

Université de Montréal

**Développement d'outils utilisant la surveillance biologique pour
évaluer l'exposition et les risques pour la santé :
application au méthylmercure et au sélénium**

par

Nolwenn Noisel

Département de Santé Environnementale et Santé au Travail

École de Santé Publique

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Philosophiæ Doctor (PhD)

en Santé Publique

option Toxicologie et Analyse du Risque

Mai, 2014

© Nolwenn Noisel, 2014

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée :

Développement d'outils utilisant la surveillance biologique pour évaluer
l'exposition et les risques pour la santé :
application au méthylmercure et au sélénium

présentée par :

Nolwenn Noisel

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Jérôme Lavoué, président-rapporteur

Gaétan Carrier, directeur de recherche

Michèle Bouchard, co-directrice

Jules Brodeur, membre du jury

Danielle Laurin, examinateur externe

Pierre Haddad, représentant du doyen de la FES

Résumé

Dans une perspective d'analyse des risques pour la santé publique, l'estimation de l'exposition revêt une importance capitale. Parmi les approches existantes d'estimation de l'exposition, l'utilisation d'outils, tels que des questionnaires alimentaires, la modélisation toxicocinétique ou les reconstructions de doses, en complément de la surveillance biologique, permet de raffiner les estimations, et ainsi, de mieux caractériser les risques pour la santé.

Ces différents outils et approches ont été développés et appliqués à deux substances d'intérêt, le méthylmercure et le sélénium en raison des effets toxiques bien connus du méthylmercure, de l'interaction entre le méthylmercure et le sélénium réduisant potentiellement ces effets toxiques, et de l'existence de sources communes via la consommation de poisson. Ainsi, l'objectif général de cette thèse consistait à produire des données cinétiques et comparatives manquantes pour la validation et l'interprétation d'approches et d'outils d'évaluation de l'exposition au méthylmercure et au sélénium.

Pour ce faire, l'influence du choix de la méthode d'évaluation de l'exposition au méthylmercure a été déterminée en comparant les apports quotidiens et les risques pour la santé estimés par différentes approches (évaluation directe de l'exposition par la surveillance biologique combinée à la modélisation toxicocinétique ou évaluation indirecte par questionnaire alimentaire). D'importantes différences entre ces deux approches ont été observées : les apports quotidiens de méthylmercure estimés par questionnaires sont en moyenne six fois plus élevés que ceux estimés à l'aide de surveillance biologique et modélisation. Ces deux méthodes conduisent à une appréciation des risques pour la santé divergente puisqu'avec l'approche indirecte, les doses quotidiennes estimées de

méthylmercure dépassent les normes de Santé Canada pour 21 des 23 volontaires, alors qu'avec l'approche directe, seulement 2 des 23 volontaires sont susceptibles de dépasser les normes. Ces différences pourraient être dues, entre autres, à des biais de mémoire et de désirabilité lors de la complétion des questionnaires.

En outre, l'étude de la distribution du sélénium dans différentes matrices biologiques suite à une exposition non alimentaire (shampooing à forte teneur en sélénium) visait, d'une part, à étudier la cinétique du sélénium provenant de cette source d'exposition et, d'autre part, à évaluer la contribution de cette source à la charge corporelle totale. Un suivi des concentrations biologiques (sang, urine, cheveux et ongles) pendant une période de 18 mois chez des volontaires exposés à une source non alimentaire de sélénium a contribué à mieux expliciter les mécanismes de transfert du sélénium du site d'absorption vers le sang (concomitance des voies régulées et non régulées). Ceci a permis de montrer que, contrairement au méthylmercure, l'utilisation des cheveux comme biomarqueur peut mener à une surestimation importante de la charge corporelle réelle en sélénium en cas de non contrôle de facteurs confondants tels que l'utilisation de shampooing contenant du sélénium.

Finalement, une analyse exhaustive des données de surveillance biologique du sélénium issues de 75 études publiées dans la littérature a permis de mieux comprendre la cinétique globale du sélénium dans l'organisme humain. En particulier, elle a permis le développement d'un outil reliant les apports quotidiens et les concentrations biologiques de sélénium dans les différentes matrices à l'aide d'algorithmes mathématiques. Conséquemment, à l'aide de ces données cinétiques exprimées par un système d'équations logarithmiques et de leur représentation graphique, il est possible d'estimer les

apports quotidiens chez un individu à partir de divers prélèvements biologiques, et ainsi, de faciliter la comparaison d'études de surveillance biologique du sélénium utilisant des biomarqueurs différents.

L'ensemble de ces résultats de recherche montre que la méthode choisie pour évaluer l'exposition a un impact important sur les estimations des risques associés. De plus, les recherches menées ont permis de mettre en évidence que le sélénium non alimentaire ne contribue pas de façon significative à la charge corporelle totale, mais constitue un facteur de confusion pour l'estimation de la charge corporelle réelle en sélénium. Finalement, la détermination des équations et des coefficients reliant les concentrations de sélénium entre différentes matrices biologiques, à l'aide d'une vaste base de données cinétiques, concourt à mieux interpréter les résultats de surveillance biologique.

Mots-clés : méthylmercure, sélénium, questionnaires alimentaires, surveillance biologique, sang, cheveux, ongles, urine, shampoing, consommation de poisson

Abstract

In the context of public health risk analysis, exposure assessments are of primary importance. Among the approaches used to assess exposure, tools such as food questionnaires, toxicokinetic modelling or reverse dosimetry, combined with biomonitoring allow to refine exposure estimates as well as toxicological health risk estimates.

Such approaches and tools have been developed and applied to two contaminants of interest - methylmercury and selenium - due to the known toxic effect of methylmercury, the interaction between methylmercury and selenium which reduces its toxicity, and common sources of exposure through fish consumption. Hence, the main objective of this thesis consists in producing kinetic and comparative data for the validation and the interpretation of approaches and tools used for exposure assessment to methylmercury and selenium. These data are currently lacking.

To achieve this goal, the influence of the method used to assess methylmercury exposure was determined by comparing daily intakes and health risk estimated with different approaches (direct exposure assessment using biomonitoring and toxicokinetic modelling or indirect exposure assessment using food questionnaires). Important discrepancies between these two methods have been observed: the questionnaire-based intakes are higher than modeled intakes higher by a six-fold factor. These two approaches lead to divergent health risk estimates considering that, with the direct exposure assessment, methylmercury daily intakes are above Health Canada guidelines in most cases (21 of 23 volunteers) while only 2 volunteers have intakes above guidelines when using the direct

approach. Among possible reasons, discrepancies could be due to recall and desirability bias related to the completion of food questionnaire.

Subsequently, the study of selenium distribution in different biological matrices following a non-dietary exposure (selenium-containing shampoo) aimed to study the kinetic of the selenium originating from this exposure as well as assess the contribution of this source to the total Se body burden. The time courses of selenium biological concentration in blood, urine, hair and nails over 18 months for volunteers exposed to a non-dietary source of selenium contributed to better elucidate the mechanisms of selenium transfer to blood (concurrency of regulated and non-regulated pathways). This study also confirms that, unlike methylmercury, the use of hair as a biomarker can lead to a significant overestimate of the actual selenium body burden if confounding factors such as the use of selenium-containing shampoo are not controlled.

In addition, a detailed analysis of selenium biomonitoring data from 75 published studies in the literature was conducted in order to better understand the kinetic of selenium in the human body. In particular, this analysis led to the development of a tool that relates daily intakes and selenium concentrations in biological matrices using mathematical algorithms. Consequently, by using these kinetic data expressed as a system of logarithmic equations and graphical representations, it enables the assessment of daily intakes in an individual from various biological sampling. Moreover, it facilitates the comparison of selenium biomonitoring data from studies using different biomarkers.

Overall, these results show that the approach used to assess exposure has a sound impact on health risk estimates. Research showed that selenium from a non-dietary source does not contribute significantly to total body burden, however it constitutes a confounding factor. Finally, the determination of equations and coefficients using an extensive kinetic database relating selenium concentrations from different biological matrices helps to better interpret biomonitoring data.

Keywords : methylmercury, selenium, food questionnaires, biomonitoring, blood, hair, toenail, urine, shampoo, fish consumption

Table des matières

Résumé	ii
Abstract.....	vi
Liste des tableaux	xvi
Liste des figures	xviii
Liste des sigles et abréviations.....	xxii
Remerciements.....	xxx
Chapitre 1. Introduction générale.....	1
1.1. Mise en contexte	1
1.2. Analyse des risques et estimation de l'exposition.....	3
1.2.1. Estimation des apports alimentaires par questionnaires.....	3
1.2.2. Surveillance biologique de l'exposition	5
1.3. Le méthylmercure, un contaminant d'intérêt prioritaire.....	8
1.3.1. Sources du méthylmercure et éléments de toxicocinétique	8
1.3.2. Effets toxiques du méthylmercure	10
1.3.3. Éléments d'analyse des risques spécifiques au méthylmercure	12
1.3.3.1. Méthodes d'estimation de l'exposition spécifiques au méthylmercure	13
1.3.3.2. Valeurs guides et recommandations pour la santé publique	15
1.4. Le sélénium, un élément essentiel aux propriétés particulières.....	19
1.4.1. Propriétés physicochimiques, sources et formes chimiques de sélénium.....	19
1.4.2. Éléments de toxicocinétique	23
1.4.3. Effets du sélénium sur la santé humaine.....	30
1.4.3.1. Rôles physiologique et biologique	30

1.4.3.2. Effets toxiques.....	37
1.4.4. Éléments d'analyse des risques spécifiques au sélénium	39
1.4.4.1. Méthodes d'estimation de l'exposition spécifiques au sélénium.....	39
1.4.4.2. Valeurs guides et recommandations pour la santé publique	43
1.5. Problématique de recherche	47
1.6. Hypothèse de recherche et objectifs.....	50
1.6.1. Hypothèse de recherche.....	50
1.6.2. Objectifs.....	50
1.7. Organisation générale de la thèse	52
Chapitre 2. Comparison of a toxicokinetic and a questionnaire-based approach to assess methylmercury intake in exposed individuals	55
2.1. Abstract.....	57
2.2. Introduction	58
2.3. Materials and methods.....	60
2.3.1. Studied population	60
2.3.2. Biological sampling of volunteers.....	60
2.3.3. Measurements of total Hg in biological samples of volunteers.....	61
2.3.4. Collection of questionnaire data	62
2.3.5. Collection of data on MeHg contents in seafood	63
2.3.6. MeHg daily intakes estimated using the questionnaire	63
2.3.7. Assessment of MeHg daily intakes using a toxicokinetic modeling approach	64
2.3.8. Comparison of the modeled intakes with questionnaire predicted intakes.....	65
2.4. Results.....	66
2.4.1. Analysis of biological samples	66

2.4.2. Analysis of food questionnaire	66
2.4.3. Estimation of MeHg daily intakes using toxicokinetic modeling	66
2.4.4. Comparison of the modeled intakes with questionnaire-based intakes.....	67
2.5. Discussion	68
2.6. Conclusion.....	73
2.7. Tables and Figures	74
2.8. References	84
Chapitre 3. Disposition kinetics of selenium in healthy volunteers following therapeutic shampoo treatment	91
3.1. Abstract.....	93
3.2. Introduction	94
3.3. Materials and Methods.....	97
3.3.1. Volunteers	97
3.3.2. Treatment with Se-containing shampoo	98
3.3.3. Collection of biological samples	98
3.3.4. Laboratory analysis of Se	101
3.3.5. Data processing and statistical analyses	102
3.4. Results.....	103
3.4.1. Time course of Se concentrations in blood	103
3.4.2. Time course of Se excretion in urine	103
3.4.3. Time course of Se concentrations in hair	104
3.4.4. Time course of Se concentrations in toenails.....	105
3.4.5. Analysis of questionnaire data and Se concentrations in shampoo and food supplements	106
3.5. Discussion	107

3.6. Conclusion.....	114
3.7. Tables and Figures	116
3.8. References	126
Chapitre 4. Study of selenium intake and disposition in various matrices based on mathematical algorithms derived from pooled biomonitoring data.....	133
4.1. Abstract.....	135
4.2. Introduction	137
4.3. Methods.....	141
4.3.1. Selection of Se exposure assessment studies and applied criteria	141
4.3.2. Pooling of selected studies to derive algorithms for matrix-to-matrix comparisons and reverse dosimetry.....	142
4.3.3. Statistical analysis of the pooled Se biomonitoring data and derivation of mathematical algorithms.....	143
4.3.4. Application of the derived algorithms to estimate Se intakes from independent Se data sets in the population	144
4.4. Results.....	146
4.4.1. Selection of relevant Se exposure assessment studies	146
4.4.2. Analysis of Se daily intakes and Se concentrations in biological matrices from pooled data	146
4.4.3. Mathematical algorithms relating Se intake and Se concentrations in accessible biological matrices derived from pooled data	147
4.4.4. Application of the regression equations to independent Se data sets	148
4.5. Discussion	149
4.6. Conclusion.....	154

4.7. Tables and figures	155
4.8. References	168
4.9. Appendice A.....	177
Chapitre 5. Discussion et perspectives	199
5.1. Originalité de la thèse et contribution à l’avancement des connaissances	200
5.2. Contribution à l’interprétation des résultats de surveillance biologique et application à la pratique de la santé publique	204
5.3. Considérations éthiques et qualité des données de surveillance biologique	206
5.4. Perspectives futures	208
Chapitre 6. Conclusion	213
Chapitre 7. Bibliographie.....	215
Annexe 1	i

Liste des tableaux

Chapitre 1

Tableau 1 : Principales formes inorganiques de sélénium (d'après ATSDR (2003), Foster et Sumar (1997), et Nuttall (2006))	21
Tableau 2 : Principales formes organiques de sélénium (d'après Abdulah et al. (2005), Dumont et al. (2006), Foster et Sumar (1997) et Francesconi et Pannier (2004))	22
Tableau 3 : Sélénoprotéines et enzymes sélénodépendantes identifiées chez l'humain et leur rôle biologique (d'après Papp et al. (2007) et Gromadzinska et al. (2008))	23
Tableau 4 : Fractions d'absorption et demi-vies d'élimination estimées (valeurs moyennes) de quelques formes de sélénium chez l'humain	25
Tableau 5 : Concentrations sanguines, plasmatiques et urinaires de sélénium mesurées dans la population générale québécoise et canadienne (d'après INSPQ (2004a), Santé Canada (2010b) et Santé Canada (2013)).....	46

Chapitre 2

Table 1: Mercury concentrations in seafood used to estimate questionnaire-based daily intakes of methylmercury.....	74
Table 2: Concentrations of total mercury in biological samples of the 23 volunteers and seafood consumption rates estimated by questionnaire.....	77
Table 3: Methylmercury daily intakes estimated using the toxicokinetic modeling approach as compared to the food questionnaire for the 23 volunteers.....	79

Chapitre 3

Table 1: Operating conditions for the analysis of total Se by Instrumental Neutron Activation Analysis	116
Table 2: Sample characteristics for the Instrumental Neutron Activation Analysis	117

Chapitre 4

Table 1: Se intake levels and biological concentrations calculated from pooled data of 75 studies ...	155
Table 2: Logarithmic regression parameters for the variables of Se intake ($\mu\text{g}/\text{d}$) and the Se concentrations in biological matrices ($\mu\text{g}/\text{L}$, $\mu\text{g}/\text{g}$ or $\mu\text{g}/\text{d}$) determined from pooled biomonitoring data of the 75 selected studies	156
Table 3: Se intake reconstructed using Se biological monitoring data of from independent data sets and the derived algorithms	158
Table 4: Published algorithms on Se disposition in biological compartments and daily intakes	160
Table S1: Selected studies	178

Liste des figures

Chapitre 1

Figure 1 : Représentation schématique des trois classes de biomarqueurs en lien avec le continuum exposition-effets (d'après Metcalf et Orloff (2004)).....	6
Figure 2 : Schéma simplifié du métabolisme humain du sélénium (d'après Rayman et al. (2008))	28
Figure 3 : Mécanismes possibles d'interaction biologique entre le mercure et le sélénium (d'après Khan et Wang (2009))	34
Figure 4 : Représentation schématique des besoins moyens estimatifs (BME), des apports nutritionnels recommandés (ANR) et des apports maximaux tolérables (AMT) en fonction des risques de carence et de surdose (d'après IOM (2000)).....	44

Chapitre 2

Figure 1: Historical reconstruction of MeHg daily intakes ($\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$) (continuous line) in two volunteers (a and b) using model simulations (dashed lines) of measured concentrations of total mercury (squares) in successive centimeters of hair. Time 0 represents the time of hair collection.....	81
Figure 2: Correlation (continuous line) between Hg concentrations measured in blood ($\mu\text{g}/\text{l}$) for 22 volunteers and the corresponding values predicted with the toxicokinetic modeling approach. Black triangles represent data for each volunteer.....	82

Figure 3: Correlation (continuous line) between daily intakes ($\mu\text{g}/\text{d}$) of MeHg estimated with the food questionnaire (FQ) and those predicted with the toxicokinetic modeling (TKM) approach. Black triangles represent data for each volunteer 82

Chapitre 3

Figure 1: Concentration-time course of Se in whole blood of the ten volunteers before, during and following the onset of application of Se-containing shampoo. Each point represents mean value and vertical bars indicate standard errors 120

Figure 2: Time course of Se daily urinary excretion in the ten volunteers before, during and following the onset of application of Se-containing shampoo. Each point represents mean value and vertical bars indicate standard errors 121

Figure 3: Concentrations of Se in successive centimeters of hair grown prior to treatment with Se-containing shampoo, during the 1-month treatment period and following the application period. Each centimeter of hair was taken to correspond to a one-month period. Each box represents mean value from the group of volunteers and vertical bars indicate standard errors. Value at time $t = 8$ months reflects baseline levels. Vertical arrays indicate the time of hair sampling... 122

Figure 4: Concentration-time course of Se in toenails of the group of volunteers collected during the 4 to 8 months and 16 to 18 months following the onset of application of Se-containing shampoo. Each point represents mean value from the group of volunteers and vertical bars indicate standard errors 123

Figure 5: Concentration-time course of Se in toenails of two volunteers (A and B) showing a clear increase in concentrations post-treatment. Toenails were collected during the 4 to 8 months and 16 to 18 months following the onset of application of Se-containing shampoo..... 124

Figure 6: Simplified representation of selenium metabolic pathways adapted from Schrauzer (2000) and Sunde (1990) 125

Chapitre 4

Figure 1A: Regression equations between Se intakes (I_{Se}) in $\mu\text{g}/\text{d}$ and Se concentrations in whole blood (B_{Se}) and plasma (P_{Se}) in $\mu\text{g}/\text{L}$. Filled squares (■, $n = 18$) and continuous line (—) represent experimental data and regression equation for B_{Se} ; Unfilled circles (○, $n = 30$) and dashed line (- -) represent experimental data and regression equation for P_{Se} 165

Figure 1B: Regression equations between Se intakes (I_{Se}) in $\mu\text{g}/\text{d}$ and Se concentrations in hair (H_{Se}) and toenail (T_{Se}) in $\mu\text{g}/\text{g}$. Filled squares (■, $n = 8$) and continuous line (—) represent experimental data and regression equation for H_{Se} ; unfilled circles (○, $n = 9$) and dashed line (- -) represent experimental data and regression equation for T_{Se} 165

Figure 1C: Regression equations between Se intakes (I_{Se}) in $\mu\text{g}/\text{d}$ and Se urinary excretion rates $U1_{Se}$ in $\mu\text{g}/\text{d}$. Filled squares (■, $n = 17$) and continuous line (—) represent experimental data and regression equation for $U1_{Se}$ 165

Figure 2A: Regression equations between Se in whole blood (B_{Se}) and Se in plasma (P_{Se}) in $\mu\text{g}/\text{L}$. Filled squares (■, $n = 42$) and continuous line (—) represent experimental data and regression equation for all groups. Crosses (X, $n = 22$) represent independent Se data from fishermen (Noisel et al., 2011) 166

Figure 2B: Regression equations between Se in whole blood (B_{Se}) in $\mu\text{g}/\text{L}$ and Se concentrations in hair (H_{Se}) and toenails (T_{Se}) in $\mu\text{g}/\text{g}$. Filled squares (■, $n = 11$) and continuous line (—) represent experimental data and regression equation for H_{Se} ; unfilled circles (○, $n = 12$) and dashed line (- -) represent experimental data and regression equation for T_{Se} . Crosses (X, $n = 22$) represent Se

data from fishermen (Noisel et al., 2011). White diamonds (\diamond , $n = 7$) and black triangles (\blacktriangle , $n = 5$) represent Se data for hair and toenails respectively from volunteers exposed to Se-containing shampoo (Noisel et al., 2010). One outsider ($T_{Se} = 33 \mu\text{g/g}$) was not included 166

Figure 2C: Regression equations between Se in whole blood (B_{Se}) in $\mu\text{g/L}$ and Se in urine ($U1_{Se}$ in $\mu\text{g/d}$ and $U2_{Se}$ in $\mu\text{g/L}$). Filled squares (\blacksquare , $n = 14$) and continuous bold line (—) represent experimental data and regression equation for $U1_{Se}$; unfilled circles (\circ , $n = 11$) and dashed line (- - -) represent experimental data and regression equation for $U2_{Se}$. Crosses (\times , $n = 10$) represent Se data for urinary excretion rates from volunteers exposed to Se-containing shampoo (Noisel et al., 2010) 166

Figure 3A: Regression equations between Se in plasma (P_{Se}) in $\mu\text{g/L}$ and Se in toenail (T_{Se}) in $\mu\text{g/g}$. Filled squares (\blacksquare , $n = 12$) and continuous bold line (—) represent experimental data and regression equation for all groups 167

Figure 3B: Regression equations between Se in plasma (P_{Se}) in $\mu\text{g/L}$ and Se in urine ($U1_{Se}$ in $\mu\text{g/d}$ and $U2_{Se}$ in $\mu\text{g/L}$). Filled squares (\blacksquare , $n = 35$) and continuous bold line (—) represent experimental data and regression equation for $U1_{Se}$; unfilled circles (\circ , $n = 22$) and dashed line (- - -) represent experimental data and regression equation for $U2_{Se}$ 167

Liste des sigles et abréviations

AM : Arithmetic mean

AMT : Apport maximal tolérable

ANR : Apport nutritionnel recommandé

BMD : Benchmark dose

BMD_{5L95} : Limite supérieure à 95 % de l'intervalle de confiance de la Benchmark dose (BMD)

BME : Besoins moyens estimatifs

BMR : Benchmark response

B_{Se} : Concentration sanguine en sélénium, exprimée en µg/L

bw : Body Weight

Creat : Créatinine

DHA : Acide docohexaénoïque

DMS_{Se} : Diméthylsélénide

ECMS : Enquête canadienne sur les mesures de santé

EPA : Acide eicosapentaénoïque

FFQ : Food Frequency Questionnaire

GM : Geometric mean

GSD : Geometric standard deviation

GSH-Px : Glutathion peroxydase

GSSeSG : Sélénotrisulfite de glutathion

Hg : Mercure

H_{Se} : Concentration capillaire en sélénium, exprimée en µg/g

INAA : Instrumental Neutron Activation Analysis

INSPQ : Institut national de santé publique du Québec

IOM : Institute of Medicine

I_{Se} : Apports quotidiens en sélénium, exprimés en $\mu\text{g}/\text{j}$

LOAEL : Lowest Observed Adverse Effect Level

LOD : Limit of detection

MADO : Maladie à déclaration obligatoire

Max : Maximum

Med : Médiane

MeHg : Méthylmercure

MeSe-Cys : Méthyl sélénocystéine

MeSe-Met : Méthyl sélénométhionine

Min : minimum

MSA : Acide méthylsélénique

NOAEL : No Observed Adverse Effect Level

NPC study : Nutritional Prevention of Cancer study

NRC : National Research Council

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

pc : Poids corporel

P_{Se} : Concentration plasmatique en sélénium, exprimée en $\mu\text{g}/\text{L}$

PTWI : Provisional Tolerable Weekly Intake

RfD : Dose de référence

SD : Standard deviation

Se-Cys : Sélénocystéine

Se(Cys)₂ : Sélénocystine

Se-Met : Sélénométhionine

Sel-P : Sélénoprotéine P

SPS 2 : Sélénophosphate synthétase

TKM : Toxicokinetic modeling

TMSe : Ion triméthylsélénonium

TrxR : Thiorédoxine réductase

T_{se} : Concentration unguéale en sélénium, exprimée en µg/g

US EPA : US Environmental Protection Agency

U1_{se} : Excrétion urinaire en sélénium, exprimée en µg/j

U2_{se} : Concentration urinaire en sélénium, exprimée en µg/L

U3_{se} : Concentration urinaire en sélénium ajustée par la créatinine, exprimée en µg/g créatinine

*Aux futures générations,
il vous reste tant à découvrir...*

« C'est le devoir de chaque homme de rendre au monde au moins autant qu'il en a reçu. »

Albert Einstein

« Il faut apprendre pour connaître, connaître pour comprendre et comprendre pour juger. »

Narada, disciple de Bouddha

Remerciements

À mes directeurs, Gaétan Carrier et Michèle Bouchard, un immense merci. Merci d'avoir accepté de me superviser comme étudiante, de m'avoir encadrée pendant mon cheminement doctoral, de m'avoir fait confiance et de m'avoir soutenue en dépit des hauts et des bas rencontrés. J'ai appris beaucoup à vos côtés, votre enseignement, vos questionnements, votre réflexion et votre rigueur exemplaire m'ont permis d'acquérir les compétences et capacités de recherche que je possède aujourd'hui. Vous représenterez toujours pour moi des modèles très inspirants.

Cette aventure de mercure et de sélénium n'aurait jamais eu lieu si en 2003, Michel Plante, médecin-conseil à Hydro-Québec ne m'avait pas donné l'opportunité de faire un stage dans le Grand Nord québécois, et me donner par le fait même, l'envie de rester au Québec et la piqûre de la recherche. Sans le savoir, il a participé à initier cette grande aventure doctorale de sélénium et je lui en suis très reconnaissante.

Je remercie également les programmes et organisations qui ont participé au soutien financier de ces recherches : le programme AnÉIS pour m'avoir attribué une bourse d'étude doctorale et l'IRSPUM pour son soutien financier lors de ma participation à différents congrès.

Merci à mes relectrices minutieuses : Badiâa, Chantal et Geneviève. Votre amour de la langue, votre rigueur légendaire et vos yeux de lynx m'ont permis d'éviter de nombreux écueils. Merci à Francine pour la révision linguistique en anglais.

Toutes ces années passées au département ont été de très belles années. Avec le temps j'ai compris que plus que des collègues ou des amis, le département était devenu en quelque sorte ma famille. Les activités tant académiques que sociales ont ponctué mon parcours doctoral au fil des années. Ainsi, les cabanes à sucre, les 5 à 7, les pique-niques, les partys de Noël et les soirées de beaujolais nouveau sont gravés à jamais dans ma mémoire. Merci à tous, professeurs, employés, étudiants et amis pour ces beaux moments partagés qui ont rendu le travail plus agréable. Une mention toute spéciale pour la gang de *frenchies* !

Merci à ma famille, mes parents et mes sœurs, d'avoir cru en moi, d'avoir accepté mes choix et l'éloignement qui venait avec. Malgré la distance, votre soutien m'a permis de me dépasser, de me surpasser, mais surtout de ne jamais baisser les bras, de foncer et d'aller jusqu'au bout. Je souhaite remercier mes parents qui m'ont donné l'envie d'apprendre et la volonté de toujours mieux faire. Je sais que vous êtes très fiers de moi, mais sachez que c'est à vous que les honneurs reviennent. À mes sœurs, je leur serais éternellement reconnaissante pour leurs nombreux encouragements et les paroles réconfortantes. À mon neveu, merci pour les fous rires et les grosses bouffées d'oxygène lors des moments de répit partagés outre-Atlantique.

À Karim, merci de m'avoir épaulée et soutenue durant cette épreuve, et plus particulièrement sur les derniers miles. Ton soutien quotidien m'a permis de me rendre au terme de cette entreprise et d'y poser le point final. Dans la recherche comme dans la musique, le travail acharné finit toujours par porter fruit...

Chapitre 1. Introduction générale

1.1. Mise en contexte

La présente thèse traite du développement d'outils utilisant la surveillance biologique pour évaluer l'exposition et les risques pour la santé, avec une application particulière au méthylmercure (MeHg) et au sélénium (Se). Ces deux composés d'intérêt ont des propriétés très différentes — le MeHg est un contaminant neurotoxique alors que le Se est un élément essentiel — mais également complémentaires puisque la présence de Se réduirait la toxicité du MeHg. De plus, la voie d'absorption de ces deux composés est commune puisqu'ils pénètrent majoritairement dans l'organisme après ingestion d'aliments, en particulier les poissons et fruits de mer. De ce fait, il est pertinent de les étudier conjointement.

Dans une perspective d'analyse des risques pour la santé publique, l'estimation de l'exposition revêt une importance capitale. Plusieurs approches existent pour estimer l'exposition, et parmi celles-ci, la surveillance biologique permet de documenter l'exposition interne. L'utilisation d'outils, tels que des questionnaires alimentaires, la modélisation toxicocinétique ou les reconstructions de doses, en complément de la surveillance biologique, permet de raffiner les estimations, et ainsi, de mieux caractériser les risques pour la santé. C'est dans ce contexte que cette thèse de doctorat a été réalisée.

Ainsi, ce chapitre d'introduction propose une présentation des différents concepts utilisés dans la thèse, les hypothèses de recherche et objectifs, suivis d'une brève description de l'organisation de la thèse.

1.2. Analyse des risques et estimation de l'exposition

L'analyse des risques toxicologiques pour la santé humaine est généralement guidée par un cadre d'évaluation en quatre étapes qui comprend l'identification du danger, la caractérisation toxicologique, l'estimation de l'exposition et conclut par une estimation du risque (INSPQ, 2012). L'estimation de l'exposition représente une des étapes clés de l'analyse des risques étant donné que la conclusion d'estimation de risque, ainsi que les interventions de santé publique visant à protéger la santé, découlent principalement de cette étape (Kroes et al., 2002). Traditionnellement, deux méthodes sont utilisées pour estimer l'exposition : la première repose sur une évaluation indirecte en estimant des doses externes par les concentrations de contaminant dans les différentes matrices environnementales et le taux de contact de l'humain avec ces matrices (Angerer et al., 2011); la seconde méthode, plus directe, utilise la surveillance biologique pour documenter l'exposition humaine interne (Paustenbach et Galbraith, 2006a). Chaque méthode possède des caractéristiques décrites ci-dessous (cf. section 1.2.1. et 1.2.2.).

1.2.1. Estimation des apports alimentaires par questionnaires

L'estimation de l'exposition par la méthode indirecte est employée dans de nombreuses études, incluant les études épidémiologiques (Cade et al., 2002). Elle comprend l'utilisation de questionnaires de fréquence alimentaire (ou FFQ pour Food Frequency Questionnaire), de rappels de 24 heures (24-h recalls), de journaux alimentaires (food records ou food diaries) ainsi que des duplicatas de repas (Kroes et al., 2002). La quantification de contaminant dans des duplicatas de repas fournit des estimations précises mais nécessite de nombreuses analyses en laboratoire, ce qui en fait une méthode exigeante en temps et manipulations, et donc relativement coûteuse (Barron et al., 2012).

Les journaux alimentaires complétés par les participants eux-mêmes requièrent peu d'entraînement, mais nécessitent un niveau minimum de littératie¹ ainsi que de la disponibilité de la part de ceux-ci (Burke et al., 2005). Les rappels de 24-h limitent les biais de mémoire, mais nécessitent des interviewers adéquatement formés et entraînés (Subar et al., 2003). De plus, lorsque les journaux alimentaires ou les rappels font référence à une courte période de temps (24 à 72 h), les variations intrajournalières d'apports en nutriments, éléments et contaminants ont tendance à être atténuées, en particulier si la période examinée n'est pas représentative de la diète habituelle (Schroder et al., 2001; Singhal et al., 1998).

Outre les méthodes décrites ci-dessus, les questionnaires de fréquence alimentaire sont largement utilisés car ils constituent une méthode peu dispendieuse (Brown, 2006), facile à administrer (Singhal et al., 1998; Subar, 2004) et peuvent donc s'appliquer rapidement à des échantillons de grande taille. Bien que cette méthode produise aisément des données de nature qualitative ou semi-quantitative (classement des individus en quartiles ou quintiles, ou identification des valeurs extrêmes) pour certains aliments ou nutriments (Birgisdottir et al., 2008; Kroes et al., 2002), elle est encline à des erreurs de mesure étant donné les biais de mémoire (Burke et al., 2005) ou de désirabilité sociale (Amanatidis et al., 2001; Hebert et al., 2002; Miller et al., 2008). En effet, les corrélations rapportées entre les apports quotidiens estimés par FFQ et les concentrations biologiques sont généralement faibles (Ravn-Haren et al., 2008; Serra-Majem et al., 2009), entraînant d'importantes possibilités d'erreurs de classification de l'exposition et pouvant conduire à des conclusions erronées (Kipnis et al., 2002). Pour cette raison, plusieurs auteurs soutiennent l'idée que les FFQ ne sont pas adaptés à estimer l'exposition individuelle (Magkos et al., 2006; Osowski et al., 2007).

¹ Le terme littératie réfère à l'ensemble des connaissances en lecture et en écriture permettant à une personne d'être fonctionnelle en société (Source : Le grand dictionnaire terminologique, 21 mai 2014)

Ainsi, il devient nécessaire de développer des outils performants ou de combiner différents outils permettant d'estimer l'exposition de la façon la plus précise possible incluant adéquatement la contribution de l'ensemble des voies d'exposition (Angerer et al., 2007).

1.2.2. Surveillance biologique de l'exposition

La surveillance biologique, appelée également biosurveillance, appliquée à la santé environnementale peut être définie comme la surveillance de l'homme et de son exposition aux contaminants en mesurant les concentrations de contaminants ou de leurs métabolites dans les tissus ou matrices biologiques telles que le sang ou l'urine (Foster et Agzarian, 2007; Frery et al., 2008; NRC, 2006). Elle vise à établir un lien entre ces concentrations dans les diverses matrices et la charge corporelle totale, et permet ainsi d'estimer l'exposition par mesure directe. De plus, lorsque la cinétique de la substance d'intérêt est connue, la surveillance biologique permet également de reconstruire les doses absorbées en intégrant l'ensemble des voies et des sources d'exposition et peut être appliquée autant dans la population générale qu'auprès de certains sous-groupes spécifiques (Angerer et al., 2011).

Les principaux objectifs de la surveillance biologique visent l'identification d'expositions potentiellement problématiques (lors de dépassement de valeurs guides, par exemple), l'établissement de priorités de recherche parmi les différents contaminants, ainsi que l'évaluation de l'efficacité des interventions visant à protéger la santé (Angerer et al., 2011). Elle constitue donc un outil idéal pour l'évaluation et la gestion des risques dans une perspective de santé publique. Une autre avenue consiste à identifier des effets précoces ou des susceptibilités individuelles. Pour couvrir l'ensemble de ces objectifs, la surveillance biologique utilise des indicateurs biologiques, dénommés

biomarqueurs ou bioindicateurs qui sont le reflet d'expositions environnementales ou professionnelles. Outre les biomarqueurs d'exposition qui permettent de documenter l'exposition interne, deux autres classes de biomarqueurs se distinguent en lien avec le continuum exposition-effet (Figure 1), soit les biomarqueurs d'effet et les biomarqueurs de susceptibilité (Metcalf et Orloff, 2004; NRC, 1987; Paustenbach et Galbraith, 2006b).

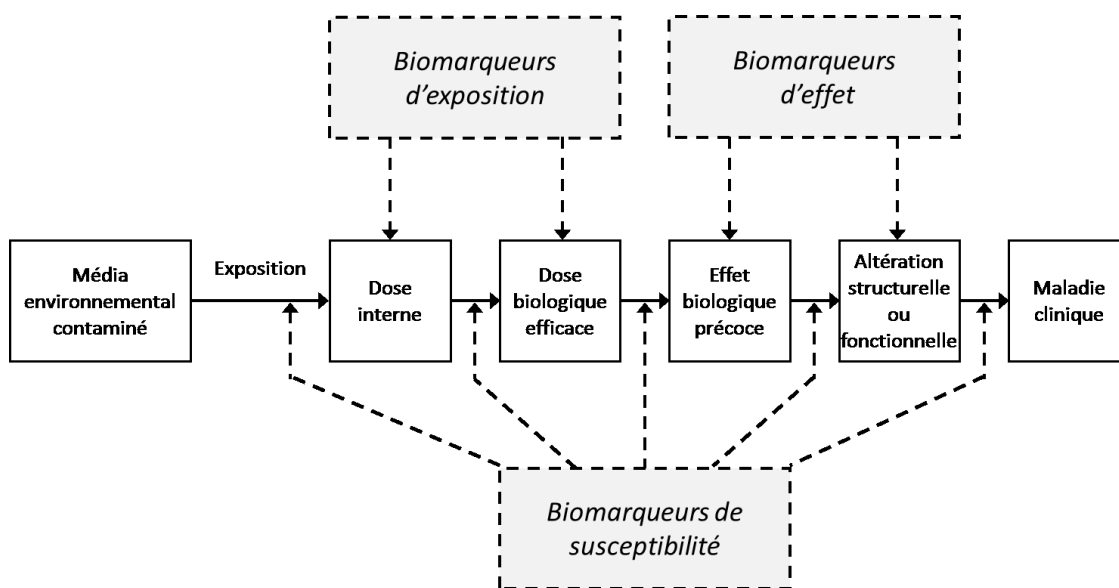


Figure 1 : Représentation schématique des trois classes de biomarqueurs en lien avec le continuum exposition-effets (d'après Metcalf et Orloff (2004))

Idéalement, un biomarqueur devrait posséder plusieurs caractéristiques intrinsèques dont la sensibilité (capacité de détecter des contaminants à des concentrations correspondant à des expositions environnementales), la spécificité, en particulier si plusieurs contaminants forment le même métabolite, la pertinence biologique en lien avec les effets toxiques et les organes ou tissus cibles, la faisabilité, le coût et l'accessibilité (Metcalf et Orloff, 2004). De plus, lorsqu'ils sont utilisés dans une perspective d'analyse des risques, les biomarqueurs d'exposition doivent être en mesure de

refléter adéquatement la charge corporelle totale ou l'exposition interne et permettre de reconstruire les doses absorbées sur des périodes spécifiques. Cependant, une des limites inhérentes à l'utilisation de ces biomarqueurs réside dans le fait qu'ils ne permettent pas d'identifier la source ou la voie d'exposition, en l'absence de suivi de leur devenir dans des matrices biologiques clés (Frery et al., 2008). De plus, il est nécessaire de connaître minimalement les propriétés toxicocinétiques des contaminants d'intérêt afin de choisir adéquatement la matrice et le moment du prélèvement et d'être en mesure d'interpréter correctement les résultats (Nieuwenhuijsen et al., 2006; NRC, 2006; Paustenbach et Galbraith, 2006a).

1.3. Le méthylmercure, un contaminant d'intérêt prioritaire

Le méthylmercure (MeHg) figure parmi les contaminants environnementaux d'intérêt prioritaire. Cet intérêt vient notamment des données disponibles sur ses propriétés toxicologiques et ses effets sur la santé ainsi que des expositions élevées répertoriées dans certains groupes de la population. Ces éléments sont des incontournables pour procéder à l'analyse et la gestion des risques. Ainsi, la section qui suit présente succinctement l'état des connaissances en lien avec l'exposition et les effets du MeHg chez l'humain ainsi que les limites actuelles.

1.3.1. Sources du méthylmercure et éléments de toxicocinétique

Le mercure (Hg) est un contaminant environnemental issu de différentes sources, dont certaines sont anthropiques (combustion de charbon, de déchets, d'huile et activités industrielles et minières) et d'autres sont naturelles (activité volcanique, déposition atmosphérique, érosion des sols) (Kim et Zoh, 2012; Wang et al., 2004). Au cours du cycle biogéochimique du Hg, celui-ci est méthylé par les bactéries anaérobiques sulforéductrices présentes dans les sédiments aquatiques (Braga et al., 2000; Diez, 2009; Li et al., 2010; Mason et al., 2012; Mattieu et al., 2013). Il en résulte une bioaccumulation² du méthylmercure (MeHg) dans les espèces des écosystèmes aquatiques et une bioamplification³ dans la chaîne alimentaire (Mahaffey, 2005), dont le dernier niveau est généralement occupé par

² La bioaccumulation désigne la capacité des organismes à absorber et concentrer certaines substances chimiques dans tout ou [une] partie de leur organisme. La bioaccumulation est donc un processus selon lequel une substance polluante présente dans un biotope pénètre et s'accumule dans tout ou [une] partie d'un être vivant et peut devenir nocive ; par extension, le résultat de ce processus. (Source : <http://www.dictionnaire-environnement.com/>, 30 juillet 2013)

³ La bioamplification désigne l'augmentation cumulative, à mesure qu'on progresse dans la chaîne alimentaire (chaîne trophique), des concentrations d'une substance persistante. La bioamplification est donc un processus selon lequel la concentration d'une substance présente dans un biotope augmente tout au long d'une chaîne alimentaire ; par extension, le résultat de ce processus. (Source : <http://www.dictionnaire-environnement.com/>, 30 juillet 2013)

l'homme (Kim et Zoh, 2012; Mason et al., 2012; Mattieu et al., 2013). Pour cette raison, la consommation de poisson et de fruits de mer constitue la principale source d'exposition humaine au MeHg (Birke et al., 1972; Mahaffey, 1999; Wheatley et Paradis, 1996) et peut entraîner des effets néfastes sur la santé lors d'expositions prolongées, même à de faibles doses (Clarkson et al., 2003; Karagas et al., 2012).

La bioaccumulation peut se produire naturellement dans l'environnement, mais elle est exacerbée dans certaines conditions telles que la création de réservoirs hydroélectriques. Dans ce cas, selon les espèces de poisson considérées, des concentrations en MeHg 5 à 10 fois supérieures à celles présentes antérieurement ont été mesurées, 3 à 5 ans après la création de réservoirs. Dans les poissons des lacs naturels, les concentrations moyennes de MeHg s'étendent entre 0,3 et 1,0 mg/kg alors que les concentrations observées dans les poissons des réservoirs peuvent atteindre jusqu'à 3,5 mg/kg (Schetagne et al., 2002; SOMER, 1993).

En ce qui concerne son devenir, le MeHg contenu dans le poisson ingéré par l'humain est majoritairement transféré du tractus gastro-intestinal vers le sang. Selon les différents auteurs, la fraction d'absorption varie entre 80 et 95 % (Bakir et al., 1973; Bernhoft, 2012; Clarkson et Magos, 2006; Diez, 2009; Mahaffey, 2005). Après son absorption, le MeHg est ensuite rapidement distribué dans tout l'organisme et se lie aux groupes sulfhydryles (aussi appelés groupements thiols) contenus, entre autres, dans la cystéine ce qui lui permet de traverser les membranes cellulaires (Bernhoft, 2012; Diez, 2009).

La demi-vie du MeHg dans le sang est de l'ordre de 45 à 70 jours (Bakir et al., 1973; Carrier et al., 2001a; Diez, 2009; Nuttall, 2004). Le MeHg est principalement excrété sous forme inorganique dans

les fèces (Carrier et al., 2001a) après avoir été déméthylé dans l'organisme, l'excrétion urinaire représentant moins de 10 % (Bernhoft, 2012; Diez, 2009). L'allaitement maternel constitue également une source d'exposition pour les jeunes enfants étant donné que le MeHg est facilement absorbé par le tractus gastro-intestinal (Carrier, 2013), même si le Hg inorganique semble plus facilement transporté par le lait maternel. Ainsi, il est estimé qu'environ 20 % du MeHg est excrété par cette voie (Bernhoft, 2012).

1.3.2. Effets toxiques du méthylmercure

La toxicité du MeHg se manifeste principalement par des effets neurotoxiques irréversibles chez l'humain (Al-saleem, 1976; Bakir et al., 1973). Ces effets se présentent par une perte de sensibilité aux extrémités des pieds et des mains (paresthésie), des troubles d'élocution (dysarthrie), une démarche non coordonnée (ataxie), une diminution de la vision et de l'audition (Bakir et al., 1973; Eto, 2000; Satoh, 2000). Les intoxications sévères peuvent entraîner la cécité, le coma et même la mort (Bakir et al., 1973).

Considérant que la déméthylation du MeHg en Hg inorganique est nécessaire pour l'élimination, des effets toxiques caractéristiques d'une exposition au Hg inorganique peuvent également se produire. À cet effet, à la suite d'une exposition au Hg inorganique, les effets néfastes observés sont principalement néphrotoxiques (Clarkson et Magos, 2006) et peuvent se traduire par une protéinurie glomérulaire (Mason et al., 2001) à la suite d'une altération du tubule proximal (Langworth et al., 1992; Nuyts et De Broe, 1992).

Le MeHg traverse les barrières hématoencéphaliques et placentaires (Clarkson et Magos, 2006; Diez, 2009; Iyengar et Rapp, 2001a) et la concentration de MeHg dans le sang du cordon a été documentée comme étant environ deux fois plus élevée que celle mesurée dans le sang maternel (Bjornberg et al., 2005; Stern et Smith, 2003; Vahter et al., 2000). Les effets du MeHg sur le fœtus affectent la taille, l'architecture du cerveau et inhibent la division cellulaire lors des étapes critiques de la formation du système nerveux central (IPCS, 1990). Ainsi, un sous-développement des cellules nerveuses accompagné d'une prolifération des astrocytes et des microglies (hyperplasie et hypertrophie) a été constaté chez l'enfant exposé au MeHg *in utero* (Al-saleem, 1976). De ce fait, le système nerveux du fœtus en développement est considéré être 5 à 10 fois plus sensible aux effets néfastes du MeHg que celui de l'adulte (IPCS, 1990; Mahaffey, 2005), plaçant le fœtus et le nouveau-né dans des groupes particulièrement à risque.

Chez des enfants de mères dont la diète en poisson et fruits de mer était importante, plusieurs effets délétères ont été associés à une exposition maternelle au MeHg : problèmes de développement, troubles comportementaux, problèmes de motricité, tremblements et retards d'apprentissage chez l'enfant (Davidson et al., 2004; Steuerwald et al., 2000). Par ailleurs, plusieurs études épidémiologiques ont suggéré une association entre les concentrations de MeHg dans le sang du cordon et la diminution du poids à la naissance (Karagas et al., 2012). En ce qui concerne d'autres effets possibles associés à de faibles expositions au MeHg chez les enfants, les études épidémiologiques présentent des résultats non significatifs et des conclusions divergentes (Satoh, 2000; Xue et al., 2007).

Plusieurs études ont également rapporté des effets sur le système cardiaque, immunitaire, et endocrinien du MeHg (Mahaffey, 2005; Valera et al., 2009; Zahir et al., 2005). Cependant, les données

sont moins nombreuses et les conclusions sont parfois divergentes du fait d'un effet protecteur de la consommation de poisson associé à la présence d'acides gras polyinsaturés oméga-3 (acide docosahexaénoïque (DHA) et acide eicosapentaénoïque (EPA)) et de Se dont les propriétés antioxydantes permettent de réduire la toxicité du MeHg (Iqbal et al., 2009; Mozaffarian, 2009; Rembold, 2004; Tuomisto et al., 2004; Wennberg et al., 2011).

Compte tenu des effets neurologiques irréversibles du MeHg qui peuvent se produire au sein d'un sous-groupe de population vulnérable (fœtus et enfant), il importe de considérer ce contaminant comme prioritaire pour la santé publique. Ainsi, les approches d'estimation de l'exposition et des risques associés revêtent un caractère indispensable. De plus, il est essentiel de tenir compte des facteurs reconnus pour moduler la toxicité du MeHg, comme c'est le cas de l'interaction avec le Se, par exemple, qui sera abordé dans la section 1.4.3.1. Cela est d'autant plus intéressant que les principales sources d'exposition alimentaires (consommation de poisson et de fruits de mer) sont communes à ces deux substances.

1.3.3. Éléments d'analyse des risques spécifiques au méthylmercure

Dans le cas du MeHg, l'analyse des risques permet de juger du niveau de préoccupation à attribuer à une situation d'exposition de la population, en particulier s'il s'agit de femmes enceintes ou en âge de procréer, de fœtus et d'enfants en bas âge. Chacune des étapes ayant un impact sur l'évaluation globale, le degré de précision de l'analyse sera directement conditionné par celui des approches pour estimer l'exposition qui seront utilisées à cette fin.

1.3.3.1. Méthodes d'estimation de l'exposition spécifiques au méthylmercure

Questionnaires alimentaires

Le fait que la consommation de poisson soit la principale source d'exposition au MeHg rend possible l'utilisation de questionnaires alimentaires pour estimer l'exposition. Ainsi, pour des raisons de simplicité, de faisabilité et de coûts, de nombreuses études estiment l'exposition au MeHg soit exclusivement à partir de questionnaires alimentaires, soit en combinaison avec d'autres méthodes (Bjornberg et al., 2005; Iwasaki et al., 2003; Sirot et al., 2008; Yaginuma-Sakurai et al., 2009). Pour ce faire, la fréquence, la quantité de poisson consommée ainsi que la concentration de ce poisson en MeHg doivent être documentées simultanément. Bien que ces questionnaires aient généralement été prétestés lors d'une phase de validation, plusieurs auteurs ont mis en évidence des lacunes à l'utilisation des questionnaires : les estimations de consommation de poisson ou d'apports quotidiens en MeHg ne sont pas toujours compatibles avec les concentrations mesurées dans les matrices biologiques et la cinétique du MeHg (Gosselin et al., 2006; Sirot et al., 2008).

Surveillance biologique

Les biomarqueurs d'exposition généralement utilisés pour la surveillance biologique du Hg sont le sang, l'urine et les cheveux (Mahaffey, 2005), chacun apportant une information particulière sur la forme de Hg et la durée d'exposition. Les concentrations urinaires de Hg constituent une méthode de choix pour refléter la charge corporelle en Hg inorganique (Mason et al., 2001), alors que les cheveux sont préférables pour mesurer l'imprégnation au Hg organique et avoir un portrait de l'exposition des mois passés. Le Hg total sanguin fournit une indication de la charge corporelle en MeHg au moment

du prélèvement. En effet, dans le sang et les cheveux, 70 à 80 % du Hg est présent sous forme de MeHg (Mahaffey, 2005; Vahter et al., 2000). Le MeHg est incorporé dans les cheveux lors de la croissance de ceux-ci alors que le follicule pileux est en contact avec le sang ; par la suite, il reste stable dans la matrice capillaire (Berglund et al., 2005; Phelps et al., 1980). Il est communément admis que les cheveux poussent d'environ 1 cm par mois et que le ratio entre les concentrations sanguines et capillaires se situe entre 250 et 300 (Berglund et al., 2005; Carrier et al., 2001a; Mahaffey, 2005; Stern, 1997). Cela signifie que la concentration capillaire de Hg à l'équilibre est en tout temps proportionnelle à la concentration sanguine de Hg, selon ce ratio de concentrations. Compte tenu de cette vitesse de croissance, les cheveux constituent le meilleur biomarqueur de l'exposition chronique au MeHg (Berglund et al., 2005; Mozaffarian, 2009) et permettent de reconstruire l'exposition moyenne passée, mois par mois (Gosselin et al., 2006). De plus, il semblerait que le MeHg soit distribué dans différents organes et puis transporté dans la matrice capillaire et le cerveau par le même complexe (MeHg-cystéine) ; l'utilisation des cheveux comme biomarqueur d'exposition permet donc une meilleure appréhension des effets toxiques (Diez, 2009). Cette approche présente également l'intérêt d'être non invasive.

Par ailleurs, dans une perspective d'évaluation des risques pour la santé, Carrier et al. (2001a; 2001b) ont développé un modèle biomathématique de la cinétique du Hg à partir de données biologiques chez le rat et chez l'humain. Ce modèle permet d'établir le lien temporel entre l'exposition au MeHg et les concentrations en Hg dans le sang et les cheveux, quel que soit le scénario d'exposition. Ainsi, à partir des concentrations en Hg mesurées dans une mèche de cheveux et dans le sang à un moment donné, le modèle permet de reconstruire rétrospectivement l'apport quotidien moyen en MeHg dans les mois précédant les prélèvements (Gosselin et al., 2006). Bien que cette approche présente

l'avantage de documenter l'exposition passée sur une longue période de temps, elle reste peu appliquée dans les analyses des risques.

