1976. Reference sample method for cardiac output and regional blood flow determinations in the rat. *Journal of Applied Physiology*. 40, 472-475.
- McDonald, J.W., Ghio, A.J., Sheehan, C.E., Bernhardt, P.F., Roggli, V.L., 1995. Rare earth (cerium oxide) pneumoconiosis: analytical scanning electron microscopy and literature review. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 8, 859.
- Molina, R.M., Konduru, N.V., Jimenez, R.J., Pyrgiotakis, G., Demokritou, P., Wohlleben, W., Brain, J.D., 2014. Bioavailability, distribution and clearance of tracheally instilled, gavaged or injected cerium dioxide nanoparticles and ionic cerium. *Environ Sci: Nano*. 1, 561-573.
- Nakamura, Y., Hasegawa, Y., Tonogai, Y., Kanamoto, M., Tsuboi, N., Murakami, K., Ito, Y., 1991a. Studies on the biological effects of rare earth elements. I. Method for analysis of dysprosium(Dy), europium(Eu), ytterbium(Yb) and yttrium(Y) from the biological materials. *Eisei Kagaku*. 37, 28-38.
- Nakamura, Y., Tsumura-Hasegawa, Y., Tonogai, Y., Kanamoto, M., Tsuboi, N., Murakami, K., Ikebe, K., Ito, Y., 1991b. Studies on the biological effects of rare earth elements. III. Fate of chlorides of Dy, Eu, Yb and Y in the rat after intravenous administration. *Eisei Kagaku*. 37, 497-506.
- Nakamura, Y., Tsumura-Hasegawa, Y., Tonogai, Y., Kanamoto, M., Tsuboi, N., Murakami, K., Ito, Y., 1991c. Studies on the biological effects of rare-earth elements. II. Distribution and the histological effects of Dy, Eu, Yb, and Y in the rat after intravenous administration. *Eisei Kagaku - Journal of Toxicology and Environmental Health*. 37, 489-496.
- Nakamura, Y., Tsumura, Y., Tonogai, Y., Ito, Y., 1993. Studies on the biological effects of rare earth elements. IV. Effects of chlorides of Dy, Eu, Yb, and Y and rare earth elements, Ca, Mg and P contents in various organs in the rat after intravenous administration. *Japanese Journal of Toxicology and Environmental Health*. 39, 44-55.

- Nakamura, Y., Tsumura, Y., Tonogai, Y., Shibata, T., Ito, Y., 1997. Differences in behavior among the chlorides of seven rare earth elements administered intravenously to rats. *Toxicological Sciences*. 37, 106-116.
- Nong, A., Taylor, M.D., Clewell III, H.J., Dorman, D.C., Andersen, M.E., 2009. Manganese tissue dosimetry in rats and monkeys: accounting for dietary and inhaled Mn with physiologically based pharmacokinetic modeling. *Toxicological sciences*. 108, 22-34.
- Pagano, G., Guida, M., Tommasi, F., Oral, R., 2015. Health effects and toxicity mechanisms of rare earth elements-Knowledge gaps and research prospects. *Ecotoxicol Environ Saf*. 115, 40-48.
- Peng, R., Pan, X., Xie, Q., 2003. Relationship of the hair content of rare earth elements in young children aged 0 to 3 years to that in their mothers living in a rare earth mining area of Jiangxi. *Zhonghua yu fang yi xue za zhi [Chinese journal of preventive medicine]*. 37, 20-22.
- Pujalte, I., Dieme, D., Haddad, S., Serventi, A.M., Bouchard, M., 2017. Toxicokinetics of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles after inhalation in rats. *Toxicology letters*. 265, 77-85.
- Sabbioni, E., Pietra, R., Gaglione, P., Vocaturo, G., Colombo, F., Zanoni, M., Rodi, F., 1982. Long-term occupational risk of rare-earth pneumoconiosis A case report as investigated by neutron activation analysis. *Science of The Total Environment*. 26, 19-32.
- Shin, S.-H., Kim, H.-O., Rim, K.-T., 2019. Worker Safety in the Rare Earth Elements Recycling Process From the Review of Toxicity and Issues. *Safety and Health at Work*.
- Takada, K., Fujita, M., Suzuki, M., 1970. Effects of Carrier on the Retention, Excretion and Distribution of <sup>144</sup>Ce in the Rat. *Journal of radiation research*. 11, 24-31.
- Taylor, D., Leggett, R., 1998. A generic biokinetic model for the lanthanide elements. *Radiation protection dosimetry*. 79, 351-354.
- Taylor, D., Leggett, R., 2003. A generic biokinetic model for predicting the behaviour of the lanthanide elements in the human body. *Radiation protection dosimetry*. 105, 193-198.
- Tong, S.-L., Zhu, W.-Z., Gao, Z.-H., Meng, Y.-X., Peng, R.-L., Lu, G.-C., 2004. Distribution characteristics of rare earth elements in children's scalp hair from a rare earths mining area in southern China. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 39, 2517-2532.
- U.S. EPA, 2009a.
- U.S. EPA. Provisional Peer-Reviewed Toxicity Values for Stable (Nonradioactive) Neodymium Chloride. 2009b
- U.S. EPA, 2009c. Provisional Peer-Reviewed Toxicity Values for Stable (Nonradioactive) Praseodymium Chloride.
- U.S. EPA. Rare earth elements: A review of production, processing, recycling, and associated environmental issues. US EPA Region; 2012
- U.S. EPA, 2018. Provisional Peer-Reviewed Toxicity Values for Stable (Nonradioactive) Soluble Lanthanum.