Comparaison des différentes méthodes d'estimation de l'exposition

Les différentes méthodes permettant d'estimer l'exposition au MeHg se résument donc essentiellement à l'utilisation des FFQ, la surveillance biologique seule ou combinée à la modélisation. Dans un contexte d'analyse des risques, il importe de savoir si une méthode est plus fiable ou plus précise qu'une autre. Cependant, ces différentes méthodes n'ont jamais fait l'objet de comparaison sur une base systématique ; bien que la surveillance biologique semble fournir des données plus objectives que les questionnaires, la démonstration reste à faire.

1.3.3.2. Valeurs guides et recommandations pour la santé publique

Outre l'estimation de l'exposition, le choix de la valeur de toxicologique de référence (VTR), de la dose de référence (RfD) ou de la valeur d'estimé de risque unitaire ou individuel (ERU ou ERI) conditionne également les conclusions d'analyse des risques. Lors de leur processus d'évaluation, les différentes organisations nationales ou internationales (Organisation Mondiale de la Santé (OMS), Agence Américaine de Protection de l'Environnement (US EPA), Santé Canada, etc.) peuvent être amenées à choisir des effets critiques ou des facteurs de sécurité différents. Conséquemment, les valeurs guide proposées peuvent varier selon les organisations, ce qui peut se traduire par des conclusions divergentes en terme d'analyse des risques.

En ce qui concerne le MeHg, les recommandations de santé publique émises par des organisations comme l'OMS ou l'US EPA pour prévenir les effets toxiques du MeHg chez l'humain sont issues de l'analyse des études de cohortes prospectives (Seychelles (Myers et al., 2003), Iles Féroé (Andersen et al., 1987; Grandjean et al., 1995), Nord canadien (Dallaire et al., 2003; Despres et al., 2005; Muckle et al., 1998)), ainsi que de celles réalisées suite aux événements survenus au Japon dans les années 1950 (Tamashiro et al., 1984) et en Iraq dans les années 1970 (Bakir et al., 1973). Ces recommandations reposent sur le lien observé entre des mesures de concentrations de Hg dans les cheveux, le sang ou l'estimation de doses d'exposition quotidiennes et l'apparition d'effets toxiques.

En 2001, l'US EPA a proposé une dose de référence (RfD) basée sur une différence d'effets neurologiques chez des enfants de 7 ans dont les mères étaient exposées pendant la grossesse (Grandjean et al., 1997). Les limites supérieures de l'intervalle de confiance à 95 % des concentrations biologiques correspondant à une variation de 5 % des effets critiques retenus (BMR : Benchmark response pour des tests de temps de réaction et de motricité fine) ont été calculées et représentent la BMD_{5L95} servant de point de départ pour dériver la RfD (US EPA, 2001). Ainsi, des concentrations sanguines de 46 à 79 µg/L et capillaires de 10 à 11 µg/g conduisent à la reconstruction d'une dose absorbée théorique (RfD) de 0,1 µg/kg pc/j après l'application d'un facteur de sécurité de 10 tenant compte de la variabilité pharmacodynamique interindividuelle (Rice, 2004).

Par la suite, le comité conjoint FAO/OMS a procédé en 2004 à la réévaluation de la valeur provisoire hebdomadaire (PTWI) de 3,3 µg/kg pc (soit 0,47 µg/kg pc/j) pour les adultes en raison d'une sensibilité accrue des fœtus et des enfants aux effets toxiques du MeHg. À partir des études disponibles, la limite inférieure de l'intervalle de confiance de la concentration de Hg dans les cheveux de la mère associée à l'apparition des effets neurologiques chez l'enfant (BMDL) a été

estimée à 14 µg/g, ce qui correspond à une dose quotidienne de 1,5 µg/kg pc/j. L'application de facteurs de sécurité de 2 et 3,2 tenant compte de la variabilité interindividuelle du ratio cheveux:sang et de la toxicocinétique a conduit à une valeur hebdomadaire révisée de 1,6 µg/kg pc, soit 0,2 µg/kg pc/j pour protéger le fœtus considéré sous-groupe le plus sensible.

Au Canada, la norme établie par Santé Canada suit de près celle de l'OMS. En ce qui concerne la teneur maximale en Hg dans les poissons pour la commercialisation, celle-ci est de 0,5 µg/g, à l'exception de trois espèces piscivores (le thon, l'espadon et le requin) (Santé Canada, 2007). Cette norme, accompagnée de recommandations de santé publique sur les quantités maximales de poisson ingérées par mois, vise particulièrement la femme enceinte dans le but de prévenir des effets toxiques sur le fœtus en développement. Pour prévenir ces effets, Santé Canada a établi une concentration limite de Hg à ne pas dépasser de 6 µg/g dans les cheveux et de 20 µg/L dans le sang. Afin de prévenir une accumulation au-delà de ces limites, Santé Canada recommande une dose journalière admissible (DJA⁴) de 0,2 µg/kg pc/j pour les femmes en âge de procréer, et de 0,47 µg/kg pc/j pour les adultes de la population générale.

En vertu de la Loi sur la santé publique du Québec (Chap S-2.2), le Hg figure sur la liste des substances pour lesquelles une déclaration obligatoire doit être enregistrée lors d'intoxication (MADO). Les seuils de déclaration obligatoire actuellement en vigueur pour le Hg sont de 60 nmol/L (ou 12 µg/L) dans le sang (Hg total) et 100 nmol/L (20 µg/L) dans l'urine (Hg élémentaire et inorganique) (INSPQ, 2003; 2004b).

⁴ Quantité d'une substance chimique à laquelle un individu peut être exposé sur une base journalière pendant la vie entière sans courir de risque important pour sa santé ni d'effets nocifs sur ce plan (Source : http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/chem-chim/envIRON/mercure/merc_fish_qa-poisson_qr-fra.php, 03 août 2013)

Parallèlement au choix de la méthode d'estimation de l'exposition et de la valeur de référence de comparaison, d'autres éléments comme les facteurs modifiant la toxicité sont importants à considérer dans le contexte des risques à la santé de l'exposition au MeHg. En effet, le Se, du fait de ses propriétés antioxydantes réduit la toxicité du MeHg s'il est présent de façon concomitante.

1.4. Le sélénium, un élément essentiel aux propriétés particulières

À la fois bénéfique et toxique selon les concentrations considérées, le Se est un élément essentiel dont la complexité et la dualité continuent d'alimenter de nombreuses recherches. Dans le cadre de cette thèse, plusieurs aspects d'intérêt sont explorés : les propriétés antioxydantes et l'interaction avec le MeHg, la distribution dans l'organisme régie ou non par des mécanismes d'homéostasie, le potentiel de chacun des biomarqueurs en fonction de la cinétique. Chacun de ces aspects sera abordé dans cette section.

1.4.1. Propriétés physicochimiques, sources et formes chimiques de sélénium

Naturellement présent dans la croûte terrestre et les sols (Wilber, 1980), le Se est absorbé par les végétaux via les racines (Fan et Kizer, 1990). De ce fait, la principale source de Se pour l'humain est l'alimentation (Barceloux, 1999; Dumont et al., 2006). Le Se contenu dans la viande provient de la consommation de céréales et du fourrage par les animaux (Hintze et al., 2002), alors que celui contenu dans le poisson provient de l'eau et du plancton. Les aliments les plus riches en Se sont la viande, le poisson et certaines céréales (Barceloux, 1999; Combs, 2001b; Finley et al., 1996). Les concentrations en Se des aliments varient selon les quantités présentes dans les sols et se situent généralement entre 0,20 et 1 µg/g (Reilly, 1996; Schrauzer et White, 1978). Il est à noter que les aliments contenant de fortes concentrations en Se ne sont pas toujours ceux qui contribuent le plus aux apports quotidiens étant donné que la biodisponibilité varie selon les formes de Se présentes (Barceloux, 1999; Dumont et al., 2006; Fairweather-Tait et al., 2010). Plusieurs autres facteurs tels qu'une carence en vitamine E ou une diète riche en protéines affectent la biodisponibilité du Se dans l'organisme (Daniels, 1996; Thomson, 2004). L'eau de boisson et l'air inhalé ne participent pas de

façon significative aux apports en Se (Fan et Kizer, 1990). D'un point de vue médical, le Se est utilisé dans les shampoings pour le traitement des pellicules, du pityriasis versicolore et des dermatites séborrhéiques (Cummins et Kimura, 1971; DiPietro et al., 1989; Hull et Johnson, 2004; Neumann et al., 1996; Sanchez et Torres, 1984).

Contrairement au Hg dont le nombre d'espèces chimiques différentes retrouvées dans l'environnement est assez limité, le Se peut se trouver sous de nombreuses formes chimiques selon son agencement avec d'autres atomes. Ainsi, le Se est présent à la fois sous forme inorganique (sélénite ou sélénate de sodium) lorsqu'il est combiné à l'oxygène, que sous forme organique lorsqu'il se lie avec des acides aminés (sélénocystéine (Se-Cys), sélénométhionine (Se-Met)) (Tableau 1 et Tableau 2).

Tableau 1 : Principales formes inorganiques de sélénium (d'après ATSDR (2003), Foster et Sumar (1997), et Nuttall (2006))

Nom	Formule chimique	Masse molaire (g/mol)	État d'oxydation
Sélénium	Se	78,96	0
Sulfure de sélénium	SeS	111,02	0
Séléniure d'hydrogène	H ₂ Se	80,96	-II
Ion sélélide	Se ²⁻		-II
Acide sélénieux	H ₂ SeO ₃	128,97	IV
Ion sélénite	SeO ₃ ²⁻		IV
Dioxyde de sélénium	SeO ₂	110,96	IV
Disulfure de sélénium	SeS ₂	143,08	IV
Acide séléinique	H ₂ SeO ₄	144,97	VI
Ion séléinate	SeO ₄ ²⁻		VI
Trioxyde de sélénium	SeO ₃	126,96	VI

Certaines formes organiques sont des composés endogènes issus des produits de biotransformation *in vivo*.

La Se-Met est le seul de ces composés que l'humain n'est pas capable de synthétiser. Étant donné que ce composé constitue la forme de Se la plus fréquemment présente dans la nourriture, cette dernière constitue la principale source de Se-Met pour l'humain (Papp et al., 2007; Robinson et al., 1978).

Tableau 2 : Principales formes organiques de sélénium (d'après Abdulah et al. (2005), Dumont et al. (2006), Foster et Sumar (1997) et Francesconi et Pannier (2004))

Nom	Abréviation	Formule chimique
Diméthylséléénide	DMSe	$\text{Se}(\text{CH}_3)_2$
Diméthylséléénide		$\text{Se}_2(\text{CH}_3)_2$
Séléno urée		$\text{SeC}(\text{NH}_2)_2$
Ion triméthylsélénonium	TMSe	$\text{Se}(\text{CH}_3)_3^+$
Méthylséléénol		CH_3SeH
Méthylséléénite		$\text{CH}_3\text{SeO}_2^-$
Acide méthylséléénique	MSA	CH_3SeOOH
Sélénocystéine	Se-Cys	$\text{HSeCH}_2\text{CH}_2(\text{NH}_2)\text{COOH}$
Sélénocystine	Se(Cys) ₂	$\text{Se}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{NH}_2)\text{COOH})_2$
Sélénohomocystéine		$\text{HSeCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
Sélénométhionine	Se-Met	$\text{CH}_3\text{SeCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
Sélénotrisulfite de glutathion	GSSeSG	

Il existe également de nombreuses sélénoprotéines et enzymes sélénodépendantes (Holben et Smith, 1999; Navarro-Alarcon et Cabrera-Vique, 2008) à l'origine des effets bénéfiques du Se par action antioxydante. Chez l'humain, 25 composés protéiniques, présentés au Tableau 3, contenant du Se sous forme Se-Cys ont été mis en évidence (Papp et al., 2007; Rayman, 2005).

Tableau 3 : Sélénoprotéines et enzymes sélénodépendantes identifiées chez l'humain et leur rôle biologique (d'après Papp et al. (2007) et Gromadzinska et al. (2008))

Sélénoprotéines et enzymes sélénodépendantes	Rôle biologique
GSH-Px1-4, GSH-Px6, Sel-K, Sel-R, Sel-W	Antioxydant
TrxR1-3	Redox
5'-DI, 5'-DII, 5-DIII	Métabolisme des hormones thyroïdiennes
SPS 2	Synthèse de la Se-Cys
Sel-P	Transport du Se
Sep 15, Sel-M, Sel-N, Sel-S	Protéines du développement
Sel-H, Sel-I, Sel-O, Sel-T, Sel-V	Inconnu

Bien que la fonction biologique de certains composés reste encore inconnue, plusieurs d'entre eux sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et la protection qu'ils confèrent aux organismes en regard de la toxicité des métaux comme le Hg (voir section 1.4.3.1.).

1.4.2. Éléments de toxicocinétique

La cinétique du Se est un phénomène complexe en raison du grand nombre de formes chimiques de Se présentes simultanément dans l'organisme, ainsi que des mécanismes d'absorption, de distribution, de biotransformation et d'élimination spécifiques à chacune de ces formes. De ce fait, seuls les principaux éléments permettant une compréhension globale de la toxicocinétique du Se sont présentés ci-dessous.

Absorption

Lors d'une exposition par voie orale, la majorité du Se est absorbée par les entérocytes dans le tractus gastro-intestinal. Les formes organiques présentent une meilleure fraction d'absorption que les formes inorganiques (Burk et al., 2006; Daniels, 1996) (voir Tableau 4), et l'effet de premier passage au niveau hépatique semble plus marqué pour la Se-Met que pour le sélénite (Patterson et al., 1989; Swanson et al., 1991).

Les différents mécanismes d'absorption varient selon les formes chimiques considérées : l'absorption du sélénite semble être régie par transport passif (Daniels, 1996), alors que les formes organiques, telles que la Se-Met, seraient absorbées par transport actif selon un mécanisme similaire à celui de la méthionine (Navarro-Alarcon et Cabrera-Vique, 2008). Le séléuate, quant à lui, fait l'objet d'un transport facilité par le biais de transporteurs de sodium habituellement dédiés aux sulfates (Barceloux, 1999).

Bien que le Se soit utilisé en médecine pour le traitement topique du pityriasis versicolore et dans les shampoings antipelliculaires, les données concernant l'absorption percutanée sur le corps ou le cuir chevelu sont très limitées. À ce jour, il n'est pas possible de savoir si une source de Se non alimentaire (le Se des shampoings antipelliculaires) peut être absorbée par le cuir chevelu de manière importante et contribuerait ainsi significativement à la charge corporelle totale.

Tableau 4 : Fractions d'absorption et demi-vies d'élimination estimées (valeurs moyennes) de quelques formes de sélénium chez l'humain

Forme chimique	Fraction d'absorption moyenne (en %)	Demi-vie moyenne (en jours)	Références
Sélénite	46 à 61 %		Robinson et al. (1978)
	82 à 84 % ^a	0,9; 8,5 et 116 ^b	Thomson et Stewart (1974)
	84 %	1,4; 14; 153; 102 ^c	Patterson et al. (1989)
	89 %		Martin et al. (1988)
	73 % ^d		Van Dael et al. (2002)
Sélérate	91 à 94 % ^e		Thomson et Robinson (1986)
	93 % ^c		Fox et al. (2004)
	97 % ^d		Van Dael et al. (2002)
Sélenométhionine	90 à 92 % ^a	1,25; 14 et 245 ^b	Griffiths et al. (1976)
	65 %		Robinson et al. (1978)
	98 %	0,4; 1,7; 51; 252 ^c	Swanson et al. (1991)

^a Déterminé après 7 jours par bilan massique du Se marqué

^b Demi-vies triphasiques pour l'organisme complet

^c Valeurs correspondant respectivement aux demi-vies dans le plasma, le foie, les tissus, et l'organisme et calculées à partir du temps de rétention (RT), tel que $RT = 1/K_e = T_{1/2}/\ln(2)$, à la suite d'une ingestion de 200 µg de Se marqué

^d Absorption apparente pour des enfants de 2 à 6 mois

^e Absorption apparente calculée par l'équation : absorption apparente = $100 \times (\text{Se marqué ingéré} - \text{Se marqué dans les fèces}) / \text{Se marqué ingéré}$

Distribution

Les modèles construits à partir de données animales ont montré qu'après absorption, le sélénite et l'acide méthylsélénique pénètrent rapidement dans les globules rouges (Patching et Gardiner, 1999; Suzuki et al., 2006). Alors que l'acide méthylsélénique est réduit en méthylséléniol et se lie à l'hémoglobine, le sélénite est réduit en séléniure, et se conjugue avec le glutathion sous forme de sélénotrisulfite (GSSeSG (Haratake et al., 2005)). Une fraction du séléniure est ensuite libérée des érythrocytes et se lie à l'albumine pour être distribuée dans les différents tissus (Suzuki et al., 1998). En effet, à la suite d'une exposition au sélénite sous forme marquée, celui-ci n'a pas été retrouvé dans les érythrocytes sur une période de 24 heures suivant l'exposition (Ducros et al., 1994).

Dans le plasma, le Se est lié aux protéines plasmatiques ou présent sous forme de sélénoprotéine (Ducros et al., 1994). Ainsi, la majeure partie du Se (de 63 à 73 %) est intégrée sous forme de sélénoprotéine P (Sel-P) dans le plasma (Jitaru et al., 2010; Papp et al., 2007)) ; la fraction restante de Se est liée aux protéines plasmatiques et en particulier à l'albumine (Gu et al., 1998; Janghorbani et al., 1999b). D'autres auteurs suggèrent que la Se-Cys est l'espèce qui prédomine dans le plasma (Munoz Olivas et al., 1996). Ces différentes incertitudes quant à la distribution des différentes formes dans les matrices biologiques compliquent grandement le suivi biologique du Se.

Le foie et les reins, sièges de nombreuses réactions de biotransformation, sont les organes qui contiennent les plus fortes teneurs en Se (Bopp et al., 1982; Fan et Kizer, 1990; Ringdal et al., 1986; Zachara et al., 2001). Le Se est également distribué dans un grand nombre d'organes tels que le pancréas, l'estomac, la muqueuse gastro-intestinale, le cerveau, les muscles squelettiques, les poumons, le cœur et les testicules (Barceloux, 1999; Bopp et al., 1982; Oster et al., 1988; Schrauzer,

2000). Il est présent dans le lait maternel (Dorea, 2002; Iyengar et Woittiez, 1988; Ozdemir et al., 2008), traverse la barrière placentaire et joue un rôle de régulation pour le fœtus en diminuant la toxicité de certains métaux comme le Hg par la formation de complexes sélénés inertes (Iyengar et Rapp, 2001b).

Le Se alimentaire est également intégré dans la matrice des phanères (cheveux, ongles) du fait de sa forte affinité pour les groupements cystéines et sulfhydryles contenus dans la kératine des téguments (Boumba et al., 2006; Horvath, 2009; Longnecker et al., 1993; Razagui et Haswell, 2001; Salbe et Levander, 1990). D'autres sources non alimentaires telles que l'utilisation de shampoings thérapeutiques contribuent à augmenter les concentrations de Se dans les phanères (Alfthan, 1985; DiPietro et al., 1989; LeBlanc et al., 1999; Morris et al., 1983). Cependant, aucune étude n'a permis de comparer ces deux voies d'exposition et de déterminer si l'intégration du Se alimentaire et non alimentaire dans les phanères suit un mécanisme similaire (absorption percutanée ou gastro-intestinale et distribution dans la circulation systémique) ou différent (adsorption sur la matrice capillaire ou absorption percutanée sans distribution dans la circulation sanguine systémique).

Métabolisme

Le métabolisme du Se est conditionné à la fois par la forme de Se présent dans la nourriture ainsi que par l'état nutritionnel (apports de Se journaliers insuffisants, adéquats ou excessifs (Finley, 1999)). Le métabolisme du Se dans l'organisme humain gravite autour d'un composé clé, le sélénide, Se^{2-} , qui constitue l'étape principale de la régulation des différentes formes de Se. Ainsi, après absorption, les espèces inorganiques sont réduites par le glutathion pour rejoindre le pool de sélénide alors que les

espèces organiques (Se-Met, Se-Cys) sont biotransformées par la β -lyase ou la γ -lyase (Fox et al., 2004; Suzuki et Ogra, 2002). Le Se sous forme de sélényde est ensuite incorporé dans la synthèse protéique (Janghorbani et al., 1999a), tel qu'illustré à la Figure 2, au travers d'une voie métabolique régulée assurant l'homéostasie. La Se-Met peut également être intégrée de façon inchangée dans les protéines à la place de la méthionine (Combs, 2001b; Schrauzer, 2000; Shiobara et al., 1998; Suzuki et Ogra, 2002). Dans ce cas, le Se sous forme de Se-Met rejoint la voie non régulée et échappe au mécanisme d'homéostasie (Djujic et al., 2000; Fox et al., 2004). De la même façon, il se pourrait que le Se provenant de source non alimentaire rejoigne également une voie non régulée car aucun élément concernant l'absorption, la distribution et le métabolisme ne permet de s'assurer que celui-ci rejoint la circulation sanguine systémique.

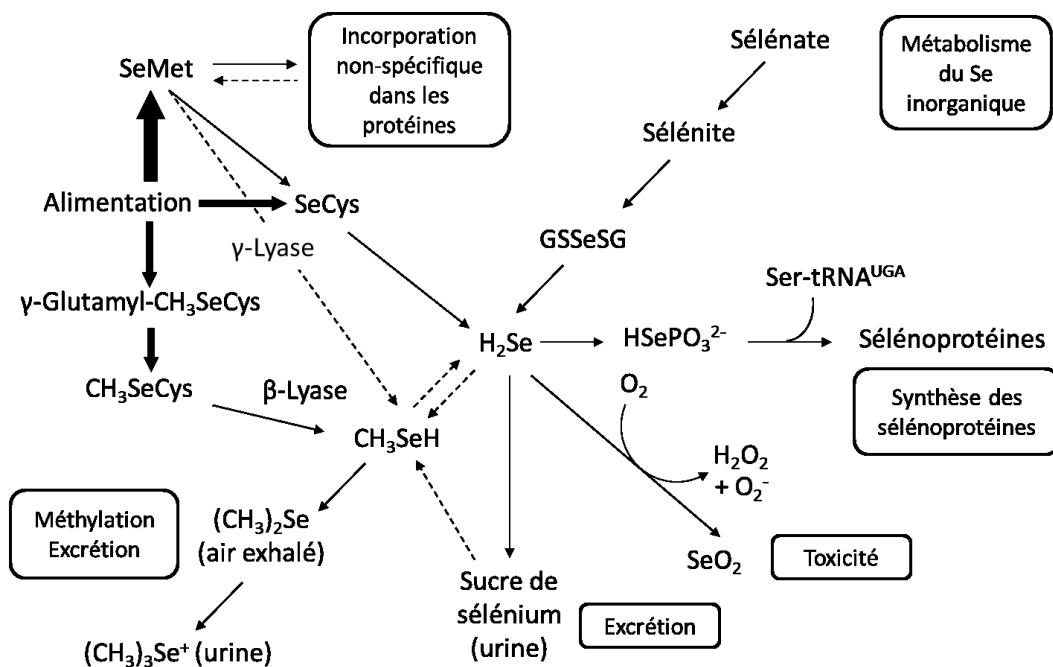


Figure 2 : Schéma simplifié du métabolisme humain du sélénium (d'après Rayman et al. (2008))

Élimination

L'élimination du Se se fait principalement selon 2 voies. La première voie semble majoritaire et permet l'élimination du sélénide sous forme de sucres par le transfert d'un groupement hexosamine (Subar, 2004; Suzuki et al., 2007). Ces sucres sont ensuite éliminés tels quels ou conjugués au glutathion (GSH) dans les urines (Francesconi et Pannier, 2004). La seconde voie d'élimination consiste en la méthylation du Se en diméthylsélénide ($\text{Se}(\text{CH}_3)_2$ ou DMSe) et en triméthylsélénonium ($\text{Se}(\text{CH}_3)_3^+$ ou TMSe). L'excrétion urinaire de ces derniers permet ainsi de maintenir l'homéostasie du Se dans l'organisme (Navarro-Alarcon et Cabrera-Vique, 2008), cependant, l'excrétion peut être diminuée en cas de grossesse ou d'hypothyroïdie (Kazi et al., 2010).

L'excrétion urinaire du Se endogène n'est pas proportionnelle à la charge corporelle totale (Janghorbani et al., 1999a). À faibles concentrations, le système réagit de façon linéaire, mais lorsque les apports quotidiens dépassent les besoins nutritionnels, les concentrations de TMSe dans les urines tendent vers un plateau (Itoh et Suzuki, 1997) et le Se excédentaire est alors éliminé dans l'air exhalé sous forme d'un composé volatil, le DMSe, possédant une odeur caractéristique d'ail (Bopp et al., 1982; Wilber, 1980). En dépit de ce phénomène de régulation qui rend le suivi biologique du Se dans les urines délicat, il est généralement admis que les quantités de Se excrétées quotidiennement représentent environ 50 % des apports quotidiens (Alfthan et al., 1991; Dumont et al., 2006; Longnecker et al., 1996; Meltzer et al., 1993; Thomson, 1998; Zachara et al., 2006). L'excrétion fécale contribue également à l'élimination du Se, mais de façon assez limitée et, contrairement à l'excrétion urinaire, elle ne dépend que très faiblement de l'état nutritionnel (Bopp et al., 1982; Pedrosa et al., 2012; Suzuki et al., 2010; Suzuki et al., 2013).

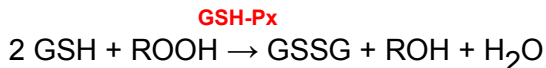
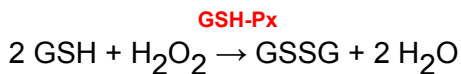
1.4.3. Effets du sélénium sur la santé humaine

Le Se est un élément essentiel pour le maintien de nombreuses fonctions physiologiques et biologiques dont les bénéfices pour la santé ne sont plus à démontrer. Ces bienfaits se manifestent uniquement à l'intérieur d'une fenêtre thérapeutique (concentrations optimales), et tout dépassement inférieur ou supérieur (excès ou carence) peut mener à des effets néfastes. Pour cette raison, il importe de bien documenter les différents effets du Se et les concentrations auxquelles ils sont observés.

1.4.3.1. Rôles physiologique et biologique

Le rôle antioxydant des sélénoprotéines et enzymes sélénodépendantes

Les effets bénéfiques du Se sont attribuables au rôle biologique joué par les sélénoprotéines et les enzymes sélénodépendantes. Parmi ces composés, la glutathion peroxydase (GSH-Px, EC 1.11.1.9) détient un rôle principal qui consiste à catalyser la réduction des peroxydes d'hydrogène par le glutathion (GSH) (Holben et Smith, 1999; Patching et Gardiner, 1999; Van Cauwenbergh et al., 2004), tel qu'illustré ci-dessous :



Cette réaction de réduction permet ainsi d'empêcher la peroxydation lipidique qui serait un des effets en lien avec la toxicité du MeHg (Mozaffarian, 2009; Salonen et al., 1995).

D'autres sélénoenzymes ou enzymes sélénodépendantes possèdent des propriétés antioxydantes et jouent un rôle clé dans la détoxification :

- la Sel-P agirait comme antioxydant des cellules endothéliales en réduisant les peroxy-nitriles (ONOO⁻) (Navarro-Alarcon et Cabrera-Vique, 2008), en plus du maintien de l'homéostasie (Burk et Hill, 2005) à la suite du transport dans les différents organes (Burk et al., 2003) ;
- les thiorédoxines réductases (TrxR) permettraient de réguler le système redox, de réduire les ponts disulfures et d'agir comme réducteurs de niveaux élevés d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) protégeant ainsi les cellules de cytotoxicité (ATSDR, 2003; Brown et Arthur, 2001; IOM, 2000; Papp et al., 2007).

Interaction biologique avec le MeHg

Compte tenu des effets toxiques du MeHg et des effets bénéfiques du Se, l'étude de l'interaction biologique observée entre le MeHg et le Se comme processus de détoxification revêt le plus grand intérêt (Cuvin-Aralar et Furness, 1991; Watanabe, 2002).

L'interaction biologique entre le MeHg et le Se semble être de type infra-additif (Krishnan et Brodeur, 1994) ou antagoniste (Diez, 2009; Watanabe, 2002), mais les mécanismes sous-jacents ne sont pas encore bien connus. Le Hg interférerait avec la biotransformation du Se et augmenterait sa rétention dans l'organisme. Ce phénomène se traduit par le fait que les concentrations de Hg et Se sont fortement corrélées dans l'urine humaine alors que ce n'est pas le cas dans le sérum (Chen et al., 2006a).

Toutefois, les études réalisées chez l'humain en lien avec l'interaction MeHg-Se montrent des résultats très divergents :

- En ce qui concerne la relation entre les concentrations en Hg et en Se dans certaines populations, certains auteurs n'ont pas observé d'association (Hagmar et al., 1998; Huang et al., 1995; Karita et Suzuki, 2002; Klapac et al., 1998) alors que d'autres ont obtenu une corrélation négative entre les niveaux biologiques de Hg et de Se (Bjornberg et al., 2003; Kosatsky et al., 2000), ce qui traduirait une réduction de la biodisponibilité du Hg et de son absorption dans l'organisme en présence de Se ;
- En ce qui concerne les études contrôlées réalisées avec des volontaires humains tentant de mettre en évidence l'interaction entre le Hg et le Se, Seppanen et al. (2000) observent une diminution des concentrations de Hg dans les poils pubiens à la suite de supplémentation alimentaire en Se, alors qu'une étude similaire n'a pas mis en évidence de diminution du Hg dans le sérum et les plaquettes (Meltzer et al., 1993). La différence de conclusion entre ces deux études peut provenir du fait que les sources et doses de Se étaient différentes : 100 µg/j de levures enrichies à la sélénométhionine dans la première et 70 µg/j provenant du blé et du poisson dans la seconde.

Par ailleurs, les populations autochtones dans diverses régions du Canada consomment des quantités importantes de poisson et présentent des concentrations en Se plus élevées que la population générale (Muckle et al., 2001a; Muckle et al., 2001b; Muckle et al., 1998; Saint-Amour et al., 2006). Il semblerait que le Se devienne alors un facteur protecteur pour ces populations, même s'il n'a pas été possible pour l'instant d'établir une corrélation entre les apports quotidiens de Se et l'absence ou l'occurrence des signes d'intoxication au MeHg (Li et al., 2010).

Des études réalisées chez l'animal ont montré que l'absorption concomitante de Se et de Hg réduisait les effets neurotoxiques et la mortalité associés à ce dernier par rapport à l'ingestion de Hg seul (Glynn et al., 1993; Gregus et al., 2001; Watanabe, 2002). Les auteurs suggèrent que la présence de Se favorise la séquestration du MeHg et sa rétention dans le cerveau des rats par la formation d'un complexe HgSe responsable des effets observés (Ralston et al., 2007).

D'un point de vue moléculaire, le stress oxydatif, qui résulte d'un déséquilibre entre les prooxydants et les antioxydants (Favier, 2003; Lykkesfeldt, 2007), se manifeste par la formation de malondialdéhyde libéré lors de la réaction de peroxydation lipidique chez des individus exposés au Hg (Al-Saleh et al., 2013; Al-Saleh et al., 2014; Del Rio et al., 2005). Bien que non spécifique, ce processus semble être compensé par une régulation accrue des sélénoprotéines et de la glutathion peroxydase (GSH-Px) (Chen et al., 2006b). La Sel-P pénètre préférentiellement dans le cerveau et, compte tenu de ses nombreux résidus cystéines, se lie au Hg et au Se en formant un complexe. Celui-ci a été mis en évidence *in vitro* et serait de la forme $[(\text{Hg-Se})_n]_m\text{-Sel-P}$, avec $n = 100$ et $m = 35$ (Sasakura and Suzuki 1998; Suzuki et al. 1998). Par la formation de ce complexe, le Se favorise la déméthylation du Hg dans le foie et les reins, étape de biotransformation essentielle précédant son excrétion (Khan et Wang, 2009; Watanabe, 2002). Ainsi, les molécules contenant du Se (Sel-P, GSH-Px) agissent comme facteur protecteur en piégeant les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène (Burk et Hill, 2005; Burk et al., 2003; Castoldi et al., 2001; Navarro-Alarcon et Cabrera-Vique, 2008). Les différents mécanismes envisagés pour l'interaction biologique entre le Hg et le Se sont présentés à la Figure 3.

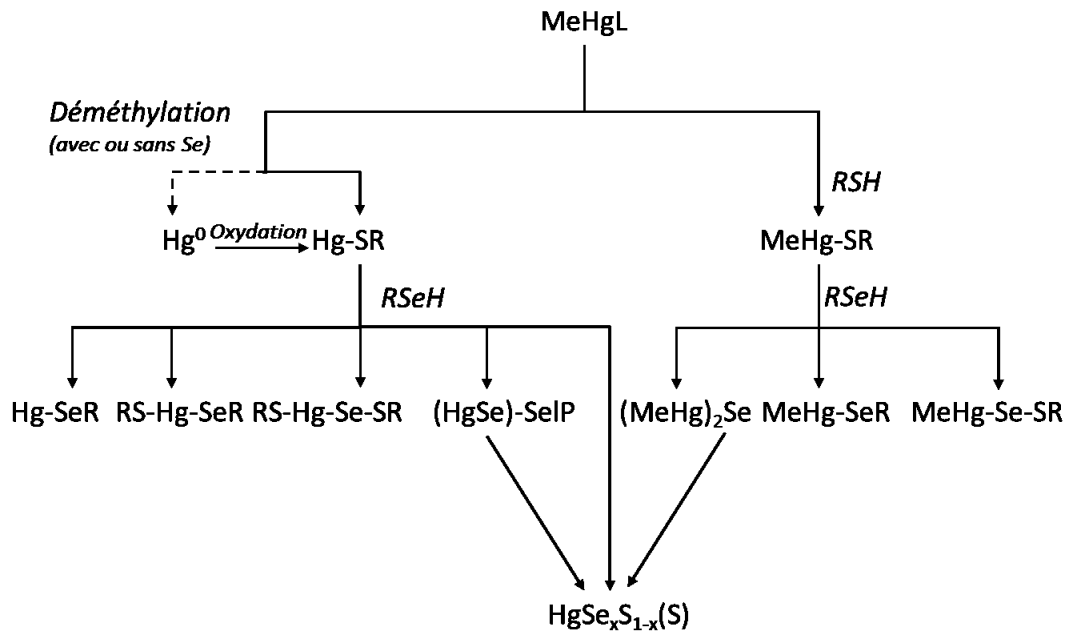


Figure 3 : Mécanismes possibles d'interaction biologique entre le mercure et le sélénium (d'après Khan et Wang (2009))

Interaction environnementale avec le MeHg

D'un point de vue environnemental, l'interaction entre le MeHg et le Se a également été observée. En effet, plusieurs études ont montré que l'ajout de Se dans les espaces aquatiques, appelé aussi supplémentation environnementale, réduisait la méthylation du Hg par le milieu bactérien (Jin et al., 1997), l'absorption du MeHg présent dans le milieu par les poissons, et la bioaccumulation de ce dernier dans leurs tissus (Cardellicchio et al., 2002), pouvant atteindre 90 % de réduction après trois ans de suivi (Paulsson et Lundbergh, 1989). Les poissons issus de ces expériences contenaient alors des concentrations plus faibles en Hg et plus élevées en Se (Cardellicchio et al., 2002; Jin et al., 1997), rendant ainsi leur consommation moins toxique.

Autres effets bénéfiques

De nombreuses études épidémiologiques ou expérimentales chez l'humain ont mis en évidence une association inverse entre la présence de Se et plusieurs maladies. Ainsi, le Se a été identifié comme agent anticancéreux en agissant sur les réactions redox et antioxydantes qui auraient un effet sur l'initiation du cancer et en ralentissant la progression (Combs et al., 2001). De ce fait, il serait possible, en administrant des doses de Se au niveau supra nutritionnel, de ralentir la formation de cellules cancéreuses (Whanger, 2004). Un des mécanismes proposés serait l'activation du gène p53 suppresseur de tumeur par la Se-Met et l'induction de l'apoptose des cellules cancéreuses (Abdulah et al., 2005; Borek, 2004; Wallace et al., 2009).

Un essai clinique randomisé en double aveugle sur la prévention nutritionnelle du cancer (NPC study) a été mené auprès d'un groupe expérimental de 653 sujets, d'âge moyen de 63,4 ans et constitué en majorité (73,8 %) par des hommes. Le groupe était supplémenté avec 200 µg/j de Se sous forme de levures pendant plusieurs années (moyenne de 4,5 ans), alors qu'un groupe témoin présentant des caractéristiques semblables (n = 659, âge moyen 63,0 ans, 75,6 % hommes) recevait un placebo. L'étude a montré que les sujets supplémentés avaient respectivement 63 % moins de risque de développer un cancer de la prostate (RR = 0,37 [0,18; 0,71], p < 0,002) et 58 % un cancer colorectal (RR = 0,42 [0,18; 0,95], p < 0,03) (Clark et al., 1996; Clark et al., 1998). D'autres études épidémiologiques ont confirmé ces résultats en mettant également en évidence une association inverse entre les niveaux de Se et le risque de cancer de la prostate (Li et al., 2004; Meyer et al., 2009; Muecke et al., 2009; Pourmand et al., 2008; Rayman, 2005). Cependant, l'étude prospective randomisée SELECT (Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial), menée de 2001 à 2012 auprès de plus de 30 000 hommes, n'a pas rapporté d'effet statistiquement significatif des suppléments de

200 µg/j de Se, couplés ou non avec 400 UI de vitamine E, sur l'incidence du cancer de la prostate par comparaison avec la prise de placebo pendant 7 à 12 ans (Dunn et al., 2010; Nicastro et Dunn, 2013). L'âge médian rapporté se situait entre 62 et 63 ans selon les groupes étudiés. Parmi les limites et biais permettant d'expliquer les divergences observées entre ces deux études, la forme de Se administrée (levures contenant du MeSe-Cys pour NPC et L-Se-Met pour SELECT) a été mentionnée (Klein, 2004; Marshall et al., 2011). Bien qu'il existe quelques éléments en faveur d'un effet protecteur du Se sur les autres types de cancer (peau, vessie, colorectal, poumon, sein), les données probantes sont beaucoup plus restreintes (van der Pols et al., 2009; Vinceti et al., 2000; Wallace et al., 2009).

Par ailleurs, le Se semble également présenter un facteur de protection contre les maladies cardiovasculaires (Mozaffarian, 2009). Dans une méta-analyse regroupant 25 études observationnelles (14 études de cohortes et 11 études cas-témoin), les niveaux élevés de Se étaient associés à des risques relatifs de maladies cardiovasculaires plus faibles (RR = 0,85 [0,74; 0,99] et 0,43 [0,29; 0,66] respectivement) (Flores-Mateo et al., 2006). Cependant, les essais cliniques randomisés analysés dans la même méta-analyse n'ont pas permis de mettre en évidence un effet protecteur significatif du Se (RR = 0,89 [0,68; 1,17]). De la même façon, d'autres essais cliniques ou études populationnelles n'ont pas été en mesure de confirmer le rôle protecteur du Se sur les maladies cardiovasculaires (Bleys et al., 2009; Bleys et al., 2008; Lymbury et al., 2008; Stranges et al., 2010).

D'autres effets bénéfiques du Se ont été rapportés dans la littérature. Il s'agit entre autres de la régulation de la fonction thyroïdienne (Arthur et al., 1993; Corvilain et al., 1993; Duntas, 2010), la prévention de certaines maladies neurologiques (maladie d'Alzheimer, de Parkinson (Cardoso et al., 2010; Chen et Berry, 2003)), la stimulation de la réponse immunitaire et la défense contre les

infections virales (Gromadzinska et al., 2008; Thomson, 2004). Les études ultérieures pourront aider à améliorer la compréhension du rôle biologique du Se en regard de ces nombreuses pathologies.

1.4.3.2. Effets toxiques

Compte tenu de la dualité du Se, il importe de bien connaître les seuils de toxicité par carence et par excès étant donné que les effets bénéfiques ne se manifestent qu'à l'intérieur de cette étendue de concentrations dans laquelle l'homéostasie est importante.

Carence

Les carences en Se peuvent apparaître lorsque les apports nutritionnels ne sont pas suffisants pour satisfaire aux besoins biologiques et physiologiques ou lors de nutrition prolongée par voie parentérale ou entérale (Chariot et Bignani, 2003; Masumoto et al., 2007). Les premiers symptômes rapportés sont l'alopecie (Daniells et Hardy, 2010; Feizy et al., 2008; Heath et Sidbury, 2006) ainsi que des douleurs, dégénérescences et faiblesses musculaires (Chariot et Bignani, 2003; Koller et Exon, 1986). Des carences plus marquées ont été associées aux maladies de Keshan et de Kashin-Beck dont les symptômes peuvent être sévères et irréversibles.

La maladie de Keshan est une cardiomyopathie endémique, localisée surtout en Chine, et affecte principalement les enfants (Boosalis, 2008; Chen et al., 1980). Elle se manifeste lorsque les apports quotidiens sont inférieurs à 17 µg/j, soit des concentrations correspondantes dans le sang et les cheveux de 20 µg/L et 0,12 µg/g (Ge et Yang, 1993). Elle se traduit par la nécrose du myocarde, de l'arythmie et de l'insuffisance cardiaque, pouvant entraîner la mort (Barceloux, 1999; Foster et

Sumar, 1997). La prévalence de la maladie est maintenant en baisse suite aux interventions de santé publique consistant à la supplémentation en Se de la population atteinte (Alfthan et al., 2000; Xia et al., 2005; Yang et al., 2010).

Localisée en Chine, en Sibérie et en Corée chez des préadolescents et adolescents, la maladie de Kashin-Beck est une maladie des cartilages (ostéo-arthropathie endémique dégénérative) (Boosalis, 2008). Les symptômes sont une atrophie, dégénérescence et nécrose des cartilages. Les concentrations sanguines et capillaires de Se correspondant à l'apparition des symptômes sont de 17 µg/L et 0,03 µg/g (Ge et Yang, 1993). Des découvertes récentes ont montré que le polymorphisme génétique du gène codant pour la GSH-Px1 constituerait un facteur de risque pour le développement de la maladie (Xiong et al., 2010).

Surdose

Lorsque les apports journaliers en Se dépassent largement les besoins nutritionnels, une intoxication par surdose peut se produire. Des symptômes réversibles de surdose ont effectivement été rapportés lors d'épisodes d'intoxication subaiguë suite à une consommation de suppléments de Se comportant une erreur de formulation (de 10 à 200 fois plus concentrés que la teneur annoncée (Aldosary et al., 2012; Lopez et al., 2010; MacFarquhar et al., 2010; Schuh et Jappe, 2007; Sutter et al., 2008)). Il s'agissait principalement de diarrhées, nausées, vomissements, fatigue, myalgie, douleurs dans les articulations, maux de tête, pertes de mémoire, acouphènes, insomnie, pertes de cheveux et décoloration des ongles (Lopez et al., 2010; MacFarquhar et al., 2010). Au moment de l'arrêt de l'exposition, les concentrations de Se dans le plasma se situaient entre 321 et 1500 µg/L (MacFarquhar et al., 2010).

La littérature rapporte également quelques cas plus rares d'intoxications aiguës survenues lors de tentative de suicide ou de décès accidentel (Kise et al., 2004; Nuttall, 2006; See et al., 2006). Les symptômes étaient sévères et comprenaient des troubles cardiaques (tachycardie, arythmie), des perforations gastriques, de l'œdème pulmonaire et cérébral ; plusieurs décès ont aussi été constatés (Hunsaker et al., 2005).

Dans certaines régions du monde où le sol est très riche en Se, certains symptômes d'intoxications chroniques, appelés sélénoses, ont été observés dans la population. C'est le cas de la Chine qui comprend des zones sélénifères dans lesquelles des symptômes tels que des cheveux et des ongles cassants, des lésions cutanées, des troubles digestifs, des paresthésies et atteintes du système nerveux ont été rapportés (Yang et al., 1983; Yang et Xia, 1995). Ces études observationnelles de la population ont permis de mieux documenter les seuils de toxicité du Se chez l'humain (voir section 1.4.4.2.). En diminuant les apports quotidiens en Se, par une relocalisation de la population par exemple, les symptômes de sélénose disparaissent pour laisser place à un état de santé non pathologique (Yang et Xia, 1995).

1.4.4. Éléments d'analyse des risques spécifiques au sélénium

1.4.4.1. Méthodes d'estimation de l'exposition spécifiques au sélénium

Questionnaires alimentaires

L'estimation de l'exposition au Se permet d'étudier si les apports en Se sont adéquats dans une population, si plusieurs méthodes d'estimations concordent ou si certains comportements sont des

prédicteurs de la charge corporelle en Se. Cette estimation peut être effectuée par des méthodes indirectes telles que l'utilisation de questionnaires alimentaires (FFQ), généralement en combinaison avec d'autres méthodes alimentaires ou avec des stratégies de surveillance biologique (Barron et al., 2012; Brantsaeter et al., 2010; Duffield et Thomson, 1999; Karita et al., 2003; Rasmussen et al., 2009; Satia et al., 2006; van den Brandt et al., 1993).

Dans plusieurs cas, les apports estimés en Se par questionnaires alimentaires ne sont pas corrélés avec les concentrations mesurées dans les matrices biologiques (Karita et al., 2003; Satia et al., 2006). En effet, les questionnaires alimentaires considèrent généralement une concentration moyenne de Se pour chaque aliment afin d'estimer les apports en Se provenant de chaque aliment consommé (Diplock, 1993). Cependant, étant donné que les concentrations en Se varient grandement selon la provenance des aliments, les estimations d'apports comprennent de grandes incertitudes qui rendent les méthodes indirectes peu fiables (Mayne et al., 2004; Patterson et al., 1999). Ainsi, les FFQ produisent des estimations plus élevées d'apport alimentaire en Se que les autres méthodes indirectes (Duffield et Thomson, 1999). De plus, quelle que soit la méthode indirecte choisie, elle ne permet pas de connaître la fraction de Se réellement absorbée et biodisponible, qui varie en fonction des aliments consommés et de la diète. Pour cette raison, la surveillance biologique est préférable (Barron et al., 2012), et bien qu'ils permettent une estimation rapide et utile des apports quotidiens moyens en Se (Barron et al., 2012; Duffield et Thomson, 1999), les FFQ ne semblent pas appropriés pour estimer précisément l'exposition individuelle en Se (Hawkes et al., 2008).

Surveillance biologique

La mesure de Se dans les matrices biologiques, en lien avec les propriétés toxicocinétiques du Se, peut être utilisée pour des fins de surveillance biologique de l'exposition au Se. Alors que le Se dans le plasma reflète des variations de l'exposition à court terme, le sang total ou les érythrocytes permettent de documenter l'exposition au Se à plus long terme (Ashton et al., 2009; Crews et al., 2001; Hambidge, 2003). Les différents auteurs publiant sur le sujet choisissent bien souvent indifféremment d'utiliser les concentrations sanguines ou plasmatiques pour estimer l'exposition au Se, sans tenir compte de la durée d'exposition et de la cinétique. Étant donné que le ratio entre les concentrations sanguines et plasmatiques est relativement constant ($\approx 1,5$), il arrive donc qu'une conversion en utilisant ce rapport moyen soit réalisée afin de rendre les données des différentes matrices comparables.

L'utilisation de la matrice urinaire pour documenter l'imprégnation au Se reste controversée. Plusieurs auteurs s'entendent pour dire que des collectes urinaires de 24 heures sont préférables à l'ajustement par la densité ou la créatinine dans des échantillons ponctuels qui restent pourtant les méthodes prédominantes dans les protocoles de recherche (Neve, 1991; Ohira et al., 2008; Robberecht et Deelstra, 1984c). Cependant, étant donné que les quantités excrétées par voie urinaire représentent environ 50 % des apports quotidiens en Se (Alfthan et al., 1991; Dumont et al., 2006; Longnecker et al., 1996; Thomson, 1998; Zachara et al., 2006), la matrice urinaire constitue alors une avenue intéressante pour approximer l'exposition quotidienne moyenne au Se.

Contrairement aux mesures sanguines ou plasmatiques, l'utilisation de phanères permet de documenter l'exposition passée sur de longues périodes de temps compte tenu de l'intégration

régulière du Se dans les cheveux et les ongles au fur et à mesure de leur croissance (Hunter et al., 1990; Krogh et al., 2003; Morris et al., 1983; Neve, 1991; Slotnick et Nriagu, 2006). Cependant, l'utilisation de certains shampoings thérapeutiques contenant du Se a été reliée à une augmentation des teneurs en Se dans les cheveux, constituant ainsi un facteur de confusion dans l'estimation de l'exposition réelle (DiPietro et al., 1989; LeBlanc et al., 1999). Ceci s'additionne au fait que le mécanisme et la cinétique d'incorporation des éléments dans les cheveux sont encore peu connus (Rodrigues et al., 2008).

La mesure de l'activité de la GSH-Px a été testée comme bioindicateur d'effet du Se (Arthur, 1999) suggérant une réponse au stress oxydant, mais son utilisation reste délicate (Diplock, 1993). En effet, elle semble être bien corrélée aux concentrations sanguines à faibles concentrations ($\approx 100 \mu\text{g/L}$), mais cette association n'est pas observée à des concentrations plus élevées (Lymbury et al., 2008). Par ailleurs, le choix de la matrice constitue un élément d'importance : la GSH-Px ne présente pas le même profil dans les érythrocytes, le plasma et les plaquettes (Crews et al., 2001).

Dans le cadre d'études contrôlées, il arrive que le Se soit mesuré simultanément dans plusieurs matrices, telles que le sang total, le plasma, l'urine, les cheveux et les ongles (Behne et al., 2010; Hawkes et al., 2008; Longnecker et al., 1993; Longnecker et al., 1996; Longnecker et al., 1991; Swanson et al., 1990). Cela a pour effet de mieux connaître la distribution du Se dans les différents compartiments de l'organisme humain. Cependant, ce type d'analyse est plus coûteux et reste donc assez marginal dans le milieu de la recherche. En outre, aucune étude n'a compilé de façon systématique les concentrations biologiques de Se dans les différentes matrices afin d'en déduire les relations mathématiques et les coefficients qui les relient. En effet, sans ces coefficients et en l'absence de modèle toxicocinétique complet, il devient très difficile de comparer les différents

résultats de surveillance biologique du Se étant donné que les protocoles d'analyses et le choix des matrices ne font pas l'objet d'uniformisation.

1.4.4.2. Valeurs guides et recommandations pour la santé publique

Contrairement au MeHg pour lequel une seule valeur à ne pas dépasser est proposée, la dualité du Se se reflète par différentes valeurs guides visant à protéger tant des effets néfastes par surdose ou carence qu'à assurer des apports quotidiens adéquats.

Ainsi, les études menées en Chine (Yang et al., 1989b; Yang et Zhou, 1994; Yang et al., 1989a) ont permis de documenter les seuils de risque associés à une carence ou une surdose de Se et proposer des valeurs de référence (IOM, 2000; 2006; US EPA, 1991). Dans le cas spécifique du Se, plusieurs valeurs existent, soit une valeur minimum d'apport en Se permettant de combler les besoins physiologiques pour éviter des signes de carences et une valeur maximale au-delà de laquelle des signes de toxicité peuvent être observés, telles que présentées à la Figure ci-dessous (Figure 4).