- Waring, P.M., Watling, R.J., 1990. Rare earth deposits in a deceased movie projectionist: A new case of rare earth pneumoconiosis? *Medical journal of Australia*. 153, 726-730.
- Weiss, M., 1990. Use of metabolite AUC data in bioavailability studies to discriminate between absorption and first-pass extraction. *Clinical pharmacokinetics*. 18, 419-422.
- Yoon, H.K., Moon, H.S., Park, S.H., Song, J.S., Lim, Y., Kohyama, N., 2005. Dendriiform pulmonary ossification in patient with rare earth pneumoconiosis. *Thorax*. 60, 701-703.
- Yoon, M., Nong, A., Clewell III, H.J., Taylor, M.D., Dorman, D.C., Andersen, M.E., 2009. Evaluating placental transfer and tissue concentrations of manganese in the pregnant rat and fetuses after inhalation exposures with a PBPK model. *Toxicological Sciences*. 112, 44-58.
- Yoon, M., Schroeter, J.D., Nong, A., Taylor, M.D., Dorman, D.C., Andersen, M.E., Clewell III, H.J., 2011. Physiologically based pharmacokinetic modeling of fetal and neonatal manganese exposure in humans: describing manganese homeostasis during development. *Toxicological Sciences*. 122, 297-316.
- Zhang, H., Feng, J., Zhu, W., Liu, C., Xu, S., Shao, P., Wu, D., Yang, W., Gu, J., 1999. Chronic toxicity of rare-earth elements on human beings. *Biological trace element research*. 73, 1-17.
- Zhao, H., Cheng, Z., Hu, R., Chen, J., Hong, M., Zhou, M., Gong, X., Wang, L., Hong, F., 2011. Oxidative injury in the brain of mice caused by lanthanid. *Biol Trace Elem Res*. 142, 174-189.
- Zhao, H., Hong, J., Yu, X., Zhao, X., Sheng, L., Ze, Y., Sang, X., Gui, S., Sun, Q., Wang, L., Hong, F., 2013. Oxidative stress in the kidney injury of mice following exposure to lanthanides trichloride. *Chemosphere*. 93, 875-884.
- Zhu, W., Xu, S., Shao, P., Zhang, H., Wu, D., Yang, W., Feng, J., Feng, L., 2005. Investigation on liver function among population in high background of rare earth area in South China. *Biological Trace Element Research*. 104, 1-7.
- Zhu, W., Xu, S., Zhang, H., SHAO, P., WU, D., 1996. Investigation on the intelligence quotient of children in the areas with high REE background ( I )--REE bioeffects in the REE-high areas of southern Jiangxi Province. *Chinese science bulletin*. 41, 1977-1981.
- Zhuang, M., Wang, L., Wu, G., Wang, K., Jiang, X., Liu, T., Xiao, P., Yu, L., Jiang, Y., Song, J., 2017. Health risk assessment of rare earth elements in cereals from mining area in Shandong, China. *Scientific Reports*. 7, 1-6.



**Appendix 1** - Differential equation system of the toxicokinetic model of rare earth elements represented in Fig. 1 (See Table 1 for definition of parameters and variables).

$$\begin{aligned} \frac{dL_B}{dt} = & d_{ini} + k_{LLU} \times Li_B + k_{KL} \times K_B + k_{BL} \times B_B + k_{RL} \times R_B + k_{LTB} \times L_T \\ & - (k_{LBT} + k_{LS} + k_{LR} + k_{LUL} + k_{LK} + k_{LG} + k_{LB}) \times L_B \end{aligned}$$

$$\frac{dL_T}{dt} = k_{LBT} \times L_B + k_{LRT} \times L_M - (k_{LTB} + k_{LTR}) \times L_T$$

$$\frac{dL_M}{dt} = k_{LTR} \times L_T - (k_{LRT} + k_{LRG}) \times L_M$$

$$\frac{dR_B}{dt} = k_{LR} \times L_B + k_{RTB} \times R_T - (k_{RL} + k_{RBT}) \times R_B$$

$$\frac{dR_T}{dt} = k_{RBT} \times R_B - k_{RTB} \times R_T$$

$$\frac{dS_B}{dt} = k_{LS} \times L_B + k_{SMB} \times S_M - (k_{SL} + k_{SBM}) \times S_B$$

$$\frac{dS_M}{dt} = k_{SMB} \times S_B - k_{SMB} \times S_M$$

$$\begin{aligned} \frac{dLi_B}{dt} = & k_{LUL} \times L_B + k_{LHB} \times Li_H + k_{LNB} \times Li_N + k_{SL} \times S_B + k_{GL} \times G_B \\ & - (k_{LBN} + k_{LBH} + k_{LLU}) \times Li_B \end{aligned}$$

$$\frac{dLi_H}{dt} = k_{LBH} \times Li_B - (k_{LHB} + k_{LHG}) \times Li_H$$

$$\frac{dLi_N}{dt} = k_{LBN} \times Li_B - k_{LNB} \times Li_N$$

$$\frac{dG_B}{dt} = k_{LG} \times L_B + k_{GLB} \times G_L - (k_{GBL} + k_{GL}) \times G_B$$

$$\frac{dG_L}{dt} = k_{GBL} \times G_B + k_{LHG} \times Li_H + k_{LRG} \times L_M - (k_{GLB} \times k_{GLF}) \times G_L$$

$$\frac{dK_B}{dt} = k_{LK} \times L_B - (k_{KBR} + k_{KBT} + k_{KL}) \times K_B$$

$$\frac{dK_T}{dt} = k_{KBT} \times K_B - k_{KTL} \times K_T$$

$$\frac{dK_R}{dt} = k_{KBR} \times K_B - k_{KRL} \times K_R$$

$$\frac{dK_L}{dt} = k_{KTL} \times K_T + k_{KRL} \times K_R - k_{KLU} \times K_L$$