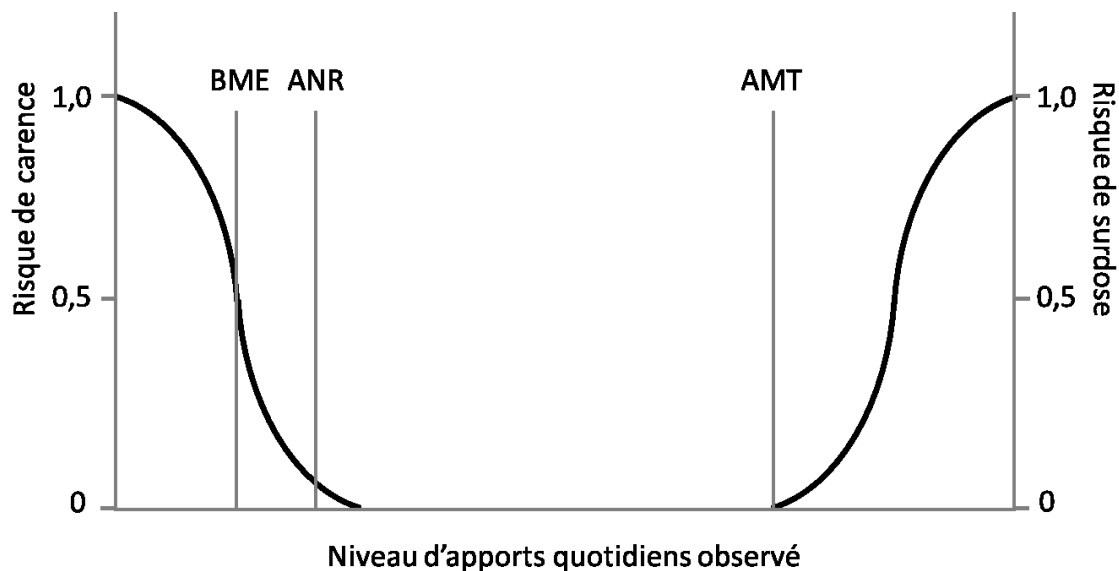


Figure 4 : Représentation schématique des besoins moyens estimatifs (BME), des apports nutritionnels recommandés (ANR) et des apports maximaux tolérables (AMT) en fonction des risques de carence et de surdose (d'après IOM (2000))

L'Institut de médecine américain (IOM, 2000; 2006) a considéré l'atteinte du plateau d'activité de la GSH-Px comme effet critique pour définir les besoins moyens estimatifs en Se (BME) à 45 $\mu\text{g}/\text{j}$ (IOM, 2000). Dans le but de couvrir les besoins nutritionnels de 98 % de la population, les apports nutritionnels recommandés (ANR) sont ensuite estimés à l'aide de 2 fois le coefficient de variation (estimé à 10 %) du BME, c'est-à-dire à 55 $\mu\text{g}/\text{j}$. L'apport maximal tolérable (AMT) a été déterminé à partir des premiers signes de sélénose observés en Chine (malformation des ongles) pour lesquels Yang et Zhou (1994) ont proposé un LOAEL⁵ de 913 $\mu\text{g}/\text{j}$ et un NOAEL⁶ de 800 $\mu\text{g}/\text{j}$. Un facteur d'incertitude de 2 a été appliqué à la NOAEL, étant donné que l'effet toxique considéré (ongles

⁵ LOAEL pour Lowest Observed Adverse Effect Level, correspond à la dose ou la concentration la plus faible pour laquelle un effet indésirable est observé

⁶ NOAEL pour No Observed Adverse Effect Level, correspond à la dose maximale sans effet indésirable observé

cassants) n'est pas un effet sévère mais qu'il nécessite une longue période de temps pour se résorber, résultant en un apport maximal tolérable de 400 µg/j. Ces valeurs sont celles actuellement appliquées au Canada (Santé Canada, 2010a).

Par ailleurs, l'US EPA a élaboré une dose de référence (RfD) pour le Se de 5 µg/kg pc/j basé sur la valeur de NOAEL de 853 µg/j déterminée à partir des valeurs sanguines et des régressions logarithmiques proposées par les études chinoises (Yang et al., 1989b; Yang et Zhou, 1994), ajustée pour le poids corporel moyen de 55 kg et d'un facteur de sécurité de 3 pour tenir compte des individus les plus sensibles (US EPA, 1991).

Des enquêtes de population menées au Québec (INSPQ, 2004a) et au Canada (Santé Canada, 2010b; 2013) ont mesuré les concentrations sanguines, plasmatiques et urinaires de Se dans la population générale (Tableau 5).

Tableau 5 : Concentrations sanguines, plasmatiques et urinaires de sélénium mesurées dans la population générale québécoise et canadienne (d’après INSPQ (2004a), Santé Canada (2010b) et Santé Canada (2013))

Enquête (année)	Concentration sanguine (µg/L)	Concentration plasmatique (µg/L)	Concentration urinaire (µg/L)
Québec – INSPQ ^a (2004)	221,1 (165,9 – 284,4); n = 472	134,3 (105,8 – 177,8); n = 470	90,9 (41,9 – 181,7); n = 318
Canada - ECMS Cycle 1 (2007-2009) ^b	201,6 (197,6 – 205,7); n = 5 319		48,9 (44,7 – 53,4); n = 5 492
Canada - ECMS Cycle 2 (2009-2011) ^b	190 (190 - 190); n = 6 070		51 (49 - 53); n = 5 738

^a Moyenne géométrique et écart entre le 2,5^e et le 97,5^e percentiles pour des adultes âgés de 18 à 65 ans

^b Moyenne géométrique et intervalle de confiance à 95 % pour la population générale âgée de 6 à 79 ans, à l’exception des valeurs sanguines du cycle 2 qui incluent des enfants à partir de 3 ans

ECMS : Enquête canadienne sur les mesures de santé

À défaut d’informations plus précises sur les niveaux d’exposition au Se dans la population générale, ces données sont utilisées comme valeurs populationnelles à ne pas dépasser ou valeurs guides. Ainsi, ces données servent de base de comparaison pour d’autres études menées à plus petite échelle et permettent de vérifier si les apports en Se au Canada et au Québec sont adéquats.

1.5. Problématique de recherche

Le MeHg et le Se sont deux composés qu'il est intéressant d'étudier conjointement compte tenu i) des effets neurotoxiques du MeHg, ii) des effets bénéfiques du Se dans une certaine étendue de concentrations, iii) de l'interaction entre le MeHg et le Se réduisant potentiellement les effets néfastes, et iv) de sources alimentaires communes à ces deux composés (consommation de poisson et de fruits de mer). Ainsi, il importe de développer des outils permettant de mieux comprendre le devenir du MeHg et du Se dans l'organisme et de documenter précisément l'exposition dans la population générale ou des sous-groupes de population afin d'appréhender et de gérer les risques pour la santé humaine.

Dans le cas du MeHg, l'évaluation de l'exposition est souvent faite de façon transversale par des questionnaires alimentaires ou des analyses sanguines ou urinaires qui permettent de documenter l'exposition sur une courte période de temps (Bjornberg et al., 2005; Iwasaki et al., 2003; Sirot et al., 2008). Cependant, compte tenu de la demi-vie du MeHg de 45 à 70 jours (Bakir et al., 1973; Diez, 2009), la contribution d'une dose journalière lors d'un scénario d'exposition chronique ne représente qu'une très faible fraction de la quantité de MeHg sanguin (5,6 % en moyenne (Carrier et al., 2001a)). D'autres outils permettent la reconstruction *a posteriori* des apports quotidiens de MeHg en couplant l'utilisation de données biologiques avec un modèle cinétique existant (Carrier et al., 2001a), mais leur application reste limitée au domaine de la recherche présentement. De plus, les apports quotidiens estimés selon les différentes méthodes n'ont pas fait l'objet de comparaisons systématiques. Il devient donc nécessaire d'appliquer ces outils pour améliorer la caractérisation de l'exposition et privilégier les approches d'analyses des risques pour la santé de la population produisant les estimations les plus fiables et précises possibles. Cela permettra de formuler les

recommandations de santé publique appropriées en regard des risques pour la santé reliés au MeHg et de leur gestion.

Dans le cas du Se, plusieurs questions restent à être élucidées. En effet, peu de données existent concernant la cinétique de chacun des indicateurs biologiques susceptibles de servir de bioindicateurs de la charge corporelle ou de l'exposition quotidienne moyenne. De plus, les relations entre l'ensemble des matrices biologiques en lien avec les apports quotidiens n'ont jamais été étudiées de façon systématique. L'utilisation des cheveux comme biomarqueur d'exposition au Se est questionnable du fait de la possible contamination de ceux-ci par des shampoings antipelliculaires et de l'absence d'information sur les mécanismes qui régissent les concentrations de Se dans les cheveux (adsorption sur la surface ou absorption dans la région occipitale et contribution partielle à la circulation systémique, et donc aux concentrations sanguines). Il importe donc de vérifier si, comme pour le cas du MeHg, la concentration de Se à la racine du cheveu est proportionnelle en tout temps à celle du sang, et, conséquemment, si la concentration dans les cheveux en fonction de la distance de sa racine demeure une bonne indication de la charge corporelle passée. La connaissance de ces mécanismes est essentielle à l'utilisation de la matrice capillaire pour estimer la charge corporelle en Se ou la dose quotidienne d'exposition avec précision. Pour ces raisons, les recherches ont été orientées pour mieux documenter et comprendre ces phénomènes. Ces recherches visent à aider au développement d'outils permettant de mieux harmoniser les protocoles suivis dans le cadre d'études de surveillance biologique afin d'en faciliter l'interprétation et la comparaison des résultats. Une meilleure connaissance générale de la distribution et du devenir du Se apporterait des informations pertinentes lors de processus de révision des recommandations d'apports journaliers afin de s'assurer des bienfaits du Se (propriétés antioxydantes et anticancéreuses) et également de prévenir ses effets délétères.

Cette problématique s'inscrit dans le contexte où la capacité à produire de nouvelles données de surveillance biologique a largement dépassé la capacité d'interprétation de ces données (NRC, 2006). Il devient donc primordial, avant de mettre en place des études de surveillance biologique, de développer des outils aidant à une meilleure compréhension et interprétation des résultats.

1.6. Hypothèse de recherche et objectifs

1.6.1. Hypothèse de recherche

La connaissance précise de la cinétique du MeHg et du Se est essentielle pour une estimation fiable de l'exposition et des risques associés à ces contaminants chez l'humain.

1.6.2. Objectifs

L'objectif général suivi dans le cadre de la thèse de doctorat consiste à produire des données cinétiques et comparatives manquantes pour la validation et l'interprétation d'outils d'évaluation de l'exposition au MeHg et au Se.

Pour ce faire, plusieurs objectifs spécifiques, décrits ci-dessous, sont considérés :

- Comparer les méthodes d'évaluation directe de l'exposition par la surveillance biologique combinée à la modélisation toxicocinétique et indirecte par questionnaire alimentaire appliquées au MeHg et leur influence sur les estimations de risque pour la santé ;
- Comblent le manque de données cinétiques sur la contribution d'une exposition non alimentaire à la charge corporelle de Se et expliciter par quel mécanisme il se distribue dans les différentes matrices biologiques afin d'améliorer l'interprétation des données de surveillance biologique;
- Effectuer une analyse systématique de la relation cinétique entre les apports quotidiens et les concentrations biologiques de Se dans différentes matrices par une méta-analyse et la

dérivation d'algorithmes mathématiques, pour faciliter la comparaison des résultats d'études d'évaluation de l'exposition.

1.7. Organisation générale de la thèse

Les chapitres subséquents de la thèse visent à répondre à l'ensemble de ces objectifs. Ainsi, les recherches sont présentées sous forme d'articles scientifiques. Une approche spécifique comprenant une méthode appropriée a été développée pour répondre à chacune des questions de recherche. En conséquence, chaque article propose une problématique, une méthode et des résultats spécifiques à chacun des objectifs.

À la suite de l'introduction, le chapitre 2 se présente sous la forme d'un article scientifique publié dans la revue « Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology » et permet de répondre au 1^{er} objectif spécifique qui consiste à étudier dans quelle mesure le choix de la méthode d'évaluation de l'exposition au MeHg influence les estimations de risque pour la santé. Cette recherche est réalisée en estimant les apports quotidiens en MeHg à l'aide de données de surveillance biologique et de modélisation toxicocinétique et en les comparant à ceux estimés par questionnaire alimentaire.

Le chapitre 3 consiste en une étude contrôlée de la distribution du Se chez 10 sujets volontaires et est en lien direct avec le 2^e objectif spécifique. La recherche, publiée dans la revue « Environmental Toxicology and Pharmacology », documente la distribution du Se dans différentes matrices biologiques suite à une exposition non alimentaire. Un suivi des concentrations biologiques des participants (sang, urine, cheveux et ongles) pendant une période de 18 mois post-exposition apporte des éléments de compréhension du mécanisme de transfert du Se dans les cheveux.

Le chapitre 4 vise l'atteinte du dernier objectif spécifique et présente une analyse exhaustive des données de surveillance biologique du Se issues de 75 études publiées dans la littérature. Cette analyse vise à développer un outil qui permette d'étudier la cinétique du Se dans diverses matrices biologiques selon les niveaux d'exposition et d'estimer les apports quotidiens chez un individu à partir de divers prélèvements biologiques. L'article constituant le chapitre 4 a été publié en ligne le 06 mai 2014 dans la revue « International Journal of Hygiene and Environmental Health ».

Par la suite, le chapitre 5 propose une discussion générale de l'ensemble des résultats de la thèse, de leur contribution à l'avancement des connaissances et de leur application dans le domaine de la santé publique.

Chapitre 2. Comparison of a toxicokinetic and a questionnaire-based approach to assess methylmercury intake in exposed individuals

Noisel, N., Bouchard, M., Carrier, G. and Plante, M. (2011). Comparison of a toxicokinetic and a questionnaire-based approach to assess methylmercury intake in exposed individuals. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 21(3): 328-335.

Le questionnaire alimentaire utilisé dans cette étude est présenté à l'Annexe 1.

**Comparison of a toxicokinetic and a questionnaire-based approach to assess methylmercury intake
in exposed individuals**

Nolwenn Noisel, MSc^a, Michèle Bouchard, PhD^{a,*}, Gaétan Carrier, Eng., MD, PhD^a, Michel Plante, MD^b

^a Department of Environmental and Occupational Health, Faculty of Medicine, Université de Montréal, P.O. Box 6128, Main Station, Montreal, Quebec, Canada, H3C 3J7

^b Hydro-Québec, Health and Safety Division, 75 boulevard René-Lévesque West, Montreal, Quebec, Canada, H2Z 1A4

* Corresponding author:

Professor Michèle Bouchard

Department of Environmental and Occupational Health, Faculty of Medicine

Université de Montréal

P.O. Box 6128, Main Station, Montreal, Quebec

H3C 3J7, CANADA

Telephone number: + 514 343 6111 ext 1640

Fax number: + 514 343 2200

2.1. Abstract

Methylmercury (MeHg) is a neurotoxic contaminant and one of the main sources of exposure in humans is seafood consumption. It is thus of interest to assess precisely MeHg exposure. The objective of this study was to estimate MeHg daily intake in exposed individuals using two different approaches, a food questionnaire and toxicokinetic modeling, and compare the complementary and use of each method. For this purpose, a group of 23 fishermen from Northern Quebec provided blood and hair samples and answered a standard food questionnaire focusing on seafood consumption. A published and validated toxicokinetic model was then used to reconstruct MeHg daily intakes from mercury (Hg) measurements in biological samples. These intakes were compared to those estimated using a standard food questionnaire on seafood consumption. Daily intakes of MeHg from seafood (mean / median (range)) estimated from hair concentrations with the toxicokinetic-based approach were 6.1 / 5.2 (0.0-19) $\mu\text{g}/\text{d}$. These intake values were on average six times lower than those estimated using a food questionnaire, i.e. 49 / 32 (7.2-163) $\mu\text{g}/\text{d}$. No correlation was found between the toxicokinetic-based and the questionnaire estimates of MeHg daily intakes. Most of the MeHg intakes estimated with the food questionnaire (21/23) exceeded the US EPA RfD of 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$, while only a small proportion (6/23) of modeled estimates exceeded the RfD. This study shows that human health risk estimates strongly depend on the chosen approach.

Keywords: methylmercury, toxicokinetic modeling, food questionnaire, daily intake, seafood consumption, biomarker.

2.2. Introduction

Mercury (Hg) is a chemical contaminant affecting the nervous system when present under the methylated form (Aschner and Syversen, 2005). Its toxicity is of particular concern given its ability to cross the placental barrier and induce damages to the fetus and children at early stages of the development (Folven et al, 2009). It is thus of interest to document the intake of MeHg in the population using reliable tools. Since MeHg intake in non-occupationally exposed individuals occurs essentially through seafood consumption (Barceloux, 1999; Cabanero et al, 2005; Navarro-Alarcon and Cabrera-Vique, 2008; Trasande et al, 2005; WHO, 1990), assessment of dietary intake of MeHg is most frequently based on answers to food questionnaires (Bjornberg et al, 2005; Iwasaki et al, 2003; Satia et al, 2006). Food questionnaires are easy to use, low-cost and effective to classify population intakes into quartiles or quintiles for short and long term assessment. However, some authors question their use and prefer, when available, the use of other methods such as the measurement of biomarkers of exposure (Sunde et al, 2008).

A few years ago, Carrier et al. (2001a; 2001b) proposed the use of a toxicokinetic model to estimate MeHg body burden in humans and reconstruct past exposures from hair and blood measurements. The model allows to quantitatively relate Hg species in biological matrices (blood, hair, and urine) to the absorbed dose and tissue burdens at any point in time. The model is based on a multi-compartment approach; each compartment represents organic or inorganic Hg burden in an organ or a group of organs or an excreta. It is represented by a set of coupled differential equations taking into account inter-organ rates of exchange and excretion together with biotransformation process. The free parameters of the model were determined in Carrier et al. (2001a; 2001b) from statistical best-fits to published experimental data.

The objectives of this study were thus to i) assess MeHg intakes in a group of individuals using two methods, i.e., a toxicokinetic modeling approach based on biomarker measurements and food questionnaires and ii) compare the results of each approach.

2.3. Materials and methods

A published and validated mathematical model was used to relate biological concentrations of Hg to daily intakes of MeHg in an exposed group of the population. The toxicokinetic-based intake estimates of MeHg from seafood were then compared to food questionnaire estimates adapted from standard validated questionnaires.

2.3.1. Studied population

During summer, a group of 23 volunteers (four women and 19 men) was recruited among workers of a Hydro-Québec electric plant located in the James Bay territory in Canada. Participants were recruited on a voluntary basis using a recruitment letter distributed to all the employees of this plant ($n \approx 200$), regardless of the educational level and job position. They were non-native populations but were living and working in Northern Quebec, and all practiced sport fishing at least once a month for fish consumption. At the time of recruitment, only volunteers with hair of at least two centimeters long and with no diagnosed health problem, such as a metabolic dysfunction or renal disease, were considered eligible. The mean age (\pm SD) of the group was 43 ± 7.7 years old, with a range of 24 to 56 years old. The mean height was 1.7 ± 0.08 m and the mean weight 79 ± 13 kg.

2.3.2. Biological sampling of volunteers

Both a hair strand and a blood sample were collected from each volunteer. Hair samples were used to reconstruct past-exposure over the months preceding the collection since each centimeter of hair strand corresponds more or less to a period of one month (Harkey, 1993; WHO, 1990). On the other

hand, whole blood was used as a common biological matrix to assess Hg exposure, although it is known to be more influenced by recent seafood consumption (Sherlock et al, 1984).

The hair strand was collected at the end of July, which corresponds to the mid-season fishing period, and was cut in the occipital area of the scalp close to the root. Hair was then stapled on a paper with an indication of the location of the root. Hair samples were then put in sealed plastic bags and kept at room temperature until analysis. At the time of hair collection, 22 of the 23 volunteers also provided a blood sample for the measurement of total Hg in whole blood. Blood samples were collected from the forearm by a nurse into 5-ml vacutainer tubes and then kept at 4°C until analysis.

2.3.3. Measurements of total Hg in biological samples of volunteers

Laboratory measurements of total Hg in biological samples were conducted at the Human Toxicology Laboratory (Laboratoire de toxicologie humaine) of the National Institute of Public Health of Quebec (Institut national de santé publique du Québec), which is accredited ISO 17025 by the Standards Council of Canada. This laboratory also participates in an inter-laboratory control program to assure international compliance with other laboratories.

Total Hg concentrations were determined in hair and whole blood as described by Dewailly et al. (2001) and Muckle et al. (2001a; 2001b). Briefly, hair samples were divided in 1 cm sections in order to reconstruct past exposure, i.e. average exposure during successive months preceding hair sampling (1 cm of hair \approx 1-month period (WHO, 1990)). Both matrices were then digested with nitric acid and mercury was reduced by adding anhydrous stannous chloride (SnCl_2) and cadmium chloride (CdCl_2). Hg was volatilized and detected by cold-vapor atomic absorption spectrometry (Model 120;

Pharmacia, Piscataway, NJ, USA). The LOD for hair Hg analysis was 1 nmol/g and that of blood Hg was 1 nmol/l.

2.3.4. Collection of questionnaire data

On the day of hair sampling, a questionnaire was administered to each volunteer by an interviewer during a structured visit with the participant to document seafood consumption and personal factors. The questionnaire was based on validated food questionnaires following published guidelines (Cade et al, 2002; Willett, 1990). It included the same types of questions and frequency rating scales as those commonly used in other questionnaires (Block et al, 1986; Mannisto et al, 1996; Rohrmann and Becker, 2002) and was pretested among students and professors of the Université de Montréal and employees of Hydro-Québec before being administered to the volunteers. It focused on seafood consumption, categorized into sport fish, commercial fish and shellfish. For each of the 22 seafood items presented in a list and reported in Table 1, volunteers had to indicate to the interviewer the ingested amounts (grams per meal if possible or otherwise size of portion (small, medium or large portion)) and the frequency of consumption (consumption rate with a six-degree scale: twice per day; once per day; twice per week; once per week; once to twice per month; never). Sample size of each food item was determined by a trained interviewer on the basis of the gestural description provided by the participant. They also had the possibility to add any rarer item consumed and not listed in the questionnaire. Information concerning fishing habits was also reported by volunteers with open questions: fishing frequency, fished species, consumption or not of fish catches and location of fishing according to a provided map of the area (Hydro-Québec, 2001). This map served to distinguish fish origins (reservoirs or natural lakes) and then attribute the corresponding Hg concentrations for the

estimation of MeHg intake from recreational fishing. Personal factors such as gender, age, weight and height were also documented by questionnaire.

2.3.5. Collection of data on MeHg contents in seafood

Total Hg concentrations in seafood considered in this study (Table 1) were those measured by Hydro-Québec (Hydro-Québec, 2001; Schetagne et al, 2002) or reported for the Canadian market (Dabeka et al, 2004). The corresponding MeHg concentrations were calculated considering that 90 % of total mercury in fish are found in the methylated form (Cabanero et al, 2007; Mieirol et al, 2009; WHO, 1990; Xue et al, 2007) with the following equation:

$$[MeHg (\mu g / g)] = 0.9 \times [Total Hg (\mu g / g)] \times \frac{M_{MeHg} (215.62 \text{ g / mol})}{M_{Hg} (200.59 \text{ g / mol})} \quad \text{Equation 1}$$

To substitute missing data (9 out of 27 values), default values were derived from mean concentration values measured in similar fish and shellfish species and reported by CHUL-CHUQ (2003), Dabeka et al. (2004) and Schetagne et al. (2002) as follows: 0.25 $\mu\text{g/g}$ Hg in non predatory fish, 0.50 $\mu\text{g/g}$ Hg in predatory fish, and 0.02 $\mu\text{g/g}$ Hg in shellfish.

2.3.6. MeHg daily intakes estimated using the questionnaire

Using the food questionnaire data gathered in the present study and published concentrations of Hg in seafood, daily intakes of MeHg in the studied group of fishermen were estimated. The questionnaire-derived MeHg intake estimates were based on reported seafood consumption, since seafood has been documented to be the main source of MeHg exposure in the general population

(Dabeka et al, 2003; WHO, 1990). Average daily intakes of each seafood item (Q_i) (in the sport fish, commercial fish and shellfish categories) were estimated from the portion of fish consumed per meal (g) and their frequency of consumption, as reported by the participant. MeHg daily intakes ($\mu\text{g/d}$) were then estimated from the average daily intakes (g/d) of each seafood item (Q_i) and MeHg concentrations ($\mu\text{g/g}$) ($[\text{MeHg}]_i$) in seafood based on published data (see Table 1). This is represented

by the equation 2:
$$\text{MeHg Intakes} = \sum_{i=1}^n [\text{MeHg}]_i \times Q_i , \quad \text{Equation 2}$$

where i represents each seafood consumed during the month prior to sampling.

Finally, MeHg daily intakes ($\mu\text{g/d}$) were divided by individual body weights to obtain intake estimates per kg body weight ($\mu\text{g/kg bw/d}$).

2.3.7. Assessment of MeHg daily intakes using a toxicokinetic modeling approach

A toxicokinetic modeling approach is proposed to estimate MeHg daily intakes from biological measurements. More precisely, daily intakes of MeHg were estimated from hair concentrations using the toxicokinetic model of Carrier et al. (2001a; 2001b). Based on total Hg concentrations in hair of the last past months, the model defines, after successive iterations, the best fit to the biological data and then estimates the corresponding daily intakes of MeHg as presented in Gosselin et al. (2006). For model simulations, initial conditions were set to assume that volunteers were repeatedly exposed to MeHg at least during the three-months preceding biological measurements, a period which corresponds to a seasonal consumption of sport fish. The accuracy of the toxicokinetic reconstruction of MeHg intakes from hair measurements was verified by comparing corresponding blood concentrations of Hg predicted with the model to those directly measured in blood samples. All

toxicokinetic simulations were performed using MathCad Professional 2000 (MathSoft Inc., Cambridge, MA, USA).

2.3.8. Comparison of the modeled intakes with questionnaire predicted intakes

The daily intakes of MeHg from seafood derived with the toxicokinetic modeling approach were then compared to the questionnaire-based estimates. Since the distribution of these variables was left-skewed, parametric Pearson correlations were performed on ln-transformed data. The statistical software SPSS 16.0 was used for this purpose (SPSS Software, Chicago, IL).

Descriptive statistics are presented as arithmetic mean, median and range to facilitate comparison with published data expressed as such. However, distribution of daily intakes and seafood consumption along with Hg concentrations in hair and blood was left skewed whereas age and weight were symmetrically distributed.

2.4. Results

2.4.1. Analysis of biological samples

Table 2 presents concentrations of total Hg measured in biological matrices, i.e. whole blood and successive hair segments. All samples showed concentrations above the LOD. MeHg concentrations in hair reported in the Table correspond to the three or four centimeters closest to the root and represent the average exposure levels of the last three to four months prior to sampling. Median concentration measured for Hg in whole blood was 7.1 µg/l while median Hg concentrations in hair segments varied between 0.80 and 1.1 µg/g (see Table 2 for comparison of means). The hair-to-blood concentration ratio of Hg (mean / median) was calculated to be 266 / 225.

2.4.2. Analysis of food questionnaire

A synthesis of seafood daily consumption rates estimated by questionnaire for all volunteers is also presented in Table 2. Total daily consumption of seafood (mean / median) amounted to 136 / 118 g. Sport fish, commercial fish and shellfish contributed equally to total seafood consumption (representing on average 35%, 30% and 35% of total seafood consumption, respectively).

2.4.3. Estimation of MeHg daily intakes using toxicokinetic modeling

The time course of MeHg daily intake was estimated for each volunteer from their successive hair measurements during the months preceding sampling using the toxicokinetic model of Carrier et al. (2001a; 2001b). Figure 1 (a and b) shows examples of model simulations of the time courses of total

mercury concentrations in hair and reconstructed time-courses of MeHg daily intakes. To verify the accuracy of MeHg model predictions of observed biological data, the Hg concentrations measured in whole blood were compared with the blood concentrations simulated with the toxicokinetic model (Figure 2). These two variables were found to be significantly correlated ($r = 0.896$, $p < 0.05$).

2.4.4. Comparison of the modeled intakes with questionnaire-based intakes

Table 3 presents results of the estimation of MeHg intakes from seafood, based on both the food questionnaire and the toxicokinetic modeling. The mean / median estimates derived from the seafood consumption rates estimated by questionnaire during the month prior to biological sampling (Table 2) along with Hg concentration measured in seafood (Table 1) were 49 / 32 $\mu\text{g}/\text{d}$, i.e. 0.65 / 0.43 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$. Corresponding mean / median values with the modeling approach were 6.1 / 5.2 $\mu\text{g}/\text{d}$, i.e. 0.08 / 0.07 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$. According to questionnaire data, MeHg intake was found to originate mainly from sport fish consumption (mean of 42 $\mu\text{g}/\text{d}$).

For all the volunteers except one, the food questionnaire predicted MeHg intakes from seafood during the month preceding biological sampling higher than the toxicokinetic modeling estimates. On average, questionnaire-based values were higher by a 6-fold factor. In particular, contrary to the food questionnaire, the toxicokinetic modeling estimated MeHg intakes equal to zero for four of the volunteers during the most recent month prior to sampling.

Figure 3 shows the lack of correlation between the toxicokinetic modeling estimates of MeHg daily intakes from seafood and that of the food questionnaire. The Pearson correlation coefficient obtained from linear regression analysis of ln-transformed variables was $r = -0.377$ ($p = 0.111$).

2.5. Discussion

This study shows the use of a toxicokinetic-based approach as compared to food questionnaire data to estimate MeHg intake from seafood. Food questionnaires are largely used in nutritional and epidemiological studies. Their use is simple, rapid and low cost. They aim at assessing total food consumption rates in epidemiological studies but their performance has been found to be limited when assessing specific compounds (Natarajan et al, 2006). They have been reported to be associated with systematic errors, misclassification and different types of biases (Natarajan et al, 2006; Neuhouser et al, 2008). For example, it was demonstrated that responses to food questionnaires are highly associated with social desirability and approval bias (Miller et al, 2008). Recall bias or reporting bias is also common in studies focusing on eating habits over long periods of time, hence several weeks or months (Kutting et al, 2008). Since the use of food questionnaires for estimating individual intakes is not considered appropriate (Magkos et al, 2006; Osowski et al, 2007), several authors reported that, when available, the use of objective tools such as a biomarker-based approach is preferred for the characterization of food, nutrient and contaminant intake, and provides a more reliable individual exposure assessment (Miller et al, 2008; Natarajan et al, 2006).

Such biomonitoring tool was used in our study in conjunction with modeling to estimate MeHg daily intakes at the individual level. To ensure reliability of the assessment, biomarker measurements were performed with analytical methods meeting quality control standards. Then, the time courses of MeHg daily intakes were reconstructed from biomarker data using a validated toxicokinetic model (Carrier et al, 2001a). This published model was developed with a pool of human kinetic data collected under control exposure conditions and validated with another pool of data to ensure robustness. In the modeling process, it was verified that when reconstructing MeHg intakes from hair

concentrations of Hg, corresponding Hg concentrations in blood obtained with the model complied with measured concentrations ($r = 0.896$, $p < 0.05$, which demonstrates the precision of the estimates). The toxicokinetic modeling also has the advantage of allowing to reconstruct a posteriori the time-courses of MeHg intake over several months rather than providing a cross-sectional estimate of a population exposure; the only limiting factor is the hair length of the subjects.

From our analysis, the intake estimates from food questionnaire quasi-systematically exceeded the intake estimates from toxicokinetic modeling. This raises the question of possible biases leading to overestimation of seafood consumption, especially for the reported frequencies and amounts. Similar to our findings, Gosselin et al. (2006) reported an average overestimation of MeHg intakes by questionnaires of 6.7-fold when compared to MeHg exposure in an Inuvik women cohort, reconstructed from hair measurements using the same toxicokinetic model as the one used in the current study. In this group of 60 indigenous women, mean MeHg daily intake estimated by food questionnaire (different from our questionnaire) was $0.20 \mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$ whereas the mean MeHg intakes reconstructed with toxicokinetic modeling ranged between 0.03 and $0.04 \mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$, depending on the pregnancy trimester. More recently, Sirot et al. (2008) also estimated weekly MeHg intakes in a population of 385 frequent seafood consumers in France on the basis of a food frequency questionnaire (documenting consumption rate) and contamination data. They then compared these estimates with those reconstructed from blood concentrations of MeHg using the JECFA/EPA (Joint Expert Committee on Food Additives/US Environmental Protection Agency) one-compartment toxicokinetic model. Similar to our findings, the mean individual ratio of these two estimates was 4.3 (minimum 0.2; 95th percentile 14), which led the authors to conclude that the calculated dose estimates were overestimated using their food questionnaire approach. Daily intakes estimated by food questionnaire (different from our questionnaire) was reported by Sirot et al. (2008) to range

between 1.33 and 1.61 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw/wk (equivalent to 0.19 and 0.23 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw/d) whereas the mean MeHg intakes reconstructed with the toxicokinetic model ranged between 0.39 and 0.65 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw/wk (hence 0.056 and 0.093 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw/d).

In our study, this trend is reflected by inconsistencies between MeHg levels in biological matrices and seafood consumption rates (g/d) estimated by questionnaire. For instance, for three of the 23 volunteers, considering seafood concentrations reported in Table 1 and seafood consumption documented by questionnaire, MeHg daily intakes were calculated to be greater than 100 $\mu\text{g}/\text{d}$, whereas Hg hair concentrations were low (less than 1.5 $\mu\text{g}/\text{g}$) and MeHg daily intake reconstructed with the toxicokinetic model approached zero to agree with the hair time profiles.

As documented in other studies, this overestimation may stem from the fact that people generally tend to under-report their life habits or activities that are known to have a negative health effect (e.g., alcohol, tobacco) and to over-report those known to be “healthy” or to have a positive effect (e.g., consumption of fish, fruits and vegetables, etc.) (Kutting et al, 2008; Mannisto et al, 1996; O'Brien et al, 2000). It is also possible that sport fishers overestimated the number and size of their catches by pride. Discrepancies between modeled intakes and questionnaire-based daily intakes could also be explained by the fact that, in the latter case, intakes are calculated on the basis of reported concentrations of Hg in different food items (Table 1) and not directly measured in the consumed seafood. Other studies provided Hg concentrations in seafood (Mahaffey, 2004; Mahaffey et al, 2004; Sanzo et al, 2001; Sirot et al, 2008) and these are in the same range as the ones used to estimate daily intakes in the present study (Table 1); however, in the case of missing values for certain seafood items, an upper-bound level of previously reported Hg concentrations was used in our study, which although more conservative may have influenced the central tendency of

questionnaire-based daily intakes. This is reflected by the low concordance (low Pearson correlation coefficient) between daily intakes of MeHg from seafood estimated by questionnaire and those reconstructed from biomarker levels using a modeling approach. Recently, in a study on acrylamide exposure, Kutting et al. (2008) found a weak association ($R^2 = 0.08$) between self-reported intake of acrylamide-contaminated food by questionnaire and measured levels of hemoglobin-adduct biomarkers in a population of 818 non smokers. The authors suggested that these results are partly explained by biased responses that understate the consumption of unhealthy fried food. In our study, reported mean / median amounts of seafood consumed daily was 136 / 118 g/d, which is far from the mean fish consumption rate of the Canadian population of 20 g/d, as assessed by the Canadian total diet study (Dabeka et al, 2003).

On the other hand, measured concentrations of total Hg in hair and blood of the volunteers under study (Table 2) are in agreement with the median values of 0.87 $\mu\text{g Hg/g}$ hair and 3.0 $\mu\text{g Hg/l}$ blood reported in the literature for frequent sport fish consumers of the Montreal area ($n = 132$) (Kosatsky et al, 2000). Measured biological values also compare well with data provided by Belanger et al. (2008) in the same geographical area (hair mercury of 1.4 to 2.8 $\mu\text{g/g}$, blood mercury of 21.9 to 35.6 nmol/l, that is 4.39 to 7.14 $\mu\text{g/l}$). They are further similar to those reported by Johnsson et al. (2005) (median of 2.4 $\mu\text{g/g}$ in hair and 8.6 $\mu\text{g/l}$ in blood) in a Swedish group of frequent fish consumers. However, in other seafood-eating populations, slightly higher Hg levels were reported: 4.5 $\mu\text{g/g}$ in hair and 59.1 nmol/l (11.8 $\mu\text{g/l}$) in blood of Inuit women (Muckle et al, 2001a) and 1.73 $\mu\text{g/g}$ in hair of Japanese women (Iwasaki et al, 2003). With regard to the hair-to-blood concentration ratio of Hg, our results are in line with reported average ratio of 250 (US EPA, 2001; WHO, 1990) and reported range of values of 190 to 367 (Stern, 1997).

Total Hg hair concentrations for all the volunteers were also below the Health Canada guideline of 6 µg/g (Health Canada, 1998). The highest MeHg daily intakes estimated with the toxicokinetic model in the months prior to sampling (mean / median value (range) of 0.08 / 0.07 (0.0-0.26) µg/kg bw/d) also remained below the US EPA guideline of 0.1 µg/kg bw/d (US EPA, 2001) for 17 of the 23 volunteers and below Health Canada guideline of 0.2 µg/kg bw/d (Health Canada, 1998) for 21 of the 23 volunteers. However, MeHg intakes estimated by food questionnaire (mean / median value (range) of 0.65 / 0.43 (0.09-2.8) µg/kg bw/d) exceeded the US EPA guideline for 22 of the 23 volunteers and Health Canada guideline for 21 of them. This shows that the method used to assess daily intakes has an important impact of the human health risk estimates.

To further verify the potential use of the proposed approach, it should be applied to a larger cohort; this study was based on a small number of volunteers, which affects statistical power for group comparison; however, the proposed modeling approach has the merit of allowing the assessment of exposure at the individual level rather than at the population level. Biological results were obtained for a specific time period and location; the study should thus be pursued over an extended period of time and to other population groups. To reduce uncertainties, future studies should also include measurements of Hg in seafood consumed by the participants.

2.6. Conclusion

Overall, this study shows the use of biological monitoring in combination with toxicokinetic modeling to estimate MeHg daily intakes from seafood. Divergent results were obtained between the questionnaire-based intakes and modeled intakes; an overestimation of reported amounts and frequencies of seafood consumed is possible. However, with the modeling approach, which allows dose reconstructions from biological concentrations, MeHg intakes in the volunteers under study were in most cases below the guidelines of the US EPA and of Health Canada. This study shows that the approach used to estimate daily intakes of MeHg has an important impact on the conclusions drawn from a health risk perspective.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments

This study was funded in part by Hydro-Québec, Quebec, Canada. Authors also wish to thank Nathalie H. Gosselin for her helpful modeling inputs.

2.7. Tables and Figures

Table 1: Mercury concentrations in seafood used to estimate questionnaire-based daily intakes of methylmercury

Seafood items	Total mercury concentration ($\mu\text{g/g}$) from published sources	Calculated methylmercury concentration ($\mu\text{g/g}$) ^a
Lake whitefish	R ^b 0.18; L ^b 0.12	R: 0.17; L: 0.12
Northern pike	R ^b 2.18; L ^b 0.63	R: 2.11; L: 0.61
Yellow walleye	R ^b 1.3; L ^b 0.61	R: 1.26; L: 0.59
Lake trout	R ^b 1.79; L ^b 0.57	R: 1.73; L: 0.55
Brook trout	R ^b 0.40; L ^b 0.20	R: 0.39; L: 0.19
Yellow perch	0.50 ^c	0.48
Bass	0.50 ^c	0.48
Artic char	0.03 ^d	0.03
Atlantic cod	0.25 ^c	0.24
Haddock	0.25 ^c	0.24
Pollock	0.25 ^c	0.24
Salmon	0.04 ^d	0.04

Seafood items	Total mercury concentration ($\mu\text{g/g}$) from published sources	Calculated methylmercury concentration ($\mu\text{g/g}$) ^a
Sole	0.25 ^c	0.24
Trout	0.04 ^d	0.04
Tuna	0.36 ^d	0.35
Other fish	0.25 ^c	0.24
Crab	0.08 ^d	0.08
Mussels	0.02 ^d	0.02
Shrimp	0.02 ^d	0.02
Scallop	0.02 ^c	0.02
Lobster	0.02 ^d	0.02
Squid	0.25 ^c	0.24

^a Calculated MeHg concentration in seafood considering that 90% of total mercury in fish is in the methylated form (Cabanero et al., 2007; Xue et al., 2007). MeHg concentration in $\mu\text{g/g}$ = 0.9 x total Hg concentration in $\mu\text{g/g}$ x $\text{molecular weight}_{\text{MeHg}}$ (215.62) / $\text{molecular weight}_{\text{Hg}}$ (200.59).

^b Mean value taken from the “Guide de consommation des poissons pour les plans d'eau des régions du complexe La Grande, de la Grande rivière de la Baleine et de la Petite rivière de la Baleine” (Hydro-Québec, 2001) and “Suivi environnemental du complexe La Grande”, Hydro-Québec technical report (Schetagne et al., 2002); R: Fish originating from reservoirs; L: fish originating from natural lakes.

^c Default values of 0.02, 0.25 and 0.50 were used when information concerning Hg concentrations (predator and non predator fish) was lacking.

^d Mean value taken from Dabeka et al. (2004).

Table 2: Concentrations of total mercury in biological samples of the 23 volunteers and seafood consumption rates estimated by questionnaire

Variables		Mean	Median	Range
Hair mercury ^a				
Concentrations in biological matrices (µg/g or µg/l)	July	1.5	0.98	0.22-4.6
	June	1.3	1.1	0.20-4.7
	May	1.1	0.80	0.20-3.8 ^b
	April	1.2	1.0	0.20-3.9 ^c
Blood mercury ^d		8.0	7.1	0.80-21
Hair-to-blood concentration ratio ^e		266	225	48-750
Seafood consumption rates (g/d)				
Sport fish		47	36	8.9-125
Commercial fish		37	29	0.0-86
Shellfish		52	37	0.0-225
All seafood		136	118	44-375

^a Hair concentrations represent the average Hg concentrations for each of the four months prior to sampling.

^b These values were calculated for $n = 19$ volunteers who had a hair length of three cm or more at the time of sampling.

^c These values were calculated for $n = 12$ volunteers who had a hair length of four cm or more at the time of sampling.

^d These values were calculated for $n = 22$ because one of the volunteer did not provide any blood sample.

^e The ratio was calculated using hair concentration of Hg in the centimeter of hair closest to the root, which corresponds roughly to the month prior to blood sampling (July).

Table 3: Methylmercury daily intakes estimated using the toxicokinetic modeling approach as compared to the food questionnaire for the 23 volunteers

		Methylmercury intake estimates					
		µg/d			µg/kg bw/d		
		Mean	Median	Range	Mean	Median	Range
Food questionnaire approach ^a		49	32	7.2-163	0.65	0.43	0.09-2.78
Toxicokinetic modeling approach							
	July ^b	6.1	5.2	0.0-19	0.08	0.07	0.0-0.26
	June ^b	5.1	3.7	0.0-18	0.06	0.05	0.0-0.22
	May ^c	3.9	3.4	0.0-12	0.05	0.04	0.0-0.16
	April ^d	4.1	2.5	0.0-10	0.04	0.02	0.0-0.13

^a These values correspond to the average MeHg intake estimated from the food questionnaire over the month preceding sampling, i.e. July ($n = 23$ volunteers).

^b These MeHg intakes were estimated with the model for $n = 23$ volunteers on the basis of their average concentrations of Hg in each of the first two cm of hair closest to the root.

^c These values were calculated for $n = 19$ volunteers who had a hair length of three cm or more at the time of sampling.

^d These values were calculated for $n = 12$ volunteers who had a hair length of four cm or more at the time of sampling.

Captions to Figures

Figure 1. Historical reconstruction of MeHg daily intakes ($\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$) (continuous line) in two volunteers (a and b) using model simulations (dashed lines) of measured concentrations of total mercury (squares) in successive centimeters of hair. Time 0 represents the time of hair collection.

Figure 2. Correlation (continuous line) between Hg concentrations measured in blood ($\mu\text{g}/\text{l}$) for 22 volunteers and the corresponding values predicted with the toxicokinetic modeling approach. Black triangles represent data for each volunteer.

Figure 3. Correlation (continuous line) between daily intakes ($\mu\text{g}/\text{d}$) of MeHg estimated with the food questionnaire (FQ) and those predicted with the toxicokinetic modeling (TKM) approach. Black triangles represent data for each volunteer.

Figure 1

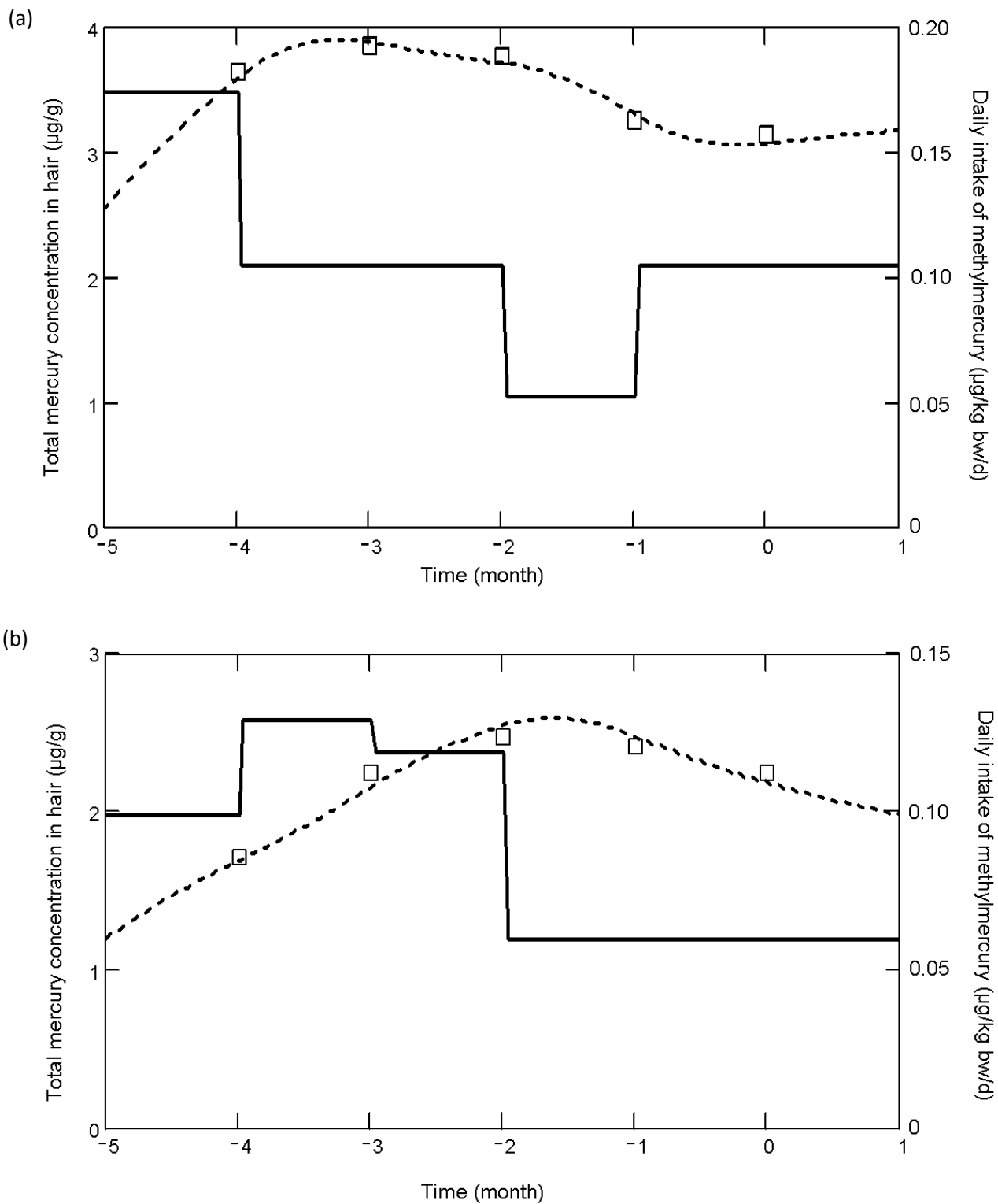


Figure 2

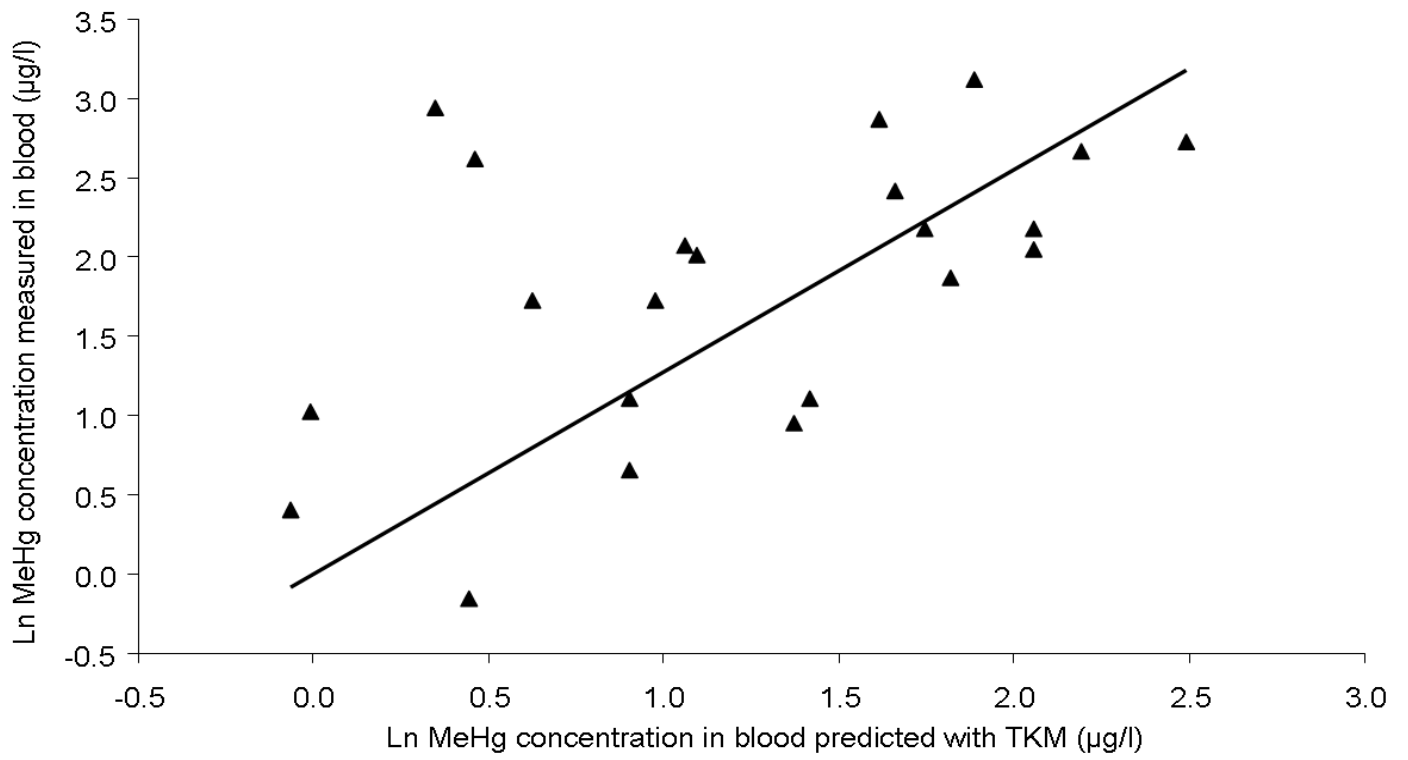
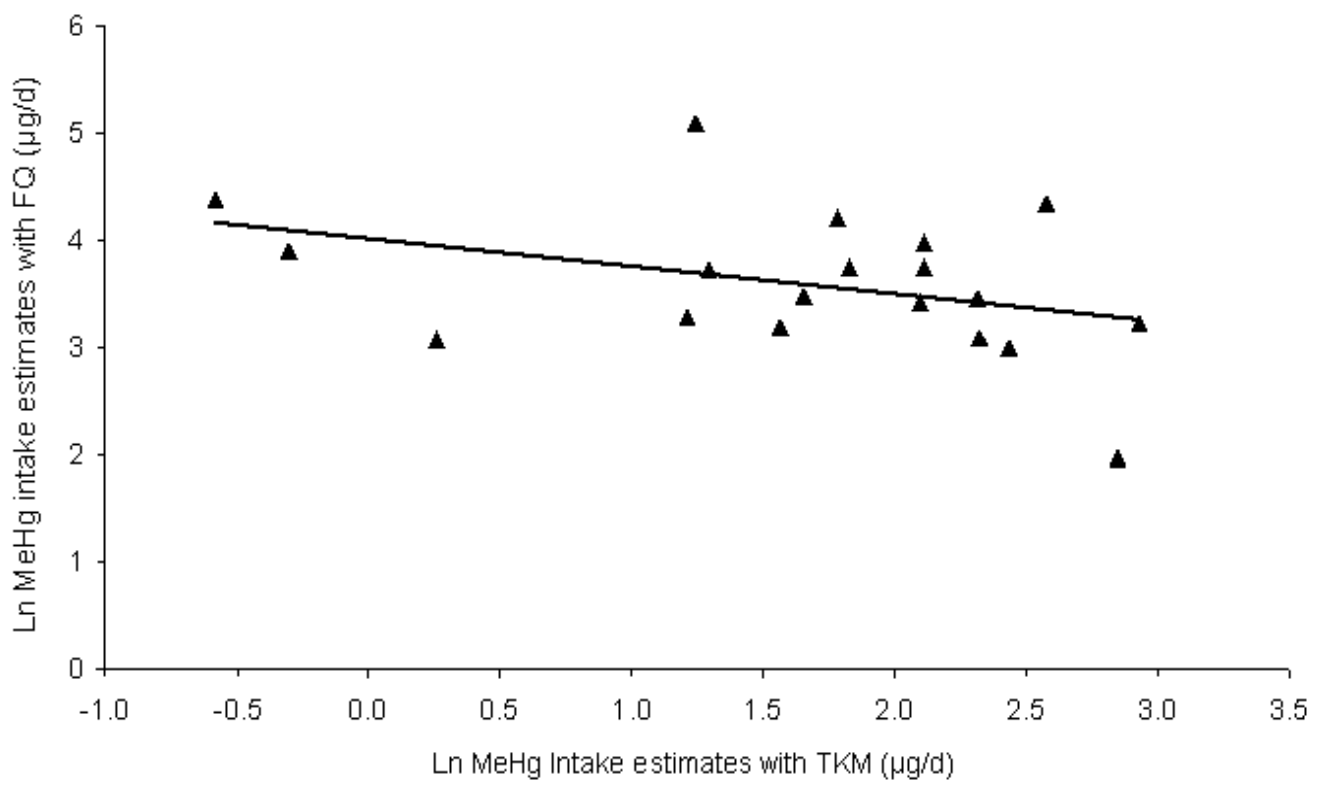


Figure 3



2.8. References

Aschner M., and Syversen T. Methylmercury: recent advances in the understanding of its neurotoxicity. *Ther Drug Monit* 2005; 27(3): 278-283.

Barceloux D.G. Selenium. *J Toxicol Clin Toxicol* 1999; 37(2): 145-172.

Belanger M.C., Mirault M.E., Dewailly E., Berthiaume L., and Julien P. Environmental contaminants and redox status of coenzyme Q10 and vitamin E in Inuit from Nunavik. *Metabolism* 2008; 57(7): 927-933.

Bjornberg K.A., Vahter M., Grawe K.P., and Berglund M. Methyl mercury exposure in Swedish women with high fish consumption. *Sci Total Environ* 2005; 341(1-3): 45-52.

Block G., Hartman A.M., Dresser C.M., Carroll M.D., Gannon J., and Gardner L. A data-based approach to diet questionnaire design and testing. *Am J Epidemiol* 1986; 124(3): 453-469.

Cabanero A.I., Carvalho C., Madrid Y., Batoreu C., and Camara C. Quantification and speciation of mercury and selenium in fish samples of high consumption in Spain and Portugal. *Biol Trace Elem Res* 2005; 103(1): 17-35.

Cabanero A.I., Madrid Y., and Camara C. Mercury-selenium species ratio in representative fish samples and their bioaccessibility by an in vitro digestion method. *Biol Trace Elem Res* 2007; 119(3): 195-211.

Cade J., Thompson R., Burley V., and Warm D. Development, validation and utilisation of food-frequency questionnaires - a review. *Public Health Nutr* 2002; 5(4): 567-587.

Carrier G., Bouchard M., Brunet R.C., and Caza M. 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. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001a: 171(1): 50-60.

Carrier G., Brunet R.C., Caza M., and Bouchard M. A toxicokinetic model for predicting the tissue distribution and elimination of organic and inorganic mercury following exposure to methyl mercury in animals and humans. I. Development and validation of the model using experimental data in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001b: 171(1): 38-49.

CHUL-CHUQ. Guide alimentaire du Saint-Laurent. Unité de recherche en santé publique. Centre de recherche du Centre Hospitalier de l'Université Laval et Saint-Laurent Vision 2000: Québec, 2003.

Dabeka R., McKenzie A.D., Forsyth D.S., and Conacher H.B. Survey of total mercury in some edible fish and shellfish species collected in Canada in 2002. *Food Addit Contam* 2004: 21(5): 434-440.

Dabeka R.W., McKenzie A.D., and Bradley P. Survey of total mercury in total diet food composites and an estimation of the dietary intake of mercury by adults and children from two Canadian cities, 1998-2000. *Food Addit Contam* 2003: 20(7): 629-638.

Dewailly E., Ayotte P., Bruneau S., Lebel G., Levallois P., and Weber J.P. Exposure of the Inuit population of Nunavik (Arctic Quebec) to lead and mercury. *Arch Environ Health* 2001: 56(4): 350-357.

Folven K.I., Glover C.N., Malde M.K., and Lundebye A.-K. Does selenium modify neurobehavioural impacts of developmental methylmercury exposure in mice? *Environ Toxicol Pharmacol* 2009: 28(1): 111-119.

Gosselin N.H., Brunet R.C., Carrier G., Bouchard M., and Feeley M. Reconstruction of methylmercury intakes in indigenous populations from biomarker data. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2006: 16(1): 19-29.

Harkey M.R. Anatomy and physiology of hair. *Forensic Sci Int* 1993; 63(1-3): 9-18.

Health Canada. Review of the Tolerable Daily Intake for Methylmercury: Rationale for Proposed Interim Revision of the TDI. Health Canada: Ottawa, 1998.

Hydro-Québec. Guide de consommation des poissons pour les plans d'eau des régions du complexe La Grande, de la Grande rivière de la Baleine et de la Petite rivière de la Baleine. Hydro-Québec et Centre hospitalier de l'Université Laval, Unité de recherche en santé publique: Montréal, 2001.

Iwasaki Y., Sakamoto M., Nakai K., Oka T., Dakeishi M., Iwata T., *et al.* Estimation of daily mercury intake from seafood in Japanese women: Akita cross-sectional study. *Tohoku J Exp Med* 2003; 200(2): 67-73.

Johnsson C., Schutz A., and Sallsten G. Impact of consumption of freshwater fish on mercury levels in hair, blood, urine, and alveolar air. *J Toxicol Environ Health A* 2005; 68(2): 129-140.

Kosatsky T., Przybysz R., and Armstrong B. Mercury exposure in Montrealers who eat St. Lawrence River sportfish. *Environ Res* 2000; 84(1): 36-43.

Kutting B., Uter W., and Drexler H. The association between self-reported acrylamide intake and hemoglobin adducts as biomarkers of exposure. *Cancer Causes Control* 2008; 19(3): 273-281.

Magkos F., Manios Y., Babaroutsi E., and Sidossis L.S. Development and validation of a food frequency questionnaire for assessing dietary calcium intake in the general population. *Osteoporos Int* 2006; 17(2): 304-312.

Mahaffey K.R. Fish and shellfish as dietary sources of methylmercury and the omega-3 fatty acids, eicosahexaenoic acid and docosahexaenoic acid: risks and benefits. *Environ Res* 2004; 95(3): 414-428.

Mahaffey K.R., Clickner R.P., and Bodurow C.C. Blood organic mercury and dietary mercury intake: National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 and 2000. *Environ Health Perspect* 2004; 112(5): 562-570.

Mannisto S., Virtanen M., Mikkonen T., and Pietinen P. Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire in a case-control study on breast cancer. *J Clin Epidemiol* 1996; 49(4): 401-409.

Mieiro C.L., Pacheco M., Pereira M.E., and Duarte A.C. Mercury distribution in key tissues of fish (*Liza aurata*) inhabiting a contaminated estuary-implications for human and ecosystem health risk assessment. *J Environ Monit* 2009; 11(5): 1004-1012.

Miller T.M., Abdel-Maksoud M.F., Crane L.A., Marcus A.C., and Byers T.E. Effects of social approval bias on self-reported fruit and vegetable consumption: a randomized controlled trial. *Nutr J* 2008; 7: 18.

Muckle G., Ayotte P., Dewailly E., Jacobson S.W., and Jacobson J.L. Determinants of polychlorinated biphenyls and methylmercury exposure in inuit women of childbearing age. *Environ Health Perspect* 2001a; 109(9): 957-963.

Muckle G., Ayotte P., Dewailly E.E., Jacobson S.W., and Jacobson J.L. Prenatal exposure of the northern Quebec Inuit infants to environmental contaminants. *Environ Health Perspect* 2001b; 109(12): 1291-1299.

Natarajan L., Flatt S.W., Sun X., Gamst A.C., Major J.M., Rock C.L., *et al.* Validity and systematic error in measuring carotenoid consumption with dietary self-report instruments. *Am J Epidemiol* 2006; 163(8): 770-778.

Navarro-Alarcon M., and Cabrera-Vique C. Selenium in food and the human body: A review. *Sci Total Environ* 2008; 400(1-3): 115-141.

Neuhouser M.L., Tinker L., Shaw P.A., Schoeller D., Bingham S.A., Horn L.V., *et al.* Use of recovery biomarkers to calibrate nutrient consumption self-reports in the Women's Health Initiative. *Am J Epidemiol* 2008; 167(10): 1247-1259.

O'Brien A., Fries E., and Bowen D. The effect of accuracy of perceptions of dietary-fat intake on perceived risk and intentions to change. *J Behav Med* 2000: 23(5): 465-473.

Osowski J.M., Beare T., and Specker B. Validation of a food frequency questionnaire for assessment of calcium and bone-related nutrient intake in rural populations. *J Am Diet Assoc* 2007: 107(8): 1349-1355.

Rohrmann S., and Becker N. Development of a short questionnaire to assess the dietary intake of heterocyclic aromatic amines. *Public Health Nutr* 2002: 5(5): 699-705.

Sanzo J., Dorronsoro M., Amiano P., Amurrio A., Aguinagalde F., Azpiri M., et al. Estimation and validation of mercury intake associated with fish consumption in an EPIC cohort of Spain. *Public Health Nutr* 2001: 4(05): 981-988.

Satia J.A., King I.B., Morris J.S., Stratton K., and White E. Toenail and Plasma Levels as Biomarkers of Selenium Exposure. *Ann Epidemiol* 2006: 16(1): 53-58.

Schetagne R., Therrien J., and Lalumière R. Suivi environnementale du complexe La Grande. Évolution des teneurs en mercure dans les poissons. Groupe conseil Génivar Inc. et Direction Barrages et Environnement, Hydro-Québec Production: Montreal, 2002.

Sherlock J., Hislop J., Newton D., Topping G., and Whittle K. Elevation of mercury in human blood from controlled chronic ingestion of methylmercury in fish. *Hum Toxicol* 1984: 3(2): 117-131.

Sirot V., Guerin T., Mauras Y., Garraud H., Volatier J.L., and Leblanc J.C. Methylmercury exposure assessment using dietary and biomarker data among frequent seafood consumers in France CALIPSO study. *Environ Res* 2008: 107(1): 30-38.

Stern A.H. Estimation of the Interindividual Variability in the One-Compartment Pharmacokinetic Model for Methylmercury: Implications for the Derivation of a Reference Dose. *Regul Toxicol Pharmacol* 1997: 25(3): 277-288.

Sunde R.A., Paterson E., Evenson J.K., Barnes K.M., Lovegrove J.A., and Gordon M.H. Longitudinal selenium status in healthy British adults: assessment using biochemical and molecular biomarkers. *Br J Nutr* 2008; 99 Suppl 3: S37-47.

Trasande L., Landrigan P.J., and Schechter C. Public health and economic consequences of methyl mercury toxicity to the developing brain. *Environ Health Perspect* 2005; 113(5): 590-596.

US EPA. Methylmercury (MeHg) (CASRN 22967-92-6). US Environmental Protection Agency: Washington, DC., 2001.

WHO. Methylmercury, Environmental Health Criteria 101. International Programme on Chemical Safety (IPCS). World Health Organization: Geneva, 1990.

Willett W. *Nutritional epidemiology*. Oxford University Press: New York; Toronto, 1990.

Xue F., Holzman C., Rahbar M.H., Trosko K., and Fischer L. Maternal fish consumption, mercury levels, and risk of preterm delivery. *Environ Health Perspect* 2007; 115(1): 42-47.

Chapitre 3. Disposition kinetics of selenium in healthy volunteers following therapeutic shampoo treatment

Noisel, N., Bouchard, M. and Carrier, G. (2010). Disposition kinetics of selenium in healthy volunteers following therapeutic shampoo treatment. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 29(3): 252-259.

Disposition kinetics of selenium in healthy volunteers following therapeutic shampoo treatment

Nolwenn Noisel¹, Michèle Bouchard^{1,*}, Gaétan Carrier¹

¹ Department of Environmental and Occupational Health, School of Public Health, Université de Montréal, P.O. Box 6128, Main Station, Montreal, Quebec, Canada, H3C 3J7

Corresponding author:

✉ Michèle Bouchard

Department of Environmental and Occupational Health

Université de Montréal

P.O. Box 6128, Main Station, Montreal, Quebec

H3C 3J7, CANADA

Telephone number: +1-514-343-6111 ext 1640

Fax number: +1-514-343-2200

3.1. Abstract

This study aimed at documenting the kinetic time courses of selenium (Se) in accessible biological matrices of volunteers following controlled applications of therapeutic shampoo containing Se, to better elucidate the mechanisms by which shampoo-Se accumulates in hair and hence estimate the contribution of this source to total Se body burden. Ten healthy volunteers were exposed to Se-shampoo three times a week over a month. Blood, hair and toenail concentrations along with daily urinary excretions were repeatedly measured over an 18-month period following the onset of application. Over the entire study period, blood concentrations of Se (range: 127 – 233 µg/l) and daily urinary excretions (range: 11.9 – 150 µg/d) remained within baseline range of the general population. Conversely, during shampoo application, mean Se concentrations in hair reached transitional levels of 89 µg/g while, following cessation of treatment, a mono-exponential decrease was observed with a mean half-life of 4.5 weeks. Two of the volunteers also exhibited an increase in toenail concentrations of Se during the study period. Results show that Se-shampoo does not contribute significantly to total Se body burden, as assessed from blood and urine levels. Differences observed between blood and urine time courses as compared to hair profiles and the presence of Se on hair grown before treatment indicates an adsorption on hair; however, the gradual decrease in Se concentrations in successive centimeters of hair grown following the application period suggests a concomitant absorption from the scalp during treatment with subsequent excretion in hair.

Keywords: Selenium, therapeutic shampoo, blood, hair, urine, toenails

3.2. Introduction

Selenium (Se) is an essential nutrient in humans that plays a predominant role in the formation of numerous enzymes and proteins (Brown and Arthur, 2001; Holben and Smith, 1999). Selenoproteins have strong antioxidant properties, which help reduce the formation of free radicals and prevent cellular damage (Ebert et al., 2006; May, 1999; Pappas et al., 2008). This is presumed to reduce cancer risk, particularly prostate cancer (Combs, 2004; Dewailly et al., 2003; Schrauzer, 1992). Some authors have further investigated the role of Se interaction with methylmercury (MeHg) in facilitating its detoxication (Rayman, 2000). The precise mechanism of this interaction remains to be elucidated but Se appears to limit MeHg absorption, thus reducing its bioavailability, and to enhance its elimination (Reilly, 2006; Watanabe, 2002). The beneficial effects of Se have led some authors to propose Se supplementation in some populations to prevent some types of cancer and to reduce risks of harmful effects caused by excessive MeHg intakes. However, internal levels of Se must remain within a narrow therapeutic window (NRC, 2000). Deficiencies or excesses may lead to adverse effects (1988; 1989b; Yang et al., 1983). It is thus important to properly assess internal exposure to Se and the contribution of various sources of exposure to the overall dynamics.

Food consumption of meat, fish and dairy products, as well as vegetables and grain products grown in Se-rich soil, is a major source of Se in humans (Barceloux, 1999; Navarro-Alarcon and Cabrera-Vique, 2008). Intake of vitamins and supplements, and use of therapeutic shampoos (anti-dandruff shampoos) containing high levels of Se may also constitute, in some cases, non negligible sources of Se exposure. In a cross-sectional study in the U.S. population (n = 71 men and 200 women), DiPietro et al. (1989) showed that individuals using anti-dandruff shampoos exhibited significantly higher levels of Se in hair than those who did not report such use (8.08 $\mu\text{g/g}$ for the 90th percentile

compared to $<4.5 \mu\text{g/g}$ for the median value). Leblanc et al. (1999) also reported the case of a subject with a high Se concentration (ca. $20 \mu\text{g/g}$) in a hair sample collected after a three-week application of Se-containing shampoo (on a regular basis), as compared to general baseline levels ($0.8 \mu\text{g/g}$). However, in those latter two studies, details on the frequency of shampoo use and internal levels of Se were not reported.

Cummins and Kimura (1971) studied the urinary excretion of Se in volunteers ($n = 16$) following weekly use of shampoos containing 1% Se disulfide for one year. Nevertheless, they did not observe any increase in Se excretions in 24-h urine collections provided monthly compared to those obtained in eight control subjects; corresponding Se time courses in other biological matrices (such as blood, hair and toenails) were not documented. Other authors measured urine and/or blood levels of Se following application of shampoos containing 2.5% Se disulfide (torso or entire body), but the number of treatment days (1 to 7) and observation period (2-3 days after application) were brief, and hair and toenails levels were not measured (Kalivas, 1993; Sanchez and Torres, 1984). In those studies, no increase in biological levels of Se was observed in the days following application. On the other hand, Ransone et al. (1961) reported the case of a 46-year-old woman who was using selenium sulphide shampoo two or three times a week for eight months and experienced intoxication symptoms such as tremor, abdomen pain and metallic taste in mouth; her Se levels in urine reached $3\ 200 \mu\text{g/l}$ at the time of hospitalization – confirming a dermal absorption of inorganic Se from the scalp – and dropped to background levels within four to five days following cessation of exposure.

Despite the publication of a number of studies aiming at assessing the time courses of Se in biological matrices following therapeutic shampoo treatment, the contribution of this Se source of exposure to total body burden is not fully elucidated. Following application of Se-containing shampoos, hair Se

was reported to be strongly fixed to the hair matrix and even prolonged washings was unsuccessful in removing it entirely (Alfthan, 1985). However, the question remains whether this hair Se is mainly the result of an adsorption phenomenon on the hair matrix or if it reflects an excretion of Se absorbed through the scalp. This aspect needs to be addressed, especially since several authors rely on hair measurements to monitor Se exposure (Mannisto et al., 2000; Slotnick and Nriagu, 2006).

This study was thus undertaken to document the kinetic time courses of Se concurrently in blood, urine, hair and toenails of volunteers before, during and after a repeated treatment with Se-containing shampoo, in order to better elucidate the mechanisms by which shampoo-Se accumulates in hair and hence estimate the contribution of this source to the total body burden of Se.

3.3. Materials and Methods

3.3.1. Volunteers

A controlled kinetic time course study in healthy subjects treated with Se-containing shampoo was conducted over an 18-month period, each subject being his own control as was done in other time course studies (Bouchard et al., 2006; Bügel et al., 2008; Longnecker et al., 1993; Timchalk et al., 1998). Such design with repeated measurements allows to point out individual variations in biological levels over time. Since the follow-up was achieved over an extended period of time, a limited number of human subjects were used.

For this purpose, ten subjects (eight women and two men) were recruited on a voluntary basis among the students and research assistants of the University of Montreal. The mean age (\pm SD) of the group was 27 ± 3.8 years old; the mean weight (\pm SD) was 72.1 ± 18.7 kg and the mean height (\pm SD) was 1.68 ± 0.06 m. The experimental protocol and consent forms were approved by Ethics Committee of the Faculty of Medicine of the University of Montreal. Signed consent forms were obtained from each volunteer prior to enrolment in the study.

An additional male volunteer (33 years old, 1.72 m and 74.1 kg) who used Se-shampoo everyday for the past five years also served as a positive control and as a reference for the comparison of biological levels with the other volunteers.

3.3.2. Treatment with Se-containing shampoo

The ten recruited volunteers self-applied three times a week, for a month, shampoo containing 2.5% of Se disulfide. At each treatment, they were asked to apply 30 ml of Se-containing shampoo for three minutes. A graded cup was provided for this purpose. Volunteers were requested not to use Se-containing shampoos over the two months preceding the onset of the study. During the study period, they were allowed to use hair conditioners but were requested not to dye their hair, which tends to reduce Se levels (Borella et al., 1998). In the 18 months following the one-month application period, they were also asked not to use Se-containing shampoos in order to assess the elimination kinetics of Se in biological samples.

The shampoo used for the study was bought in a pharmacy and is available without prescription. A homogenous pool of shampoos from commercial bottles of the same batch and with the same DIN was prepared and reappportioned in individual bottles to be distributed to each volunteer. Four aliquots of this pool (30 ml each) were also taken to measure Se concentrations in the shampoo.

3.3.3. Collection of biological samples

Blood and urine were collected once before the onset of application of Se-containing shampoo, to obtain pre-test values, then once a week during the 1-month treatment period, and every two weeks during the two-months following cessation of application (amounting to a total of nine samples for each matrix). The sampling sequence was based on reported absorption rate and elimination half-lives of [⁷⁵Se] following a single oral dose of [⁷⁵Se]selenite and [⁷⁵Se]selenomethionine (Griffiths et al., 1976; Thomson and Stewart, 1974). Under these exposure conditions, Se was rapidly absorbed in the

systemic circulation and elimination was triphasic, with respective half lives of 1 d, 8-9 d and 115-116 d for selenite and 0.4-2 d, 5-19 d and 207-290 d for selenomethionine.

Blood samples of each volunteer were always collected on the same day of the week, on Mondays. Blood was withdrawn by a nurse from the antecubital vein into vacutainer tubes (4 ml) containing EDTA (K2) (Fisher Scientific), as commonly done in previous studies assessing Se concentrations in blood (Longnecker et al., 1993; Morris et al., 1983). Samples were kept as such in the refrigerator at 4°C until analysis, which was conducted in the 2 to 3 days following sampling. Given that Se present in blood is rapidly incorporated in erythrocytes (Suzuki et al., 1998) and that Se concentration in plasma has been reported to be lower by approximately one third than in whole blood (Longnecker et al., 1993; Mason et al., 1998), Se was measured in whole blood to provide an estimation of total body burden of Se, as suggested by Ashton et al.(2009).

The volunteers were also asked to provide ≈12-h urine collections starting at 6 pm on the day preceding each blood sampling until the next morning, including first morning void (on the day of blood sampling). Each 12-h void was collected in a single polypropylene Nalgene® bottle of 1.5 l which is known to be appropriate for urine collection and storage of samples intended for Se analysis. As reported by some authors, such containers adsorb organic and inorganic species to a lesser extent than glass containers (Sabé et al., 2003; Zheng et al., 2002). For each urine collection, volunteers were asked to report the time of the last void prior to the onset of collection (before 6 pm) as well as the time of the first and last micturitions in the bottle. This information served to calculate total accumulation time and hence estimate daily urinary excretion. Bottles were kept in the refrigerator at 4°C by the participants during the entire collection period and then in the same conditions at the

laboratory until analysis, which was performed in the days following collections. Prior to analysis, total urine volume of each \approx 12-h urine collection was measured.

In addition to blood and urine samples, a hair strand was collected from each volunteer three months following the onset of application of Se-containing shampoo (i.e., at $t = 12$ weeks following the onset of treatment). The hair strand was taken in the occipital region and cut as close as possible to the root. Each hair strand was then cut into 1-centimeter segments in order to reconstruct past-exposure, considering that 1 cm corresponds more or less to a period of one month (Harkey, 1993; WHO, 1990). Up to nine centimeters of hair were analyzed, with the first two centimeters closest to the root considered to represent the two months following cessation of treatment, the following 1-centimeter segment considered to correspond to the month of treatment with Se-containing shampoo and the subsequent 6 centimeters representing the months prior to treatment. Those last 6 centimeters were however in contact with the shampoo during the treatment period. A second hair strand was also collected 8 months following the onset of treatment with Se-containing shampoo (i.e., between week $t = 30$ and $t = 34$) and the first centimeter closest to the root was analyzed in order to document the long-term elimination process of Se in hair post-treatment. This hair strand was thus grown after the application period and hence not in contact with Se-shampoo; it also served for the determination of baseline values of each volunteer. Only seven volunteers provided this second hair stand. After sampling, hair strands were kept at room temperature until analysis.

As for toenail samples, they were provided by each volunteer, once a month for 5 months, starting 4 months following the onset of application (i.e., at $t \approx 17, 21, 25, 29$ and 33 weeks following the onset of treatment) and then once a month for 2 to 3 months until 18 months after the onset of application. These collection periods should roughly correspond to the toenail segments grown on

average -1, +1, +2, +3, +4, +12, +13, +14 months with reference to the onset of treatment, considering that the growth rate of toenails is 0.03-0.05 mm/d, that is 0.9-1.5 mm/month (Slotnick and Nriagu, 2006), and that the average length of the ten toenails measured in this study was calculated to be 6.2 mm. Volunteers collected all toenails (big toe and other toes separately) in sealed plastic bags; they indicated the day of sampling on an affixed label and mailed it to the research team in prepaid envelopes. The only restriction was that toenails should not be treated or polished. Among the ten volunteers, one did not provide toenails. Toenails were analyzed twice: once with all ten toenails together and once without the big toenail.

At the time of each blood sampling, volunteers were also asked to fill in a brief questionnaire to document data such as fish and shellfish consumption (frequency and amounts), the consumption of supplements or vitamins potentially containing Se (brand name, frequency and amounts) as well as any other events susceptible of having an impact on the protocol or results (hair dyeing, loss of urine, missing of a shampoo application, etc.). In the cases of consumption of supplements or vitamins, the volunteers were asked to provide a sample for analysis of Se contents.

With regard to the volunteer who served as a positive control, he provided two samples of each biological matrix (blood, urine, hair and toenails), one at the beginning and one at the end of the study period (i.e., at $t = 0$ and 34 weeks of study onset).

3.3.4. Laboratory analysis of Se

Total Se in all the biological samples (blood, urine, hair and toenails) were analyzed by instrumental neutron activation (INAA) at the *École Polytechnique de Montréal* using Se-77m isotope ($t_{1/2} = 17.4$ s)

and a SLOWPOKE reactor, as described in Ghadirian et al. (2000) and similar to other studies (Kvicala et al., 1999; Longnecker et al., 1996; Morris et al., 1983; Slotnick and Nriagu, 2006). Se contents were also determined in shampoo aliquots as well as in nutritional supplements provided by the volunteers. After being weighted, the samples were placed in polyethylene irradiation vials and sealed without any sample treatment or washing, as suggested by Alfthan (1985). The operating conditions of the neutron reactor and sample characteristics are described in Tables 1 and 2. For quality control, the detector is tested every month with an Eu-152 source using four different gamma-rays. The neutron flow is verified every week with an iodine standard.

3.3.5. Data processing and statistical analyses

Descriptive statistics were computed in Microsoft Excel and statistical analyses were performed using a SPSS/PC Plus 16.0 software (SPSS Inc., Chicago). The time courses of Se concentrations in blood, hair and toenails of the volunteers along with the time profiles of daily urinary excretion during and following the application of Se-containing shampoo were determined and compared to baseline levels. Daily urinary excretion was calculated from estimated hourly excretion rate (total amounts of Se excreted/total accumulation period). To evaluate the variations in biomarker levels with time (within-subject effect), a one-way repeated measures analysis of variance was performed using the GLM repeated measures procedure in the SPSS program. The differences were considered significant if the probability of error was less than 5% ($p < 0.05$).

3.4. Results

3.4.1. Time course of Se concentrations in blood

Figure 1 presents the average blood-concentration time course of total Se for the ten volunteers (\pm SD) before, during and following the application of Se-containing shampoo. Arithmetic mean concentrations of Se in blood (\pm SD) varied between 164 ± 21.1 and 188 ± 19.1 $\mu\text{g/l}$ for the ten volunteers during the whole study period. Repeated measures ANOVA showed a statistically significant difference in blood concentrations of Se with time ($p=0.022$). However, this difference was tested to be solely the result of a transient and slight decrease in blood levels two weeks after cessation of treatment (at $t = 6$ weeks) ($p>0.05$ when excluding this value). Se concentrations in blood of the positive control, i.e. 171 and 213 $\mu\text{g/l}$, were in the same range as those of the treated volunteers. During the studied period, all measured blood concentrations (range: 127 – 233 $\mu\text{g/l}$) remained within baseline range of the population of the same geographical area (50–250 $\mu\text{g/l}$ in Quebec (INSPQ, 2004) and 182 ± 37 $\mu\text{g/l}$ in Canada (Dickson and Tomlinson, 1967)).

3.4.2. Time course of Se excretion in urine

Figure 2 depicts the average time course of Se excretion in the urine of the ten volunteers (\pm SD) before, during and following the application of Se-containing shampoo. Mean Se daily excretion (\pm SD) varied between 52.3 ± 27.2 $\mu\text{g/d}$ (minimum of excretion at $t = 8$ weeks following the beginning of application) and 101 ± 19.4 $\mu\text{g/d}$ (maximum of excretion at $t = 3$ weeks). There was no statistically significant difference in the urinary excretion of total Se with time (repeated measures ANOVA) following the onset of treatment and compared to pre-exposure levels. At week $t = 8$ following the

onset of treatment (i.e., 4 weeks after the end of treatment), daily urinary excretions of total Se decreased slightly but in a non-significant manner, similar to the blood variation but with a two-week delay. During the entire application and observation period, all urinary values (range: 11.9 – 150 $\mu\text{g}/\text{d}$) remained within baseline range of the general population (20–200 $\mu\text{g}/\text{d}$ (Hawkes et al., 2008; Longnecker et al., 1991; Sanchez and Torres, 1984)) and comparable to the daily excretion rate of the positive control (96 and 109 $\mu\text{g}/\text{d}$).

3.4.3. Time course of Se concentrations in hair

Figure 3 depicts the average concentration-time course of Se in hair of the group of volunteers (\pm SD) during and following treatment with Se-shampoo. During the treatment period, a clear increase in total Se concentrations in hair was observed as compared to measured baseline levels of $1.67 \pm 1.63 \mu\text{g}/\text{g}$; the mean value in the hair segment corresponding to the 1-month application period was calculated to be $89.4 \mu\text{g}/\text{g}$ (SD = $\pm 49.2 \mu\text{g}/\text{g}$; maximum value of $168 \mu\text{g}/\text{g}$). The measured baseline level of Se in hair was close to median background levels of 0.5-0.7 $\mu\text{g}/\text{g}$ reported in literature (Hawkes et al., 2008; Klevay et al., 2004; Spallholz et al., 2005).

Following cessation of treatment, Se concentrations in centimeters of hair grown post-treatment decreased significantly and returned to baseline levels in the hair strand sampled eight months following the onset of application. A mono-exponential decrease in Se concentrations in consecutive centimeter segments of hair grown post treatment was observed, with an apparent first order elimination half-life of on average (\pm SD) of 4.5 ± 1.3 weeks (range: 3.1 – 7.2 weeks). Because these hair segments were grown post-treatment and thus not in contact with applied Se-shampoo, this elimination time course cannot be explained by an adsorption phenomenon.

Figure 3 also shows the variations in Se concentrations in consecutive hair segments grown prior to the onset of shampoo application but in contact with Se-shampoo during application (pre-treatment times of -1 to -6 months). Mean concentrations of Se in these hair segments varied between 40.3 and 90.3 $\mu\text{g/g}$ (SD of $\pm 18.6 - 32.6 \mu\text{g/g}$), which is much higher than the measured baseline levels of Se in hair of $1.67 \pm 1.63 \mu\text{g/g}$. Because these segments of hair were grown prior to onset of treatment, the observed Se concentrations obviously result from external adsorption and not an excretion of dermally absorbed Se.

As for the positive control, his Se levels in hair ranged from 45.0 to 111 $\mu\text{g/g}$. This variation was compatible with a change in Se-shampoo concentration (i.e., at the time of first sampling, the volunteer used a 1% Se-containing shampoo whereas at the time of the second sampling, he used a 2.5% Se-shampoo).

3.4.4. Time course of Se concentrations in toenails

Figure 4 shows the average concentration-time course of Se in toenails of the group of volunteers, collected 4 to 8 months and 16 to 18 months following the onset of application of Se-containing shampoo. No significant differences in mean toenail concentrations of Se were observed over time. There were also no significant differences in Se concentrations when analyzing all ten toenails together or when excluding the big toenail. Average toenail concentrations of Se at the different time points (all toenails together) varied between 1.11 and 2.44 $\mu\text{g/g}$ (SD of $\pm 0.125 - 3.16 \mu\text{g/g}$), whereas mean baseline values of 0.5-0.9 $\mu\text{g/g}$ were reported in the literature (Garland et al., 1993; Hunter et al., 1990; Krogh et al., 2003; St-Pierre et al., 2006). However, when looking at individual time courses, two of the volunteers (Fig. 5) appeared to show elevated Se concentrations following treatment onset

(max of 3.85 and 10.5 $\mu\text{g/g}$, respectively) with a return to baseline values after more than 2.5 months (10 weeks). Se concentrations in the two toenail samples provided by the positive control were 4.73 and 4.10 $\mu\text{g/g}$, which is roughly 3 times higher than mean values observed in the treated volunteers.

3.4.5. Analysis of questionnaire data and Se concentrations in shampoo and food supplements

Analysis of questionnaire data indicated a low consumption rate of seafood during the whole study period (on average less than once a week). Moreover, none of the participants reported to have dyed their hair during the study period and only two volunteers indicated to have taken daily food supplements containing fish oil. Mean Se contents of these supplements analyzed in duplicate were 0.05 $\mu\text{g/g}$ and 0.081 $\mu\text{g/g}$, with a weight ranging from 1.572 to 1.612 g, which translates into a negligible daily intake of 0.15 and 0.24 $\mu\text{g/d}$.

Furthermore, concentrations of Se in the shampoo used for the controlled treatment of volunteers contained on average 13 103 $\mu\text{g Se/g}$ shampoo, that is about 2.37% of Se disulfide instead of 2.5% theoretically. This corresponds to the mean value obtained from analysis of quadruplicate aliquots of the pool of shampoo.

3.5. Discussion

This study was undertaken to assess the kinetic time courses of Se in accessible biological matrices during and following a controlled repeated treatment with Se-containing shampoo in volunteers. The concomitant analysis of several biological matrices (blood, urine, hair and toenails) facilitated the comprehension of the kinetics of applied Se. Results show that exposure to Se-shampoo three times a week for one month did not result in any significant increase in total Se concentrations in whole blood and urine of the studied group of volunteers. Conversely, a significant increase in total Se concentrations in hair was observed during the treatment period followed by a gradual decrease after cessation of treatment. In some of the volunteers, an increase in toenail concentrations was also observed. On the other hand, during the study period, none of the volunteers complained of adverse effects related to excessive Se exposure, such as broken or brittle nails, hair loss, or other non specific signs and symptoms (nausea, vomiting, tiredness...).

Blood and urine time courses suggest that the repeated shampoo applications did not contribute significantly to total Se body burden and did not visibly alter the homeostatic equilibrium of Se. With a different study design, Cummins and Kimura (1971), Kalivas (1993) and Sanchez and Torres (1984) also failed to observe any effect of Se-shampoo applications (1% or 2.5% Se) on blood/serum or urine concentrations. However, both in blood and urine, a transitional decrease in Se levels was observed in our study respectively at two and four weeks following cessation of treatment (but only significant for blood). This may be due to a re-adjustment of Se regulation (although it may also simply be a random phenomenon). A similar phenomenon was observed by Yang et al. (1989a). Overall, the range of Se concentrations observed in blood of the volunteers under study is very similar to the mean concentrations of Se in blood of $182 \pm 37 \mu\text{g/l}$ reported by Dickson and Tomlinson (1967) for the

Canadian population ($n = 254$) and to geometric mean reference values of $2.8 \mu\text{mol/l}$ ($221 \mu\text{g/l}$) in blood ($n = 472$) established for the Quebec population (INSPQ, 2004).

In contrast, the use of Se-shampoos clearly caused a marked increase in hair concentrations of Se for all volunteers (values exceeding $100 \mu\text{g/g}$ in three cases) as compared to measured baseline values (average \pm SD of $1.67 \pm 1.63 \mu\text{g/g}$) and those reported in the literature (Iyengar and Woittiez, 1988; Klevay et al., 2004; Spallholz et al., 2005). These findings are in line with other biomonitoring studies in individuals who reported using Se-containing shampoos (DiPietro et al., 1989; LeBlanc et al., 1999; Morris et al., 1983). Indeed, in a cross-sectional study in nine U.S. subjects, Morris et al. (1983) showed that three individuals with relatively high concentrations of Se in hair recalled using Se-containing shampoo (5.59 , 22.1 and $84.3 \mu\text{g/g}$ compared to the mean value of $0.5 \mu\text{g/g}$ for non-exposed individuals). Similarly, in another cross-sectional study in the U.S. population ($n = 71$ men and 200 women), DiPietro et al. (1989) showed that individuals using anti-dandruff shampoos exhibited significantly higher levels of Se in hair ($8.08 \mu\text{g/g}$ for the 90th percentile) than those who did not report such use.

The observed increased in hair concentrations of Se may be explained by two concurrent kinetic mechanisms: *i*) an adsorption of Se on the grown hair matrix and *ii*) an excretion of dermally absorbed Se. The fact that high Se levels were observed in analyzed hair segments grown prior to the onset of treatment but in contact with Se-shampoo during the 4-week treatment period is indicative of an adsorption of Se on hair. Indeed, mean concentration values varied between 40 and $90.3 \mu\text{g/g}$ depending on the hair segments, which is comparable to levels measured in the centimeter of hair grown during application period (mean value of $89.4 \mu\text{g/g}$). On average, hair segments grown prior to treatment but closer to the root exhibited progressively higher concentrations of Se than those

farther from the root, maybe explained by the greater contact with applied shampoo of hair segments closer to the root, hence greater amounts of Se adsorbed per centimeter of hair. This gradual variation in Se concentrations was however not observed for all volunteers.

It is to be noted that hair strands were first sampled 12 weeks after the beginning of shampoo treatment, which means that, prior to sampling, they were washed for two months with normal shampoo following the 1-month Se shampoo treatment, but still presented high Se levels. This is in accordance with previous findings by Alfthan (1985), who pointed out that hair Se resulting from shampoo treatment is not easily removed with repeated washings and is thus strongly bound to the hair matrix. Se appears to bind to cysteine amino-acid of keratin proteins constituting the hair matrix (Marshall et al., 1991; Spallholz et al., 2005; Yu et al., 1993). According to Morris et al. (1983), the high surface-to-mass ratio of hair, its high content in sulphur ions, and its porosity facilitates the fixation of Se.

The gradual decrease in Se concentrations in successive centimeters of hair grown post-treatment (hence not in contact with Se-containing shampoo), with a return to baseline levels only after 26 weeks post-treatment, suggests that applied Se was also dermally absorbed from the scalp and slowly excreted in hair, with an apparent elimination half-life of 4.5 weeks. If hair Se were only adsorbed on the hair matrix and redistributed on newly-grown hair during washings – not absorbed and excreted – we would likely observe an instantaneous drop in Se concentrations of hair grown post-treatment rather than a linear decrease with time post-treatment. Burke et al. (1992) also reported a percutaneous absorption of topically applied L-selenomethionine in volunteers in the context of a study assessing the degree of acute damage to the skin induced by ultraviolet irradiation with

increasing concentrations of topical L-selenomethionine. In the latter study, plasma levels of total Se remained within baseline levels, as obtained in the current study.

The discrepancies observed between the hair and the blood/urine profiles would suggest that Se dermally absorbed after shampoo treatment was quantitatively negligible compared to nutritional Se, which is incorporated in blood proteins. Indeed, it has been shown in rat studies that ingestion of both organic (selenocysteine or “Se-cys” and selenomethionine or “SeMet”) and inorganic forms of Se such as sodium selenite (Na_2SeO_3) and sodium selenate (Na_2SeO_4), present in food, vitamins and supplements, lead to the formation of a selenide metabolite, which is utilized in the synthesis of selenoproteins (through the formation of Se-cys) (Itoh and Suzuki, 1997; Shiobara et al., 1998; Suzuki et al., 2006). This pathway is strongly regulated, such that the body burden of Se is constantly maintained within a narrow range through homeostatic control mechanisms. Excessive Se in the body – not incorporated in the regulated pathway – is excreted from the body (Itoh and Suzuki, 1997; Shiobara et al., 1998). Given the strong Se homeostasis in the body and the plausibly constant equilibrium between blood and urine concentrations, the additional contribution of dermally absorbed Se in the current study compared to endogenous Se resulting from food intake was apparently not sufficient to affect significantly these internal concentrations of total Se. Burke et al. (1992) also suggested that the amounts of Se in shampoos could be too low to induce a significant increase in blood levels of total Se, and in turn in urinary excretions. However, the similar patterns of Se in both nails and hair of some of the volunteers suggest that a small fraction of shampoo-Se may reach the systemic circulation and be eventually excreted in phaneras without entering the regulated pathway.

A dynamic equilibrium between regulated Se in blood and that of the root of the hair is expected under normal dietary conditions; hence concentrations of Se in blood and hair should normally evolve proportionally. Consequently, the elimination time course of Se observed in the hair of the volunteers under study would plausibly have to reflect the excretion of a Se form that is not incorporated in the regulated pathway of synthesis of selenoproteins and that is transferred to hair components to a much greater extent than the other forms of Se in the body. The applied selenium disulfide form, although likely to enter the regulated pathway of synthesis of selenoproteins, would also have to enter a non regulated pathway (Fig. 6), such that it is incorporated in general proteins, or more specifically into amino-acids forming hair keratin (and that of nails). Se disulfide appears to have strong covalent bonds, which may well restrain its metabolism to selenide and incorporation in the regulated pathway of synthesis of selenoproteins, compared to other common inorganic form of Se, sodium selenide and selenate (Salbe and Levander, 1990). On the other hand, it cannot completely be ruled out that a certain part of Se penetrated deep into the hair shaft without reaching the bloodstream and was then slowly excreted into hair. Given that this research is to our knowledge the first attempt to document Se absorption and disposition in urine, blood and phaneras concomitantly following shampoo treatment over a long period of time, this remains to be confirmed in future kinetic studies looking at Se speciation following shampoo treatment.

The incorporation of Se in a non regulated pathway (Fig. 6) has also been reported in the case of ingested selenomethionine specifically. In addition to its utilization in the regulated synthesis of selenoproteins, selenomethionine may also enter the methionine pool, undistinguished from methionine, and thus be incorporated in general proteins and stored, particularly in organs with high rates of protein synthesis such as the skeletal muscles (Bügel et al., 2008; Daniels, 1996; Schrauzer, 2000; Shiobara et al., 1998; Sunde, 1990). This latter non regulated pathway was reported to explain

the observed transient increase in Se concentrations in the body of animals supplied with selenomethionine, contrary to those administered orally inorganic Se or a selenocysteine organic form (Kim and Mahan, 2001; Shiobara et al., 1998).

With regard to toenail measurements, no significant increase in average Se concentrations of the group of volunteers was observed during the study period. However, when looking at individual time courses, two of the volunteers showed a marked increase in Se concentrations of toenails. The positive control of our study also had three times more Se in toenails than the average values for the other volunteers, which may reflect a higher absorption of Se or a higher adsorption on toenails. Several authors concluded that nails are less prone to contamination by Se-containing shampoo or rinse water, because of their lower porosity (Morris et al., 1983), therefore suggesting that increases in toenail concentrations may originate in part from absorbed Se (toenails being rich in keratin like hair). Like hair, toenails reflect past exposure of essential nutrients, such as Se, and of metals and metalloids, such as MeHg and arsenic (Krogh et al., 2003). In theory, we would expect a time course in treated volunteers similar to that of hair, although not in the same time frame given that toenails grow at a rate of 0.9-1.5 mm per month whereas hair grows on average at a rate of 1 cm per month (Harkey, 1993; Slotnick and Nriagu, 2006; WHO, 1990). Longnecker et al. (1993) observed an increase in toenail concentrations of Se with maximum values of about 10 µg/g observed following a 1-year supplementation with 206 or 388 µg/d of Se-rich bread. On the other hand, in a cross-sectional exposure study, Morris et al. (1983) failed to observe any significant difference in Se levels of toenails among volunteers undergoing Se-shampoo treatment whereas Se levels in hair of up to 87.8 µg/g were reported for these volunteers. In our study and that of Morris et al. (1983), peak excretion associated with treatment may have been missed for most of the group of volunteers with the followed sampling protocol (Slotnick and Nriagu, 2006).

As for the two volunteers who reported to consume omega-3 food supplements, no differences in blood concentrations of Se or urinary excretion were apparent compared to the other volunteers. The daily consumption of two tablets of food supplements by these two volunteers lead to an additional daily intake of Se between 0.15 and 0.24 $\mu\text{g}/\text{d}$, which is negligible compared to Se daily intake from food estimated as twice the daily urinary excretion (Thomson, 2004), that is 104 to 202 $\mu\text{g}/\text{d}$.

3.6. Conclusion

This study is the first attempt to document the time courses of Se in blood, urine, hair and nails of volunteers after a prolonged controlled treatment with Se-containing therapeutic shampoo. It allowed to determine the contribution of shampoo-Se to total Se body burden and provide more insights into the mechanisms by which this form of Se accumulates in hair, that is simple adsorption and/or excretion of dermally absorbed Se. Results showed that treatment with Se-containing shampoo did not alter body Se homeostasis, as assessed by blood and urine levels of total Se; however, hair and nail profiles appear to reflect an excretion of absorbed Se disulfide in addition to a certain adsorption. Under the current study conditions, hair was not a good indicator of total Se body burden but during the post-application period, it appeared to reflect the disposition of a specific form. This study also confirms the necessity of taking into account chemical speciation of Se in future research to properly assess Se disposition in biological tissues and the contribution of the different sources to total Se body burden.

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Acknowledgments

We are grateful to the volunteers who participated in the study. We also address a special thanks to Lise Gareau and Josée Desrochers, our technicians, for the analysis of Se in biological matrices. Finally, we would like to highlight the contribution of Greg Kennedy and Jean St-Pierre for the INAA analysis.

3.7. Tables and Figures

Table 1: Operating conditions for the analysis of total Se by Instrumental Neutron Activation Analysis

Parameter	Value
Flow	5.3×10^{11} neutrons/cm ² /s
Irradiation time	20 seconds
Decreasing time	7 seconds
Reading time	30 seconds
Detection position	1, direct position (closest to the detector)

Table 2: Sample characteristics for the Instrumental Neutron Activation Analysis

Characteristics	Analyzed sample					
	Blood	Urine	Hair	Toenail	Shampoo	Omega-3 food supplement
Sample pre-treatment	none	none	none	none	none	none
Approximate weight of analyzed sample (g)	1.0	1.0	0.1	0.05	1.5	1.5
Experimental error ($\mu\text{g/g}$)	0.01	0.01	0.1-1 ^b	0.2	65	0.003
Limit of detection ($\mu\text{g/g}$) ^a	0.02	0.02	0.2-2 ^b	0.4	130	0.006

^a The limit of detection is twice the experimental error.

^b Experimental error and limit of detection depend strongly on the order of magnitude of the measured values. For hair, the range of concentrations is very wide (1-100 $\mu\text{g/g}$), and experimental error and limit of detection vary of a 10-fold factor.

Captions to Figures

Figure 1. Concentration-time course of Se in whole blood of the ten volunteers before, during and following the onset of application of Se-containing shampoo. Each point represents mean value and vertical bars indicate standard errors.

Figure 2. Time course of Se daily urinary excretion in the ten volunteers before, during and following the onset of application of Se-containing shampoo. Each point represents mean value and vertical bars indicate standard errors.

Figure 3. Concentrations of Se in successive centimeters of hair grown prior to treatment with Se-containing shampoo, during the 1-month treatment period and following the application period. Each centimeter of hair was taken to correspond to a one-month period. Each box represents mean value from the group of volunteers and vertical bars indicate standard errors. Value at time $t = 8$ months reflects baseline levels. Vertical arrays indicate the time of hair sampling.

Figure 4. Concentration-time course of Se in toenails of the group of volunteers collected during the 4 to 8 months and 16 to 18 months following the onset of application of Se-containing shampoo. Each point represents mean value from the group of volunteers and vertical bars indicate standard errors.

Figure 5. Concentration-time course of Se in toenails of two volunteers (A and B) showing a clear increase in concentrations post-treatment. Toenails were collected during the 4 to 8 months and 16 to 18 months following the onset of application of Se-containing shampoo.

Figure 6. Simplified representation of selenium metabolic pathways adapted from Schrauzer (2000) and Sunde (1990).