$$\frac{dB_B}{dt} = k_{LB} \times L_B - (k_{BBR} + k_{BL}) \times B_B$$

$$\frac{dB_R}{dt} = k_{BBR} \times B_B - k_{BRB} \times B_R$$

$$\frac{dF}{dt} = k_{GLF} \times G_L$$

$$\frac{dU}{dt} = k_{KLU} \times K_L$$

## 4 Discussion

### 4.1 Description des résultats et comparaison avec la littérature

Le présent mémoire présente une des premières études expérimentales sur la cinétique de métaux rares. Ces données ont été obtenues afin de permettre de développer un modèle toxicocinétique permettant de mieux comprendre le devenir de ces métaux rares dans l'organisme. Des rats ont été exposés par voie intraveineuse à la forme chlorure stable de cérium ( $^{140}\text{Ce}$ ), praséodyme ( $^{141}\text{Pr}$ ), néodyme ( $^{146}\text{Nd}$ ) et d'yttrium ( $^{89}\text{Y}$ ). La forme chlorure a été utilisée dans d'autres expériences, mais les isotopes radioactifs ont été utilisés dans ces cas. Seulement quelques études expérimentales ont été réalisées avec les éléments stables (Hirano et al., 1993; Nakamura et al., 1991b). Malgré tout, ces études ont utilisé des doses particulièrement élevées qui ne permettent pas toujours d'observer adéquatement certains mécanismes, dû à une majorité d'autres mécanismes saturés, des lésions dans les organes ou de nouveaux mécanismes n'apparaissant qu'à de plus hautes doses (Morganti et al., 1978). Tuchweber et al. (1976) ont démontré, par exemple, que le nitrate de praséodyme était léthal à une dose de 20 mg/kg pc chez les rats femelles, mais que la léthalité diminuait lorsque la dose continuait à être augmentée, jusqu'à atteindre 0 %. Le même phénomène a été observé chez les rats mâles ainsi que chez les souris (Tuchweber et al., 1976). Ce phénomène est dû à la formation de matériel colloïdale (à hautes doses) qui est rapidement ciblé par les cellules de Kupffer et autres macrophages. (Tuchweber et al., 1976)



Notre expérience est l'une des seules qui présente quatre terres rares différentes dans les mêmes conditions expérimentales sous la forme chlorure stable, à des doses relativement faibles. Les résultats sont comparables à l'une des seules études cinétiques disponibles sur les métaux rares, celle de Damment et Pennick (2007), qui porte sur le lanthane (La) spécifiquement sous la forme chlorure. La faible dose de La (0,3 mg/kg) administrée dans cette dernière étude permet de mieux mettre en perspective nos résultats comparativement à d'autres études. La majorité de l'excrétion dans les fèces a été observé durant les deux premières semaines. Dans notre expérience, l'excrétion via les fèces ne semblait pas être terminée après une semaine. De façon similaire à notre expérience, une faible excrétion urinaire a été mesurée, relativement aux fèces. Dans l'étude de Damment et Pennick (2007), environ 2 % de La étaient récupérés dans l'urine durant les 42 jours suivant l'injection, comparativement à 0,3% à 2,4% dans notre études durant les sept jours (168 h) suivant l'exposition. L'étude de Damment et Pennick (2007) a aussi montré une accumulation du La principalement dans le foie, mais l'excrétion via les fèces était plus élevée et l'accumulation dans le foie moins prononcée que dans notre expérience. Cette différence pourrait s'expliquer par la dose utilisée qui était plus faible (0.3 mg/kg pc versus 1 mg/kg pc).

L'étude cinétique de Nakamura et al. (1991b) est une autre étude publiée qui a utilisé la forme stable des terres rares sous la forme chlorure. Les terres rares utilisées pour l'injection intraveineuse sont les suivantes : yttrium, europium (Eu), ytterbium (Yb) et dysprosium (Dy). Les résultats obtenus dans l'étude sont comparables avec ceux obtenus dans la nôtre. Les concentrations de ces métaux rares dans le sang, l'urine et les fèces ont été suivies dans le temps. Les concentrations dans les organes d'importance ont aussi été

suivies dans le temps. Une des différences majeures est la dose (10 mg/kg pc) qui est largement plus grande que celle utilisée dans notre étude (1 mg/kg pc). L'effet de la dose sur la cinétique des métaux rares est important et permet de mettre les différences entre les résultats de plusieurs études en contexte. Par exemple, l'excrétion dans les fèces dans l'étude de Nakamura et al. (1991b) était plus faible comparativement à nos résultats. L'accumulation et la rétention dans le foie augmente lorsque la dose augmente, expliquant une excrétion plus faible dans les fèces. Les macrophages se retrouvent plus impliqués par la formation de matériel colloïdale à des doses élevées. Ceci peut aussi expliquer la plus grande accumulation dans la rate. La comparaison de cette étude par rapport à notre étude a aussi montré que l'accumulation dans les os était diminuée par rapport à celle du foie et de la rate à plus forte dose. La comparaison entre Nakamura et al. (1991b) et notre étude a montré que la demi-vie de l'Yttrium dans le sang était similaire. L'Yttrium était le seul métal évalué en commun dans ces deux études. Les résultats ont montré que la concentration dans le sang diminuait rapidement suivant l'injection (indétectable après 4h). On peut noter que pour les autres métaux évalués dans l'étude de Nakamura et al. (1991b), la distribution s'effectuait plus lentement que celle de l'Yttrium. Dans cette dernière étude, le suivi dans les organes a par ailleurs été effectué sur une période de 45 jours plutôt que sept jours (1 semaine) dans notre cas. Les niveaux de métaux rares dans l'urine et les fèces ont été suivis pendant la même durée (168 h) que notre étude alors que les niveaux dans le sang ont été suivis sur une plus longue période de temps dans notre étude (72 h vs 24 h).

#### **4.2 Développement du modèle**

À l'aide de ces données expérimentales, un modèle toxicocinétique a ensuite été développé; ce modèle s'appuie sur les aspects physiologiques. En se basant sur les données

expérimentales et la littérature, les compartiments et les taux de transferts intercompartimentaux ont pu être déterminés. La littérature et nos données expérimentales ont pu justifier les différents compartiments du modèle tels que les poumons, les reins, le foie et la rate. La nécessité de séparer ces compartiments en sous-compartiments provient des mécanismes biologiques connus ainsi que de l'impératif de reproduire les données expérimentales. Par exemple, le foie possède différents types de cellules qui accumulent les terres rares : les cellules de Kupffer et les hépatocytes, entre autres (Bingham et Dobrota, 1994; Tuchweber et al., 1976). La cinétique des métaux rares au niveau de ces cellules est différente et, dans le cas du foie, a dû être explicitée dans le modèle pour obtenir une bonne adéquation entre les prédictions du modèles et les résultats expérimentaux observés. Selon la littérature, l'accumulation entre les différentes cellules du foie est importante à considérer pour les métaux rares (Bingham et Dobrota, 1994).