Figure 1

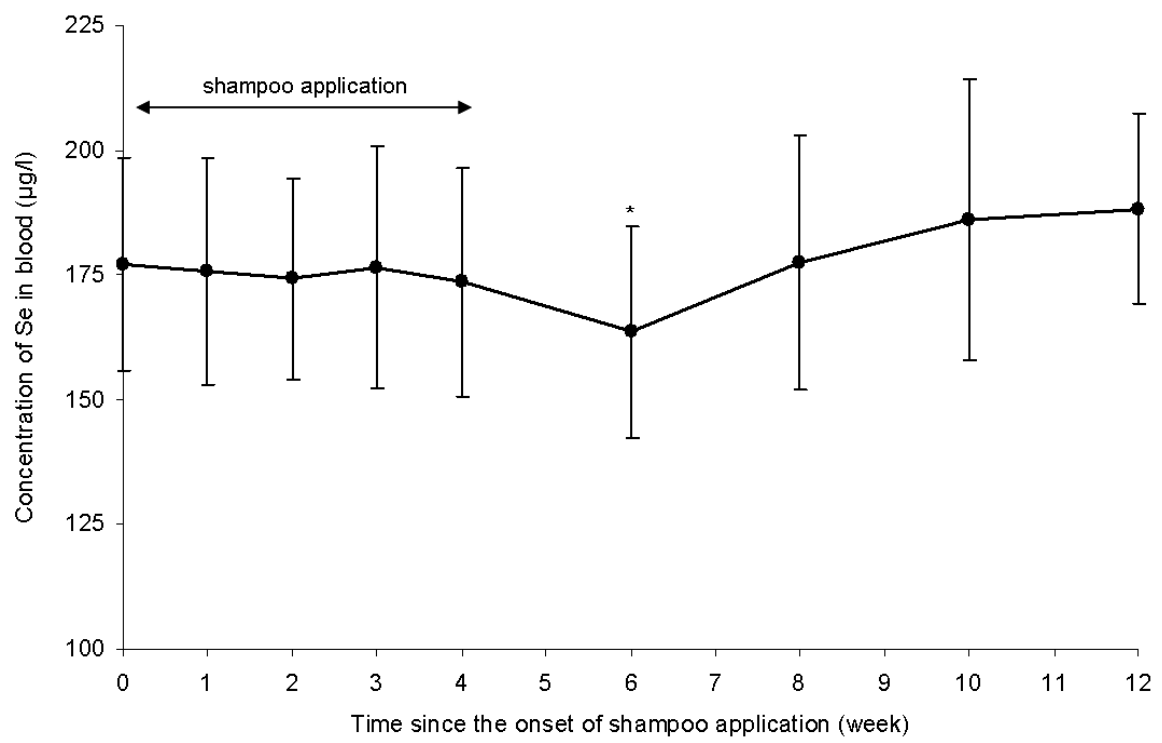


Figure 2

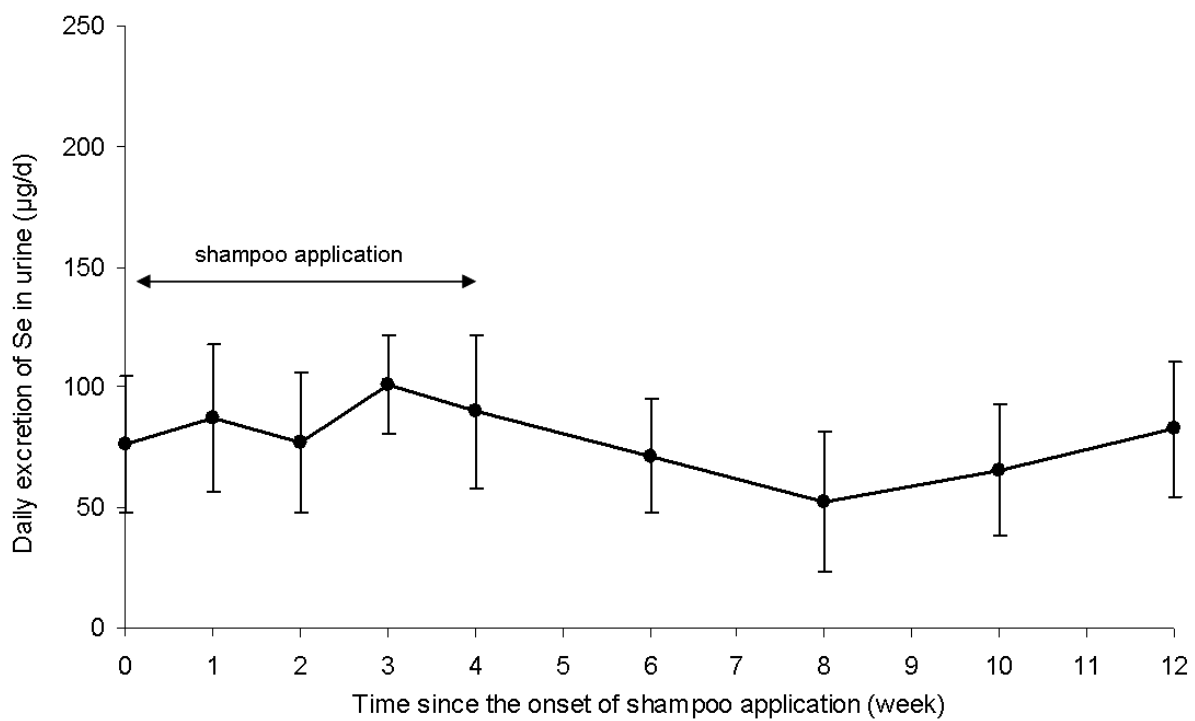


Figure 3

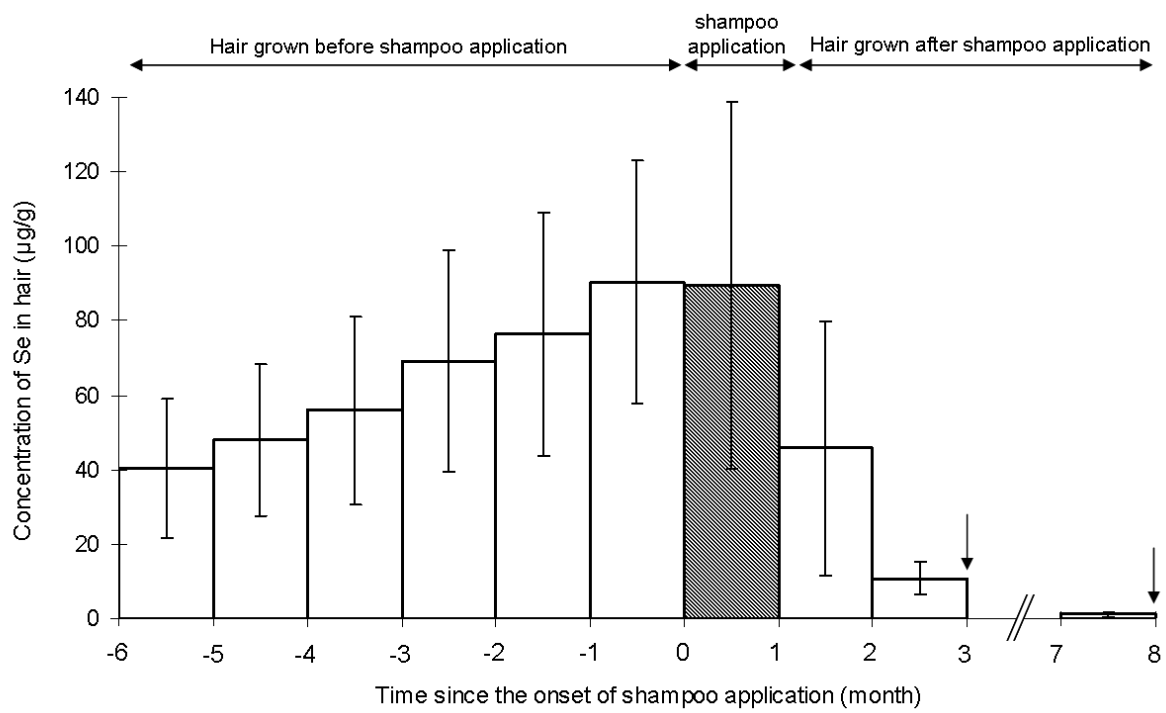


Figure 4

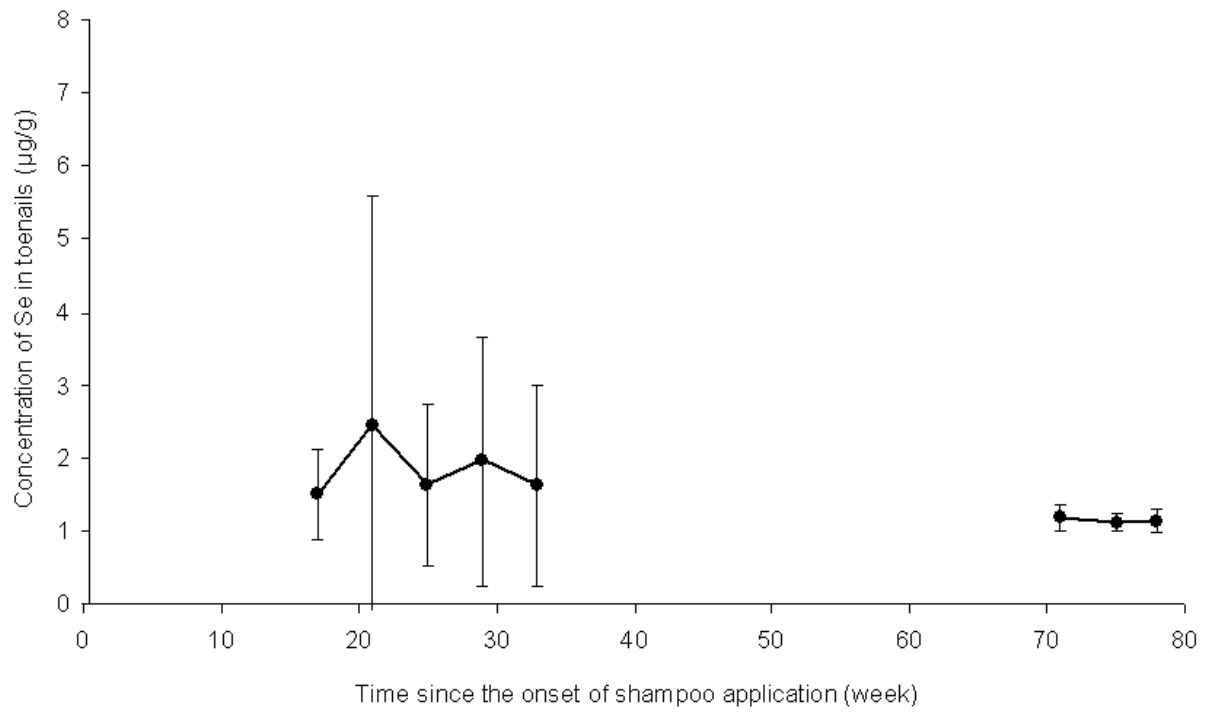


Figure 5

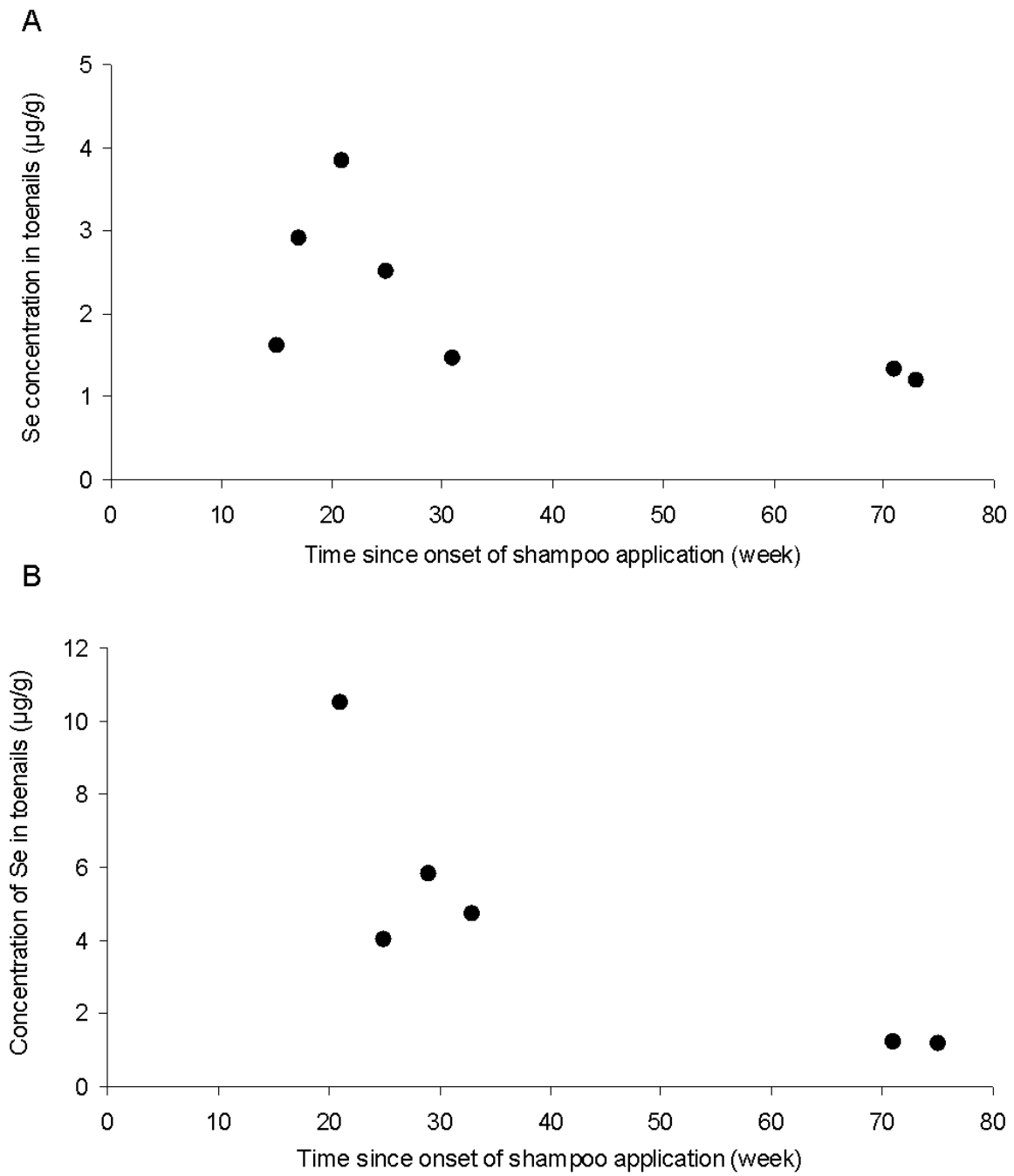
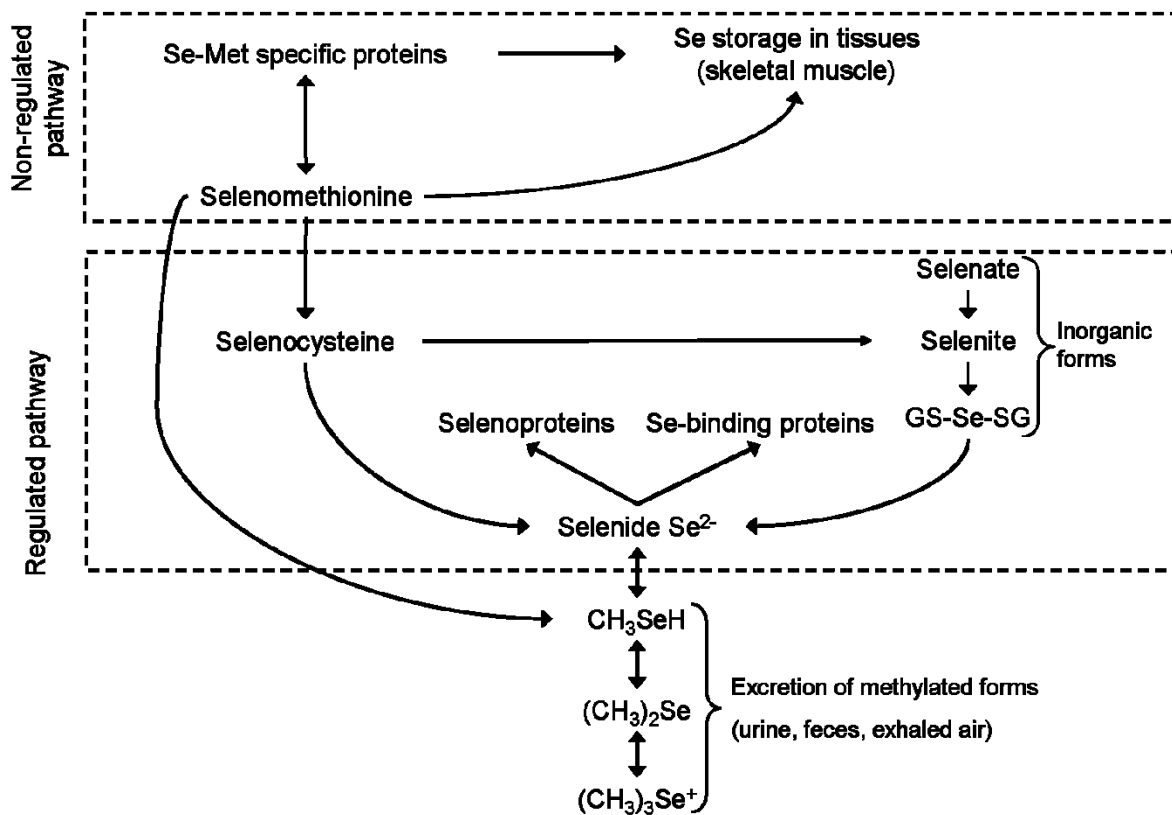


Figure 6



3.8. References

- Alfthan, G., 1985. Can externally deposited Se be removed from hair? *Clin. Chem.* 31, 500.
- Ashton, K., Hooper, L., et al., 2009. Methods of assessment of selenium status in humans: a systematic review. *Am. J. Clin. Nutr.* 89, 2025S-2039S.
- Barceloux, D.G., 1999. Selenium. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 37, 145-172.
- Borella, P., Bargellini, A., et al., 1998. Selenium determination in biological matrices. *Microchem. J.* 58, 325-336.
- Bouchard, M., Carrier, G., et al., 2006. Biological Monitoring of Exposure to Organophosphorus Insecticides in a Group of Horticultural Greenhouse Workers. *Ann. Occup. Hyg.* 50, 505-515.
- Brown, K.M. and Arthur, J.R., 2001. Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutr.* 4, 593-599.
- Bügel, S., Larsen, E.H., et al., 2008. Absorption, excretion, and retention of selenium from a high selenium yeast in men with a high intake of selenium. *Food Nutr Res* 52.
- Burke, K.E., Burford, R.G., et al., 1992. The effect of topical L-selenomethionine on minimal erythema dose of ultraviolet irradiation in humans. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 9, 52-57.
- Combs, G.F., Jr., 2004. Status of selenium in prostate cancer prevention. *Br. J. Cancer* 91, 195-199.
- Cummins, L.M. and Kimura, E.T., 1971. Safety evaluation of selenium sulfide antidandruff shampoos. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 20, 89-96.
- Daniels, L.A., 1996. Selenium metabolism and bioavailability. *Biol. Trace Elem. Res.* 54, 185-199.

Dewailly, E., Mulvad, G., et al., 2003. Inuit are protected against prostate cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 12, 926-927.

Dickson, R.C. and Tomlinson, R.H., 1967. Selenium in blood and human tissues. *Clin. Chim. Acta* 16, 311-321.

DiPietro, E.S., Phillips, D.L., et al., 1989. Determination of trace elements in human hair. Reference intervals for 28 elements in nonoccupationally exposed adults in the US and effects of hair treatments. *Biol. Trace Elem. Res.* 22, 83-100.

Ebert, R., Ulmer, M., et al., 2006. Selenium supplementation restores the antioxidative capacity and prevents cell damage in bone marrow stromal cells in vitro. *Stem Cells* 24, 1226-1235.

Garland, M., Morris, J.S., et al., 1993. Toenail trace element levels as biomarkers: reproducibility over a 6-year period. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2, 493-497.

Ghadirian, P., Maisonneuve, P., et al., 2000. A case-control study of toenail selenium and cancer of the breast, colon, and prostate. *Cancer Detect. Prev.* 24, 305-313.

Griffiths, N.M., Stewart, R.D., et al., 1976. The metabolism of [⁷⁵Se]selenomethionine in four women. *Br. J. Nutr.* 35, 373-382.

Harkey, M.R., 1993. Anatomy and physiology of hair. *Forensic Sci. Int.* 63, 9-18.

Hawkes, W.C., Richter, B.D., et al., 2008. Response of selenium status indicators to supplementation of healthy North American men with high-selenium yeast. *Biol. Trace Elem. Res.* 122, 107-121.

Holben, D.H. and Smith, A.M., 1999. The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. *J. Am. Diet. Assoc.* 99, 836-843.

Hunter, D.J., Morris, J.S., et al., 1990. Predictors of selenium concentration in human toenails. *Am. J. Epidemiol.* 132, 114-122.

INSPQ, 2004. Étude sur l'établissement de valeurs de référence d'éléments traces et de métaux dans le sang, le sérum et l'urine de la population de la grande région de Québec. Institut national de santé publique du Québec. INSPQ, Québec.

Itoh, M. and Suzuki, K.T., 1997. Effects of dose on the methylation of selenium to monomethylselenol and trimethylselenonium ion in rats. *Arch. Toxicol.* 71, 461-466.

Iyengar, V. and Woittiez, J., 1988. Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. *Clin. Chem.* 34, 474-481.

Kalivas, J., 1993. Lack of serum selenium rise after overnight application of selenium sulfide. *Arch. Dermatol.* 129, 646-648.

Kim, Y.Y. and Mahan, D.C., 2001. Effect of dietary selenium source, level, and pig hair color on various selenium indices. *J. Anim. Sci.* 79, 949-955.

Klevay, L.M., Christopherson, D.M., et al., 2004. Hair as a biopsy material: trace element data on one man over two decades. *Eur. J. Clin. Nutr.* 58, 1359-1364.

Krogh, V., Pala, V., et al., 2003. Toenail selenium as biomarker: reproducibility over a one-year period and factors influencing reproducibility. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 17, 31-36.

Kvicala, J., Zamrazil, V., et al., 1999. Characterization of selenium status of inhabitants in the region Usti nad Orlici, Czech Republic by INAA of blood serum and hair and fluorimetric analysis of urine. *Biol. Trace Elem. Res.* 71-72, 31-39.

LeBlanc, A., Dumas, P., et al., 1999. Trace element content of commercial shampoos: impact on trace element levels in hair. *Sci. Total Environ.* 229, 121-124.

Longnecker, M.P., Stampfer, M.J., et al., 1993. A 1-y trial of the effect of high-selenium bread on selenium concentrations in blood and toenails. *Am. J. Clin. Nutr.* 57, 408-413.

Longnecker, M.P., Stram, D.O., et al., 1996. Use of selenium concentration in whole blood, serum, toenails, or urine as a surrogate measure of selenium intake. *Epidemiology* 7, 384-390.

Longnecker, M.P., Taylor, P.R., et al., 1991. Selenium in diet, blood, and toenails in relation to human health in a seleniferous area. *Am. J. Clin. Nutr.* 53, 1288-1294.

Mannisto, S., Alfthan, G., et al., 2000. Toenail selenium and breast cancer-a case-control study in Finland. *Eur. J. Clin. Nutr.* 54, 98-103.

Marshall, R.C., Orwin, D.F., et al., 1991. Structure and biochemistry of mammalian hard keratin. *Electron Microsc. Rev.* 4, 47-83.

Mason, M.M., Morris, J.S., et al., 1998. Comparison of whole blood, plasma and nails as monitors for the dietary intake of selenium. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 236, 29-34.

May, S.W., 1999. Selenium-based drug design: rationale and therapeutic potential. *Expert Opin. Investig. Drugs* 8, 1017-1030.

Morris, J.S., Stampfer, M.J., et al., 1983. Dietary selenium in humans toenails as an indicator. *Biol. Trace Elem. Res.* 5, 529-537.

Navarro-Alarcon, M. and Cabrera-Vique, C., 2008. Selenium in food and the human body: A review. *Sci. Total Environ.* 400, 115-141.

NRC, Ed. (2000). *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. National Academy of Sciences. Washington, National Research Council (NRC).

Pappas, A.C., Zoidis, E., et al., 2008. Selenoproteins and maternal nutrition. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 151, 361-372.

Ransone, J.W., Scott, N.M., Jr., et al., 1961. Selenium sulfide intoxication. *N. Engl. J. Med.* 264, 384-385.

Rayman, M.P., 2000. The importance of selenium to human health. *Lancet* 356, 233-241.

Reilly, C., 2006. *Selenium in Food and Health*. Springer, New York.

Sabé, R., Rubio, R., et al., 2003. Selenium measurement in human plasma with Zeeman effect electrothermal atomic absorption spectrometry: sample stability and calibration method. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 17, 73-77.

Salbe, A.D. and Levander, O.A., 1990. Effect of various dietary factors on the deposition of selenium in the hair and nails of rats. *J. Nutr.* 120, 200-206.

Sanchez, J.L. and Torres, V.M., 1984. Selenium sulfide in tinea versicolor: blood and urine levels. *J. Am. Acad. Dermatol.* 11, 238-241.

Schrauzer, G.N., 1992. Selenium. Mechanistic aspects of anticarcinogenic action. *Biol. Trace Elem. Res.* 33, 51-62.

Schrauzer, G.N., 2000. Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. *J. Nutr.* 130, 1653-1656.

Shiobara, Y., Yoshida, T., et al., 1998. Effects of dietary selenium species on Se concentrations in hair, blood, and urine. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 152, 309-314.

Slotnick, M.J. and Nriagu, J.O., 2006. Validity of human nails as a biomarker of arsenic and selenium exposure: A review. *Environ. Res.* 102, 125-139.

Spallholz, J.E., Boylan, L.M., et al., 2005. Arsenic and selenium in human hair: a comparison of five countries with and without arsenicosis. *Biol. Trace Elem. Res.* 106, 133-144.

St-Pierre, J., Kada, R., et al., 2006. Variation of selenium concentration in toenails following long-term storage, washing and reactor irradiation. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 269, 347-349.

Sunde, R.A., 1990. Molecular biology of selenoproteins. *Annu. Rev. Nutr.* 10, 451-474.

Suzuki, K.T., Doi, C., et al., 2006. Metabolism of ⁷⁶Se-methylselenocysteine compared with that of ⁷⁷Se-selenomethionine and ⁸²Se-selenite. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 217, 185-195.

Suzuki, K.T., Shiobara, Y., et al., 1998. Selective uptake of selenite by red blood cells. *Analyst* 123, 63-67.

Thomson, C.D., 2004. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. *Eur. J. Clin. Nutr.* 58, 391-402.

Thomson, C.D. and Stewart, R.D., 1974. The metabolism of (⁷⁵Se)selenite in young women. *Br. J. Nutr.* 32, 47-57.

Timchalk, C., Selim, S., et al., 1998. The pharmacokinetics and metabolism of ¹⁴C/¹³C-labeled ortho-phenylphenol formation following dermal application to human volunteers. *Hum. Exp. Toxicol.* 17, 411-417.

Watanabe, C., 2002. Modification of mercury toxicity by selenium: practical importance? *Tohoku J. Exp. Med.* 196, 71-77.

WHO, 1990. Methylmercury, Environmental Health Criteria 101. International Programme on Chemical Safety (IPCS). World Health Organization, Geneva.

Yang, G.Q., Wang, S.Z., et al., 1983. Endemic selenium intoxication of humans in China. *Am. J. Clin. Nutr.* 37, 872-881.

Yang, F.Y., Lin, Z.H., et al., 1988. Keshan disease--an endemic mitochondrial cardiomyopathy in China. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* 2, 157-163.

Yang, G., Zhou, R., et al., 1989a. Studies of safe maximal daily dietary selenium intake in a seleniferous area in China. I. Selenium intake and tissue selenium levels of the inhabitants. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* 3, 77-87.

Yang, G., Yin, S., et al., 1989b. Studies of safe maximal daily dietary Se-intake in a seleniferous area in China. Part II: Relation between Se-intake and the manifestation of clinical signs and certain biochemical alterations in blood and urine. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* 3, 123-130.

Yu, J., Yu, D.W., et al., 1993. Human hair keratins. *J. Invest. Dermatol.* 101, 56S-59S.

Zheng, J., Shibata, Y., et al., 2002. Study of the stability of selenium compounds in human urine and determination by mixed ion-pair reversed-phase chromatography with ICP-MS detection. *Anal. Bioanal. Chem.* 374, 348-353.

Chapitre 4. Study of selenium intake and disposition in various matrices based on mathematical algorithms derived from pooled biomonitoring data

Noisel, N., Carrier, G. and Bouchard, M. (2014). Study of selenium intake and disposition in various matrices based on mathematical algorithms derived from pooled biomonitoring data. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, article publié en ligne le 06 mai 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijheh.2014.04.005>

**Study of selenium intake and disposition in various matrices based on mathematical algorithms
derived from pooled biomonitoring data**

Nolwenn Noisel, MSc^a, Gaétan Carrier, Eng., MD, PhD^{a,b} and Michèle Bouchard, PhD^{a,*}

^a Department of Environmental and Occupational Health, Chair of Toxicological Risk Assessment and Management and Université de Montréal Public Health Research Institute (IRSPUM), University of Montreal, P.O. Box 6128, Main Station, Montreal, Quebec, Canada, H3C 3J7

^b Direction de la santé environnementale et de la toxicologie, Institut national de santé publique du Québec (INSPQ), 190, boul. Crémazie Est, Montréal, Québec, Canada, H2P 1E2

* Corresponding author at:

Michèle Bouchard

Associate professor

Department of Environmental and Occupational Health

University of Montreal

P.O. Box 6128, Roger-Gaudry Building, U424,

Main Station, Montreal, Quebec, Canada, H3C 3J7

Telephone number: +1 514 343 6111 x1640

Fax number: +1 514 343 2200

4.1. Abstract

Biomonitoring is increasingly used to assess exposure to selenium (Se) in the population. However, there is little harmonization among protocols used in the different studies (varying biological matrices, differences in expression of results (concentrations versus amounts, units)). This makes inter-comparison of biomonitoring results across studies difficult. From a public health risk perspective, it also becomes challenging to estimate baseline levels in biological matrices for populations exposed by various sources. The aim of this study was thus to perform a systematic analysis of the relationship between Se intakes and biological concentrations based on published data. Inclusion and exclusion criteria were used and led to select 75 published biomonitoring data in humans from an extended review of Se biomonitoring studies. This represents 8 628 individuals who provided biological samples aiming at documenting Se exposure and/or Se concentrations in two or more biological matrices. Mathematical algorithms that relate Se intakes to biological concentrations and establish matrix-to-matrix associations were derived from these pooled biomonitoring data. Logarithmic regressions showed good correlations between Se intakes and whole blood concentrations ($R^2 = 0.884$), plasma concentrations ($R^2 = 0.863$) and urinary excretion rates ($R^2 = 0.958$). Blood and plasma concentrations were also strongly related ($R^2 = 0.874$), as were whole blood concentrations and urinary excretion rates ($R^2 = 0.953$). The interpretation of the log-regression coefficients allowed illustrating Se physiology. Se concentrations in plasma tend to plateau when daily intake exceed 150 $\mu\text{g}/\text{d}$, whereas Se in urine increases rapidly above this threshold. The application of the algorithms to other independent data sets in order to reconstruct past Se intakes confirmed that interpretation of results on the basis of Se in integuments may be misleading if external contamination is not avoided. This approach based on pooled data covered a wide range of exposure and the large number of data integrated increased the level of confidence of results.

Keywords: Selenium, blood, plasma, urine, toenail, hair.

Abbreviations:

Se for selenium

I_{Se} represents Se intake expressed in $\mu\text{g}/\text{d}$ from objective measurement

B_{Se} represents Se concentration in whole blood expressed in $\mu\text{g}/\text{L}$

P_{Se} represents Se concentration indistinctly in plasma or serum expressed in $\mu\text{g}/\text{L}$

S_{Se} represents Se in serum

H_{Se} represents Se concentration in hair expressed in $\mu\text{g}/\text{g}$

U_{Se} represents Se in urine

$U1_{Se}$ represents daily excretion of urinary Se expressed in $\mu\text{g}/\text{d}$

$U2_{Se}$ represents Se concentration in urine expressed in $\mu\text{g}/\text{L}$

$U3_{Se}$ represents Se concentration in urine adjusted to the creatinine level expressed in $\mu\text{g}/\text{g creat.}$

T_{Se} represents Se concentration in toenails expressed in $\mu\text{g}/\text{g}$

4.2. Introduction

In the last decades, human biomonitoring has been extensively developed to monitor exposure to environmental contaminants and assess associated health risks in the population (Angerer et al., 2007; Cerna et al., 2012; Wilhelm et al., 2004). This approach is also applicable to essential elements such as selenium (Se). This element plays a predominant role in the formation of numerous enzymes and proteins (Brown and Arthur, 2001; Herbette et al., 2007; Holben and Smith, 1999). It helps protecting the body against oxidative stress given its antioxidant properties (El-Bayoumy, 2001; Papp et al., 2007; Ravoori et al., 2010). However, high doses of Se may induce toxic effects (Lopez et al., 2010; MacFarquhar et al., 2010; Yang et al., 1983; Yang and Xia, 1995).

Biomonitoring of exposure to Se is thus useful to assess if population intake remains within an optimal range in order to avoid adverse health effects related to a deficiency or an excess (Niskar et al., 2003). As for other contaminants such as metals (mercury, lead) or organic compounds (Angerer et al., 2007; Cerna et al., 2012; Wilhelm et al., 2004), the use of biomonitoring to assess health risks relies on the establishment of the relationship between daily intakes, body burden, biological concentrations and health effects, while considering various factors, such as nutritional requirement.

Since Se exposure in general population occurs through food consumption (Barceloux, 1999), numerous studies have assessed Se dietary intake with simple and inexpensive tools such as food diaries or food frequency questionnaires (FFQ). However, several authors found that using this approach provides low correlations with Se biological levels (Ravn-Haren et al., 2008; Serra-Majem et al., 2009) and does not reflect accurately dietary Se intake (Hawkes et al., 2008). For these reasons, scientists agree that using biomonitoring data of Se is a better approach to assess average daily

exposure (Mayne et al., 2004; Mozaffarian, 2009). As proposed by Angerer et al. (2007), suitable biological matrices and parameters are needed to reflect internal exposure and to ensure reliable human biomonitoring assessment. In the case of Se, concentrations measured in whole blood reflect long-term status (Duffield and Thomson, 1999; Fan and Kizer, 1990) mainly because erythrocytes contain protein-bound Se and have a life-span of approximately 120 days (Barceloux, 1999; Dumont et al., 2006). Se plasma or serum concentrations are indicators of relatively short-term nutritional status since they reflect rapid changes in Se intake (Barceloux, 1999; Dumont et al., 2006; Hambidge, 2003). Urine also serves as a biological matrix to assess recent Se intake since it is a major excretory route of Se (Francesconi and Pannier, 2004; Navarro-Alarcon and Cabrera-Vique, 2008); daily urinary excretion of Se accounts for approximately half of the average daily intake (Dumont et al., 2006; Griffiths et al., 1976; Longnecker et al., 1996; Robinson et al., 1973; Thomson, 1998). For this reason, the choice of units is of importance: 24-h daily excretion rates are preferable to urinary concentrations from a single void even with creatinine or density normalization (Ohira et al., 2008). Integuments (hair and toenails), like whole blood, provide a long-term average estimate of Se status, i.e. over a period of time of weeks or months (Al-Saleh and Billedo, 2006; Longnecker et al., 1993; Mannisto et al., 2000). Their sampling has the advantage of being non-invasive and long-term storage is easy (Bencko, 1995; Slotnick and Nriagu, 2006). However, hair is prone to contamination following the use of Se-containing antidandruff shampoo (Morris et al., 1983; Noisel et al., 2010), making it a poor reflection of Se dietary intake in this case.

Results of Se biomonitoring studies aiming at documenting the determinants of Se concentrations in blood suggest that, apart from a few minor exceptions (Kim et al., 2009; Wasowicz and Zachara, 1987), the range of Se concentrations measured in blood are similar in men and women, irrespective of countries and intakes (Letsiou et al., 2009; Lymbury et al., 2008; Navarro-Alarcon et al., 1998;

Shortt et al., 1997; Swanson et al., 1990). According to some authors, age does not appear to influence the distribution of blood Se concentrations in the general population (Bocca et al., 2011; Burri et al., 2008; Kim et al., 2009; Navarro-Alarcon et al., 1998; Niskar et al., 2003; Pourmand et al., 2008; Swanson et al., 1990), while others found either an increase in Se concentrations with age (Rasmussen et al., 2009; Ravoori et al., 2010; Sanchez et al., 2010) or a decrease (Letsiou et al., 2009; Wasowicz and Zachara, 1987). Smoking status is associated with lower Se concentrations in smokers (Cerna et al., 2007; Ellingsen et al., 2009; Niskar et al., 2003; Sanchez et al., 2010; Swanson et al., 1990; Thomson, 2004), but this trend was not systematically observed (Bocca et al., 2011; Shortt et al., 1997).

Generally, published biomonitoring studies looked at one or two biological matrices (Bocca et al., 2011; Burri et al., 2008; Hoeflich et al., 2010; Kim et al., 2009; Komaromy-Hiller et al., 2000). Others focused on estimating only daily intake of Se (Anttolainen et al., 1996; Klapac et al., 1998; Mahapatra et al., 2001), or on relating daily intake to Se concentrations in only one matrix such as blood (Sunde et al., 2008), urine (Palmer et al., 1983) or toenail (Ovaskainen et al., 1993). Such data sets make the interpretation of existing results difficult due to the lack of multiple data availability and the use of various matrices to assess Se exposure. Moreover, it does not allow generalizing results to other non-sampled biological matrices, given that between matrix relationship and intake-biomonitoring relationship have not yet been fully documented. Therefore, a reliable and integrative tool is needed to enable the establishment of conversion factors for matrix-to-matrix comparison of Se levels and intake reconstruction from biological data. This would facilitate comparison of results from the various studies, which use different biological matrices and units. The aim of this study was to i) pool the various available Se biological and intake data, ii) derive mathematical algorithms for matrix-to-

matrix correlations of Se levels and reverse dosimetry, and iii) apply the algorithms to independent Se data sets to reconstruct Se intakes.

4.3. Methods

4.3.1. Selection of Se exposure assessment studies and applied criteria

Relevant data on Se exposure assessment and biomonitoring were gathered by conducting an extensive literature screening of several databases (Medline, Biological Abstracts, CAB Abstracts, Embase and Toxline) from 1966 to 2011, with a limitation to the English language and human studies. For this purpose, the following keywords and various combinations were used: selenium/Se, biological monitoring/biomonitoring/biomarker, biological matrices/biological measurements/biological compartments, controlled study/randomized trial, levels/status/concentration, intake/dietary record/food consumption, blood/whole blood/plasma/serum/erythrocyte, urine/urinary excretion, hair, nail/toenail.

Several inclusion and exclusion criteria were considered in order to reduce the effect of potential confounders, such as age or health status, and provide results with limited uncertainties. In particular, the studies had to provide original data on at least two of the following total Se (no specific chemical form) variables of interest: intake (I_{Se}), whole blood (B_{Se}), plasma or serum (P_{Se}), urine (U_{Se}), hair (H_{Se}) or toenails (T_{Se}). Given the paucity of data, combined with the lack of harmonization of the units of expression of results, matrices such as Se in erythrocytes, Se in fingernail or glutathione peroxidase activity were not retained in the analysis. Large ranges of Se exposure (low, medium or high) without associated symptoms of toxicity (deficiency or excess) were considered. However, intakes exceeding the level of 400 $\mu\text{g}/\text{d}$ were excluded (Janghorbani et al., 1999; Longnecker et al., 1991; Yang et al., 1983) since this value is the upper tolerable intake level for Se (NRC, 2000).

Furthermore, as several authors reported that food questionnaires are not reliable tools to assess Se intake properly (Hawkes et al., 2008; Ravn-Haren et al., 2008; Serra-Majem et al., 2009), we considered only studies relying on accurate methods to estimate intakes, such as weighted dietary records, 24-h recall or duplicate diets. We did not include factors such as tobacco use, amalgam fillings, body mass index and vegetarian diet, because their effect remains unclear and poorly documented in the literature. In the case of Se supplementation trials in healthy subjects, only baseline data prior to the onset of an exposure scenario were considered. For randomized trials or epidemiological studies aiming at assessing Se levels related to various pathologies (cancer, cardiovascular disease, asthma, etc.), only Se data from the control group composed of healthy subjects were used. Inclusion criteria focused on adult populations, therefore excluding studies targeting neonates, children, teenagers and elderly (Anwar et al., 2007; Cardoso et al., 2010; Driskell et al., 2006; Portal et al., 1993; Saiki et al., 2007; Soares et al., 2002). Studies including either genders or those with only men or women were considered, as well as studies without gender distinction. Moreover, studies aiming at assessing Se status among pregnant, lactating and post-delivery women were integrated (Kazi et al., 2010; Levander et al., 1987; Lorenzo Alonso et al., 2005).

4.3.2. Pooling of selected studies to derive algorithms for matrix-to-matrix comparisons and reverse dosimetry

All data from the selected studies were pooled after harmonizing the units for each biological matrix. The arithmetic mean or, if not available, the indicator of central tendency reported in the original article (median or geometric mean) were used. When only raw data were presented in the original article, descriptive statistics (including arithmetic mean) were calculated. In one case, two studies (Hol et al., 2001, 2003) provided complementary data collected from the same subjects: B_{Se} published

in Hol et al. (2001) and $U2_{Se}$ and $U3_{Se}$ published in Hol et al. (2003). For this reason, blood and urinary Se from these studies were analyzed as a single data set. The pooled data were then analyzed to derive algorithms for matrix-to-matrix comparisons and reconstruction of intakes from biological measurements. For urine, three parameters were considered: $U1_{Se}$ for urinary excretion rates expressed in $\mu\text{g}/\text{d}$, $U2_{Se}$ for urinary concentrations expressed in $\mu\text{g}/\text{L}$ and $U3_{Se}$ for creatinine adjusted values expressed in $\mu\text{g}/\text{g creat.}$

4.3.3. Statistical analysis of the pooled Se biomonitoring data and derivation of mathematical algorithms

Statistical analyses were performed using the SPSS Statistics software, version 20.0.0. Descriptive statistics of pooled Se data from selected studies are presented with arithmetic mean and standard deviation ($AM \pm SD$), median (Med) and range (min-max) to facilitate comparisons with other published data. However, distributions of Se data are left-skewed and generally followed a log-normal distribution as tested with the Shapiro Wilk test. As suggested by Bencko (1995), geometric mean (GM) and geometric standard deviation (GSD) were also calculated.

After logarithmic transformation of the data, Student t tests were performed for group comparisons. Different mathematical models were tested on log-transformed data, but the log-log linear regression was retained because coefficient of determinations (R^2) were higher and were more compatible with known biological behaviors (e.g., the independent variable is related to the dependent variable through a strictly increasing function, which is not true with a cubic function). Regressions were derived when 3 or more data points (pair of variables) were available and plotted on linear-scaled graphs. Logarithmic regression equations ($\text{Log } Y = a \text{ Log } X + b$) are equivalent to $Y = 10^{b \cdot 10^a}$ when

plotted on an orthonormal coordinate system. This mathematic model has the advantage to test different functions simultaneously, according to the value of the slope factor. For example, a slope factor value close to 0.5 reflects a square root function adjustment, and a slope factor value close to 2 will fit to the first term of a quadratic function. The logarithmic regressions coefficients (slope factor value (a) and intercept value (b)) were considered significant if the probability of error was less than 5% ($p < 0.05$).

4.3.4. Application of the derived algorithms to estimate Se intakes from independent Se data sets in the population

To test the validity of the derived algorithms for matrix-to-matrix correlations and reconstructed Se intakes, predicted values were compared with observed data from two independent studies (not used to derive the algorithms). In a previous study aiming at documenting methylmercury exposure and comparing two approaches for exposure assessment (toxicokinetic modeling vs. food questionnaires) (Noisel et al., 2011), Se concentrations in whole blood, plasma and hair were also measured. Briefly, a hair strand was collected from each of the 23 fishermen and the first centimeter (closest to the root) was analyzed for Se contents. Concurrently, all participants except one provided a blood sample for the measurement of Se concentration in whole blood and in plasma. Hair samples were digested overnight at 120°C in pressurized teflon bombs using concentrated nitric acid and diluted 20 times with deionized water prior to ICP-MS analysis for total Se contents (ICP-MS, Perkin-Elmer Sciex Elan 6000). As for blood and plasma samples, they were simply diluted (1/100) with nitric acid and directly analyzed by ICP-MS. The limits of detection (LOD) for total Se were 1 nmol/g in hair and 0.1 µmol/L in blood and plasma (INSPQ, 2004; LeBlanc et al., 1999).

In addition, the derived algorithms were also applied to data from a previously published study aiming at documenting Se disposition from a non-dietary source (Noisel et al., 2010). Se levels in whole blood and urine of volunteers sampled prior to Se shampoo exposure, as well as Se levels in hair and toenails several months after the end of the exposure period (7 and 13 months respectively), were considered and applied to the derived algorithms. For each data set, Se intakes were reconstructed from Se biological measurements using the derived algorithms.

4.4. Results

4.4.1. Selection of relevant Se exposure assessment studies

A total of 75 studies were selected based on inclusion and exclusion criteria (Table S1, Appendix A, Supplementary material), which represents data for 8 628 individuals. They all focused on adult population, except one study, which aimed at documenting Se status in a group of 17-year-old Swedish adolescents (Barany et al., 2003). Some studies provided data for specific subgroups (men and women separately, population from different locations in a same country, or experimental groups at baseline and placebo groups) for a total of 123 documented subgroups. Among the 123 data groups stemming from the 75 selected studies, 30 subgroups included men ($n = 1\,465$), 37 included women ($n = 2\,553$) and 56 subgroups (from 38 studies) had no specification of gender, gender ratio or gender stratification of results ($n = 4\,610$). The latter subgroup is designated as the “NS” group (not specified). Information concerning the age of the participants was available for the majority of the selected studies (59/75) with a small difference between women and NS group ($p = 0.049$ (data not shown)).

4.4.2. Analysis of Se daily intakes and Se concentrations in biological matrices from pooled data

Table 1 depicts the descriptive statistics on Se concentrations for each biological matrix as well as I_{Se} , as derived from pooled data. The most frequently documented variables were B_{Se} and P_{Se} ($n = 58$ and 104), whereas I_{Se} and $U1_{Se}$ were reported to a lesser extent ($n = 37$ and 38). Integuments (H_{Se} and T_{Se}) were less frequently sampled.

Values of central tendencies for Se intake show that selected populations had average I_{Se} slightly above the recommended dietary allowance (RDA) of 55 $\mu\text{g}/\text{d}$ (considered as an optimal intake) but largely inferior to the upper tolerable intake level of 400 $\mu\text{g}/\text{d}$ (NRC, 2000). Overall, women exhibited slightly lower Se levels than men but there were no significant statistical differences between the three groups (men, women and NS (data not shown)).

4.4.3. Mathematical algorithms relating Se intake and Se concentrations in accessible biological matrices derived from pooled data

Linear regressions were calculated on each set of pooled data after log-transformation in order to establish the matrix-to-matrix and intake-biomonitoring relationships. Among the sets of equations presented in Table 2, the majority of dependent variables were significantly correlated with independent variables: the correlation coefficients were comprised between 0.690 and 0.9997 (Fig. 1-3). Only a small number were not significant, that is P_{Se} and U_{Se} failed to predict adequately H_{Se} . Similarly, I_{Se} or $U1_{Se}$ were not statistically related to Se concentrations in urine ($U2_{Se}$ and $U3_{Se}$).

For gender-specific analysis, less regressions have been determined due to the small number of available data (13 regressions for men and 11 regressions for women), with 8 significant models in each case. These results show that correlations were not different for men and women since confidence intervals of slopes overlapped (data not shown).

When looking at the intake-biological concentration relationship, Fig. 1A shows that B_{Se} concentrations increase very quickly with increasing I_{Se} in the low intake range, but they increase more slowly when I_{Se} reach approximately 50 $\mu\text{g}/\text{d}$. In parallel, P_{Se} seems to follow a similar pattern

with a marked increase at low I_{Se} followed by a plateau given that plasma slope factor is inferior to whole blood slope factor (0.523 vs. 0.643). In terms of elimination (Fig. 1B and 1C), U_{1Se} and H_{Se} were proportional to I_{Se} (slope factor = 1.047 and 1.059, respectively), whereas slope factor value for T_{Se} was higher (1.682). Low values of intercepts for hair and toenails (respectively -2.275 and -3.685) reflect the order of magnitude of H_{Se} and T_{Se} concentrations (from 0.1 to 5 $\mu\text{g/g}$). When blood is considered as an independent variable, associations with P_{Se} , H_{Se} and T_{Se} vary according to a quasi linear model (slope factor values comprised between 0.749 and 0.820) while Se in urine show a more important rate of increase at high blood levels (Fig. 2A, 2B, 2C). Similar relationships were observed between P_{Se} , T_{Se} and U_{Se} , whether expressed in $\mu\text{g/d}$, $\mu\text{g/L}$ or $\mu\text{g/g creat.}$ (Fig. 3A, 3B).

4.4.4. Application of the regression equations to independent Se data sets

Table 3 and Fig. 2 present two independent sets of biological data that were not included for the derivation of mathematical algorithms. Using the derived algorithms, I_{Se} were reconstructed from different biological matrix measurements. In one case, in fishermen, I_{Se} calculated from the hair matrix levels appear to be lower than from whole blood or plasma matrices. However, good fits were obtained between predicted and observed B_{Se} and P_{Se} data within the observed range (Fig. 2A). In the other case, in volunteers treated with Se containing shampoo, I_{Se} calculated from hair levels seem to be overestimated by 3- to 6-fold compared to back calculated intakes from B_{Se} , U_{Se} and T_{Se} levels, indicating external contamination of hair (Noisel et al., 2010).

4.5. Discussion

This study provided tools to enhance Se biomonitoring interpretation and to estimate Se intakes from biomonitoring data. The derived mathematical algorithms provided matrix-to-matrix equivalents of Se levels. The algorithms were established from pooled biological data published in 75 studies, thus covering a large range of Se values in various populations around the world. Given that arithmetic means were not available for some of the selected studies ($n=6$), the use of other indicators of central tendency (geometric mean or median) could have had a mild effect on the presented results. Ideally, such approach deserves to be performed on original raw data which were not available.

The mathematical algorithms derived from pooled biological data help to assess Se kinetics in the human body. First, the results show no evidence of gender differences in Se distribution as it was reported in previous studies with smaller sample size measuring P_{Se} (n comprised between 44 and 506) (Letsiou et al., 2009; Lymbury et al., 2008; Navarro-Alarcon et al., 1998; Shortt et al., 1997; Swanson et al., 1990)). Blood and plasma profiles indicate that Se is primarily retained in the blood compartment, to insure physiological function and homeostasis. Plasma concentrations reach a plateau at lower intake than blood concentrations (around $150 \mu\text{g/L}$), reducing its sensitivity as a biomarker of exposure. This plateau reflects the saturation of the carrier capacity of plasma (Barceloux, 1999). Furthermore, the difference between P_{Se} and B_{Se} can be explained by the role of erythrocytes and their capacity to bind Se (Se scavengers). At low I_{Se} (below $50 \mu\text{g/d}$), B_{Se} and P_{Se} are not statistically different. In these cases, intakes hardly satisfy nutritional requirements and are insufficient for Se to be stored.

In general, the slope factor values close to 1 derived from matrix-to-matrix correlation analysis support the idea of a proportional Se distribution among matrices. This proportionality phenomenon has been observed for H_{Se} and T_{Se} in relation to I_{Se} or B_{Se} (Table 2, Fig. 1B, 2B, 3A), and was also reported in the study of Hac et al. (2002). However, some experimental points are located outside of the confidence intervals (Fig. 1B and 2B) suggesting either a different distribution relationship between blood and integuments that was not apparent within the assessed value range or concomitant non-dietary source of Se as previously reported (Noisel et al., 2010). These outlier data come from Chinese peasants with medium Se intakes (Yang et al., 1989a) and the actual source of Se exposure is unclear.

Urinary profiles also helped to illustrate Se distribution. At low B_{Se} or P_{Se} levels, Se elimination seems to be restrained to maintain a pool responding to physiological and functional needs. Above a threshold that can be considered as an optimal level (probably around 200-250 $\mu\text{g/L}$ for blood and 100-150 $\mu\text{g/L}$ for plasma), urinary Se is enhanced and tends to show a high correlation with blood and plasma levels (Robberecht and Deelstra, 1984a). This may explain the lack of significant linear correlation between blood/plasma and urine observed in another study (Chen et al., 2006). Urinary Se excretion mainly reflects the unbound fraction of Se in plasma originating from the regulated pathway. At high Se levels, unbound fraction exceeds bound-Se and facilitates Se excretion. Similar correlation results were obtained whatever the units of expression of urinary results ($U1_{Se}$ in $\mu\text{g/d}$, $U2_{Se}$ in $\mu\text{g/L}$ or $U3_{Se}$ in $\mu\text{g/g creat.}$). However, the last two indicators show more variability than the first one (greater dispersion of experimental points, wider confidence interval of the slope factor values) or do not provide significant regression parameters ($U2_{Se}$ and I_{Se}). This variability can be explained by the diuresis variation during a 24-h period as well as the notable effect of water intake and hydration rates on Se concentrations in spot urine samples. By combining a large number of

experimental data, the diuresis or hydration effect tends to fade out. However, since urinary concentrations, corrected or not for creatinine, are still influenced by the diuresis or hydration level, they are more prone to variability than daily excretion. For this reason, Se urinary excretion rates (12-h or 24-h) would provide more accurate data, as other authors already recommended (Ohira et al., 2008; Robberecht and Deelstra, 1984a). Since Se urinary excretions ($U1_{Se}$) are more frequently reported than other Se urinary indicators ($U2_{Se}$ and $U3_{Se}$), the use of 12-h or 24-h urinary excretion in biomonitoring studies would contribute to a better harmonization of Se data.

Graphical representation of two independent sets of data showed that the studied subgroups of Quebec population had values falling within the mean range of exposure reported worldwide (Fig. 2). For the fishermen study, the B_{Se}/P_{Se} concentration ratio was similar to the value of 1.5 reported by Dumont et al. (2006). In addition, in the volunteers study, the I_{Se}/U_{Se} ratio reached approximately 0.5 as reported by other authors (Dumont et al., 2006; Griffiths et al., 1976; Longnecker et al., 1996; Navarro-Alarcon and Cabrera-Vique, 2008; Robinson et al., 1973; Thomson, 1998). Interestingly, similar I_{Se} were reconstructed from Se concentrations in different biological matrices, except those derived from H_{Se} . These results confirm the need to carefully document and control sources of exposure when using hair as a biomarker of exposure.