Au niveau rénal, différentes études ont montré des lésions au niveau des reins ainsi qu'une accumulation au niveau des glomérules et du système réticuloendothéliale dues, entre autres, à la formation de matériel colloïdal et aux macrophages (Kitamura et al., 2012). En lien avec l'excrétion urinaire, ces processus devraient donc être modélisés. Tous ces mécanismes connus ont ainsi permis de construire la base du modèle et de déterminer les liens entre les différents compartiments

### **4.3 Flexibilité du modèle pour évaluer l'exposition par voie orale ou à fortes doses**

L'aspect physiologique du modèle permet une certaine flexibilité dans son utilisation. Le modèle est construit de sorte que la dose absorbée peut être considérée comme une dose injectée directement dans le sang systémique. Puisque l'exposition dans la population

générale se fait principalement par voie orale, il a été possible d'ajuster le modèle pour représenter l'absorption orale, notamment en tenant compte des valeurs de fraction d'absorption orale de la forme chlorure stable (ICRP, 2012; Nakamura et al., 1991c). Une alternative peut être d'inclure un taux de transfert approprié entre le tractus gastrointestinal et le foie sans devoir changer le modèle. Un modèle plus complet du tractus gastrointestinal pourrait être juxtaposé à notre modèle sans difficultés pour simuler plus précisément la cinétique par ingestion. Le pH étant un paramètre qui influence la forme et l'absorption des terres rares sous la forme sel, la modélisation du comportement des métaux rares dans les différentes sections du tractus gastrointestinal permettrait de prendre en compte des différences d'absorption selon le pH des différentes sections du tractus. Il a été rapporté que des sections particulières des intestins sont plus propices à l'absorption que d'autres. Dans tous les cas, l'ensemble des études disponibles incluant celles portant sur des isotopes indique que l'absorption par voie orale reste très faible (Molina et al., 2014).

Certaines parties du modèle peuvent aussi être modifiées en considérant les résultats de d'expériences à plus fortes doses, en présence de processus de saturation. Les deux compartiments du foie (hépatocytes et macrophages) représentent deux fonctions du foie. Pour des doses plus élevées, *a priori*, le ratio entre les paramètres de transfert du sang vers ces deux compartiments sont deux paramètres parmi les plus importants qui devraient être changés pour représenter adéquatement la cinétique à fortes doses. Le modèle, en soi, resterait le même, mais offre assez de flexibilité pour explorer des données obtenues sous d'autres circonstances.

#### 4.4 Modification du modèle pour l'exposition par inhalation

L'absorption par les poumons peut aussi être importante d'un point de vue de l'exposition environnementale et professionnelle. La cinétique au niveau des poumons est un peu plus complexe que celle du tractus gastrointestinal. Le modèle permet tout de même l'incorporation de données provenant d'expérimentations suite à des expositions par inhalation. Le poumon fait partie des compartiments et compte trois sous-compartiments dédiés pour représenter sa cinétique. Le modèle pourrait ainsi être utilisé, tel quel, pour simuler une exposition par inhalation, mais celui-ci n'a pas été élaboré en se basant sur des données spécifiquement d'exposition par inhalation. Avec de nouvelles données, sans modification *a priori*, les paramètres existants décrivant la cinétique au niveau des poumons pourraient être précisés sans avoir à rajouter des compartiments ou de nouveaux mécanismes de transfert.

En se basant sur la littérature et la cinétique de terres rares après inhalation, il semble que celles-ci sont retenues relativement longtemps dans les poumons avant d'atteindre le sang systémique (Hirano et al., 1990). Le faible taux de transfert au sang systémique laisse supposer que les taux de transfert du modèle devraient être ajustés lorsque des études appropriées seront disponibles. La forme sous laquelle ces terres rares quittent les poumons affecte certainement les mécanismes toxicocinétiques en jeu. Comme dans les autres organes, une grande accumulation dans les macrophages pulmonaires est observée, spécifiquement dans les lysosomes (Hirano et al., 1990). Une longue demi-vie pulmonaire de 168 jours a par ailleurs été déterminée par Hirano et al. (1990).

#### 4.5 Forme d'exposition aux métaux rares

La forme sous laquelle les terres rares sont retrouvées a un impact sur leur cinétique dans le corps. Il s'agit d'une des raisons pour laquelle il a été mis de l'avant que ce modèle est basé sur des données toxicocinétiques relativement inédites et s'applique uniquement à la forme chlorure des terres rares étudiées. Molina et al. (2014) a montré une différence de cinétique entre des nanoparticules d'oxyde de cérium et la forme chlorure. L'accumulation et la distribution étaient similaires sur certains points (organes et excrétion), mais certaines différences peuvent être observées. Par exemple, la demi-vie dans les poumons était plus élevée pour la forme oxyde (140 jours) comparativement à la forme chlorure (55 jours). Certains mécanismes de transfert, tels que ceux permettant à ces métaux d'atteindre le sang systémique ou d'être accumulés dans les cellules du poumon, sont donc affectés par la forme. Selon une étude réalisée par Bingham et Dobrota (1994) sur l'euprotium (Eu), la distribution dans les organes varie énormément en fonction de la forme sous laquelle se trouve les terres rares, ainsi que le pH pour la forme chlorure. Des différences cinétiques majeures ont été trouvées pour des doses semblables et les formes de l'euprotium suivantes : exposition à la forme chlorure à pH 7.4; exposition à la forme chlorure à pH 3; lié à du DTPA, liée à de l'albumine et liée à de l'albumine et de de l'iode ( $^{125}\text{I}$ ). Cette étude a montré que l'excrétion dans l'urine pouvait varier de 2% à plus de 70%, la concentration dans le foie pouvait varier de 5 à 70%. La distribution entre les hépatocytes et les autres cellules du foie variait selon les conditions ; la concentration dans la rate pouvait être presque nulle et passer à environ 7%. Les formes de l'euprotium étudiées dans cette expérience indiquaient clairement l'influence de la forme et du pH sur la cinétique des terres rares.

#### 4.6 Impact de la dose

L'impact de la dose sur la distribution peut être observé entre les différents articles. Certains articles, portant sur la forme chlorure stable des terres rares utilisées, sont basés sur des doses dix et cinquante fois plus élevées que celles utilisées dans notre expérience (Nakamura et al., 1991b; Nakamura et al., 1991d). Hirano et al. (1993) ont relaté différents changements dans la cinétique observée de l'Yttrium après injection par voie intraveineuse en fonction de la dose. Tel que mentionné précédemment, la comparaison des études disponibles à différentes doses indique que l'accumulation dans la rate est relativement plus faible à des doses plus petites ; lorsque la dose augmente, la rate semble accumuler une plus large proportion de la dose. Dans notre étude, l'accumulation dans la rate après 168 h était d'environ 1% de la dose (1 mg/kg) ; dans l'étude d'Hirano et al. (1993), entre 20 et 23% de la dose étaient retrouvés dans la rate à des doses de 2 mg/rat. Considérant des rats d'un poids corporel moyen de 107 g, la dose administrée était d'environ 19 mg/kg pc dans cette dernière étude. Également, la comparaison des données de notre étude avec celles d'Hirano et al. (1993) a montré que l'accumulation dans le foie augmentait avec la dose (0,1 mg ou ~ 1 mg/kg pc) versus 2 mg ou ~ 19 mg/kg pc). L'accumulation dans le foie variait entre 20 et 60% de la dose 1 h suivant l'injection (Hirano et al., 1993). L'accumulation dans les os était aussi favorisée par des doses plus faibles (Hirano et al., 1993). Dans l'étude d'Hayashi et al. (2006), il a été observé que l'excrétion urinaire était inversement proportionnelle à la dose, basée sur l'injection de différentes doses d'yttrium stable sous la forme chlorure.

Les doses environnementales étant largement plus petites que celles retrouvées dans ces études, il est important de considérer la dose utilisée lorsque ces résultats sont appliqués à

des expositions environnementales. Certaines tendances sont observables lorsque plusieurs niveaux de doses sont comparés. Généralement, ces tendances vont dans la même direction (par exemple: dose élevée, concentration élevée dans la rate) et permettent de mettre les résultats en contexte. Il reste à déterminer les doses en dessous desquelles le comportement cinétique est linéaire et n'est plus affecté par des processus saturables. Les études basées sur de plus faibles doses devraient être favorisées. Notre étude porte sur une dose unique, mais plus faible que celles généralement utilisées dans la littérature. Le modèle, étant linéaire, suggère néanmoins l'absence de mécanisme de saturation sur la base des données recueillies pour une exposition égale ou inférieure à 1 mg/kg pc par voie intraveineuse.

#### **4.7 Extrapolation à l'humain**

La majorité des articles (incluant le nôtre) portent sur des expériences animales. L'extrapolation de paramètres du modèle à l'humain en fonction du poids corporel est une première étape permettant d'utiliser nos nouvelles données toxicocinétiques, mais plusieurs autres paramètres doivent être pris en compte. Les protéines sanguines jouent un rôle important dans la distribution ; une variation de ces protéines entre les rats et les humains pourrait mener à des changements dans la distribution et l'excrétion (Harris, 1998). L'excrétion urinaire, de la même manière, pourrait être plus importante et nécessiterait d'adapter le modèle. Des études comparatives, basées sur la forme chlorure stable, seraient aussi nécessaires pour introduire des relations allométriques entre ces deux espèces.

Dans le contexte actuel, le modèle toxicocinétique développé à partir des données animales a été utilisé pour relier une dose critique disponible dans la littérature, établie à partir



d'études de toxicité animale visant à établir la relation dose-réponse, à une concentration urinaire équivalente. Le NOAEL animal utilisé par le U.S. EPA pour dériver une dose de référence provisoire par ingestion pour le Pr et Nd a ainsi été utilisé pour dériver une concentration urinaire équivalente, dans un contexte d'exposition répétée par voie orale (U.S. EPA, 2009a; b). En appliquant les facteurs d'incertitudes pour l'extrapolation de l'animal à l'humain ( $FI_{a-h}$  de 10), de la variabilité interindividuelle ( $FI_h$ ) et pour le fait que l'étude de base était sous-chronique ( $FI_{sc-c}$ ), un équivalent biologique (BE) humain a été proposé dans ce mémoire. Ces valeurs de BE peuvent évidemment être ajustées lorsque de nouvelles valeurs de références seront établies afin de garder les BE à jour.

## **5 Conclusion et perspectives**

Une expérience a été menée sur des rats pour construire un modèle toxicocinétique et déterminer des équivalents de biosurveillance pour le cérium, le praséodyme, le néodyme et l'yttrium sous forme chlorure stable. L'analyse des niveaux de métaux rares dans différentes matrices biologiques a fourni de nouvelles données toxicocinétiques pour différents métaux rares, dans les mêmes conditions. Ces données ont permis de développer un modèle toxicocinétique fonctionnel unique pour ces quatre métaux. Le modèle physiologique inclut plusieurs organes et compartiments d'excrétions. Sur la base de la littérature, et à l'aide du nouveau modèle, des équivalents de biosurveillance ont pu être déterminés pour des expositions environnementales.

Néanmoins, quelques considérations concernant les limites d'applicabilité du modèle doivent être prises en compte. Premièrement, cette expérience et la littérature se basent presque qu'exclusivement sur des données cinétiques animales. Deuxièmement, la durée

de l'expérience (168 h) amène des incertitudes concernant la charge de métaux rares dans les organes sur une période prolongée.

Le modèle peut servir de base pour déterminer des équivalents de biosurveillance en se servant des nouvelles données toxicocinétique disponibles. De nouvelles RfD, permettront d'ajuster les BE précédemment calculées. Considérant la capacité du modèle à décrire la cinétique des quatre terres rares étudiées, étendre le modèle aux terres rares restantes semble être une des premières pistes pour la suite de cette étude. L'impact de la dose sur la cinétique est une autre avenue qui devrait être exploitée. En tenant compte de ce paramètre dans les futures expériences, cela permettra de mieux évaluer les conditions d'exposition environnementales, qui sont généralement faibles et de longues durées. Des doses plus faibles pourraient donc être considérées dans ces études. Des études humaines pourraient aussi permettre de déterminer quelques valeurs allométriques qui serviraient à bonifier les expériences animales déjà réalisées ou à venir. D'un point de vue mécanistique, des études sur les mécanismes de transferts, incluant entre autres l'interaction avec les protéines, pourraient permettre de préciser le modèle existant et apporter de nouvelles pistes pour la cinétique des métaux en général.