Some authors have previously published regression equations linking Se levels in different matrices with Se intakes (Table 4). These regressions relied on a small number of data, generally included a limited number of biological matrices and were valid over a narrow range of values. Some of the proposed equations are linear and fit well with our algorithms over a restricted range (Haldimann et al., 1996; Jenny-Burri et al., 2010; Raghunath et al., 2002; Schrauzer and White, 1978; Wasowicz and Zachara, 1987). Other linear equations are very far from our results and this can be due to different

data sets used to derive equations, especially when the study was not included in our analysis (Chen et al., 1980). However, several authors proposed log-log regressions with parameters very similar to ours. After unit harmonization, slope factor and intercept values related to Se intakes as published by Yang et al. (1989a) were respectively 0.767 and 0.752 for blood and 0.616 and 0.932 for plasma as compared to 0.643 and 0.947, and 0.523 and 1.048 for our results. Interestingly, these equations cover a very broad range of Se exposure values (until 3000 and 4000 $\mu\text{g}/\text{d}$). We did not include such extreme values to avoid influencing the mathematical algorithms with data located in a toxic range. However, our algorithms probably remain valid outside the studied range. Our intake-urinary excretion regression results also compare well with those of Longnecker et al. (1996). Conversely, there were some discrepancies between our Se intake-hair concentration regression results and the regression equation of Yang et al. (1989), most plausibly due to the afore-mentioned concomitant non dietary sources.

Bioavailability of Se varies significantly according to the different chemical forms in food. Thus, Se concentrations in plasma vary according to the diet (omnivorous or vegetarian) (Hoeflich et al., 2010; Srikumar et al., 1992). Unlike organic forms, inorganic Se is not incorporated into plasma or erythrocytes through a non-specific pathway (Elsom et al., 2006). Thus, variations in Se status and distribution can be explained by the type, origin and composition of the consumed food (Barceloux, 1999). In a similar manner, dose and speciation of Se are also critical determinants of biological response at the cellular level. This is important when considering the antioxidant role of Se and its protective effect against cancer (El Bayoumi, 2002), given the growing evidence that over a certain range, Se intakes above the normal nutritional range may confer health benefits (Elsom, 2006). For this reason, it would have been interesting to carry out the analysis on Se speciation data. This

attempt would have helped deriving recommended dietary intakes adapted to different ranges of the functional Se status. Unfortunately, such data are not currently available.

The broad range of application of the derived algorithms may contribute to establish harmonized biological reference values since no “normal” reference range exists to date, due to elevated inter-country variability. Finally, one should note the importance of pursuing Se biomonitoring in multiple matrices in relation to specific aspects of Se status. Each matrix contributes partially to a comprehensive understanding of Se disposition.

4.6. Conclusion

Overall, this study shows the potential of a novel approach, which consists in pooling biological data of Se monitoring in order to derive mathematical algorithms i) relating Se intakes to biological concentrations and ii) establishing matrix-to-matrix associations. This approach considers total Se exposure through a wide range of Se levels and is easily applicable to population-based as well as individual-based level. More data are needed to apply this approach to specific Se compounds and better understand their disposition according to dietary sources.

Appendix A. Supplementary Data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijheh.2014.04.005>.

4.7. Tables and figures

Table 1: Se intake levels and biological concentrations calculated from pooled data of 75 studies

	I _{Se}	B _{Se}	P _{Se}	H _{Se}	U1 _{Se}	U2 _{Se}	U3 _{Se}	T _{Se}
	(µg/d)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/g)	(µg/d)	(µg/L)	(µg/g creat.)	(µg/g)
N group	36	58	104	27	37	30	20	20
AM± SD	83.8±67.1	141.3±85.8	98.1±37.8	0.8±1.1	49.8±44.5	44.7±43.3	21.3±16.3	0.9±0.6
GM± GSD	60.8±2.3	120.7±1.7	91.0±1.5	0.5±2.3	34.6±2.4	30.3±2.5	16.7±2.0	0.7±2.5
Med	63.5	107.7	89.2	0.5	41.0	25.3	12.7	0.8
Range	8.1-248.9	27.0-394.0	23.9-198.3	0.08-5.37	3.9-188.0	5.2-220.0	5.6-62.9	0.09-2.72

I_{Se} represents selenium intake expressed in µg/d from objective measurements.

B_{Se} represents selenium concentration in whole blood expressed in µg/L.

P_{Se} represents selenium concentration indistinctly in plasma or serum expressed in µg/L.

H_{Se} represents selenium concentration in hair expressed in µg/g.

U1_{Se} represents daily excretion of urinary selenium expressed in µg/d.

U2_{Se} represents selenium concentration in urine expressed in µg/L.

U3_{Se} represents selenium concentration in urine adjusted to the creatinine level expressed in µg/g creat.

T_{Se} represents selenium concentration in toenails expressed in µg/g.

Table 2: Logarithmic regression parameters for the variables of Se intake ($\mu\text{g}/\text{d}$) and the Se concentrations in biological matrices ($\mu\text{g}/\text{L}$, $\mu\text{g}/\text{g}$ or $\mu\text{g}/\text{d}$) determined from pooled biomonitoring data of the 75 selected studies

Dependent variable	Independent variable	n	r Pearson	Slope	Lower limit of CI ^a	Upper limit of CI	P	Intercept	Lower limit of CI	Upper limit of CI	P
Log B _{Se}	Log I _{Se}	18	0.940	0.643	0.520	0.767	<0.001	0.947	0.721	1.173	<0.001
Log P _{Se}	Log I _{Se}	30	0.929	0.523	0.443	0.604	<0.001	1.048	0.902	1.195	<0.001
Log H _{Se}	Log I _{Se}	8	0.775	1.059	0.195	1.923	0.024	-2.275	-3.955	-0.594	0.016
Log U1 _{Se}	Log I _{Se}	17	0.979	1.047	0.926	1.168	<0.001	-0.318	-0.538	-0.098	0.008
Log U2 _{Se}	Log I _{Se}	4	0.807	1.539	-1.894	4.973	0.193	-1.794	-8.149	4.561	0.348
Log T _{Se}	Log I _{Se}	9	0.841	1.682	0.717	2.648	0.004	-3.685	-5.736	-1.634	0.004
Log P _{Se}	Log B _{Se}	42	0.935	0.749	0.658	0.839	<0.001	0.387	0.200	0.573	<0.001
Log H _{Se}	Log B _{Se}	11	0.825	0.803	0.388	1.218	0.002	-1.962	-2.884	-1.040	0.001
Log U1 _{Se}	Log B _{Se}	14	0.976	1.717	1.475	1.960	<0.001	-2.095	-2.620	-1.571	<0.001
Log U2 _{Se}	Log B _{Se}	11	0.868	1.813	1.031	2.595	0.001	-2.426	-4.155	-0.697	0.011
Log U3 _{Se}	Log B _{Se}	8	0.910	1.792	0.978	2.607	0.002	-2.401	-4.143	-0.659	0.015
Log T _{Se}	Log B _{Se}	12	0.850	0.820	0.463	1.178	<0.001	-1.860	-2.682	-1.038	0.001
Log H _{Se}	Log P _{Se}	14	0.222	0.416	-0.730	1.562	0.445	-1.144	-3.426	1.138	0.296
Log U1 _{Se}	Log P _{Se}	35	0.957	1.800	1.608	1.993	<0.001	-2.024	-2.409	-1.638	<0.001

Dependent variable	Independent variable	n	r Pearson	Slope	Lower limit of CI ^a	Upper limit of CI	P	Intercept	Lower limit of CI	Upper limit of CI	P
Log U2 _{Se}	Log P _{Se}	22	0.690	2.039	1.043	3.036	<0.001	-2.567	-4.537	-0.597	0.013
Log U3 _{Se}	Log P _{Se}	14	0.952	2.789	2.228	3.351	<0.001	-4.163	-5.243	-3.082	<0.001
Log T _{Se}	Log P _{Se}	12	0.960	1.124	0.894	1.354	<0.001	-2.413	-2.901	-1.924	<0.001
Log H _{Se}	Log U1 _{Se}	5	0.106	0.188	-3.064	3.441	0.865	-0.406	-5.265	4.453	0.807
Log H _{Se}	Log U2 _{Se}	7	0.749	0.295	-0.005	0.594	0.053	-0.738	-1.213	-0.263	0.010
Log H _{Se}	Log U3 _{Se}	3	1.000	2.278	1.605	2.951	0.015	-2.497	-3.118	-1.876	0.012
Log T _{Se}	Log U1 _{Se}	7	0.958	0.352	0.231	0.473	0.001	-0.638	-0.880	-0.396	0.001
Log H _{Se}	Log T _{Se}	8	0.719	0.596	0.021	1.170	0.044	-0.039	-0.412	0.333	0.805
Log U2 _{Se}	Log U1 _{Se}	3	0.987	1.066	-1.174	3.307	0.104	-0.287	-4.139	3.565	0.518
Log U2 _{Se}	Log U3 _{Se}	13	0.943	0.908	0.695	1.122	<0.001	0.202	-0.072	0.475	0.133

^a CI represents the confidence interval.

Table 3: Se intake reconstructed using Se biological monitoring data of from independent data sets and the derived algorithms

		Fishermen study in Noisel et al. (2011)					Volunteers study in Noisel et al. (2010) ^a				
		n	AM±SD	GM±GSD	Med	Range	n	AM± SD	GM± GSD	Med	Range
Characteristics of the participants	Age (y)	23	43.2±7.68	42.4±1.22	44	24-56	10	27.3±3.40	27.1±1.13	26	23-34
	Gender (n, % men)	23	83%				10	20%			
	Height (m)	23	1.75±0.08	1.75±1.05	1.78	1.60-1.92	10	1.68±0.07	1.68±1.04	1.69	1.57-1.75
	Weight (kg)	23	79.1±13.3	78.0±1.19	79.2	56.6-104	10	71.9±19.7	69.8±1.29	69.6	47.7-117
Biological data	B _{Se} (µg/L)	22	198.1±14.2	197.6±1.07	197.4	173.7-221.1	10	177.2±22.4	176.0±1.13	173.2	150.8-215.5
	P _{Se} (µg/L)	22	125.6±10.9	125.2±1.09	126.3	110.5-142.1					
	H _{Se} (µg/g) ^b	23	0.5±0.1	0.5±1.1	0.5	0.4-0.7	8	5.63±11.3	1.86±3.93	0.94	0.69-33.35
	U1 _{Se} (µg/d)						10	76.3±28.9	70.4±1.57	84.5	30.2-128.2
	U2 _{Se} (µg/L) ^c						10	56.9±14.4	54.7±1.37	56.0	25.3-72.1
	T _{Se} (µg/g)						6	1.12±0.15	1.11±1.14	1.17	0.93-1.27
Reconstructed Se intake (µg/d) from biological measurements	B _{Se}	22	126.0±14.0	125.2±1.12	125.0	102.5-149.1	10	106.4±21.3	104.6±1.21	102.0	82.2-143.3
	P _{Se}	22	102.9±16.9	101.5±1.18	103.4	80.1-129.5					
	H _{Se}	23	79.1±9.10	78.6±1.12	73.1	59.2-100.5	8	678.7±1299	253.0±3.6	132.1	99.0-3858
	U1 _{Se}						10	126.3±46.1	117.3±1.54	139.7	52.2-208.0
	U2 _{Se}						10	200.7±35.5	197.3±1.23	200.3	119.5-236.0
	T _{Se}						6	165.6±13.0	165.2±1.08	170.6	148.6-178.6

^a Data correspond to background Se level prior to intervention, with the exception of hair samples.

^b Hair concentrations represent the values for the centimeter closest to the root, i.e. the most recent month prior to sampling.

^c Based on 12-hour urinary samples.

Table 4: Published algorithms on Se disposition in biological compartments and daily intakes

Study	n	Gender	Range ^a	Mathematic algorithm	r or r ²	p
Chen et al. (1980)	200	NS ^b	0.02-0.9	$\text{Log } B_{\text{Se}} (\text{ppm}) = 1.243 \text{ H}_{\text{Se}} (\text{ppm}) - 1.219$	N/A ^c	N/A
Hac et al. (2002) ^d	34	NS	0.1-0.6	$P_{\text{Se}} (\mu\text{g/L}) = 64.164 \text{ H}_{\text{Se}} (\mu\text{g/g}) + 52.515$	r=0.39	p<0.05
Haldimann et al. (1996)	17	NS	20-120	$S_{\text{Se}} (\mu\text{g/L})^e = 1.12 \text{ I}_{\text{Se}} (\mu\text{g/d}) + 23$	N/A	N/A
Hawkes et al. (2008) ^d	42	M	50-550	$U1_{\text{Se}} (\mu\text{g/d}) = 0.152 \text{ I}_{\text{Se}} (\mu\text{g/d}) + 37.3$	r ² =0.14	<0.001
Jenny-Burri et al. (2010)	~33	NS	10-100	$S_{\text{Se}} (\mu\text{g/L}) = 1.04 \text{ I}_{\text{Se}} (\mu\text{g/d}) + 30.34$	N/A	N/A
Longnecker et al. (1996) ^d	77	NS	0.32-6.09	$\text{Ln } I_{\text{Se}} (\mu\text{mol/d}) = 0.67 \text{ Ln } U1_{\text{Se}} (\mu\text{mol/d}) + 0.532$	r ² =0.74	N/A
Raghunath et al. (2002) ^d	69	NS	15-190	$S_{\text{Se}} (\text{ng/mL}) = 0.6275 \text{ I}_{\text{Se}} (\mu\text{g/d}) + 59.85$	r=0.89	N/A
Schrauzer and White (1978)	N/A	NS	100-600	$B_{\text{Se}}(\text{mg/L}) = 9.057 \times 10^{-4} \text{ I}_{\text{Se}} (\mu\text{g/d}) + 0.0595$	r=0.995	p<0.001
Valentine et al. (1978) ^d	30	NS	21.5-203	$\text{H}_{\text{Se}} (\mu\text{g/g}) = 0.07 + 0.0045 \text{ U}2_{\text{Se}} (\mu\text{g/L})$	r=0.65	p<0.001
Valentine et al. (1978) ^d	34	NS	21.5-203	$B_{\text{Se}} (\mu\text{g}/100\text{mL}) = 15.5 + 0.02 \text{ U}2_{\text{Se}} (\mu\text{g/L})$	r=0.40	p<0.05
Valentine et al. (1978) ^d	37	NS	133-240	$\text{H}_{\text{Se}} (\mu\text{g/g}) = -0.25 + 0.04 \text{ B}_{\text{Se}} (\mu\text{g}/100\text{mL})$	r=0.28	p>0.05
Wasowicz and Zachara (1987) ^d	62	NS	56.4-149.6	$U3_{\text{Se}} (\mu\text{g/g creat.}) = 0.16 \text{ B}_{\text{Se}} (\mu\text{g/L}) - 2.89$	r=0.492	p<0.001
Wasowicz and Zachara (1987) ^d	62	NS	42.2-113.8	$U3_{\text{Se}} (\mu\text{g/g creat.}) = 0.21 \text{ P}_{\text{Se}} (\mu\text{g/L}) - 3.64$	r=0.516	p<0.001
Yang and Xia (1995)	N/A	NS	N/A	$\text{Log } I_{\text{Se}} (\mu\text{g/d}) = 1.624 \text{ Log } P_{\text{Se}} (\text{mg/L}) + 3.389$	N/A	N/A
(adapted from Yang et al. (1989))						
Yang et al. (1989) ^d	N/A	NS	4-3000	$B_{\text{Se}} (\text{mg/L}) = 8.230 \times 10^{-4} \text{ I}_{\text{Se}} (\mu\text{g/d}) + 0.176$	r=0.862	p<0.001
Yang et al. (1989) ^d	167	M	5-4000	$\text{Log } B_{\text{Se}} (\text{mg/L}) = 0.767 \text{ Log } I_{\text{Se}} (\mu\text{g/d}) - 2.248$	r=0.962	p<0.001
Yang et al. (1989) ^d	44	NS	40-1700	$\text{Log } U1_{\text{Se}} (\mu\text{g/d}) = 1.021 \text{ Log } I_{\text{Se}} (\mu\text{g/d}) - 0.418$	r=0.886	p<0.001

Study	n	Gender	Range ^a	Mathematic algorithm	r or r ²	p
Yang et al. (1989) ^d	219	M	20-3000	$\text{Log } H_{Se} \text{ (mg/kg)} = 1.143 \text{ Log } B_{Se} \text{ (mg/L)} + 0.844$	r=0.952	p<0.001
Yang et al. (1989) ^d	81	NS	10-3000	$\text{Log } T_{Se} \text{ (mg/kg)} = 1.077 \text{ Log } B_{Se} \text{ (mg/L)} + 0.9$	r=0.849	p<0.001
Yang et al. (1989) ^d	80	M	5-1500	$\text{Log } U1_{Se} \text{ (}\mu\text{g/d)} = 1.658 \text{ Log } P_{Se} \text{ (mg/L)} + 3.042$	r=0.968	p<0.001
Yang et al. (1989) ^d	N/A	NS	N/A	$\text{Log } I_{Se} \text{ (}\mu\text{d/d)} = 0.840 \text{ Log } H_{Se} \text{ (mg/kg)} - 1.552$	N/A	N/A
Yang et al. (1989) ^d	N/A	NS	N/A	$\text{Log } H_{Se} \text{ (mg/kg)} = 0.795 \text{ Log } T_{Se} \text{ (mg/kg)} + 0.045$	N/A	N/A

^a Based on the independent variable (x).

^b NS means not specified.

^c N/A means not available.

^d Studies included in the meta-analysis.

^e S_{Se} is considered to be equivalent to P_{Se} .

Captions to Figures

Figure 1A. Regression equations between Se intakes (I_{Se}) in $\mu\text{g}/\text{d}$ and Se concentrations in whole blood (B_{Se}) and plasma (P_{Se}) in $\mu\text{g}/\text{L}$. Filled squares (■, $n = 18$) and continuous line (—) represent experimental data and regression equation for B_{Se} ; Unfilled circles (○, $n = 30$) and dashed line (- - -) represent experimental data and regression equation for P_{Se} .

Figure 1B. Regression equations between Se intakes (I_{Se}) in $\mu\text{g}/\text{d}$ and Se concentrations in hair (H_{Se}) and toenail (T_{Se}) in $\mu\text{g}/\text{g}$. Filled squares (■, $n = 8$) and continuous line (—) represent experimental data and regression equation for H_{Se} ; unfilled circles (○, $n = 9$) and dashed line (- - -) represent experimental data and regression equation for T_{Se} .

Figure 1C. Regression equations between Se intakes (I_{Se}) in $\mu\text{g}/\text{d}$ and Se urinary excretion rates $U1_{Se}$ in $\mu\text{g}/\text{d}$. Filled squares (■, $n = 17$) and continuous line (—) represent experimental data and regression equation for $U1_{Se}$.

Figure 2A. Regression equations between Se in whole blood (B_{Se}) and Se in plasma (P_{Se}) in $\mu\text{g/L}$. Filled squares (■, $n = 42$) and continuous line (—) represent experimental data and regression equation for all groups. Crosses (X, $n = 22$) represent independent Se data from fishermen (Noisel et al., 2011).

Figure 2B. Regression equations between Se in whole blood (B_{Se}) in $\mu\text{g/L}$ and Se concentrations in hair (H_{Se}) and toenails (T_{Se}) in $\mu\text{g/g}$. Filled squares (■, $n = 11$) and continuous line (—) represent experimental data and regression equation for H_{Se} ; unfilled circles (○, $n = 12$) and dashed line (- - -) represent experimental data and regression equation for T_{Se} . Crosses (X, $n = 22$) represent Se data from fishermen (Noisel et al., 2011). White diamonds (◇, $n = 7$) and black triangles (▲, $n = 5$) represent Se data for hair and toenails respectively from volunteers exposed to Se-containing shampoo (Noisel et al., 2010). One outsider ($T_{Se} = 33 \mu\text{g/g}$) was not included.

Figure 2C. Regression equations between Se in whole blood (B_{Se}) in $\mu\text{g/L}$ and Se in urine ($U1_{Se}$ in $\mu\text{g/d}$ and $U2_{Se}$ in $\mu\text{g/L}$). Filled squares (■, $n = 14$) and continuous bold line (—) represent experimental data and regression equation for $U1_{Se}$; unfilled circles (○, $n = 11$) and dashed line (- - -) represent experimental data and regression equation for $U2_{Se}$. Crosses (X, $n = 10$) represent Se data for urinary excretion rates from volunteers exposed to Se-containing shampoo (Noisel et al., 2010).

Figure 3A. Regression equations between Se in plasma (P_{Se}) in $\mu\text{g/L}$ and Se in toenail (T_{Se}) in $\mu\text{g/g}$. Filled squares (■, $n = 12$) and continuous bold line (—) represent experimental data and regression equation for all groups.

Figure 3B. Regression equations between Se in plasma (P_{Se}) in $\mu\text{g/L}$ and Se in urine ($U1_{Se}$ in $\mu\text{g/d}$ and $U2_{Se}$ in $\mu\text{g/L}$). Filled squares (■, $n = 35$) and continuous bold line (—) represent experimental data and regression equation for $U1_{Se}$; unfilled circles (○, $n = 22$) and dashed line (- -) represent experimental data and regression equation for $U2_{Se}$.

Figure 1

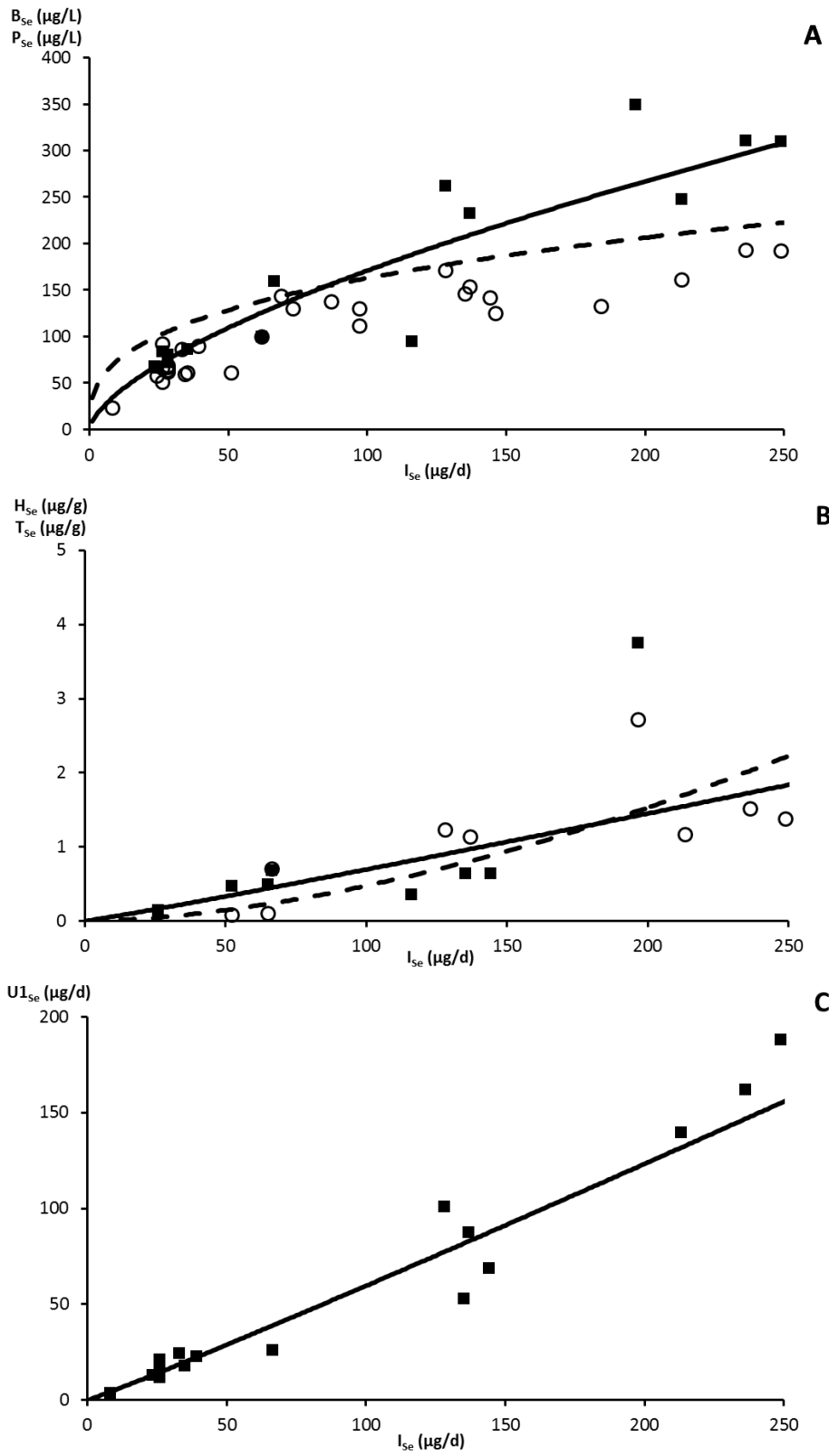


Figure 2

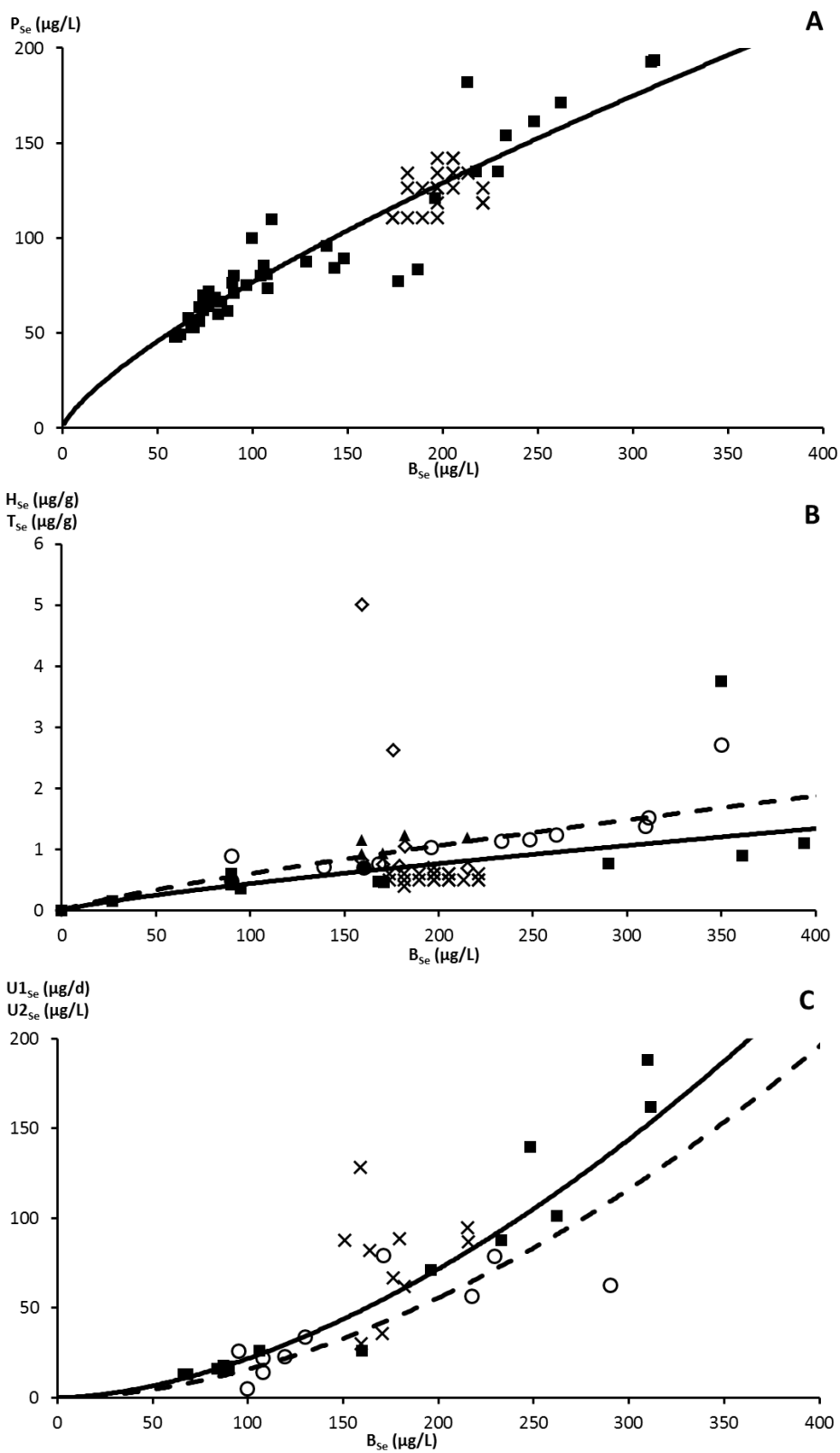
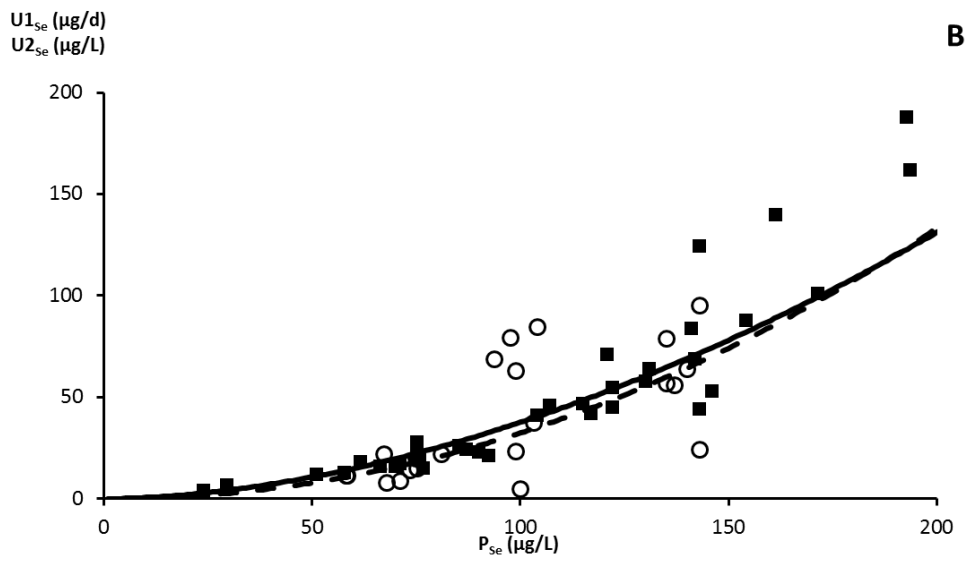
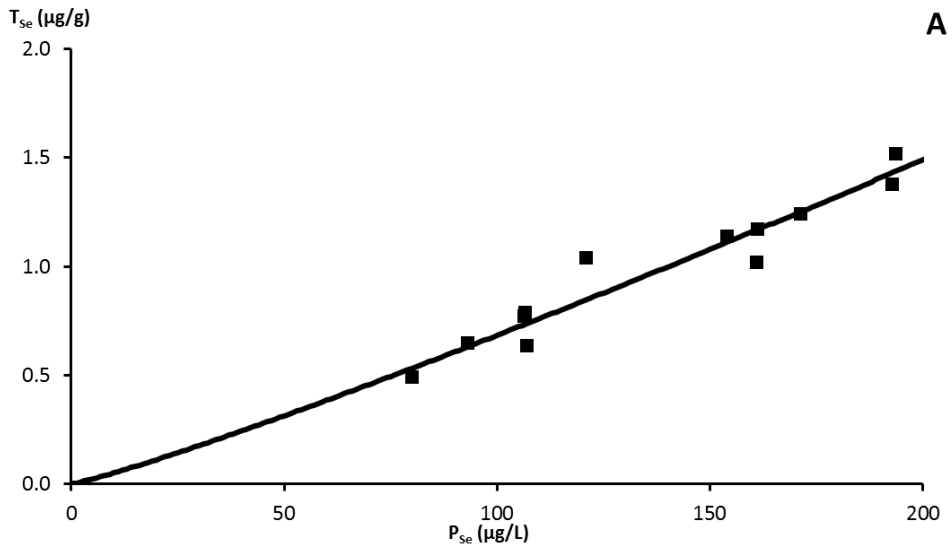


Figure 3



Regression
between Se in
 $\mu\text{g/L}$ and Se in

4.8. References

Al-Saleh, I., Billedo, G., 2006. Determination of selenium concentration in serum and toenail as an indicator of selenium status. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 77, 155-163.

Angerer, J., Ewers, U., Wilhelm, M., 2007. Human biomonitoring: State of the art. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 210, 201-228.

Barany, E., Bergdahl, I.A., Bratteby, L.E., Lundh, T., Samuelson, G., Skerfving, S., Oskarsson, A., 2003. Mercury and selenium in whole blood and serum in relation to fish consumption and amalgam fillings in adolescents. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 17, 165-170.

Barceloux, D.G., 1999. Selenium. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 37, 145-172.

Bencko, V., 1995. Use of human hair as a biomarker in the assessment of exposure to pollutants in occupational and environmental settings. *Toxicology* 101, 29-39.

Bocca, B., Madeddu, R., Asara, Y., Tolu, P., Marchal, J.A., Forte, G., 2011. Assessment of reference ranges for blood Cu, Mn, Se and Zn in a selected Italian population. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 25, 19-26.

Brown, K.M., Arthur, J.R., 2001. Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutr.* 4, 593-599.

Burri, J., Haldimann, M., Dudler, V., 2008. Selenium status of the Swiss population: assessment and change over a decade. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 22, 112-119.

Cerna, M., Krskova, A., Cejchanova, M., Spevackova, V., 2012. Human biomonitoring in the Czech Republic: an overview. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 215, 109-119.

Cerna, M., Spevackova, V., Batariova, A., Smid, J., Cejchanova, M., Ocadlikova, D., Bavorova, H., Benes, B., Kubinova, R., 2007. Human biomonitoring system in the Czech Republic. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 210, 495-499.

Chen, C., Qu, L., Zhao, J., Liu, S., Deng, G., Li, B., Zhang, P., Chai, Z., 2006. Accumulation of mercury, selenium and their binding proteins in porcine kidney and liver from mercury-exposed areas with the investigation of their redox responses. *Sci. Total Environ.* 366, 627-637.

Chen, X., Yang, G., Chen, J., Chen, X., Wen, Z., Ge, K., 1980. Studies on the relations of selenium and Keshan disease. *Biol. Trace Elem. Res.* 2, 91-107.

Duffield, A.J., Thomson, C.D., 1999. A comparison of methods of assessment of dietary selenium intakes in Otago, New Zealand. *Br. J. Nutr.* 82, 131-138.

Dumont, E., Vanhaecke, F., Cornelis, R., 2006. Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. *Anal. Bioanal. Chem.* 385, 1304-1323.

El-Bayoumy, K., 2001. The protective role of selenium on genetic damage and on cancer. *Mutat. Res.* 475, 123-139.

Ellingsen, D.G., Thomassen, Y., Rustad, P., Molander, P., Aaseth, J., 2009. The time-trend and the relation between smoking and circulating selenium concentrations in Norway. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 23, 107-115.

Elsom, R., Sanderson, P., Hesketh, J.E., Jackson, M.J., Fairweather-Tait, S.J., Akesson, B., Handy, J., Arthur, J.R., 2006. Functional markers of selenium status: UK Food Standards Agency workshop report. *Br. J. Nutr.* 96, 980-984.

Fan, A.M., Kizer, K.W., 1990. Selenium. Nutritional, toxicologic, and clinical aspects. *West. J. Med.* 153, 160-167.

Francesconi, K.A., Pannier, F., 2004. Selenium metabolites in urine: a critical overview of past work and current status. *Clin. Chem.* 50, 2240-2253.

Griffiths, N.M., Stewart, R.D., Robinson, M.F., 1976. The metabolism of [⁷⁵Se]selenomethionine in four women. *Br. J. Nutr.* 35, 373-382.

Hac, E., Krechniak, J., Szyszko, M., 2002. Selenium levels in human plasma and hair in northern Poland. *Biol. Trace Elem. Res.* 85, 277-285.

Haldimann, M., Venner, T.Y., Zimmerli, B., 1996. Determination of selenium in the serum of healthy Swiss adults and correlation to dietary intake. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 10, 31-45.

Hambidge, M., 2003. Biomarkers of trace mineral intake and status. *J. Nutr.* 133, 948S-955S.

Hawkes, W.C., Richter, B.D., Alkan, Z., Souza, E.C., Derricote, M., Mackey, B.E., Bonnel, E.L., 2008. Response of selenium status indicators to supplementation of healthy North American men with high-selenium yeast. *Biol. Trace Elem. Res.* 122, 107-121.

Herbette, S., Roeckel-Drevet, P., Drevet, J.R., 2007. Seleno-independent glutathione peroxidases. More than simple antioxidant scavengers. *FEBS J.* 274, 2163-2180.

Hoeflich, J., Hollenbach, B., Behrends, T., Hoeg, A., Stosnach, H., Schomburg, L., 2010. The choice of biomarkers determines the selenium status in young German vegans and vegetarians. *Br. J. Nutr.* 104, 1601-1604.

Holben, D.H., Smith, A.M., 1999. The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. *J. Am. Diet. Assoc.* 99, 836-843.

INSPQ, 2004. Étude sur l'établissement de valeurs de référence d'éléments traces et de métaux dans le sang, le sérum et l'urine de la population de la grande région de Québec, Institut national de santé publique du Québec. INSPQ, Québec, p. 38 pages + annexes.

Janghorbani, M., Xia, Y., Ha, P., Whanger, P.D., Butler, J.A., Olesik, J.W., Daniels, L., 1999. Metabolism of selenite in men with widely varying selenium status. *J. Am. Coll. Nutr.* 18, 462-469.

Jenny-Burri, J., Haldimann, M., Dudler, V., 2010. Estimation of selenium intake in Switzerland in relation to selected food groups. *Food Addit. Contam. Part. A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 27, 1516-1531.

Kazi, T.G., Kandhro, G.A., Sirajuddin, Afridi, H.I., Baig, J.A., Shah, A.Q., Wadhwa, S.K., Khan, S., Kolachi, N.F., Shaikh, H.U., 2010. Evaluation of iodine, iron, and selenium in biological samples of thyroid mother and their newly born babies. *Early Hum. Dev.* 86, 649-655.

Kim, Y.J., Galindev, O., Sei, J.H., Bae, S.M., Im, H., Wen, L., Seo, Y.R., Ahn, W.S., 2009. Serum selenium level in healthy Koreans. *Biol. Trace Elem. Res.* 131, 103-109.

LeBlanc, A., Dumas, P., Lefebvre, L., 1999. Trace element content of commercial shampoos: impact on trace element levels in hair. *Sci. Total Environ.* 229, 121-124.

Letsiou, S., Nomikos, T., Panagiotakos, D., Pergantis, S.A., Fragopoulou, E., Antonopoulou, S., Pitsavos, C., Stefanadis, C., 2009. Serum total selenium status in Greek adults and its relation to age. The ATTICA study cohort. *Biol. Trace Elem. Res.* 128, 8-17.

Levander, O.A., Moser, P.B., Morris, V.C., 1987. Dietary selenium intake and selenium concentrations of plasma, erythrocytes, and breast milk in pregnant and postpartum lactating and nonlactating women. *Am. J. Clin. Nutr.* 46, 694-698.

Longnecker, M.P., Stampfer, M.J., Morris, J.S., Spate, V., Baskett, C., Mason, M., Willett, W.C., 1993. A 1-y trial of the effect of high-selenium bread on selenium concentrations in blood and toenails. *Am. J. Clin. Nutr.* 57, 408-413.

Longnecker, M.P., Stram, D.O., Taylor, P.R., Levander, O.A., Howe, M., Veillon, C., McAdam, P.A., Patterson, K.Y., Holden, J.M., Morris, J.S., Swanson, C.A., Willett, W.C., 1996. Use of selenium

concentration in whole blood, serum, toenails, or urine as a surrogate measure of selenium intake. *Epidemiology* 7, 384-390.

Longnecker, M.P., Taylor, P.R., Levander, O.A., Howe, M., Veillon, C., McAdam, P.A., Patterson, K.Y., Holden, J.M., Stampfer, M.J., Morris, J.S., et al., 1991. Selenium in diet, blood, and toenails in relation to human health in a seleniferous area. *Am. J. Clin. Nutr.* 53, 1288-1294.

Lopez, R.E., Knable, A.L., Jr., Burruss, J.B., 2010. Ingestion of a dietary supplement resulting in selenium toxicity. *J. Am. Acad. Dermatol.* 63, 168-169.

Lorenzo Alonso, M.J., Bermejo Barrera, A., Cocho de Juan, J.A., Fraga Bermudez, J.M., Bermejo Barrera, P., 2005. Selenium levels in related biological samples: human placenta, maternal and umbilical cord blood, hair and nails. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 19, 49-54.

Lymbury, R., Tinggi, U., Griffiths, L., Rosenfeldt, F., Perkins, A.V., 2008. Selenium status of the Australian population: effect of age, gender and cardiovascular disease. *Biol. Trace Elem. Res.* 126 Suppl 1, S1-10.

MacFarquhar, J.K., Broussard, D.L., Melstrom, P., Hutchinson, R., Wolkin, A., Martin, C., Burk, R.F., Dunn, J.R., Green, A.L., Hammond, R., Schaffner, W., Jones, T.F., 2010. Acute selenium toxicity associated with a dietary supplement. *Arch. Intern. Med.* 170, 256-261.

Mannisto, S., Alfthan, G., Virtanen, M., Kataja, V., Uusitupa, M., Pietinen, P., 2000. Toenail selenium and breast cancer-a case-control study in Finland. *Eur. J. Clin. Nutr.* 54, 98-103.

Mayne, S.T., Wright, M.E., Cartmel, B., 2004. Assessment of antioxidant nutrient intake and status for epidemiologic research. *J. Nutr.* 134, 3199S-3200S.

Morris, J.S., Stampfer, M.J., Willett, W., 1983. Dietary selenium in humans toenails as an indicator. *Biol. Trace Elem. Res.* 5, 529-537.

Mozaffarian, D., 2009. Fish, mercury, selenium and cardiovascular risk: current evidence and unanswered questions. *Int. J. Env. Res. Public Health* 6, 1894-1916.

Navarro-Alarcon, M., Cabrera-Vique, C., 2008. Selenium in food and the human body: A review. *Sci. Total Environ.* 400, 115-141.

Navarro-Alarcon, M., de la Serrana, H.L., Perez-Valero, V., Lopez-Martinez, C., 1998. Serum selenium levels as indicators of body status in cancer patients and their relationship with other nutritional and biochemical markers. *Sci. Total Environ.* 212, 195-202.

Niskar, A.S., Paschal, D.C., Kieszak, S.M., Flegal, K.M., Bowman, B., Gunter, E.W., Pirkle, J.L., Rubin, C., Sampson, E.J., McGeehin, M., 2003. Serum selenium levels in the US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Biol. Trace Elem. Res.* 91, 1-10.

Noisel, N., Bouchard, M., Carrier, G., 2010. Disposition kinetics of selenium in healthy volunteers following therapeutic shampoo treatment. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 29, 252-259.

Noisel, N., Bouchard, M., Carrier, G., Plante, M., 2011. Comparison of a toxicokinetic and a questionnaire-based approach to assess methylmercury intake in exposed individuals. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 21, 328-335.

NRC, 2000. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. National Academy Press, Washington, D.C.

Ohira, S., Kirk, A.B., Dyke, J.V., Dasgupta, P.K., 2008. Creatinine adjustment of spot urine samples and 24 h excretion of iodine, selenium, perchlorate, and thiocyanate. *Environ. Sci. Technol.* 42, 9419-9423.

Papp, L.V., Lu, J., Holmgren, A., Khanna, K.K., 2007. From Selenium to Selenoproteins: Synthesis, Identity, and Their Role in Human Health. *Antioxid. Redox Signal.* 9, 775-806.

Pourmand, G., Salem, S., Moradi, K., Nikoobakht, M.R., Tajik, P., Mehrsai, A., 2008. Serum selenium level and prostate cancer: a case-control study. *Nutr. Cancer* 60, 171-176.

Raghunath, R., Tripathi, R.M., Mahapatra, S., Sadasivan, S., 2002. Selenium levels in biological matrices in adult population of Mumbai, India. *Sci. Total Environ.* 285, 21-27.

Rasmussen, L.B., Hollenbach, B., Laurberg, P., Carlé, A., Hög, A., Jørgensen, T., Vejbjerg, P., Ovesen, L., Schomburg, L., 2009. Serum selenium and selenoprotein P status in adult Danes - 8-year followup. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 23, 265-271.

Ravn-Haren, G., Bugel, S., Krath, B.N., Hoac, T., Stagsted, J., Jorgensen, K., Bresson, J.R., Larsen, E.H., Dragsted, L.O., 2008. A short-term intervention trial with selenate, selenium-enriched yeast and selenium-enriched milk: effects on oxidative defence regulation. *Br. J. Nutr.* 99, 883-892.

Ravoori, S., Srinivasan, C., Pereg, D., Robertson, L.W., Ayotte, P., Gupta, R.C., 2010. Protective effects of selenium against DNA adduct formation in Inuit environmentally exposed to PCBs. *Environ. Int.* 36, 980-986.

Robberecht, H.J., Deelstra, H.A., 1984a. Selenium in human urine: concentration levels and medical implications. *Clin. Chim. Acta* 136, 107-120.

Robinson, M.F., McKenzie, J.M., Tomson, C.D., van Rij, A.L., 1973. Metabolic balance of zinc, copper, cadmium, iron, molybdenum and selenium in young New Zealand women. *Br. J. Nutr.* 30, 195-205.

Rodriguez Rodriguez, E.M., Sanz Alaejos, M.T., Diaz Romero, C., 1995. Urinary selenium status of healthy people. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 33, 127-133.

Sanchez, C., Lopez-Jurado, M., Aranda, P., Llopis, J., 2010. Plasma levels of copper, manganese and selenium in an adult population in southern Spain: influence of age, obesity and lifestyle factors. *Sci. Total Environ.* 408, 1014-1020.

Schrauzer, G.N., White, D.A., 1978. Selenium in human nutrition: dietary intakes and effects of supplementation. *Bioinorg. Chem.* 8, 303-318.

Serra-Majem, L., Pfrimer, K., Doreste-Alonso, J., Ribas-Barba, L., Sanchez-Villegas, A., Ortiz-Andrellucchi, A., Henriquez-Sanchez, P., 2009. Dietary assessment methods for intakes of iron, calcium, selenium, zinc and iodine. *Br. J. Nutr.* 102 Suppl 1, S38-55.

Shortt, C.T., Duthie, G.G., Robertson, J.D., Morrice, P.C., Nicol, F., Arthur, J.R., 1997. Selenium status of a group of Scottish adults. *Eur. J. Clin. Nutr.* 51, 400-404.

Slotnick, M.J., Nriagu, J.O., 2006. Validity of human nails as a biomarker of arsenic and selenium exposure: A review. *Environ. Res.* 102, 125-139.

Srikumar, T.S., Johansson, G.K., Ockerman, P.A., Gustafsson, J.A., Akesson, B., 1992. Trace element status in healthy subjects switching from a mixed to a lactovegetarian diet for 12 mo. *Am. J. Clin. Nutr.* 55, 885-890.

Stewart, R.D., Griffiths, N.M., Thomson, C.D., Robinson, M.F., 1978. Quantitative selenium metabolism in normal New Zealand women. *Br. J. Nutr.* 40, 45-54.

Swanson, C., Longnecker, M., Veillon, C., Howe, M., Levander, O., Taylor, P., McAdam, P., Brown, C., Stampfer, M., Willett, W., 1990. Selenium intake, age, gender, and smoking in relation to indices of selenium status of adults residing in a seleniferous area. *Am. J. Clin. Nutr.* 52, 858-862.

Thomson, C.D., 1998. Selenium speciation in human body fluids. *Analyst* 123, 827-831.

Thomson, C.D., 2004. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. *Eur. J. Clin. Nutr.* 58, 391-402.

Valentine, J.L., Kang, H.K., Spivey, G.H., 1978. Selenium levels in human blood, urine, and hair in response to exposure via drinking water. *Environ. Res.* 17, 347-355.

Wasowicz, W., Zachara, B.A., 1987. Selenium concentrations in the blood and urine of a healthy Polish sub-population. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 25, 409-412.

Watkinson, J.H., 1966. Fluorometric Determination of Selenium in Biological Material with 2,3-Diaminonaphthalene. *Anal. Chem.* 38, 92-97.

Wilhelm, M., Ewers, U., Schulz, C., 2004. Revised and new reference values for some trace elements in blood and urine for human biomonitoring in environmental medicine. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 207, 69-73.

Yang, G., Zhou, R., Yin, S., Gu, L., Yan, B., Liu, Y., Li, X., 1989a. Studies of safe maximal daily dietary selenium intake in a seleniferous area in China. I. Selenium intake and tissue selenium levels of the inhabitants. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* 3, 77-87.

Yang, G.Q., Wang, S.Z., Zhou, R.H., Sun, S.Z., 1983. Endemic selenium intoxication of humans in China. *Am. J. Clin. Nutr.* 37, 872-881.

Yang, G.Q., Xia, Y.M., 1995. Studies on human dietary requirements and safe range of dietary intakes of selenium in China and their application in the prevention of related endemic diseases. *Biomed. Environ. Sci.* 8, 187-201.

4.9. Appendice A

Table S1: Selected studies

Study	Population	n ^a	Gender	Mean age ±SD or range ^b	Analytical method of analysis	Intake estimate method	I _{Se}	B _{Se}	P _{Se} ^c	H _{Se}	U _{Se} ^d	T _{Se}
Åkesson et al. (1997)	Swedish adults randomly selected	206	M+F	50-69	AAS; Fluorimetry	3-d dietary records	√		√		1	
Alfthan (1997)	Healthy adults living in urban and rural areas in Finland (study A)	72	NS ^e	43; 53	Fluorimetry			√				√
Allegrini et al. (1985)	Healthy Italian subjects from three rural communities	20	M	30-52	HG-AAS			√	√			
Al-Saleh and Billedo (2006)	Subjects participating in a cross sectional study in Saudi Arabia	743	NS	N/A ^f	AAS				√			√
Arnaud et al. (2001)	Healthy control subjects from Abidjan, Ivory Coast, where iodine deficiency is low	47	NS	N/A	AAS				√		2, 3	
Barany et al. (2003)	Swedish adolescents randomly sampled for a longitudinal nutritional survey	245	NS	17	ICP-MS			√	√			
Behne et al. (2010)	Healthy Danish volunteers recruited for a supplementation study through a voluntary check program	7	M	35.6±9.78	Gamma rays			√	√	√		√

Study	Population	n ^a	Gender	Mean age ±SD or range ^b	Analytical method of analysis	Intake estimate of Se method	I _{Se}	B _{Se}	P _{Se} ^c	H _{Se}	U _{Se} ^d	T _{Se}
Bugel et al. (2001)	Danish participants of a controlled study with shrimps	12	NS	26.4±4.2	GF-AAS	7-d weighted dietary records	√		√		1	
Bugel et al. (2008)	Healthy volunteers of a toxicodynamic study	12	M	37.3±8.4	ICP-MS			√	√			
Bukkens et al. (1990)	Healthy Dutch subjects in a case-study aiming at documenting cardiovascular risk factors	82	M+F	57.3±9.4	INAA				√			√
Burk et al. (2006)	US volunteers in a Se supplementation clinical trial	81	NS	36.2±10.1	Fluorimetry				√		1	
Chen et al. (2006)	Chinese subjects from the Guizhou province	35	NS	28-66	HG-AFS				√		2	
Dickson and Tomlinson (1967)	Normal individuals from Canada	254	M+F	10-85	INAA				√	√		
Djujic et al. (2000)	Healthy volunteers in a controlled study in Yugoslavia	30	NS	19-86	AAS	7-d duplicate diets	√		√	√	1	
Duffield and Thomson (1999)	New Zealand population with low Se in blood	43	M+F	43±10	HG-AAS; Fluorimetry	Duplicates diets	√	√	√		1	

Study	Population	n ^a	Gender	Mean age ±SD or range ^b	Analytical method of analysis	Intake estimate method	I _{Se}	B _{Se}	P _{Se} ^c	H _{Se}	U _{Se} ^d	T _{Se}
Duffield et al. (1999)	Healthy volunteers from New Zealand in a supplementation controlled study	52	NS	41±10; 37±9; 45±13; 38±13; 30±10	HG-AAS	Duplicate diets	√	√	√			
Ellingsen et al. (1993)	Norwegian workers in chloralkali and nitrates fertilizer industry	125	M	44.9	AAS			√			3	
Griffiths et al. (1976)	Healthy young women from New Zealand in a study with labelled [75Se]selenomethionine	4	F	26.3±5.4	Fluorimetry	Duplicate diets	√	√	√		1	
Hac et al. (2002)	Polish volunteers from the Gdansk region	34	NS	19-70	AAS				√	√		
Hawkes et al. (2008)	Healthy US non-smokers in a controlled study with enriched yeast	42	M	31±8.1; 31±9.4	Fluorimetry; HPLC	3-d diet records	√		√	√	1	
Hira et al. (2004)	Indian population in endemic (high Se) and non-endemic (low Se) areas	80	M+F	20-40	HG-AAS	1-day record with food weighted and Se analyzed	√			√	2, 3	√
Hol et al. (2001) and Hol et al. (2003) ^g	Healthy Norwegian subjects in a study assessing the effect of dental amalgams	39	NS	21; 43	HG-AAS			√			2h ^h , 3h ^h	

Study	Population	n ^a	Gender	Mean age ±SD or range ^b	Analytical method of Se analysis	Intake estimate method	I _{Se}	B _{Se}	P _{Se} ^c	H _{Se}	U _{Se} ^d	T _{Se}
Howe (1979)	Population of South Dakota in seleniferous area without chronic toxicosis	6	NS	N/A	Fluorimetry			√		√	2	
Imai et al. (1990)	Andean population from high and low altitude in Bolivia	160	M+F	>19	Fluorimetry			√	√			
INSPQ (2004)	Quebec volunteers from general population for a biomonitoring study	472	M+F	18-65	ICP-MS			√	√		2, 3	
Janghorbani et al. (1999)	Chinese volunteers from low and adequate Se areas	20	M	N/A	Fluorimetry; ICP-MS	Estimated with the equation proposed by Yang et al. (1989a)	N.U. ⁱ		√		1	
Karita et al. (2003)	Japan Public Health Center-based Prospective study	215	M+F	N/A	Fluorimetry	Dietary records	√		√			
Kazi et al. (2010)	Non-goitrous women from Pakistan	276	F	30-40	HG-AAS				√		2	
Kosatsky et al. (1999a)	Resident of Greater Montreal practicing sportfishing	40	NS	51.8±10; 42.9±11.3	GF-AAS				√		2	
Kvicala et al. (1995)	Inhabitants from Prague (Czech Republic) in low Selenium area randomly selected	196	M+F	18-65	Fluorimetry; INAA				√		2, 3	

Study	Population	n ^a	Gender	Mean age ±SD or range ^b	Analytical method of Se analysis	Intake method	estimate	I _{Se}	B _{Se}	P _{Se} ^c	H _{Se}	U _{Se} ^d	T _{Se}
Kvicala et al. (1999)	Inhabitants from the Usti and Orlici regions (Czech Republic) in low Selenium area randomly selected	234	M+F	18-65	Fluorimetry; INAA					√	√	2, 3	
Lalonde et al. (1982)	Normal men from Canada	15	M	N/A	Fluorimetry					√		1, 2 ^h	
Lemire et al. (2009)	Brazilian population living in the Tapajos river valley	396	NS	35.7±15.9	HG-AAS; ICP-MS				√		√		
Levander et al. (1987)	Pregnant, lactating and non-lactating women from North America	36	F	18-36	Fluorimetry	3-d duplicate diets and dietary records	√			√			
Longnecker et al. (1991)	Population living in Western Dakota and eastern Wyoming	78	NS	50	GC-MS; INAA	Duplicate diets	√	√	√			1	√
Longnecker et al. (1993)	Healthy US subjects in a supplementation study	12	M	35±10	INAA				√	√		1	√
Longnecker et al. (1996)	Subjects selected among data from Longnecker et al. (1991): 30 from telephone book (at random) and 47 from suspected high Se area	77	NS	50±14	GC-MS; INAA	Duplicate diets	√	√	√			1	√

Study	Population	n ^a	Gender	Mean age ±SD or range ^b	Analytical method of analysis	Intake method	estimate	I _{Se}	B _{Se}	P _{Se} ^c	H _{Se}	U _{Se} ^d	T _{Se}
Lorenzo Alonso et al. (2005)	Volunteer mothers at delivery recruited in a Spanish hospital	50	F	N/A	AAS				√		√		√
Luo et al. (1985)	Healthy volunteers from Molimo, China	10	M	24±5	Fluorimetry	Duplicates diets		√		√		1	
Macpherson et al. (1988)	N/A	19	NS	N/A	Fluorimetry; HG-AAS				√	√		2	
Meltzer et al. (1992)	Healthy Norwegian volunteers in a clinical trial of Se repletion	18	F	25±2	HG-AAS					√		1	
Meltzer et al. (1993)	Healthy Norwegian students in a clinical trial of Se supplementation	32	NS	29±10; 31±10; 24±2	HG-AAS					√		1	
Minoia et al. (1990)	Healthy subjects living in the Northern Italy representative of 5 subgroups (urban, suburban, rural, low and high hill areas)	717	NS	39±16 46±13	; AAS; INAA				√	√		2 ^h	
Morris et al. (1983)	Healthy adults from Boston (Study I)	6	NS	N/A	INAA				√		√		√
Navarro-Alarcon et al. (1999)	Healthy Spanish adults	130	NS	N/A	HG-AAS					√		2	
Neve et al. (1988)	Healthy Belgian adults in a supplementation study	16	NS	33±6; 32±5	AAS					√		3	

Study	Population	n ^a	Gender	Mean age ±SD or range ^b	Analytical method of analysis	Intake of Se method	estimate	I _{Se}	B _{Se}	P _{Se} ^c	H _{Se}	U _{Se} ^d	T _{Se}
Omland et al. (2002)	Healthy Danish men without respiratory symptoms	41	M	18.2±1.02	Fluorimetry					√		3	
Ozdemir et al. (2008)	Delivering mothers from Turkey	29	F	26.4±2.1	HG-AAS					√	√		
Piccinini et al. (1996)	Healthy Italian controls for a breast and lung cancer study	42	NS	56.8±11; 57.3±6.3	Fluorimetry					√	√		
Raghunath et al. (2002)	Healthy Indian subjects	201	NS	31±3.6	Differential pulse cathodic stripping voltammetry	Duplicate diets		√	√	√			2 ^h
Raines et al. (1999)	Saudi volunteers with catherization but normal cardiac function in a case control study	70	NS	42	Fluorimetry					√		2, 3	
Rea et al. (1979)	Healthy blood donors from New Zealand	104	NS	N/A	Fluorimetry				√	√			
Robinson et al. (1985)	New Zealand residents with low Se status randomly selected	230	M+F	39±15; 42±16	Fluorimetry; GC-MS				√	√			
Satia et al. (2006)	Participants of a cohort investigation of dietary supplement use and cancer risk in Washington State	220	NS	62	AAS; INAA					√			√

Study	Population	n ^a	Gender	Mean age ±SD or range ^b	Analytical method of analysis	Intake method	estimate	I _{Se}	B _{Se}	P _{Se} ^c	H _{Se}	U _{Se} ^d	T _{Se}
Seppanen et al. (2000)	Men and postmenopausal women from Estonia with low serum selenium and no severe disease	23	NS	20-69	FAAS				√	√			
Sharhar et al. (2008)	Healthy Malaysian women in a breast cancer case control study	139	F	46.8±6.3	ICP-MS	Structured diet history with Malaysian Food Composition Table	and modeled with Malaysian Food Composition Table	N.U.			√		√
Shortt et al. (1997)	Scottish adults randomly selected among individuals who attended a health screening component	100	M+F	53.9±1.4; 52.3±1.2	Fluorimetry	7-d records and weighted food and drink		√		√			
Srikumar et al. (1992)	Healthy nonsmoker volunteers from Sweden	20	NS	44	AAS	24-h recalls and FFQ		N.U.		√	√	1	
Srikumar et al. (1994)	Population living on an island in the South Pacific ocean (Papua New Guinea)	83	NS	5-71	AAS					√	√		
Stewart et al. (1978)	Healthy young women from New Zealand in a study with labelled Se	3	F	26±6.6	Fluorimetry	Duplicate diets		√	√			1	

Study	Population	n ^a	Gender	Mean age ±SD or range ^b	Analytical method of Se analysis	Intake estimate method	I _{Se}	B _{Se}	P _{Se} ^c	H _{Se}	U _{Se} ^d	T _{Se}
Sun and Li (2000)	Chinese population (Hans nationality from Liaoning province)	18	M+F	22.9±0.6; 22.2±0.8	Fluorimetry				√	√		
Suzuki et al. (1989)	Japanese female college students	25	F	18-19	Fluorimetry	5-d weighted food and standard tables of food composition	√		√			
Swanson et al. (1990)	Adults from Wyoming and South-Dakota (high selenium residing area)	44	M+F	50	GC-MS; INAA	Duplicate diets	√	√	√		1	√
Thimaya and Ganapathy (1982)	Healthy subjects recruited in hospital, North Carolina	5	NS	N/A	Fluorimetry				√	√		
Thomson et al. (1993)	New Zealand women in a supplementation study	33	F	21±1; 21±1; 20±1	Fluorimetry			√	√			
Thomson et al. (1996)	Adult volunteers from New Zealand	62	NS	32	Fluorimetry				√		1, 2 ^h , 3 ^h	

Study	Population	n ^a	Gender	Mean age ±SD or range ^b	Analytical method of analysis	Intake method	estimate	I _{Se}	B _{Se}	P _{Se} ^c	H _{Se}	U _{Se} ^d	T _{Se}
Thomson et al. (2005)	New Zealand residents participating in previous studies: study 1 - volunteers recruited in a transfusion center Thomson et al. (1997) and study 3 - smokers from Dunedin, New Zealand	393	NS	42; 43; 60	FAAS				√	√		1	
Valentine et al. (1978)	Residents living in a small community in New Mexico with high Se levels in drinking water	43	NS	N/A	HG-AAS				√		√	2 ^h	
van 't Veer et al. (1990)	Dutch white women without history of breast cancer, with exclusion of the perimenopausal group	548	F	25-44	Fluorimetry; INAA	Structured dietary history and Se table of contents	N.U.			√			√
Varo et al. (1988)	Healthy population living in South Finland in urban and rural areas	24	NS	37	AAS					√		1	
Wang et al. (2001)	Normal persons giving urine and serum samples for method development	2	NS	N/A	GF-AAS					√		1, 2 ^h	
Wasowicz and Zachara (1987)	Healthy Polish subjects not occupationally exposed	199	M+F	19-97	Fluorimetry				√	√		3	

Study	Population	n ^a	Gender	Mean age ±SD or range ^b	Analytical method of analysis	Intake estimate method	I _{Se}	B _{Se}	P _{Se} ^c	H _{Se}	U _{Se} ^d	T _{Se}
Wastney et al. (2011)	Healthy US non-smoker volunteers in a controlled study for Se toxicokinetic modelling	20	M+F	39±6; 40±3	GC-MS				√		1	
Yang et al. (1983)	Exposed Chinese population in endemic area but without symptoms of selenosis or deficiency	151 ^j	NS	N/A	Fluorimetry	Se directly measured in food	√	√		√	2	
Yang et al. (1989a)	Chinese peasants living in the Eshi County with low or medium Se levels	260	NS	N/A	AAS	3-d dietary survey with raw and cooked food weighted and collected for Se determination	√	√		√	1	√

^a n considered in the analysis after exclusion of incomplete sampling or incomplete data, erythrocytes data, endemic Se subgroup, cases from case-control study, high Se exposure (> 400 µg/d), subjects reporting signs of Se toxicity or already considered in a previous study.

^b Age of different subgroups are separated by a semi-column.

^c P_{Se} accounts indistinctly for Se concentration in plasma and Se concentration in serum.

^d The numbers represent different expressions of Se in urine: 1 accounted for the Se urinary excretion expressed in µg/d, 2 represents Se concentration in urine expressed in µg/L and 3 represents Se concentration in urine adjusted to creatinine expressed in µg/g creat.

^e NS means not specified. Gender was not specified or results were not gender-specific.

^f N/A means not available.

^g Hol et al. 2001 and 2003 are treated together since the subjects are the same.

^h Based on 24-hour urine sample, except for the study of Wang et al. (2001), which includes one spot sample and one 24-hour sample.

ⁱ N.U. means that the data is not used as the Se intake estimate method is not considered to be reliable.

^j Based on the number of blood samples.

References

Åkesson, B., Huang, W., Persson-Moschos, M., Marchaluk, E., Jacobsson, L., Lindgärde, F., 1997. Glutathione Peroxidase, Selenoprotein P and Selenium in Serum of Elderly Subjects in Relation to Other Biomarkers of Nutritional Status and Food Intake. *J. Nutr. Biochem* 8, 508-517.

Al-Saleh, I., Billedo, G., 2006. Determination of selenium concentration in serum and toenail as an indicator of selenium status. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 77, 155-163.

Alfthan, G.V., 1997. Toenail mercury concentration as a biomarker of methylmercury exposure. *Biomarkers* 2, 233-238.

Allegrini, M., Lanzola, E., Gallorini, M., 1985. Dietary Selenium Intake in a Coronary Heart Disease Study in Northern Italy. *Nutr. Res.* 5, S398-S402.

Arnaud, J., Malvy, D., Richard, M.J., Faure, H., Chaventre, A., 2001. Selenium status in an iodine deficient population of the West Ivory Coast. *J. Physiol. Anthropol. Appl. Human Sci.* 20, 81-84.

Barany, E., Bergdahl, I.A., Bratteby, L.E., Lundh, T., Samuelson, G., Skerfving, S., Oskarsson, A., 2003. Mercury and selenium in whole blood and serum in relation to fish consumption and amalgam fillings in adolescents. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 17, 165-170.

Behne, D., Alber, D., Kyriakopoulos, A., 2010. Long-term selenium supplementation of humans: selenium status and relationships between selenium concentrations in skeletal muscle and indicator materials. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 24, 99-105.

Bugel, S., Larsen, E.H., Sloth, J.J., Flytlie, K., Overvad, K., Steenberg, L.C., Moesgaard, S., 2008. Absorption, excretion, and retention of selenium from a high selenium yeast in men with a high intake of selenium. *Food Nutr. Res.* 52.

Bugel, S.H., Sandstrom, B., Larsen, E.H., 2001. Absorption and retention of selenium from shrimps in man. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 14, 198-204.

Bukkens, S.G., de Vos, N., Kok, F.J., Schouten, E.G., de Bruijn, A.M., Hofman, A., 1990. Selenium status and cardiovascular risk factors in healthy Dutch subjects. *J. Am. Coll. Nutr.* 9, 128-135.

Burk, R.F., Norsworthy, B.K., Hill, K.E., Motley, A.K., Byrne, D.W., 2006. Effects of chemical form of selenium on plasma biomarkers in a high-dose human supplementation trial. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 15, 804-810.

Chen, C., Yu, H., Zhao, J., Li, B., Qu, L., Liu, S., Zhang, P., Chai, Z., 2006. The roles of serum selenium and selenoproteins on mercury toxicity in environmental and occupational exposure. *Environ. Health Perspect.* 114, 297-301.

Dickson, R.C., Tomlinson, R.H., 1967. Selenium in blood and human tissues. *Clin. Chim. Acta* 16, 311-321.

Djujic, I.S., Jozanov-Stankov, O.N., Milovac, M., Jankovic, V., Djermanovic, V., 2000. Bioavailability and possible benefits of wheat intake naturally enriched with selenium and its products. *Biol. Trace Elem. Res.* 77, 273-285.

Duffield, A.J., Thomson, C.D., 1999. A comparison of methods of assessment of dietary selenium intakes in Otago, New Zealand. *Br. J. Nutr.* 82, 131-138.

Duffield, A.J., Thomson, C.D., Hill, K.E., Williams, S., 1999. An estimation of selenium requirements for New Zealanders. *Am. J. Clin. Nutr.* 70, 896-903.

Ellingsen, D.G., Holland, R.I., Thomassen, Y., Landro-Olstad, M., Frech, W., Kjuus, H., 1993. Mercury and selenium in workers previously exposed to mercury vapour at a chloralkali plant. *Br. J. Ind. Med.* 50, 745-752.

Griffiths, N.M., Stewart, R.D., Robinson, M.F., 1976. The metabolism of [⁷⁵Se]selenomethionine in four women. *Br. J. Nutr.* 35, 373-382.

Hac, E., Krechniak, J., Szyszko, M., 2002. Selenium levels in human plasma and hair in northern Poland. *Biol. Trace Elem. Res.* 85, 277-285.

Hawkes, W.C., Richter, B.D., Alkan, Z., Souza, E.C., Derricote, M., Mackey, B.E., Bonnel, E.L., 2008. Response of selenium status indicators to supplementation of healthy North American men with high-selenium yeast. *Biol. Trace Elem. Res.* 122, 107-121.

Hira, C.K., Partal, K., Dhillon, K.S., 2004. Dietary selenium intake by men and women in high and low selenium areas of Punjab. *Public Health Nutr.* 7, 39-43.

Hol, P.J., Vamnes, J.S., Gjerdet, N.R., Eide, R., Isrenn, R., 2001. Dental amalgam and selenium in blood. *Environ. Res.* 87, 141-146.

Hol, P.J., Vamnes, J.S., Gjerdet, N.R., Eide, R., Isrenn, R., 2003. Copper, zinc, and selenium in human blood and urine after injection of sodium 2,3-dimercaptopropane-1-sulfonate: a study on subjects with dental amalgam. *Biol. Trace Elem. Res.* 91, 19-31.

Howe, M., 1979. Selenium in the blood of South Dakotans. *Arch. Environ. Health* 34, 444-448.

Imai, H., Suzuki, T., Kashiwazaki, H., Takemoto, T.-i., Izumi, T., Moji, K., 1990. Dietary habit and selenium concentrations in erythrocyte and serum in a group of middle-aged and elderly Japanese. *Nutr. Res.* 10, 1205-1214.

INSPQ, 2004. Étude sur l'établissement de valeurs de référence d'éléments traces et de métaux dans le sang, le sérum et l'urine de la population de la grande région de Québec, Institut national de santé publique du Québec. INSPQ, Québec, p. 38 pages + annexes.

Janghorbani, M., Xia, Y., Ha, P., Whanger, P.D., Butler, J.A., Olesik, J.W., Daniels, L., 1999. Metabolism of selenite in men with widely varying selenium status. *J. Am. Coll. Nutr.* 18, 462-469.

Karita, K., Sasaki, S., Ishihara, J., Tsugane, S., 2003. Validity of a self-administered food frequency questionnaire used in the 5-year follow-up survey of the JPHC Study to assess selenium intake: comparison with dietary records and blood levels. *J. Epidemiol.* 13, S92-97.

Kazi, T.G., Kandhro, G.A., Sirajuddin, Afridi, H.I., Baig, J.A., Shah, A.Q., Wadhwa, S.K., Khan, S., Kolachi, N.F., Shaikh, H.U., 2010. Evaluation of iodine, iron, and selenium in biological samples of thyroid mother and their newly born babies. *Early Hum. Dev.* 86, 649-655.

Kosatsky, T., Przybysz, R., Shatenstein, B., Weber, J.P., Armstrong, B., 1999a. Fish consumption and contaminant exposure among Montreal-area sportfishers: pilot study. *Environ. Res.* 80, S150-S158.

Kvicala, J., Zamrazil, V., Jiranek, V., 1999. Characterization of selenium status of inhabitants in the region Usti nad Orlici, Czech Republic by INAA of blood serum and hair and fluorimetric analysis of urine. *Biol. Trace Elem. Res.* 71-72, 31-39.

Kvicala, J., Zamrazil, V., Soutorova, M., Tomiska, F., 1995. Correlations between parameters of body selenium status and peripheral thyroid parameters in the low selenium region. *Analyst* 120, 959-965.

Lalonde, L., Jean, Y., Roberts, K.D., Chapdelaine, A., Bleau, G., 1982. Fluorometry of selenium in serum or urine. *Clin. Chem.* 28, 172-174.

Lemire, M., Mergler, D., Huel, G., Passos, C.J.S., Fillion, M., Philibert, A., Guimaraes, J.R.D., Rheault, I., Borduas, J., Normand, G., 2009. Biomarkers of selenium status in the amazonian context: Blood, urine and sequential hair segments. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 19, 213-222.

Levander, O.A., Moser, P.B., Morris, V.C., 1987. Dietary selenium intake and selenium concentrations of plasma, erythrocytes, and breast milk in pregnant and postpartum lactating and nonlactating women. *Am. J. Clin. Nutr.* 46, 694-698.

Longnecker, M.P., Stampfer, M.J., Morris, J.S., Spate, V., Baskett, C., Mason, M., Willett, W.C., 1993. A 1-y trial of the effect of high-selenium bread on selenium concentrations in blood and toenails. *Am. J. Clin. Nutr.* 57, 408-413.

Longnecker, M.P., Stram, D.O., Taylor, P.R., Levander, O.A., Howe, M., Veillon, C., McAdam, P.A., Patterson, K.Y., Holden, J.M., Morris, J.S., Swanson, C.A., Willett, W.C., 1996. Use of selenium concentration in whole blood, serum, toenails, or urine as a surrogate measure of selenium intake. *Epidemiology* 7, 384-390.

Longnecker, M.P., Taylor, P.R., Levander, O.A., Howe, M., Veillon, C., McAdam, P.A., Patterson, K.Y., Holden, J.M., Stampfer, M.J., Morris, J.S., et al., 1991. Selenium in diet, blood, and toenails in relation to human health in a seleniferous area. *Am. J. Clin. Nutr.* 53, 1288-1294.

Lorenzo Alonso, M.J., Bermejo Barrera, A., Cocho de Juan, J.A., Fraga Bermudez, J.M., Bermejo Barrera, P., 2005. Selenium levels in related biological samples: human placenta, maternal and umbilical cord blood, hair and nails. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 19, 49-54.

Luo, X.M., Wei, H.J., Yang, C.L., Xing, J., Qiao, C.H., Feng, Y.M., Liu, J., Liu, Z., Wu, Q., Liu, Y.X., et al., 1985. Selenium intake and metabolic balance of 10 men from a low selenium area of China. *Am. J. Clin. Nutr.* 42, 31-37.

Macpherson, A.K., Sampson, B., Diplock, A.T., 1988. Comparison of methods for the determination of selenium in biological fluids. *Analyst* 113, 281-283.

Meltzer, H.M., Bibow, K., Paulsen, I.T., Mundal, H.H., Norheim, G., Holm, H., 1993. Different bioavailability in humans of wheat and fish selenium as measured by blood-platelet response to increased dietary Se. *Biol. Trace Elem. Res.* 36, 229-241.

Meltzer, H.M., Norheim, G., Loken, E.B., Holm, H., 1992. Supplementation with wheat selenium induces a dose-dependent response in serum and urine of a Se-replete population. *Br. J. Nutr.* 67, 287-294.

Minoia, C., Sabbioni, E., Apostoli, P., Pietra, R., Pozzoli, L., Gallorini, M., Nicolaou, G., Alessio, L., Capodaglio, E., 1990. Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European community I. A study of 46 elements in urine, blood and serum of Italian subjects. *Sci. Total Environ.* 95, 89-105.

Morris, J.S., Stampfer, M.J., Willett, W., 1983. Dietary selenium in humans toenails as an indicator. *Biol. Trace Elem. Res.* 5, 529-537.

Navarro-Alarcon, M., Lopez, G.d.I.S.H., Perez-Valero, V., Lopez-Martinez, C., 1999. Serum and urine selenium concentrations as indicators of body status in patients with diabetes mellitus. *Sci. Total Environ.* 228, 79-85.

Neve, J., Vertongen, F., Capel, P., 1988. Selenium supplementation in healthy Belgian adults: response in platelet glutathione peroxidase activity and other blood indices. *Am. J. Clin. Nutr.* 48, 139-143.

Omland, O., Deguchi, Y., Sigsgaard, T., Hansen, J.C., 2002. Selenium serum and urine is associated to mild asthma and atopy. The SUS study. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 16, 123-127.

Ozdemir, H.S., Karadas, F., Pappas, A.C., Cassey, P., Oto, G., Tuncer, O., 2008. The selenium levels of mothers and their neonates using hair, breast milk, meconium, and maternal and umbilical cord blood in Van Basin. *Biol. Trace Elem. Res.* 122, 206-215.

Piccinini, L., Borella, P., Bargellini, A., Medici, C.I., Zoboli, A., 1996. A case-control study on selenium, zinc, and copper in plasma and hair of subjects affected by breast and lung cancer. *Biol. Trace Elem. Res.* 51, 23-30.

Raghunath, R., Tripathi, R.M., Mahapatra, S., Sadasivan, S., 2002. Selenium levels in biological matrices in adult population of Mumbai, India. *Sci. Total Environ.* 285, 21-27.

Raines, D.A., Kinsara, A.J., Eid Fawzy, M., Vasudevan, S., Mohamed, G.E., Legayada, E.S., Al-Rawithi, S., El-Yazigi, A., 1999. Plasma and urinary selenium in Saudi Arabian patients with dilated cardiomyopathy. *Biol. Trace Elem. Res.* 69, 59-68.

Rea, H.M., Thomson, C.D., Campbell, D.R., Robinson, M.F., 1979. Relation between erythrocyte selenium concentrations and glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) activities of New Zealand residents and visitors to New Zealand. *Br. J. Nutr.* 42, 201-208.

Robinson, J.R., Robinson, M.F., Levander, O.A., Thomson, C.D., 1985. Urinary excretion of selenium by New Zealand and North American human subjects on differing intakes. *Am. J. Clin. Nutr.* 41, 1023-1031.

Satia, J.A., King, I.B., Morris, J.S., Stratton, K., White, E., 2006. Toenail and Plasma Levels as Biomarkers of Selenium Exposure. *Ann. Epidemiol.* 16, 53-58.

Seppanen, K., Kantola, M., Laatikainen, R., Nyssonen, K., Valkonen, V.P., Kaarlopp, V., Salonen, J.T., 2000. Effect of supplementation with organic selenium on mercury status as measured by mercury in pubic hair. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 14, 84-87.

Sharhar, S., Normah, H., Fatimah, A., Fadilah, R.N., Rohi, G.A., Amin, I., Cham, B.G., Rizal, R.M., Fairulnizar, M.N., 2008. Antioxidant intake and status, and oxidative stress in relation to breast cancer risk: a case-control study. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 9, 343-349.

Shortt, C.T., Duthie, G.G., Robertson, J.D., Morrice, P.C., Nicol, F., Arthur, J.R., 1997. Selenium status of a group of Scottish adults. *Eur. J. Clin. Nutr.* 51, 400-404.

Srikumar, T.S., Johansson, G.K., Ockerman, P.A., Gustafsson, J.A., Akesson, B., 1992. Trace element status in healthy subjects switching from a mixed to a lactovegetarian diet for 12 mo. *Am. J. Clin. Nutr.* 55, 885-890.

Srikumar, T.S., Kallgard, A., Lindeberg, S., Ockerman, P.A., Akesson, B., 1994. Trace element concentrations in hair of subjects from two South Pacific Islands, Atafu (Tokelau) and Kitava (Papua New Guinea). *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* 8, 21-26.

Stewart, R.D., Griffiths, N.M., Thomson, C.D., Robinson, M.F., 1978. Quantitative selenium metabolism in normal New Zealand women. *Br. J. Nutr.* 40, 45-54.

Sun, Y., Li, H.Z., 2000. Determination of trace selenium in human plasma and hair with ternary inclusion compound-fluorescent spectrophotometry. *Analyst* 125, 2326-2329.

Suzuki, T., Hongo, T., Ohba, T., Kobayashi, K., Imai, H., Ishida, H., Suzuki, H., 1989. The relation of dietary selenium to erythrocyte and plasma selenium concentrations in Japanese college women. *Nutr. Res.* 9, 839-848.

Swanson, C., Longnecker, M., Veillon, C., Howe, M., Levander, O., Taylor, P., McAdam, P., Brown, C., Stampfer, M., Willett, W., 1990. Selenium intake, age, gender, and smoking in relation to indices of selenium status of adults residing in a seleniferous area. *Am. J. Clin. Nutr.* 52, 858-862.

Thimaya, S., Ganapathy, S.N., 1982. Selenium in human hair in relation to age, diet, pathological condition and serum levels. *Sci. Total Environ.* 24, 41-49.

Thomson, C.D., Colls, A.J., Conaglen, J.V., Macormack, M., Stiles, M., Mann, J., 1997. Iodine status of New Zealand residents as assessed by urinary iodide excretion and thyroid hormones. *Br. J. Nutr.* 78, 901-912.

Thomson, C.D., McLachlan, S.K., Grant, A.M., Paterson, E., Lillico, A.J., 2005. The effect of selenium on thyroid status in a population with marginal selenium and iodine status. *Br. J. Nutr.* 94, 962-968.

Thomson, C.D., Robinson, M.F., Butler, J.A., Whanger, P.D., 1993. Long-term supplementation with selenate and selenomethionine: selenium and glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) in blood components of New Zealand women. *Br. J. Nutr.* 69, 577-588.

Thomson, C.D., Smith, T.E., Butler, K.A., Packer, M.A., 1996. An evaluation of urinary measures of iodine and selenium status. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 10, 214-222.

Valentine, J.L., Kang, H.K., Spivey, G.H., 1978. Selenium levels in human blood, urine, and hair in response to exposure via drinking water. *Environ. Res.* 17, 347-355.

van 't Veer, P., van der Wielen, R.P., Kok, F.J., Hermus, R.J., Sturmans, F., 1990. Selenium in diet, blood, and toenails in relation to breast cancer: a case-control study. *Am. J. Epidemiol.* 131, 987-994.

Varo, P., Alfthan, G., Ekholm, P., Aro, A., Koivistoinen, P., 1988. Selenium intake and serum selenium in Finland: effects of soil fertilization with selenium. *Am. J. Clin. Nutr.* 48, 324-329.

Wang, H.C., Peng, H.W., Kuo, M.S., 2001. Determination of beryllium and selenium in human urine and of selenium in human serum by graphite-furnace atomic absorption spectrophotometry. *Anal. Sci.* 17, 527-532.

Wasowicz, W., Zachara, B.A., 1987. Selenium concentrations in the blood and urine of a healthy Polish sub-population. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 25, 409-412.

Wastney, M.E., Combs, G.F., Jr., Canfield, W.K., Taylor, P.R., Patterson, K.Y., Hill, A.D., Moler, J.E., Patterson, B.H., 2011. A human model of selenium that integrates metabolism from selenite and selenomethionine. *J. Nutr.* 141, 708-717.

Yang, G., Zhou, R., Yin, S., Gu, L., Yan, B., Liu, Y., Li, X., 1989a. Studies of safe maximal daily dietary selenium intake in a seleniferous area in China. I. Selenium intake and tissue selenium levels of the inhabitants. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* 3, 77-87.

Yang, G.Q., Wang, S.Z., Zhou, R.H., Sun, S.Z., 1983. Endemic selenium intoxication of humans in China. *Am. J. Clin. Nutr.* 37, 872-881.

Chapitre 5. Discussion et perspectives

La présente thèse avait pour but de produire des données cinétiques et comparatives manquantes pour la validation et l'interprétation d'outils d'évaluation de l'exposition au MeHg et au Se, afin d'estimer précisément les risques pour la santé. Ainsi, la recherche présentée dans le manuscrit couvre trois sections qui répondent chacune à une partie de l'objectif général.

5.1. Originalité de la thèse et contribution à l'avancement des connaissances

La première partie de la thèse (Chapitre 2, Article 1) porte sur une approche encore peu exploitée visant à comparer de façon systématique les apports quotidiens en MeHg estimés par questionnaire alimentaire avec ceux modélisés à partir de données biologiques. D'importantes différences entre les deux approches ont été observées, dont certaines sont discordantes avec la cinétique humaine du Hg : apports estimés élevés par questionnaire ($> 100 \mu\text{g}/\text{j}$ pour 3 volontaires) alors que les concentrations sanguines et capillaires sont faibles ($< 1,5 \mu\text{g}/\text{g}$ pour ces mêmes volontaires) et les apports modélisés concordent avec les profils de MeHg dans les cheveux. Ces deux méthodes conduisent à une appréciation des risques pour la santé parfois divergente puisque, à l'aide des FFQ, la majorité des volontaires dépasse les recommandations de l'US EPA et de Santé Canada (respectivement 22/23 et 21/23), alors que les données biologiques modélisées suggèrent qu'une faible proportion des volontaires dépasse ces recommandations (respectivement 6 et 2 individus sur 23). La méthode d'estimation de l'exposition a donc un impact important sur les résultats et il y a lieu de questionner quelle avenue est la plus bénéfique et éthiquement acceptable pour la population : opter pour un scénario conservateur au risque d'inquiéter à tort la population, ou bien opter pour un scénario plus réaliste qui génèrera moins de préoccupations ? Le scénario conservateur pourrait encourager la population à réduire les quantités de poisson consommées afin de prévenir les effets néfastes du MeHg. Cependant, cette diminution n'est pas souhaitable d'un point de vue de santé publique, étant donné que la consommation de poisson, du fait des fortes teneurs en nutriments, dont le Se, et en acides gras ω -3, est également très bénéfique pour la santé (Cohen et al., 2005; Mahaffey, 2004; Mozaffarian, 2009; Oken et al., 2012). Plusieurs auteurs se sont penchés sur l'analyse des risques vs bénéfiques de la consommation de poisson et ont rapporté que celle-ci diminuait de 20 % la mortalité des personnes atteintes de maladies coronariennes (Rembold, 2004). Par ailleurs, la

consommation de poisson actuelle au Canada est relativement limitée (environ 20 g/j (Dabeka et al., 2003)), et il est possible que la population préoccupée par les effets sur la santé puisse être portée à substituer le poisson par d'autres aliments comportant moins de bienfaits et peut-être même plus de risques pour la santé (Lund et al., 2004). Pour ces différentes raisons, il semble que l'utilisation des FFQ ne soit pas une méthode à privilégier pour estimer les risques toxicologiques d'origine alimentaire pour des individus exposés.

La consommation de poisson présente également l'avantage de constituer une source de Se commune avec le MeHg. Étant donné que le Se protège contre les effets neurotoxiques de ce dernier, il est alors pertinent d'examiner les méthodes d'estimation de l'exposition pour ces deux composés d'intérêt. De plus, compte tenu de la dualité du Se, il importe de bien documenter l'exposition afin de maintenir les apports à l'intérieur de l'étendue de concentrations protégeant des effets néfastes par carence ou par excès. Ainsi, il a semblé essentiel de se pencher sur la faisabilité de l'utilisation de la surveillance biologique pour reconstruire les doses d'exposition. Pour ce faire, il est nécessaire au préalable de bien comprendre la distribution du Se dans l'organisme suite à une exposition par différentes sources, qu'elles soient alimentaires ou non. Ce questionnement a mené à la réalisation de la deuxième section (Chapitre 3, Article 2) visant à combler le manque de données cinétiques sur la contribution d'une exposition non alimentaire à la charge corporelle de Se. Cette recherche se distingue de ce qui a été publié antérieurement par plusieurs aspects : l'exposition des volontaires pendant un mois, les mesures dans 4 matrices biologiques complémentaires (sang, urine, cheveux, ongles) et un suivi des volontaires pendant 18 mois. Cela a permis, entre autres, de mieux expliciter le mécanisme par lequel le Se est distribué dans les cheveux (concomitance des voies régulées et non régulées) ainsi que dans les autres matrices biologiques (sang, urine, ongles) suite à une exposition par le shampoing. En accord avec plusieurs auteurs (DiPietro et al., 1989; Morris et al., 1983; Navarro-

Alarcon et Cabrera-Vique, 2008; Slotnick et Nriagu, 2006), les résultats confirment le fait que les concentrations de Se dans les cheveux peuvent mener à une importante surestimation de la charge corporelle réelle lorsque la présence de facteurs de confusion, tels que l'utilisation de shampoing contenant du sélénium, n'est pas contrôlée. Cependant, ces résultats ont permis de conclure que l'exposition au Se par le shampoing pendant un mois ne contribuait pas significativement aux autres matrices biologiques, ce qui n'avait jamais été mis en évidence auparavant. Ainsi, ces recherches permettront d'améliorer l'interprétation des données de surveillance biologique concernant le Se.

La dernière section (Chapitre 4, Article 3) consistait à effectuer une analyse systématique de la relation cinétique entre les apports quotidiens et les concentrations biologiques de Se dans différentes matrices. Cette méta-analyse est la première qui regroupe les données de surveillance biologique du Se de 75 études publiées et qui établit les coefficients des équations caractérisant les relations entre les différentes matrices biologiques. L'établissement d'algorithmes mathématiques qui relient ces matrices a contribué à mieux comprendre la distribution du Se dans les matrices biologiques. Ainsi, l'analyse produite a montré que lorsque les apports quotidiens en Se dépassent 150 $\mu\text{g}/\text{j}$, les concentrations plasmatiques de Se tendent vers un plateau plus rapidement que les concentrations sanguines, ce qui en fait un biomarqueur de moins grande sensibilité. De façon similaire, lorsque les apports quotidiens en Se dépassent 150 $\mu\text{g}/\text{j}$, les concentrations urinaires augmentent rapidement. Ce phénomène représente la régulation homéostatique du Se, et la connaissance des seuils à partir desquels elle opère permet une meilleure appréhension des risques pour la santé d'une surexposition. Par ailleurs, le fait que les concentrations dans les phanères (cheveux, ongles) suivent une relation quasi proportionnelle avec les apports quotidiens et les concentrations sanguines inciterait à privilégier ces biomarqueurs pour l'évaluation de l'exposition au Se, en l'absence de contamination externe de source non alimentaire. Les conclusions de ces analyses

sont aisément transférables et utilisables dans les études impliquant le Se et complètent les outils visant à faciliter la comparaison des résultats d'études d'évaluation de l'exposition portant sur des matrices biologiques différentes, et ce, pour une large étendue de concentrations.

5.2. Contribution à l'interprétation des résultats de surveillance biologique et application à la pratique de la santé publique

Lorsqu'elles sont menées convenablement, les études de surveillance biologique permettent de combler les manques d'information concernant l'exposition qui font souvent défaut dans les études épidémiologiques (Paustenbach et Galbraith, 2006b). Le choix judicieux de la matrice biologique en fonction des propriétés toxicocinétiques et de la distribution de la substance fournit des informations quantitatives sur les niveaux d'expositions passées et favorise une estimation de risque plus réaliste. Ainsi, la surveillance biologique contribue à diminuer les incertitudes inhérentes aux approches traditionnelles de l'estimation de l'exposition et du risque pour la santé (Paustenbach et Galbraith, 2006a). Dans le cas présent, les recherches effectuées ont permis d'identifier les facteurs importants à considérer pour estimer l'exposition au MeHg et au Se : le choix de la méthode (directe ou indirecte), le choix de la matrice, en particulier, en présence d'une source d'exposition complémentaire non alimentaire, ainsi que les coefficients des équations reliant les différentes matrices. Selon les résultats présentés, les méthodes directes (surveillance biologique) sont à privilégier par rapport aux méthodes indirectes (FFQ) car ces dernières surestiment globalement l'exposition et montrent d'importantes divergences avec la cinétique des composés étudiés. Lorsque plusieurs matrices biologiques sont disponibles, le choix se porte souvent sur celles qui sont les plus documentées (sang ou urine) ou sur celles qui permettent de reconstruire l'exposition rétrospectivement sur une longue période temps (cheveux et ongles). La cinétique de biotransformation et d'élimination de la substance considérée conditionne également ce choix : pour le MeHg, la matrice capillaire analysée cm par cm permettant de retracer l'exposition moyenne des derniers mois est tout à fait compatible avec la demi-vie dans l'organisme (de l'ordre de 45 à 70 jours (Carrier et al., 2001a; Nuttall, 2004; Smith et Farris, 1996)). En ce qui concerne le Se, l'utilisation des

cheveux comme une matrice biologique d'intérêt est limitée par la présence de sources non alimentaires telles que l'utilisation de shampoings thérapeutiques qui font en sorte que les concentrations mesurées dans cette matrice ne reflètent plus les doses internes et les concentrations sanguines, et ce, même si la demi-vie est du même ordre de grandeur. Finalement, les équations et leurs coefficients reliant les matrices rendent possibles les comparaisons d'études ayant considéré des matrices biologiques différentes. Ces facteurs permettent également de mieux comprendre comment un compartiment biologique se comporte à l'égard d'un autre : par exemple, le comportement de l'excrétion urinaire de Se qui augmente de façon importante lorsque les concentrations de Se dans le sang dépassent 150 µg/L, alors que ce phénomène n'est pas observé avec le plasma. Ces résultats prennent toute leur signification lors de l'application de stratégie de surveillance biologique et d'analyse des risques en santé publique. En effet, alors que les ressources sont limitées, il importe de pouvoir estimer de façon rapide, précise et non biaisée le degré d'exposition dans une population afin de juger si un risque est présent (Metcalf et Orloff, 2004).

5.3. Considérations éthiques et qualité des données de surveillance biologique

Les études de surveillance biologique nécessitent des prélèvements biologiques dans la population concernée, dont certains sont considérés invasifs (sang, plasma) et d'autres non invasifs (urine, cheveux). Cependant, dans le cas où ces prélèvements sont réalisés de façon récurrente pendant une période prolongée, il y a lieu de questionner l'acceptabilité de ces prélèvements ainsi que la façon dont la perception par les volontaires peut influencer leurs comportements, et par le fait même, les résultats.

Dans ce contexte, l'étude de surveillance biologique du Se provenant de source non alimentaire a contribué à nourrir ces réflexions, et les perceptions des volontaires ont été recueillies à la fin du projet. Contrairement à toutes attentes, la majorité des volontaires a rapporté que les prélèvements sanguins, habituellement considérés invasifs, étaient les moins dérangeants alors que les prélèvements d'urine sur une période de 12 heures, considérés non invasifs, étaient plus contraignants. Il semblerait donc que l'acceptabilité des prélèvements ne soit pas associée avec le caractère invasif ou non de ces derniers. En outre, il est pensable que les prélèvements dont l'acceptabilité est plus faible soient ceux dont l'observance est également faible ou compromise par la complexité des protocoles (ex : urine de 12 ou 24 heures). Lors d'une collecte urinaire prolongée, par exemple, un volontaire ayant oublié de prélever une miction, en totalité ou partiellement, pourrait être tenté de ne pas rapporter l'incident pour éviter de recommencer le prélèvement. De ce fait, la validité des données sous-jacentes peut se trouver également compromise (excrétion urinaire estimée inférieure à l'excrétion urinaire réelle), sans pour autant que le chercheur n'en soit conscient. Cependant, dans le cas des prélèvements sanguins, les protocoles établis limitent fortement les menaces à l'observance, et par le fait même, contribue à la qualité des données du fait de

l'acceptabilité du prélèvement par le volontaire. Pour ces raisons, tant l'acceptabilité que le caractère invasif des prélèvements devraient être considérés lors de la conception d'étude de surveillance biologique, afin d'assurer une qualité des résultats scientifiques tout en restant conformes aux fondements éthiques.

5.4. Perspectives futures

Compte tenu des nombreux bienfaits du Se sur la santé, en particulier pour les maladies cardiovasculaires et les cancers, et des seuils de concentrations pour les effets néfastes relativement élevés (NOAEL de 800 µg/j (Yang et Zhou, 1994)), il y a lieu de questionner la pertinence de la valeur de l'ARN actuellement fixée à 55 µg/j (IOM, 2000), soit 7 fois moins élevée que l'apport maximal tolérable (400 µg/j ou NOAEL/2). En effet, une révision à la hausse de cette valeur permettrait de bénéficier de tous les effets positifs du Se sans toutefois atteindre une étendue de concentrations associée à un risque accru de sélénose pour la population, tel que préconisé par certains auteurs depuis plusieurs années (Combs, 2001a). En connaissant précisément la distribution du Se dans les différentes matrices et les équations reliant chacune d'elles, il est ainsi plus facile d'anticiper les concentrations biologiques attendues en fonction des apports quotidiens considérés. En ce qui concerne le Se, les concentrations sanguines associées aux effets toxiques sont relativement bien documentées, alors que les recommandations sont formulées sur la base des apports quotidiens. Si la surveillance biologique utilise la matrice urinaire, les algorithmes proposés par le biais du 3^e article permettraient ainsi de relier ces compartiments et de proposer des valeurs d'apports nutritionnels qui soient en dessous des valeurs sanguines connues pour les effets toxiques, ainsi que les concentrations urinaires correspondantes. Les résultats des analyses présentées ne permettent pas de proposer une nouvelle valeur d'apports quotidiens pour le Se, mais contribuent à anticiper les retombées d'un changement sur les autres matrices biologiques, et donc, à mieux appréhender les risques pour la santé, tout en profitant des bienfaits du Se.

De façon similaire, il est également envisageable de mieux anticiper les effets toxiques associés à des concentrations biologiques dans des matrices nécessitant des prélèvements invasifs ou avec une

faible acceptabilité en les remplaçant par des prélèvements d'une autre matrice biologique moins invasive et/ou plus acceptable. L'équivalence des valeurs pourra être établie à l'aide des algorithmes proposés (Article 3).

Finalement, la complexité du suivi biologique du Se réside dans les nombreuses formes chimiques de ce composé. Les travaux réalisés ne tiennent compte que des concentrations de Se total, et non pas de chacune des formes. Cependant, tel que mentionné aux sections 1.4.1. et 1.4.2. du Chapitre 1, chaque forme chimique de Se possède ses propres caractéristiques physicochimiques et toxicocinétiques. Ainsi, l'expérience avec le disulfure de Se contenu dans le shampoing aurait pu donner des résultats différents si le Se appliqué avait contenu de la Se-Met ou de la Se-Cys. La demi-vie apparente d'élimination du Se dans les cheveux, telle que calculée dans l'Article 2, est de l'ordre de 4,5 semaines. Cependant, cette valeur ne correspond à aucune demi-vie connue des différentes formes de Se (Tableau 4) et pourrait représenter une valeur moyenne de demi-vie de plusieurs formes de Se présentes de façon concomitante et issues de différents mécanismes de distribution. Ainsi, la mesure des différentes formes de Se dans les cheveux plutôt que celle du Se total permettrait de quantifier la proportion de Se adsorbée sous forme disulfure de Se et de celle absorbée et réintégrée dans les cheveux sous une autre forme. Ultimement, ces données aideraient à confirmer les hypothèses proposées et à renforcer la compréhension des mécanismes de distribution. De plus, l'analyse des différentes formes de Se dans l'ensemble des matrices biologiques pourrait résulter en des profils temporels différents, et donc des interprétations d'analyses plus détaillées.

Ces constatations s'appliquent également à la démarche présentée dans l'Article 3. Celui-ci ne traite que de Se total du fait du manque de disponibilité des formes de Se utilisées dans les 75 études de surveillance biologique analysées. Il est donc envisageable qu'une analyse similaire tenant compte

des différentes formes de Se présentes dans l'organisme aboutisse à des relations légèrement différentes, en fonction des propriétés physicochimiques de chaque forme :

- les fractions d'absorption variant d'une forme à l'autre (absorption plus élevée pour les formes organiques (Burk et al., 2006; Daniels, 1996)), pour une même dose d'exposition exprimée en Se total, les doses internes et les concentrations sanguines et plasmatiques pourraient varier grandement ;
- l'effet de premier passage hépatique plus marqué pour la Se-Met résulterait en des concentrations plus faibles pour une même dose d'exposition (Patterson et al., 1989; Swanson et al., 1991) ;
- l'affinité du sélénite pour les érythrocytes (Patching et Gardiner, 1999; Suzuki et al., 2006) et celle des Sel-P pour le plasma (Jitaru et al., 2010; Papp et al., 2007) pourraient se refléter dans les différentes fractions sanguines ;
- la présence de la Se-Met dans la voie non régulée par l'homéostasie (Djujic et al., 2000; Fox et al., 2004) se traduirait par des profils cinétiques urinaires différents de ceux des autres formes.

Afin de continuer à améliorer les outils d'interprétation des données de surveillance biologique, il y aurait lieu d'analyser, d'étudier, de générer des données ciblant chacune de ces formes chimiques. Ces données seraient utiles pour développer un modèle cinétique intégrateur du Se et de l'ensemble de ses formes chimiques à l'image de celui qui a été développé pour le Hg (Carrier et al., 2001a; Carrier et al., 2001b). En effet, hormis quelques tentatives s'attachant à modéliser spécifiquement le sélénite (Patterson et al., 1989; Patterson et Zech, 1992) ou la Se-Met (Swanson et al., 1991), aucun modèle cinétique complet du Se n'a été proposé à ce jour. La connaissance précise du devenir des

différentes formes de Se pourrait contribuer à établir un tel modèle, cependant, la génération de ces données implique de nombreux efforts de recherche, des coûts élevés et constitue un défi analytique de taille.

Chapitre 6. Conclusion

L'ensemble des recherches présentées dans cette thèse de doctorat visait à produire des données cinétiques et comparatives manquantes pour la validation et l'interprétation d'outils d'évaluation de l'exposition au méthylmercure et au sélénium. Les analyses présentées dans les différents chapitres ont permis de montrer que l'utilisation des questionnaires alimentaires peut mener à une surestimation de l'exposition au méthylmercure et que la méthode choisie pour évaluer l'exposition a un impact important sur les estimations des risques associés. Les recherches ont également montré que le sélénium non alimentaire ne contribue pas de façon significative à la charge corporelle totale, mais constitue un facteur de confusion pour l'estimation de la charge corporelle réelle en sélénium lorsque les cheveux sont utilisés comme biomarqueur à cet effet. Finalement, la détermination des équations et des coefficients reliant les concentrations de sélénium entre différentes matrices biologiques, à l'aide d'une vaste base de données cinétiques, concourt à mieux interpréter les résultats de surveillance biologique. Dans une perspective d'analyse des risques pour la santé publique, l'estimation de l'exposition revêt une importance capitale. Ainsi, les différents outils et approches appliqués au méthylmercure et au sélénium contribuent à raffiner les estimations de l'exposition et à mieux caractériser les risques pour la santé.

Chapitre 7. Bibliographie

Abdulah, R., Miyazaki, K., Nakazawa, M. et Koyama, H. (2005). Chemical forms of selenium for cancer prevention. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19(2-3): 141-150.

Al-Saleem, T. (1976). Levels of mercury and pathological changes in patients with organomercury poisoning. *Bulletin of the World Health Organization*, 53 suppl: 99-104.

Al-Saleh, I., Abduljabbar, M., Al-Rouqi, R., Elkhatib, R., Alshabbaheen, A. et Shinwari, N. (2013). Mercury (Hg) Exposure in Breast-Fed Infants and Their Mothers and the Evidence of Oxidative Stress. *Biological Trace Element Research*, 153(1-3): 145-154.

Al-Saleh, I., Al-Rouqi, R., Obsum, C.A., Shinwari, N., Mashhour, A., Billedo, G., et al. (2014). Mercury (Hg) and oxidative stress status in healthy mothers and its effect on birth anthropometric measures. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 217(4–5): 567-585.

Aldosary, B.M., Sutter, M.E., Schwartz, M. et Morgan, B.W. (2012). Case series of selenium toxicity from a nutritional supplement. *Clinical Toxicology*, 50(1): 57-64.

Alfthan, G. (1985). Can externally deposited Se be removed from hair? *Clinical Chemistry*, 31(3): 500.

Alfthan, G., Aro, A., Arvilommi, H. et Huttunen, J.K. (1991). Selenium metabolism and platelet glutathione peroxidase activity in healthy Finnish men: effects of selenium yeast, selenite, and selenate. *American Journal of Clinical Nutrition*, 53(1): 120-125.