## Références

- Atwood, D.A. The rare earth elements: fundamentals and applications : John Wiley & Sons; 2013
- Bingham, D., Dobrota, M., 1994. Distribution and excretion of lanthanides: comparison between europium salts and complexes. *Biometals*. 7, 142-148.
- Binnemans, K., Jones, P.T., Blanpain, B., Van Gerven, T., Yang, Y., Walton, A., Buchert, M., 2013. Recycling of rare earths: a critical review. *Journal of cleaner production*. 51, 1-22.
- Bouchard, M., Krishnan, K., Viau, C., 1998. Kinetics of tissue distribution and elimination of pyrene and 1-hydroxypyrene following intravenous administration of [<sup>14</sup>C] pyrene in rats. *Toxicological Sciences*. 46, 11-20.
- Carlander, U., Li, D., Jolliet, O., Emond, C., Johanson, G., 2016. Toward a general physiologically-based pharmacokinetic model for intravenously injected nanoparticles. *International journal of nanomedicine*. 11, 625.
- Carrier, G., Bouchard, M., Brunet, R.C., Caza, M., 2001. A toxicokinetic model for predicting the tissue distribution and elimination of organic and inorganic mercury following exposure to methyl mercury in animals and humans. II. Application and validation of the model in humans. *Toxicology and applied pharmacology*. 171, 50-60.
- Cheng, J., Cheng, Z., Hu, R., Cui, Y., Cai, J., Li, N., Gui, S., Sang, X., Sun, Q., Wang, L., 2014. Immune dysfunction and liver damage of mice following exposure to lanthanoids. *Environmental Toxicology*. 29, 64-73.
- Damment, S.J., Pennick, M., 2007. Systemic lanthanum is excreted in the bile of rats. *Toxicology letters*. 171, 69-77.
- Dreyer, J.T., 2020. China's Monopoly on Rare Earth Elements—and Why We Should Care. <https://www.fpri.org/article/2020/10/chinas-monopoly-on-rare-earth-elements-and-why-we-should-care/>
- Durbin, P.W., Asling, G.W., Johnston, M.E., Hamilton, J.G., Williams, M.H., 1955. The metabolism of the lanthanons in the rat II. Time studies of the tissue deposition of intravenously administered radioisotopes.
- Geraets, L., Oomen, A.G., Schroeter, J.D., Coleman, V.A., Cassee, F.R., 2012. Tissue distribution of inhaled micro- and nano-sized cerium oxide particles in rats: results from a 28-day exposure study. *Toxicological sciences*. 127, 463-473.
- Gibaldi, M., Perrier, D. Clearance concepts. *Pharmacokinetics*: Marcel Dekker New York; 1982
- Gong, J.H., 1996. Uncommon causes of occupational interstitial lung diseases. *Current opinion in pulmonary medicine*. 2, 405-411.
- Government of Canada, 2019. Third phase of the Chemicals Management Plan. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/chemical-substances/third-phase-chemicals-management-plan.html#s1> (accessed July 2020).

- Haley, T.J., Komesu, N., Efros, M., Koste, L., Upham, H., 1964. Pharmacology and toxicology of praseodymium and neodymium chlorides. *Toxicology and applied pharmacology*. 6, 614-620.
- Harris, W.R. Binding and transport of nonferrous metals by serum transferrin. *Less Common Metals in Proteins and Nucleic Acid Probes: Springer*; 1998
- Hayashi, S., Usuda, K., Mitsui, G., Shibutani, T., Dote, E., Adachi, K., Fujihara, M., Shimbo, Y., Sun, W., Kono, R., 2006. Urinary yttrium excretion and effects of yttrium chloride on renal function in rats. *Biological trace element research*. 114, 225-235.
- Hayes, A.W. Principles and methods of toxicology : Crc Press; 2007
- He, M., Wang, Y., Xu, Z., Chen, M., Rambeck, W., 2003. Effect of dietary rare earth elements on growth performance and blood parameters of rats. *Journal of animal physiology and animal nutrition*. 87, 229-235.
- He, X., Zhang, Z., Zhang, H., Zhao, Y., Chai, Z., 2008. Neurotoxicological evaluation of long-term lanthanum chloride exposure in rats. *Toxicological Sciences*. 103, 354-361.
- Heredia-Ortiz, R., Bouchard, M., Marie-Desvergne, C., Viau, C., Maître, A., 2011. Modeling of the internal kinetics of benzo (a) pyrene and 3-hydroxybenzo (a) pyrene biomarker from rat data. *Toxicological Sciences*. 122, 275-287.
- Hirano, S., Kodama, N., Shibata, K., Suzuki, K.T., 1990. Distribution, localization, and pulmonary effects of yttrium chloride following intratracheal instillation into the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 104, 301-311.
- Hirano, S., Kodama, N., Shibata, K., Suzuki, K.T., 1993. Metabolism and toxicity of intravenously injected yttrium chloride in rats. *Toxicology and applied pharmacology*. 121, 224-232.
- Hirano, S., Suzuki, K.T., 1996. Exposure, metabolism, and toxicity of rare earths and related compounds. *Environmental health perspectives*. 104, 85-95.
- Höllriegel, V., Li, W.B., Michalke, B., 2017. Biokinetic measurements and modelling of urinary excretion of cerium citrate in humans. *Radiation and environmental biophysics*. 56, 1-8.
- Hong, J., Yu, X., Pan, X., Zhao, X., Sheng, L., Sang, X., Lin, A., Zhang, C., Zhao, Y., Gui, S., Sun, Q., Wang, L., Hong, F., 2014. Pulmonary toxicity in mice following exposure to cerium chloride. *Biol Trace Elem Res*. 159, 269-277.
- Huang, P., Li, J., Zhang, S., Chen, C., Han, Y., Liu, N., Xiao, Y., Wang, H., Zhang, M., Yu, Q., Liu, Y., Wang, W., 2011. Effects of lanthanum, cerium, and neodymium on the nuclei and mitochondria of hepatocytes: accumulation and oxidative damage. *Environ Toxicol Pharmacol*. 31, 25-32.
- ICRP, 2012. ICRP publication 119: compendium of dose coefficients based on ICRP publication 60. *Annals of the ICRP*. 41, 1-130.
- Kitamura, Y., Usuda, K., Shimizu, H., Fujimoto, K., Kono, R., Fujita, A., Kono, K., 2012. Urinary monitoring of exposure to yttrium, scandium, and europium in male Wistar rats. *Biol Trace Elem Res*. 150, 322-327.
- Krishnamurthy, N., Gupta, C.K. Extractive metallurgy of rare earths : CRC press; 2005
- Leggett, R., Ansoborlo, E., Bailey, M., Gregoratto, D., Paquet, F., Taylor, D., 2014. Biokinetic data and models for occupational intake of lanthanoids. *International journal of radiation biology*. 90, 996-1010.

- Li, C.X., Ma, C., Fang, H.Q., Zhi, Y., Yu, Z., Xu, H.B., Jia, X.D., 2015. Neurobehavioral Assessment of Rats Exposed to Yttrium Nitrate during Development. *Biomed Environ Sci.* 28, 281-290.
- Li, J., Hong, M., Yin, X., Liu, J., 2010a. Effects of the accumulation of the rare earth elements on soil macrofauna community. *Journal of Rare Earths.* 28, 957-964.
- Li, N., Wang, S., Liu, J., Ma, L., Duan, Y., Hong, F., 2010b. The oxidative damage in lung of mice caused by lanthanoide. *Biol Trace Elem Res.* 134, 68-78.
- Li, X., Chen, Z., Chen, Z., Zhang, Y., 2013. A human health risk assessment of rare earth elements in soil and vegetables from a mining area in Fujian Province, Southeast China. *Chemosphere.* 93, 1240-1246.
- Liang, T., Li, K., Wang, L., 2014. State of rare earth elements in different environmental components in mining areas of China. *Environ Monit Assess.* 186, 1499-1513.
- Malik, A.B., Kaplan, J.E., Saba, T.M., 1976. Reference sample method for cardiac output and regional blood flow determinations in the rat. *Journal of Applied Physiology.* 40, 472-475.
- Mancheri, N.A., Sprecher, B., Bailey, G., Ge, J., Tukker, A., 2019. Effect of Chinese policies on rare earth supply chain resilience. *Resources, Conservation and Recycling.* 142, 101-112.
- McDonald, J.W., Ghio, A.J., Sheehan, C.E., Bernhardt, P.F., Roggli, V.L., 1995. Rare earth (cerium oxide) pneumoconiosis: analytical scanning electron microscopy and literature review. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 8, 859.
- Molina, R.M., Konduru, N.V., Jimenez, R.J., Pyrgiotakis, G., Demokritou, P., Wohlleben, W., Brain, J.D., 2014. Bioavailability, distribution and clearance of tracheally instilled, gavaged or injected cerium dioxide nanoparticles and ionic cerium. *Environ Sci: Nano.* 1, 561-573.
- Morganti, J.B., Lown, B.A., Stineman, C.H., Massaro, E.J., 1978. Cerium tissue/organ distribution and alterations in open field and exploratory behavior following repeated exposure of the mouse to citrate complexed cerium. *General Pharmacology: The Vascular System.* 9, 257-261.
- Nakamura, Y., Hasegawa, Y., Tonogai, Y., Kanamoto, M., Tsuboi, N., Murakami, K., Ito, Y., 1991a. Studies on the biological effects of rare earth elements. I. Method for analysis of dysprosium(Dy), europium(Eu), ytterbium(Yb) and yttrium(Y) from the biological materials. *Eisei Kagaku.* 37, 28-38.
- Nakamura, Y., Tsumura-Hasegawa, Y., Tonogai, Y., Kanamoto, M., Tsuboi, N., Murakami, K., Ikebe, K., Ito, Y., 1991b. Studies on the biological effects of rare earth elements. III. Fate of chlorides of Dy, Eu, Yb and Y in the rat after intravenous administration. *Eisei Kagaku.* 37, 497-506.
- Nakamura, Y., Tsumura-Hasegawa, Y., Tonogai, Y., Kanamoto, M., Tsuboi, N., Murakami, K., Ito, Y., 1991c. Excretion of dysprosium, europium, ytterbium and yttrium in the rat after oral administration. *Eisei Kagaku.* 37, 418-425.
- Nakamura, Y., Tsumura-Hasegawa, Y., Tonogai, Y., Kanamoto, M., Tsuboi, N., Murakami, K., Ito, Y., 1991d. Studies on the biological effects of rare-earth elements. II. Distribution and the histological effects of Dy, Eu, Yb, and Y in the rat after

- intravenous administration. *Eisei Kagaku - Journal of Toxicology and Environmental Health*. 37, 489-496.
- Nakamura, Y., Tsumura, Y., Tonogai, Y., Ito, Y., 1993. Studies on the biological effects of rare earth elements. IV. Effects of chlorides of Dy, Eu, Yb, and Y and rare earth elements, Ca, Mg and P contents in various organs in the rat after intravenous administration. *Japanese Journal of Toxicology and Environmental Health*. 39, 44-55.
- Nakamura, Y., Tsumura, Y., Tonogai, Y., Shibata, T., Ito, Y., 1997. Differences in behavior among the chlorides of seven rare earth elements administered intravenously to rats. *Toxicological Sciences*. 37, 106-116.
- Newton, D., 2003. Human biokinetics of inhaled terbium oxide. *Radiation protection dosimetry*. 106, 53-61.
- Nong, A., Taylor, M.D., Clewell III, H.J., Dorman, D.C., Andersen, M.E., 2009. Manganese tissue dosimetry in rats and monkeys: accounting for dietary and inhaled Mn with physiologically based pharmacokinetic modeling. *Toxicological sciences*. 108, 22-34.
- Pagano, G., Guida, M., Tommasi, F., Oral, R., 2015. Health effects and toxicity mechanisms of rare earth elements-Knowledge gaps and research prospects. *Ecotoxicol Environ Saf*. 115, 40-48.
- Peng, R., Pan, X., Xie, Q., 2003. Relationship of the hair content of rare earth elements in young children aged 0 to 3 years to that in their mothers living in a rare earth mining area of Jiangxi. *Zhonghua yu fang yi xue za zhi [Chinese journal of preventive medicine]*. 37, 20-22.
- Pennick, M., Dennis, K., Damment, S.J., 2006. Absolute bioavailability and disposition of lanthanum in healthy human subjects administered lanthanum carbonate. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 46, 738-746.
- Pujalte, I., Dieme, D., Haddad, S., Serventi, A.M., Bouchard, M., 2017. Toxicokinetics of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles after inhalation in rats. *Toxicology letters*. 265, 77-85.
- Sabbioni, E., Pietra, R., Gaglione, P., Vocaturo, G., Colombo, F., Zanoni, M., Rodi, F., 1982. Long-term occupational risk of rare-earth pneumoconiosis A case report as investigated by neutron activation analysis. *Science of The Total Environment*. 26, 19-32.
- Schubert, D., Dargusch, R., Raitano, J., Chan, S.W., 2006. Cerium and yttrium oxide nanoparticles are neuroprotective. *Biochem Biophys Res Commun*. 342, 86-91.
- Schüler, D., Buchert, M., Liu, R., Dittrich, S., Merz, C., 2011. Study on rare earths and their recycling. *Öko-Institut eV Darmstadt*. 49, 30-40.
- Shin, S.-H., Kim, H.-O., Rim, K.-T., 2019. Worker Safety in the Rare Earth Elements Recycling Process From the Review of Toxicity and Issues. *Safety and Health at Work*.
- Takada, K., Fujita, M., Suzuki, M., 1970. Effects of Carrier on the Retention, Excretion and Distribution of <sup>144</sup>Ce in the Rat. *Journal of radiation research*. 11, 24-31.
- Taylor, D., Leggett, R., 1998. A generic biokinetic model for the lanthanide elements. *Radiation protection dosimetry*. 79, 351-354.

- Taylor, D., Leggett, R., 2003. A generic biokinetic model for predicting the behaviour of the lanthanide elements in the human body. *Radiation protection dosimetry*. 105, 193-198.
- Tong, S.-L., Zhu, W.-Z., Gao, Z.-H., Meng, Y.-X., Peng, R.-L., Lu, G.-C., 2004. Distribution characteristics of rare earth elements in children's scalp hair from a rare earths mining area in southern China. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 39, 2517-2532.
- Tuchweber, B., Trost, R., Salas, M., Sieck, W., 1976. Effect of praseodymium nitrate on hepatocytes and Kupffer cells in the rat. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 54, 898-906.
- U.S. EPA. Provisional Peer-Reviewed Toxicity Values for Stable (Nonradioactive) Neodymium Chloride. 2009a
- U.S. EPA, 2009b. Provisional Peer-Reviewed Toxicity Values for Stable (Nonradioactive) Praseodymium Chloride.
- U.S. EPA. Rare earth elements: A review of production, processing, recycling, and associated environmental issues. US EPA Region; 2012
- U.S. EPA, 2018. Provisional Peer-Reviewed Toxicity Values for Stable (Nonradioactive) Soluble Lanthanum.
- Waring, P.M., Watling, R.J., 1990. Rare earth deposits in a deceased movie projectionist: A new case of rare earth pneumoconiosis? *Medical journal of Australia*. 153, 726-730.
- Weiss, M., 1990. Use of metabolite AUC data in bioavailability studies to discriminate between absorption and first-pass extraction. *Clinical pharmacokinetics*. 18, 419-422.
- Yaroshevsky, A., 2006. Abundances of chemical elements in the Earth's crust. *Geochemistry International*. 44, 48-55.
- Yoon, H.K., Moon, H.S., Park, S.H., Song, J.S., Lim, Y., Kohyama, N., 2005. Dendriiform pulmonary ossification in patient with rare earth pneumoconiosis. *Thorax*. 60, 701-703.
- Yoon, M., Nong, A., Clewell III, H.J., Taylor, M.D., Dorman, D.C., Andersen, M.E., 2009. Evaluating placental transfer and tissue concentrations of manganese in the pregnant rat and fetuses after inhalation exposures with a PBPK model. *Toxicological Sciences*. 112, 44-58.
- Yoon, M., Schroeter, J.D., Nong, A., Taylor, M.D., Dorman, D.C., Andersen, M.E., Clewell III, H.J., 2011. Physiologically based pharmacokinetic modeling of fetal and neonatal manganese exposure in humans: describing manganese homeostasis during development. *Toxicological Sciences*. 122, 297-316.
- Zaichick, S., Zaichick, V., Karandashev, V., Nosenko, S., 2011. Accumulation of rare earth elements in human bone within the lifespan. *Metallomics*. 3, 186-194.
- Zhang, H., Feng, J., Zhu, W., Liu, C., Xu, S., Shao, P., Wu, D., Yang, W., Gu, J., 1999. Chronic toxicity of rare-earth elements on human beings. *Biological trace element research*. 73, 1-17.



- Zhao, H., Cheng, Z., Hu, R., Chen, J., Hong, M., Zhou, M., Gong, X., Wang, L., Hong, F., 2011. Oxidative injury in the brain of mice caused by lanthanid. *Biol Trace Elem Res.* 142, 174-189.
- Zhao, H., Hong, J., Yu, X., Zhao, X., Sheng, L., Ze, Y., Sang, X., Gui, S., Sun, Q., Wang, L., Hong, F., 2013. Oxidative stress in the kidney injury of mice following exposure to lanthanides trichloride. *Chemosphere.* 93, 875-884.
- Zhu, W., Xu, S., Shao, P., Zhang, H., Wu, D., Yang, W., Feng, J., Feng, L., 2005. Investigation on liver function among population in high background of rare earth area in South China. *Biological Trace Element Research.* 104, 1-7.
- Zhu, W., Xu, S., Zhang, H., SHAO, P., WU, D., 1996. Investigation on the intelligence quotient of children in the areas with high REE background -- REE bioeffects in the REE-high areas of southern Jiangxi Province. *Chinese science bulletin.* 41, 1977-1981.
- Zhuang, M., Wang, L., Wu, G., Wang, K., Jiang, X., Liu, T., Xiao, P., Yu, L., Jiang, Y., Song, J., 2017. Health risk assessment of rare earth elements in cereals from mining area in Shandong, China. *Scientific Reports.* 7, 1-6.