Alfthan, G., Xu, G.L., Tan, W.H., Aro, A., Wu, J., Yang, Y.X., et al. (2000). Selenium supplementation of children in a selenium-deficient area in China: blood selenium levels and glutathione peroxidase activities. *Biological Trace Element Research*, 73(2): 113-125.

Amanatidis, S., Mackerras, D. et Simpson, J.M. (2001). Comparison of two frequency questionnaires for quantifying fruit and vegetable intake. *Public Health Nutrition*, 4(2): 233-239.

Andersen, A., Julshamn, K., Ringdal, O. et Morkore, J. (1987). Trace elements intake in the Faroe Islands. II. Intake of mercury and other elements by consumption of pilot whales (*Globicephalus meleanus*). *Science of the Total Environment*, 65: 63-68.

Angerer, J., Aylward, L.L., Hays, S.M., Heinzow, B. et Wilhelm, M. (2011). Human biomonitoring assessment values: approaches and data requirements. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 214(5): 348-360.

Angerer, J., Ewers, U. et Wilhelm, M. (2007). Human biomonitoring: State of the art. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 210(3-4): 201-228.

Arthur, J., Nicol, F. et Beckett, G. (1993). Selenium deficiency, thyroid hormone metabolism, and thyroid hormone deiodinases. *American Journal of Clinical Nutrition*, 57(2): 236S-239S.

Arthur, J.R. (1999). Functional indicators of iodine and selenium status. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58(2): 507-512.

Ashton, K., Hooper, L., Harvey, L.J., Hurst, R., Casgrain, A. et Fairweather-Tait, S.J. (2009). Methods of assessment of selenium status in humans: a systematic review. *American Journal of Clinical Nutrition*, 89(6): 2025S-2039S.

ATSDR (2003). Toxicological profile for selenium. Department of Health & Human Services. Public Health Service. Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Syracuse Research Corporation. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, Ga.: 418p.

Bakir, F., Damluji, S.F., Amin-Zaki, L., Murtadha, M., Khalidi, A., Al-Rawi, N.Y., et al. (1973). Methylmercury poisoning in Iraq. *Science*, 181(96): 230-241.

Barceloux, D.G. (1999). Selenium. *Journal of Toxicology. Clinical Toxicology*, 37(2): 145-172.

Barron, E., Migeot, V., Séby, F., Ingrand, I., Potin-Gautier, M., Legube, B., et al. (2012). Selenium exposure in subjects living in areas with high selenium concentrated drinking water: results of a French integrated exposure assessment survey. *Environment International*, 40: 155-161.

Behne, D., Alber, D. et Kyriakopoulos, A. (2010). Long-term selenium supplementation of humans: selenium status and relationships between selenium concentrations in skeletal muscle and indicator materials. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 24(2): 99-105.

Berglund, M., Lind, B., Bjornberg, K.A., Palm, B., Einarsson, O. et Vahter, M. (2005). Inter-individual variations of human mercury exposure biomarkers: a cross-sectional assessment. *Environmental Health*, 4: 20.

Bernhoft, R.A. (2012). Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. *Journal of Environmental and Public Health*, 2012: 460508.

Birgisdottir, B.E., Kiely, M., Martinez, J.A. et Thorsdottir, I. (2008). Validity of a food frequency questionnaire to assess intake of seafood in adults in three European countries. *Food Control*, 19: 648-653.

Birke, G., Johnels, A.G., Plantin, L.O., Sjostrand, B., Skerfving, S. et Westermark, T. (1972). Studies on humans exposed to methyl mercury through fish consumption. *Archives of Environmental Health*, 25(2): 77-91.

Bjornberg, K.A., Vahter, M., Grawe, K.P. et Berglund, M. (2005). Methyl mercury exposure in Swedish women with high fish consumption. *Science of the Total Environment*, 341(1-3): 45-52.

Bjornberg, K.A., Vahter, M., Petersson-Grawe, K., Glynn, A., Cnattingius, S., Darnerud, P.O., et al. (2003). Methyl mercury and inorganic mercury in Swedish pregnant women and in cord blood: influence of fish consumption. *Environmental Health Perspectives*, 111(4): 637-641.

Bleys, J., Navas-Acien, A., Laclaustra, M., Pastor-Barriuso, R., Menke, A., Ordovas, J., et al. (2009). Serum Selenium and Peripheral Arterial Disease: Results From the National Health and Nutrition Examination Survey, 2003-2004. *American Journal of Epidemiology*, 169(8): 996-1003.

Bleys, J., Navas-Acien, A., Stranges, S., Menke, A., Miller Iii, E.R. et Guallar, E. (2008). Serum selenium and serum lipids in US adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, 88(2): 416-423.

Boosalis, M.G. (2008). The role of selenium in chronic disease. *Nutrition in Clinical Practice*, 23(2): 152-160.

Bopp, B.A., Sonders, R.C. et Kesterson, J.W. (1982). Metabolic fate of selected selenium compounds in laboratory animals and man. *Drug Metabolism Reviews*, 13(2): 271-318.

Borek, C. (2004). Dietary antioxidants and human cancer. *Integrative Cancer Therapies*, 3(4): 333-341.

Boumba, V.A., Ziavrou, K.S. et Vougiouklakis, T. (2006). Hair as a biological indicator of drug use, drug abuse or chronic exposure to environmental toxicants. *International Journal of Toxicology*, 25(3): 143-163.

Braga, M.C., Shaw, G. et Lester, J.N. (2000). Mercury modeling to predict contamination and bioaccumulation in aquatic ecosystems. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 164: 69-92.

Brantsaeter, A.L., Haugen, M., Thomassen, Y., Ellingsen, D.G., Ydersbond, T.A., Hagve, T.A., et al. (2010). Exploration of biomarkers for total fish intake in pregnant Norwegian women. *Public Health Nutrition*, 13(1): 54-62.

Brown, D. (2006). Do food frequency questionnaires have too many limitations? *Journal of the American Dietetic Association*, 106(10): 1541-1542.

Brown, K.M. et Arthur, J.R. (2001). Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutrition*, 4(2B): 593-599.

Burk, R.F. et Hill, K.E. (2005). Selenoprotein P: An Extracellular Protein with Unique Physical Characteristics and a Role in Selenium Homeostasis. *Annual Review of Nutrition*, 25(1): 215-235.

Burk, R.F., Hill, K.E. et Motley, A.K. (2003). Selenoprotein Metabolism and Function: Evidence for More than One Function for Selenoprotein P. *Journal of Nutrition*, 133(5): 1517S-1520.

Burk, R.F., Norsworthy, B.K., Hill, K.E., Motley, A.K. et Byrne, D.W. (2006). Effects of chemical form of selenium on plasma biomarkers in a high-dose human supplementation trial. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 15(4): 804-810.

Burke, L.E., Warziski, M., Starrett, T., Choo, J., Music, E., Sereika, S., et al. (2005). Self-monitoring dietary intake: current and future practices. *Journal of Renal Nutrition*, 15(3): 281-290.

Cade, J., Thompson, R., Burley, V. et Warm, D. (2002). Development, validation and utilisation of food-frequency questionnaires - a review. *Public Health Nutrition*, 5(4): 567-587.

Cardellicchio, N., Decataldo, A., Di, L.A. et Misino, A. (2002). Accumulation and tissue distribution of mercury and selenium in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Mediterranean Sea (southern Italy). *Environmental Pollution*, 116(2): 265-271.

Cardoso, B.R., Ong, T.P., Jacob-Filho, W., Jaluul, O., Freitas, M.I.D.Á. et Cozzolino, S.M.F. (2010). Nutritional status of selenium in Alzheimer's disease patients. *British Journal of Nutrition*, 103(06): 803-806.

Carrier, G. (2013). Évaluation de l'exposition de l'enfant aux substances toxiques indésirables par l'intermédiaire de l'allaitement maternel : facteurs à considérer. Direction de la santé environnementale et de la toxicologie, Institut national de santé publique du Québec: 44p.

Carrier, G., Bouchard, M., Brunet, R.C. et Caza, M. (2001a). 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(1): 50-60.

Carrier, G., Brunet, R.C., Caza, M. et Bouchard, M. (2001b). A toxicokinetic model for predicting the tissue distribution and elimination of organic and inorganic mercury following exposure to methyl mercury in animals and humans. I. Development and validation of the model using experimental data in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 171(1): 38-49.

Castoldi, A.F., Coccini, T., Ceccatelli, S. et Manzo, L. (2001). Neurotoxicity and molecular effects of methylmercury. *Brain Research Bulletin*, 55(2): 197-203.

Chariot, P. et Bignani, O. (2003). Skeletal muscle disorders associated with selenium deficiency in humans. *Muscle and Nerve*, 27(6): 662-668.

Chen, C., Qu, L., Zhao, J., Liu, S., Deng, G., Li, B., et al. (2006a). Accumulation of mercury, selenium and their binding proteins in porcine kidney and liver from mercury-exposed areas with the investigation of their redox responses. *Science of the Total Environment*, 366(2-3): 627-637.

Chen, C., Yu, H., Zhao, J., Li, B., Qu, L., Liu, S., et al. (2006b). The roles of serum selenium and selenoproteins on mercury toxicity in environmental and occupational exposure. *Environmental Health Perspectives*, 114(2): 297-301.

Chen, J. et Berry, M.J. (2003). Selenium and selenoproteins in the brain and brain diseases. *Journal of Neurochemistry*, 86(1): 1-12.

Chen, X., Yang, G., Chen, J., Chen, X., Wen, Z. et Ge, K. (1980). Studies on the relations of selenium and Keshan disease. *Biological Trace Element Research*, 2(2): 91-107.

Clark, L.C., Combs, G.F., Jr., Turnbull, B.W., Slate, E.H., Chalker, D.K., Chow, J., et al. (1996). Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. *Journal of the American Medical Association*, 276(24): 1957-1963.

Clark, L.C., Dalkin, B.L., Krongrad, A., Combs, G.F., Jr., Turnbull, B.W., Slate, E.H., et al. (1998). Decreased incidence of prostate cancer with selenium supplementation: results of a double-blind cancer prevention trial. *British Journal of Urology*, 81(5): 730-734.

Clarkson, T.W. et Magos, L. (2006). The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Critical Reviews in Toxicology*, 36(8): 609-662.

Clarkson, T.W., Magos, L. et Myers, G.J. (2003). The toxicology of mercury--current exposures and clinical manifestations. *New England Journal of Medicine*, 349(18): 1731-1737.

Cohen, J.T., Bellinger, D.C., Connor, W.E., Kris-Etherton, P.M., Lawrence, R.S., Savitz, D.A., et al. (2005). A quantitative risk-benefit analysis of changes in population fish consumption. *American Journal of Preventive Medicine*, 29(4): 325-334.

Combs, G.F., Jr. (2001a). Impact of selenium and cancer-prevention findings on the nutrition-health paradigm. *Nutrition and Cancer*, 40(1): 6-11.

Combs, G.F., Jr. (2001b). Selenium in global food systems. *British Journal of Nutrition*, 85(5): 517-547.

Combs, G.F., Jr., Clark, L.C. et Turnbull, B.W. (2001). An analysis of cancer prevention by selenium. *Biofactors*, 14(1-4): 153-159.

Corvilain, B., Contempre, B., Longombe, A., Goyens, P., Gervy-Decoster, C., Lamy, F., et al. (1993). Selenium and the thyroid: how the relationship was established. *American Journal of Clinical Nutrition*, 57(2): 244S-248S.

Crews, H., Alink, G., Andersen, R., Braesco, V., Holst, B., Maiani, G., et al. (2001). A critical assessment of some biomarker approaches linked with dietary intake. *British Journal of Nutrition*, 86 Suppl 1: S5-35.

Cummins, L.M. et Kimura, E.T. (1971). Safety evaluation of selenium sulfide antidandruff shampoos. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 20(1): 89-96.

Cuvin-Aralar, M.L. et Furness, R.W. (1991). Mercury and selenium interaction: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 21(3): 348-364.

Dabeka, R.W., Mckenzie, A.D. et Bradley, P. (2003). Survey of total mercury in total diet food composites and an estimation of the dietary intake of mercury by adults and children from two Canadian cities, 1998-2000. *Food Additives and Contaminants*, 20(7): 629-638.

Dallaire, F., Dewailly, E., Muckle, G. et Ayotte, P. (2003). Time trends of persistent organic pollutants and heavy metals in umbilical cord blood of Inuit infants born in Nunavik (Quebec, Canada) between 1994 and 2001. *Environmental Health Perspectives*, 111(13): 1660-1664.

Daniells, S. et Hardy, G. (2010). Hair loss in long-term or home parenteral nutrition: are micronutrient deficiencies to blame? *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 13(6): 690-697.

Daniels, L.A. (1996). Selenium metabolism and bioavailability. *Biological Trace Element Research*, 54(3): 185-199.

Davidson, P.W., Myers, G.J. et Weiss, B. (2004). Mercury exposure and child development outcomes. *Pediatrics*, 113(4 Suppl): 1023-1029.

Del Rio, D., Stewart, A.J. et Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4): 316-328.

Despres, C., Beuter, A., Richer, F., Poitras, K., Veilleux, A., Ayotte, P., et al. (2005). Neuromotor functions in Inuit preschool children exposed to Pb, PCBs, and Hg. *Neurotoxicology and Teratology*, 27(2): 245-257.

Diez, S. (2009). Human health effects of methylmercury exposure. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 198: 111-132.

Dipietro, E.S., Phillips, D.L., Paschal, D.C. et Neese, J.W. (1989). Determination of trace elements in human hair. Reference intervals for 28 elements in nonoccupationally exposed adults in the US and effects of hair treatments. *Biological Trace Element Research*, 22(1): 83-100.

Diplock, A.T. (1993). Indexes of selenium status in human populations. *American Journal of Clinical Nutrition*, 57(2 Suppl): 256S-258S.

Djujic, I.S., Jozanov-Stankov, O.N., Milovac, M., Jankovic, V. et Djermanovic, V. (2000). Bioavailability and possible benefits of wheat intake naturally enriched with selenium and its products. *Biological Trace Element Research*, 77(3): 273-285.

Dorea, J.G. (2002). Selenium and breast-feeding. *British Journal of Nutrition*, 88(05): 443-461.

Ducros, V., Richard, M.J. et Favier, A. (1994). The distribution of selenium in human plasma proteins for 24 hours after ingestion of ⁷⁴Se (in sodium selenite form). *Journal of Inorganic Biochemistry*, 55(3): 157-163.

Duffield, A.J. et Thomson, C.D. (1999). A comparison of methods of assessment of dietary selenium intakes in Otago, New Zealand. *British Journal of Nutrition*, 82(2): 131-138.

Dumont, E., Vanhaecke, F. et Cornelis, R. (2006). Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385(7): 1304-1323.

Dunn, B.K., Richmond, E.S., Minasian, L.M., Ryan, A.M. et Ford, L.G. (2010). A nutrient approach to prostate cancer prevention: The Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *Nutrition and Cancer*, 62(7): 896-918.

Duntas, L.H. (2010). Selenium and the thyroid: a close-knit connection. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 95(12): 5180-5188.

Eto, K. (2000). Minamata disease. *Neuropathology*, 20 Suppl: S14-19.

Fairweather-Tait, S.J., Collings, R. et Hurst, R. (2010). Selenium bioavailability: current knowledge and future research requirements. *American Journal of Clinical Nutrition*, 91(5): 1484S-1491S.

Fan, A.M. et Kizer, K.W. (1990). Selenium. Nutritional, toxicologic, and clinical aspects. *Western Journal of Medicine*, 153(2): 160-167.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 269-270(11-12): 108-115.

Feizy, V., Mortazavi, H., Barikbin, B., Yousefi, M., Ranjbar, A. et Farshchian, M. (2008). Serum selenium level in Iranian patients with alopecia areata. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 22(10): 1259-1260.

Finley, J.W. (1999). The retention and distribution by healthy young men of stable isotopes of selenium consumed as selenite, selenate or hydroponically-grown broccoli are dependent on the isotopic form. *Journal of Nutrition*, 129(4): 865-871.

Finley, J.W., Matthys, L., Shuler, T. et Korynta, E. (1996). Selenium content of foods purchased in North Dakota. *Nutrition Research*, 16(5): 723-728.

Flores-Mateo, G., Navas-Acien, A., Pastor-Barriuso, R. et Guallar, E. (2006). Selenium and coronary heart disease: a meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 84(4): 762-773.

Foster, L.H. et Sumar, S. (1997). Selenium in health and disease: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37(3): 211-228.

Foster, W.G. et Agzarian, J. (2007). Reporting results of biomonitoring studies. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387(1): 137-140.

Fox, T.E., Van Den Heuvel, E.G., Atherton, C.A., Dainty, J.R., Lewis, D.J., Langford, N.J., et al. (2004). Bioavailability of selenium from fish, yeast and selenate: a comparative study in humans using stable isotopes. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58(2): 343-349.

Francesconi, K.A. et Pannier, F. (2004). Selenium metabolites in urine: a critical overview of past work and current status. *Clinical Chemistry*, 50(12): 2240-2253.

Frery, N., Coinard, F. et Viso, A.-C. (2008). La biosurveillance en santé environnementale. *Bulletin Epidemiologique Hebdomadaire*: 306-309.

Ge, K. et Yang, G. (1993). The epidemiology of selenium deficiency in the etiological study of endemic diseases in China. *American Journal of Clinical Nutrition*, 57(2 Suppl): 259S-263S.

Glynn, A.W., Ilback, N.G., Brabencova, D., Carlsson, L., Enqvist, E.C., Netzel, E., et al. (1993). Influence of sodium selenite on ²⁰³Hg absorption, distribution, and elimination in male mice exposed to methyl²⁰³Hg. *Biological Trace Element Research*, 39(1): 91-107.

Gosselin, N.H., Brunet, R.C., Carrier, G., Bouchard, M. et Feeley, M. (2006). Reconstruction of methylmercury intakes in indigenous populations from biomarker data. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 16(1): 19-29.

Grandjean, P., Weihe, P., Needham, L.L., Burse, V.W., Patterson, D.G., Jr., Sampson, E.J., et al. (1995). Relation of a seafood diet to mercury, selenium, arsenic, and polychlorinated biphenyl and other organochlorine concentrations in human milk. *Environmental Research*, 71(1): 29-38.

Gregus, Z., Gyurasics, A., Csanaky, I. et Pinter, Z. (2001). Effects of methylmercury and organic acid mercurials on the disposition of exogenous selenium in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 174(2): 177-187.

Griffiths, N.M., Stewart, R.D. et Robinson, M.F. (1976). The metabolism of [⁷⁵Se]selenomethionine in four women. *British Journal of Nutrition*, 35(3): 373-382.

Gromadzinska, J., Reszka, E., Bruzelius, K., Wasowicz, W. et Akesson, B. (2008). Selenium and cancer: biomarkers of selenium status and molecular action of selenium supplements. *European Journal of Nutrition*, 47 Suppl 2: 29-50.

Gu, Q.P., Xia, Y.M., Ha, P.C., Butler, J.A. et Whanger, P.D. (1998). Distribution of selenium between plasma fractions in guinea pigs and humans with various intakes of dietary selenium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 12(1): 8-15.

Hagmar, L., Persson-Moschos, M., Akesson, B. et Schutz, A. (1998). Plasma levels of selenium, selenoprotein P and glutathione peroxidase and their correlations to fish intake and serum levels of thyrotropin and thyroid hormones: a study on Latvian fish consumers. *European Journal of Clinical Nutrition*, 52(11): 796-800.

Hambidge, M. (2003). Biomarkers of trace mineral intake and status. *Journal of Nutrition*, 133(Suppl 3): 948S-955S.

Haratake, M., Fujimoto, K., Ono, M. et Nakayama, M. (2005). Selenium binding to human hemoglobin via selenotrisulfide. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1723(1-3): 215-220.

Hawkes, W.C., Richter, B.D., Alkan, Z., Souza, E.C., Derricote, M., Mackey, B.E., et al. (2008). Response of selenium status indicators to supplementation of healthy North American men with high-selenium yeast. *Biological Trace Element Research*, 122(2): 107-121.

Heath, M.L. et Sidbury, R. (2006). Cutaneous manifestations of nutritional deficiency. *Current Opinion in Pediatrics*, 18(4): 417-422.

Hebert, J.R., Ebbeling, C.B., Matthews, C.E., Hurley, T.G., Ma, Y., Druker, S., et al. (2002). Systematic errors in middle-aged women's estimates of energy intake: comparing three self-report measures to total energy expenditure from doubly labeled water. *Annals of Epidemiology*, 12(8): 577-586.

Hintze, K.J., Lardy, G.P., Marchello, M.J. et Finley, J.W. (2002). Selenium accumulation in beef: effect of dietary selenium and geographical area of animal origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14): 3938-3942.

Holben, D.H. et Smith, A.M. (1999). The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, 99(7): 836-843.

Horvath, A.L. (2009). Solubility of structurally complicated materials: 3. Hair. *ScientificWorldJournal*, 9: 255-271.

Huang, W., Akesson, B., Svensson, B.G., Schutz, A., Burk, R.F. et Skerfving, S. (1995). Selenoprotein P and glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) in plasma as indices of selenium status in relation to the intake of fish. *British Journal of Nutrition*, 73(3): 455-461.

Hull, C.A. et Johnson, S.M. (2004). A double-blind comparative study of sodium sulfacetamide lotion 10% versus selenium sulfide lotion 2.5% in the treatment of pityriasis (tinea) versicolor. *Cutis*, 73(6): 425-429.

Hunsaker, D.M., Spiller, H.A. et Williams, D. (2005). Acute selenium poisoning: suicide by ingestion. *Journal of Forensic Sciences*, 50(4): 942-946.

Hunter, D.J., Morris, J.S., Chute, C.G., Kushner, E., Colditz, G.A., Stampfer, M.J., et al. (1990). Predictors of selenium concentration in human toenails. *American Journal of Epidemiology*, 132(1): 114-122.

INSPQ (2003). Substances chimiques avec indicateur biologique : seuils de déclaration par les laboratoires - Avis scientifique sur les valeurs seuils proposées pour le mercure sanguin et urinaire. Direction des risques biologiques, environnementaux et occupationnels. Institut national de santé publique du Québec: 13p.

INSPQ (2004a). Étude sur l'établissement de valeurs de référence d'éléments traces et de métaux dans le sang, le sérum et l'urine de la population de la grande région de Québec. Institut national de santé publique du Québec: 38p + annexes.

INSPQ (2004b). Substances chimiques avec indicateur biologique : seuils de déclaration par les laboratoires - Rapport final. Direction des risques biologiques, environnementaux et occupationnels. Institut national de santé publique du Québec: 14p.

INSPQ (2012). Lignes directrices pour la réalisation des évaluations du risque toxicologique d'origine environnementale au Québec. Direction de la santé environnementale et de la toxicologie, Institut national de santé publique du Québec: 79p + annexes.

IOM (2000). Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. Washington, D.C., The National Academies Press.

IOM (2006). Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements. Washington, D.C., The National Academies Press.

IPCS (1990). Methylmercury. Environmental Health Criteria n°101. International Programme on Chemical Safety. World Health Organization, Geneva (Switzerland). 144p.

Iqbal, R., Ajayan, K., Bharathi, A.V., Zhang, X., Islam, S., Soman, C.R., et al. (2009). Refinement and validation of an FFQ developed to estimate macro- and micronutrient intakes in a south Indian population. *Public Health Nutrition*, 12(01): 12-18.

Itoh, M. et Suzuki, K.T. (1997). Effects of dose on the methylation of selenium to monomethylselenol and trimethylselenonium ion in rats. *Archives of Toxicology*, 71(7): 461-466.

Iwasaki, Y., Sakamoto, M., Nakai, K., Oka, T., Dakeishi, M., Iwata, T., et al. (2003). Estimation of daily mercury intake from seafood in Japanese women: Akita cross-sectional study. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 200(2): 67-73.

Iyengar, G.V. et Rapp, A. (2001a). Human placenta as a 'dual' biomarker for monitoring fetal and maternal environment with special reference to potentially toxic trace elements. Part 3: Toxic trace elements in placenta and placenta as a biomarker for these elements. *Science of the Total Environment*, 280(1-3): 221-238.

Iyengar, G.V. et Rapp, A. (2001b). Human placenta as a 'dual' biomarker for monitoring fetal and maternal environment with special reference to potentially toxic trace elements.: Part 2: Essential minor, trace and other (non-essential) elements in human placenta. *Science of the Total Environment*, 280(1-3): 207-219.

Iyengar, V. et Woittiez, J. (1988). Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. *Clinical Chemistry*, 34(3): 474-481.

Janghorbani, M., Xia, Y., Ha, P., Whanger, P.D., Butler, J.A., Olesik, J.W., et al. (1999a). Metabolism of selenite in men with widely varying selenium status. *Journal of the American College of Nutrition*, 18(5): 462-469.

Janghorbani, M., Xia, Y., Ha, P., Whanger, P.D., Butler, J.A., Olesik, J.W., et al. (1999b). Effect of dietary selenium restriction on selected parameters of selenium status in men with high life-long intake. *The Journal of nutritional biochemistry*, 10(10): 564-572.

Jin, L.J., Guo, P. et Xu, X.Q. (1997). Effect of selenium on mercury methylation in anaerobic lake sediments. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 59(6): 994-999.

Jitaru, P., Goenaga-Infante, H., Vaslin-Reimann, S. et Fiscaro, P. (2010). A systematic approach to the accurate quantification of selenium in serum selenoalbumin by HPLC-ICP-MS. *Analytica Chimica Acta*, 657(2): 100-107.

Karagas, M.R., Choi, A.L., Oken, E., Horvat, M., Schoeny, R., Kamai, E., et al. (2012). Evidence on the human health effects of low-level methylmercury exposure. *Environmental Health Perspectives*, 120(6): 799-806.

Karita, K., Sasaki, S., Ishihara, J. et Tsugane, S. (2003). Validity of a self-administered food frequency questionnaire used in the 5-year follow-up survey of the JPHC Study to assess selenium intake: comparison with dietary records and blood levels. *Journal of Epidemiology*, 13(1 Suppl): S92-97.

Karita, K. et Suzuki, T. (2002). Fish eating and variations in selenium and mercury levels in plasma and erythrocytes in free-living healthy Japanese men. *Biological Trace Element Research*, 90(1-3): 71-81.

Kazi, T.G., Kandhro, G.A., Sirajuddin, Afridi, H.I., Baig, J.A., Shah, A.Q., et al. (2010). Evaluation of iodine, iron, and selenium in biological samples of thyroid mother and their newly born babies. *Early Human Development*, 86(10): 649-655.

Khan, M.A. et Wang, F. (2009). Mercury-selenium compounds and their toxicological significance: toward a molecular understanding of the mercury-selenium antagonism. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(8): 1567-1577.

Kim, M.K. et Zoh, K.D. (2012). Fate and transport of mercury in environmental media and human exposure. *Journal of Preventive Medicine and Public Health*, 45(6): 335-343.

Kipnis, V., Midthune, D., Freedman, L., Bingham, S., Day, N.E., Riboli, E., et al. (2002). Bias in dietary-report instruments and its implications for nutritional epidemiology. *Public Health Nutrition*, 5(6A): 915-923.

Kise, Y., Yoshimura, S., Akieda, K., Umezawa, K., Okada, K., Yoshitake, N., et al. (2004). Acute oral selenium intoxication with ten times the lethal dose resulting in deep gastric ulcer. *Journal of Emergency Medicine*, 26(2): 183-187.

Klapec, T., Mandic, M.L., Grgic, J., Primorac, L., Ikic, M., Lovric, T., et al. (1998). Daily dietary intake of selenium in eastern Croatia. *Science of the Total Environment*, 217(1-2): 127-136.

Klein, E.A. (2004). Selenium and vitamin E cancer prevention trial. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1031: 234-241.

Koller, L.D. et Exon, J.H. (1986). The two faces of selenium-deficiency and toxicity-are similar in animals and man. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 50(3): 297-306.

Kosatsky, T., Przybysz, R. et Armstrong, B. (2000). Mercury exposure in Montrealers who eat St. Lawrence River sportfish. *Environmental Research*, 84(1): 36-43.

Krishnan, K. et Brodeur, J. (1994). Toxic interactions among environmental pollutants: corroborating laboratory observations with human experience. *Environmental Health Perspectives*, 102 Suppl 9: 11-17.

Kroes, R., Muller, D., Lambe, J., Lowik, M.R., Van Klaveren, J., Kleiner, J., et al. (2002). Assessment of intake from the diet. *Food and Chemical Toxicology*, 40(2-3): 327-385.

Krogh, V., Pala, V., Vinceti, M., Berrino, F., Ganzi, A., Micheli, A., et al. (2003). Toenail selenium as biomarker: reproducibility over a one-year period and factors influencing reproducibility. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 17(Suppl 1): 31-36.

Langworth, S., Elinder, C.G., Sundquist, K.G. et Vesterberg, O. (1992). Renal and immunological effects of occupational exposure to inorganic mercury. *British Journal of Industrial Medicine*, 49(6): 394-401.

Leblanc, A., Dumas, P. et Lefebvre, L. (1999). Trace element content of commercial shampoos: impact on trace element levels in hair. *Science of the Total Environment*, 229(1-2): 121-124.

Li, H., Stampfer, M.J., Giovannucci, E.L., Morris, J.S., Willett, W.C., Gaziano, J.M., et al. (2004). A prospective study of plasma selenium levels and prostate cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*, 96(9): 696-703.

Li, P., Feng, X. et Qiu, G. (2010). Methylmercury exposure and health effects from rice and fish consumption: a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(6): 2666-2691.

Longnecker, M.P., Stampfer, M.J., Morris, J.S., Spate, V., Baskett, C., Mason, M., et al. (1993). A 1-y trial of the effect of high-selenium bread on selenium concentrations in blood and toenails. *American Journal of Clinical Nutrition*, 57(3): 408-413.

Longnecker, M.P., Stram, D.O., Taylor, P.R., Levander, O.A., Howe, M., Veillon, C., et al. (1996). Use of selenium concentration in whole blood, serum, toenails, or urine as a surrogate measure of selenium intake. *Epidemiology*, 7(4): 384-390.

Longnecker, M.P., Taylor, P.R., Levander, O.A., Howe, M., Veillon, C., Mcadam, P.A., et al. (1991). Selenium in diet, blood, and toenails in relation to human health in a seleniferous area. *American Journal of Clinical Nutrition*, 53(5): 1288-1294.

Lopez, R.E., Knable, A.L., Jr. et Burruss, J.B. (2010). Ingestion of a dietary supplement resulting in selenium toxicity. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 63(1): 168-169.

Lund, E., Engeset, D., Alsaker, E., Skeie, G., Hjartaker, A., Lundebye, A.K., et al. (2004). Cancer risk and salmon intake. *Science*, 305(5683): 477-478; author reply 477-478.

Lykkesfeldt, J. (2007). Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. *Clinica Chimica Acta*, 380(1-2): 50-58.

Lymbury, R., Tinggi, U., Griffiths, L., Rosenfeldt, F. et Perkins, A.V. (2008). Selenium status of the Australian population: effect of age, gender and cardiovascular disease. *Biological Trace Element Research*, 126 Suppl 1: S1-10.

Macfarquhar, J.K., Broussard, D.L., Melstrom, P., Hutchinson, R., Wolkin, A., Martin, C., et al. (2010). Acute selenium toxicity associated with a dietary supplement. *Archives of Internal Medicine*, 170(3): 256-261.

Magkos, F., Manios, Y., Babaroutsi, E. et Sidossis, L.S. (2006). Development and validation of a food frequency questionnaire for assessing dietary calcium intake in the general population. *Osteoporosis International*, 17(2): 304-312.

Mahaffey, K.R. (1999). Methylmercury: a new look at the risks. *Public Health Reports*, 114(5): 396-399, 402-313.

Mahaffey, K.R. (2004). Fish and shellfish as dietary sources of methylmercury and the omega-3 fatty acids, eicosahexaenoic acid and docosahexaenoic acid: risks and benefits. *Environmental Research*, 95(3): 414-428.

Mahaffey, K.R. (2005). Mercury exposure: medical and public health issues. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*, 116: 127-153; discussion 153-124.

Marshall, J.R., Ip, C., Romano, K., Fetterly, G., Fakih, M., Jovanovic, B., et al. (2011). Methyl selenocysteine: single-dose pharmacokinetics in men. *Cancer Prevention Research*, 4(11): 1938-1944.

Martin, R.F., Janghorbani, M. et Young, V.R. (1988). Kinetics of a single administration of ⁷⁴Se-selenite by oral and intravenous routes in adult humans. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 12(4): 351-355.

Mason, H.J., Hindell, P. et Williams, N.R. (2001). Biological monitoring and exposure to mercury. *Occupational Medicine*, 51(1): 2-11.

Mason, R.P., Choi, A.L., Fitzgerald, W.F., Hammerschmidt, C.R., Lamborg, C.H., Soerensen, A.L., et al. (2012). Mercury biogeochemical cycling in the ocean and policy implications. *Environmental Research*, 119: 101-117.

Masumoto, K., Nagata, K., Higashi, M., Nakatsuji, T., Uesugi, T., Takahashi, Y., et al. (2007). Clinical features of selenium deficiency in infants receiving long-term nutritional support. *Nutrition*, 23(11-12): 782-787.

Mattieu, C.A., Furl, C.V., Roberts, T.M. et Friese, M. (2013). Spatial trends and factors affecting mercury bioaccumulation in freshwater fishes of Washington state, USA. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 65(1): 122-131.

Mayne, S.T., Wright, M.E. et Cartmel, B. (2004). Assessment of antioxidant nutrient intake and status for epidemiologic research. *Journal of Nutrition*, 134(11): 3199S-3200S.

Meltzer, H.M., Bibow, K., Paulsen, I.T., Mundal, H.H., Norheim, G. et Holm, H. (1993). Different bioavailability in humans of wheat and fish selenium as measured by blood-platelet response to increased dietary Se. *Biological Trace Element Research*, 36: 229-241.

Metcalf, S.W. et Orloff, K.G. (2004). Biomarkers of exposure in community settings. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 67(8-10): 715-726.

Meyer, H.A., Hollenbach, B., Stephan, C., Endermann, T., Morgenthaler, N.G., Cammann, H., et al. (2009). Reduced serum selenoprotein P concentrations in German prostate cancer patients. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 18(9): 2386-2390.

Miller, T.M., Abdel-Maksoud, M.F., Crane, L.A., Marcus, A.C. et Byers, T.E. (2008). Effects of social approval bias on self-reported fruit and vegetable consumption: a randomized controlled trial. *Nutrition Journal*, 7: 18.

Morris, J.S., Stampfer, M.J. et Willett, W. (1983). Dietary selenium in humans toenails as an indicator. *Biological Trace Element Research*, 5(6): 529-537.

Mozaffarian, D. (2009). Fish, mercury, selenium and cardiovascular risk: current evidence and unanswered questions. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 6(6): 1894-1916.

Muckle, G., Ayotte, P., Dewailly, E., Jacobson, S.W. et Jacobson, J.L. (2001a). Determinants of polychlorinated biphenyls and methylmercury exposure in inuit women of childbearing age. *Environmental Health Perspectives*, 109(9): 957-963.

Muckle, G., Ayotte, P., Dewailly, E.E., Jacobson, S.W. et Jacobson, J.L. (2001b). Prenatal exposure of the northern Quebec Inuit infants to environmental contaminants. *Environmental Health Perspectives*, 109(12): 1291-1299.

Muckle, G., Dewailly, E. et Ayotte, P. (1998). Prenatal exposure of Canadian children to polychlorinated biphenyls and mercury. *Canadian Journal of Public Health. Revue Canadienne de Sante Publique*, 89 Suppl 1: S20-25, 22-27.

Muecke, R., Klotz, T., Giedl, J., Buentzel, J., Kundt, G., Kisters, K., et al. (2009). Whole blood selenium levels (WBSL) in patients with prostate cancer (PC), benign prostatic hyperplasia (BPH) and healthy male inhabitants (HMI) and prostatic tissue selenium levels (PTSL) in patients with PC and BPH. *Acta Oncologica*, 48(3): 452-456.

Munoz Olivas, R., Donard, O.F.X., Gilon, N. et Potin-Gautier, M. (1996). Speciation of organic selenium compounds by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry in natural samples. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 11(12): 1171-1176.

Myers, G.J., Davidson, P.W., Cox, C., Shamlaye, C.F., Palumbo, D., Cernichiari, E., et al. (2003). Prenatal methylmercury exposure from ocean fish consumption in the Seychelles child development study. *Lancet*, 361(9370): 1686-1692.

Navarro-Alarcon, M. et Cabrera-Vique, C. (2008). Selenium in food and the human body: A review. *Science of the Total Environment*, 400(1-3): 115-141.

Neumann, P., Coffindhaffer, T. et Cothran, P. (1996). Clinical investigation comparing 1% selenium sulfide and 2% ketoconazole shampoos for dandruff control. *Cosmetic Dermatology*, 9(12): 20-26.

Neve, J. (1991). Methods in determination of selenium states. *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease*, 5(1): 1-17.

Nicastro, H.L. et Dunn, B.K. (2013). Selenium and prostate cancer prevention: insights from the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT). *Nutrients*, 5(4): 1122-1148.

Nieuwenhuijsen, M., Paustenbach, D. et Duarte-Davidson, R. (2006). New developments in exposure assessment: the impact on the practice of health risk assessment and epidemiological studies. *Environment International*, 32(8): 996-1009.

NRC (1987). Biological markers in environmental health research. Committee on Biological Markers of the National Research Council. *Environmental Health Perspectives*, 74: 3-9.

NRC (2006). Human Biomonitoring for Environmental Chemicals. Washington D.C., The National Academies Press.

Nuttall, K.L. (2004). Interpreting mercury in blood and urine of individual patients. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 34(3): 235-250.

Nuttall, K.L. (2006). Evaluating selenium poisoning. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 36(4): 409-420.

Nuyts, G.D. et De Broe, M.E. (1992). Renal and immunological effects of occupational exposure to inorganic mercury. *British Journal of Industrial Medicine*, 49(12): 873-874.

Ohira, S., Kirk, A.B., Dyke, J.V. et Dasgupta, P.K. (2008). Creatinine adjustment of spot urine samples and 24 h excretion of iodine, selenium, perchlorate, and thiocyanate. *Environmental Science & Technology*, 42(24): 9419-9423.

Oken, E., Choi, A.L., Karagas, M.R., Marien, K., Rheinberger, C.M., Schoeny, R., et al. (2012). Which fish should I eat? Perspectives influencing fish consumption choices. *Environmental Health Perspectives*, 120(6): 790-798.

Osowski, J.M., Beare, T. et Specker, B. (2007). Validation of a food frequency questionnaire for assessment of calcium and bone-related nutrient intake in rural populations. *Journal of the American Dietetic Association*, 107(8): 1349-1355.

Oster, O., Schmiedel, G. et Prellwitz, W. (1988). The organ distribution of selenium in German adults. *Biological Trace Element Research*, 15: 23-45.

Ozdemir, H.S., Karadas, F., Pappas, A.C., Cassey, P., Oto, G. et Tuncer, O. (2008). The selenium levels of mothers and their neonates using hair, breast milk, meconium, and maternal and umbilical cord blood in Van Basin. *Biological Trace Element Research*, 122(3): 206-215.

Papp, L.V., Lu, J., Holmgren, A. et Khanna, K.K. (2007). From Selenium to Selenoproteins: Synthesis, Identity, and Their Role in Human Health. *Antioxidants & Redox Signaling*, 9(7): 775-806.

Patching, S.G. et Gardiner, P.H. (1999). Recent developments in selenium metabolism and chemical speciation: a review. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 13(4): 193-214.

Patterson, B.H., Levander, O.A., Helzlsouer, K., Mcadam, P.A., Lewis, S.A., Taylor, P.R., et al. (1989). Human selenite metabolism: a kinetic model. *American Journal of Physiology*, 257(3 Pt 2): R556-567.

Patterson, B.H. et Zech, L.A. (1992). Development of a model for selenite metabolism in humans. *Journal of Nutrition*, 122(3 Suppl): 709-714.

Patterson, R.E., Kristal, A.R., Tinker, L.F., Carter, R.A., Bolton, M.P. et Agurs-Collins, T. (1999). Measurement characteristics of the Women's Health Initiative food frequency questionnaire. *Annals of Epidemiology*, 9(3): 178-187.

Paulsson, K. et Lundbergh, K. (1989). The selenium method for treatment of lakes for elevated levels of mercury in fish. *Science of the Total Environment*, 87-88: 495-507.

Paustenbach, D. et Galbraith, D. (2006a). Biomonitoring and biomarkers: exposure assessment will never be the same. *Environmental Health Perspectives*, 114(8): 1143-1149.

Paustenbach, D. et Galbraith, D. (2006b). Biomonitoring: is body burden relevant to public health? *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 44(3): 249-261.

Pedrosa, L.F., Motley, A.K., Stevenson, T.D., Hill, K.E. et Burk, R.F. (2012). Fecal selenium excretion is regulated by dietary selenium intake. *Biological Trace Element Research*, 149(3): 377-381.

Phelps, R.W., Clarkson, T.W., Kershaw, T.G. et Wheatley, B. (1980). Interrelationships of blood and hair mercury concentrations in a North American population exposed to methylmercury. *Archives of Environmental Health*, 35(3): 161-168.

Pourmand, G., Salem, S., Moradi, K., Nikoobakht, M.R., Tajik, P. et Mehrsai, A. (2008). Serum selenium level and prostate cancer: a case-control study. *Nutrition and Cancer*, 60(2): 171-176.

Ralston, N.V., Blackwell, J.L., 3rd et Raymond, L.J. (2007). Importance of molar ratios in selenium-dependent protection against methylmercury toxicity. *Biological Trace Element Research*, 119(3): 255-268.

Rasmussen, L.B., Hollenbach, B., Laurberg, P., Carlé, A., Hög, A., Jørgensen, T., et al. (2009). Serum selenium and selenoprotein P status in adult Danes - 8-year followup. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 23(4): 265-271.

Ravn-Haren, G., Bugel, S., Krath, B.N., Hoac, T., Stagsted, J., Jørgensen, K., et al. (2008). A short-term intervention trial with selenate, selenium-enriched yeast and selenium-enriched milk: effects on oxidative defence regulation. *British Journal of Nutrition*, 99(4): 883-892.

Rayman, M.P. (2005). Selenium in cancer prevention: a review of the evidence and mechanism of action. *Proceedings of the Nutrition Society*, 64(4): 527-542.

Rayman, M.P., Infante, H.G. et Sargent, M. (2008). Food-chain selenium and human health: spotlight on speciation. *British Journal of Nutrition*, 100(2): 238-253.

Razagui, I.B. et Haswell, S.J. (2001). Mercury and selenium concentrations in maternal and neonatal scalp hair: relationship to amalgam-based dental treatment received during pregnancy. *Biological Trace Element Research*, 81(1): 1-19.

Reilly, C. (1996). *Selenium in Food and Health*. London, Blackie Academic and Professional. 338 p.

Rembold, C.M. (2004). The health benefits of eating salmon. *Science*, 305(5683): 475; author reply 475.

Ringdal, O., Andersen, K.J. et Julshamn, K. (1986). Subcellular distribution of selenium in the liver from rats fed selenium from fish: selenocystine and inorganic selenite. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 30(4): 241-249.

Robberecht, H.J. et Deelstra, H.A. (1984c). Selenium in human urine determination, speciation and concentration levels. *Talanta*, 31(7): 497-508.

Robinson, M.F., Rea, H.M., Friend, G.M., Stewart, R.D., Snow, P.C. et Thomson, C.D. (1978). On supplementing the selenium intake of New Zealanders. 2. Prolonged metabolic experiments with daily supplements of selenomethionine, selenite and fish. *British Journal of Nutrition*, 39(3): 589-600.

Rodrigues, J.L., Batista, B.L., Nunes, J.A., Passos, C.J.S. et Barbosa Jr, F. (2008). Evaluation of the use of human hair for biomonitoring the deficiency of essential and exposure to toxic elements. *Science of the Total Environment*, 405(1-3): 370-376.

Saint-Amour, D., Roy, M.-S., Bastien, C., Ayotte, P., Dewailly, É., Després, C., et al. (2006). Alterations of visual evoked potentials in preschool Inuit children exposed to methylmercury and polychlorinated biphenyls from a marine diet. *Neurotoxicology*, 27(4): 567-578.

Salbe, A.D. et Levander, O.A. (1990). Effect of various dietary factors on the deposition of selenium in the hair and nails of rats. *Journal of Nutrition*, 120(2): 200-206.

Salonen, J.T., Seppanen, K., Nyyssonen, K., Korpela, H., Kauhanen, J., Kantola, M., et al. (1995). Intake of mercury from fish, lipid peroxidation, and the risk of myocardial infarction and coronary, cardiovascular, and any death in eastern Finnish men. *Circulation*, 91(3): 645-655.

Sanchez, J.L. et Torres, V.M. (1984). Selenium sulfide in tinea versicolor: blood and urine levels. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 11(2 Pt 1): 238-241.

Santé Canada (2007). Évaluation des risques pour la santé liés au mercure présent dans le poisson et bienfaits pour la santé associés à la consommation de poisson. Bureau d'innocuité des produits chimiques. Direction des aliments. Direction générale des produits de santé et des aliments. Santé Canada, Ottawa. 85p.

Santé Canada (2010a). Apports nutritionnels de référence. Santé Canada. http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/alt_formats/hpfb-dgpsa/pdf/nutrition/dri_tables-fra.pdf, consulté le 21 janvier 2014.

Santé Canada (2010b). Rapport sur la biosurveillance humaine des substances chimiques de l'environnement au Canada, Résultats de l'Enquête canadienne sur les mesures de la santé Cycle 1 (2007 à 2009). Santé Canada Ottawa. 309p.

Santé Canada (2013). Deuxième rapport sur la biosurveillance humaine des substances chimiques de l'environnement au Canada, Résultats de l'Enquête canadienne sur les mesures de la santé Cycle 2 (2009 à 2011). Santé Canada Ottawa. 456p.

Satia, J.A., King, I.B., Morris, J.S., Stratton, K. et White, E. (2006). Toenail and Plasma Levels as Biomarkers of Selenium Exposure. *Annals of Epidemiology*, 16(1): 53-58.

Satoh, H. (2000). Occupational and environmental toxicology of mercury and its compounds. *Industrial Health*, 38(2): 153-164.

Schetagne, R., Therrien, J. et Lalumière, R. (2002). Suivi environnementale du complexe La Grande. Évolution des teneurs en mercure dans les poissons. Groupe conseil Génivar Inc. et Direction Barrages et Environnement, Hydro-Québec Production, Montreal. 193p + annexes.

Schrauzer, G.N. (2000). Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. *Journal of Nutrition*, 130(7): 1653-1656.

Schrauzer, G.N. et White, D.A. (1978). Selenium in human nutrition: dietary intakes and effects of supplementation. *Bioinorganic Chemistry*, 8(4): 303-318.

Schroder, H., Covas, M.I., Marrugat, J., Vila, J., Pena, A., Alcantara, M., et al. (2001). Use of a three-day estimated food record, a 72-hour recall and a food-frequency questionnaire for dietary assessment in a Mediterranean Spanish population. *Clinical Nutrition*, 20(5): 429-437.

Schuh, B. et Jappe, U. (2007). Selenium intoxication: undesirable effect of a fasting cure. *British Journal of Dermatology*, 156(1): 177-178.

See, K.A., Lavercombe, P.S., Dillon, J. et Ginsberg, R. (2006). Accidental death from acute selenium poisoning. *Medical Journal of Australia*, 185(7): 388-389.

Seppanen, K., Kantola, M., Laatikainen, R., Nyssonen, K., Valkonen, V.P., Kaarlopp, V., et al. (2000). Effect of supplementation with organic selenium on mercury status as measured by mercury in pubic hair. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 14(2): 84-87.

Serra-Majem, L., Pfrimer, K., Doreste-Alonso, J., Ribas-Barba, L., Sanchez-Villegas, A., Ortiz-Andrellucchi, A., et al. (2009). Dietary assessment methods for intakes of iron, calcium, selenium, zinc and iodine. *British Journal of Nutrition*, 102 Suppl 1: S38-55.

- Shiobara, Y., Yoshida, T. et Suzuki, K.T. (1998). Effects of dietary selenium species on Se concentrations in hair, blood, and urine. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 152(2): 309-314.
- Singhal, S., Goyle, A. et Gupta, R. (1998). Quantitative food frequency questionnaire and assessment of dietary intake. *National Medical Journal of India*, 11(6): 268-275.
- Sirof, V., Guerin, T., Mauras, Y., Garraud, H., Volatier, J.L. et Leblanc, J.C. (2008). Methylmercury exposure assessment using dietary and biomarker data among frequent seafood consumers in France CALIPSO study. *Environmental Research*, 107(1): 30-38.
- Slotnick, M.J. et Nriagu, J.O. (2006). Validity of human nails as a biomarker of arsenic and selenium exposure: A review. *Environmental Research*, 102(1): 125-139.
- Smith, J.C. et Farris, F.F. (1996). Methyl Mercury Pharmacokinetics in Man: A Reevaluation. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 137(2): 245-252.
- SOMER (1993). Étude comparative des teneurs en métaux dans la chair des poissons provenant du réservoir La Grande 2 et de lacs naturels. Société Multidisciplinaire d'Études et de Recherches de Montréal, Inc. Vice-Présidence Environnement, Hydro-Québec: 30p + annexes.
- Stern, A.H. (1997). Estimation of the Interindividual Variability in the One-Compartment Pharmacokinetic Model for Methylmercury: Implications for the Derivation of a Reference Dose. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 25(3): 277-288.
- Stern, A.H. et Smith, A.E. (2003). An assessment of the cord blood:maternal blood methylmercury ratio: implications for risk assessment. *Environmental Health Perspectives*, 111(12): 1465-1470.
- Steuerwald, U., Weihe, P., Jorgensen, P.J., Bjerve, K., Brock, J., Heinzow, B., et al. (2000). Maternal seafood diet, methylmercury exposure, and neonatal neurologic function. *Journal of Pediatrics*, 136(5): 599-605.

Stranges, S., Laclaustra, M., Ji, C., Cappuccio, F.P., Navas-Acien, A., Ordovas, J.M., et al. (2010). Higher selenium status is associated with adverse blood lipid profile in British adults. *Journal of Nutrition*, 140(1): 81-87.

Subar, A.F. (2004). Developing dietary assessment tools. *Journal of the American Dietetic Association*, 104(5): 769-770.

Subar, A.F., Kipnis, V., Troiano, R.P., Midthune, D., Schoeller, D.A., Bingham, S., et al. (2003). Using intake biomarkers to evaluate the extent of dietary misreporting in a large sample of adults: the OPEN study. *American Journal of Epidemiology*, 158(1): 1-13.

Sutter, M.E., Thomas, J.D., Brown, J. et Morgan, B. (2008). Selenium toxicity: a case of selenosis caused by a nutritional supplement. *Annals of Internal Medicine*, 148(12): 970-971.

Suzuki, K.T., Kurasaki, K., Ogawa, S. et Suzuki, N. (2006). Metabolic transformation of methylseleninic acid through key selenium intermediate selenide. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 215(2): 189-197.

Suzuki, K.T., Kurasaki, K. et Suzuki, N. (2007). Selenocysteine beta-lyase and methylselenol demethylase in the metabolism of Se-methylated selenocompounds into selenide. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1770(7): 1053-1061.

Suzuki, K.T. et Ogra, Y. (2002). Metabolic pathway for selenium in the body: speciation by HPLC-ICP MS with enriched Se. *Food Additives and Contaminants*, 19(10): 974-983.

Suzuki, K.T., Shiobara, Y., Itoh, M. et Ohmichi, M. (1998). Selective uptake of selenite by red blood cells. *Analyst*, 123(1): 63-67.

Suzuki, Y., Hashiura, Y., Matsumura, K., Matsukawa, T., Shinohara, A. et Furuta, N. (2010). Dynamic pathways of selenium metabolism and excretion in mice under different selenium nutritional statuses. *Metallomics*, 2(2): 126-132.

Suzuki, Y., Hashiura, Y., Sakai, T., Yamamoto, T., Matsukawa, T., Shinohara, A., et al. (2013). Selenium metabolism and excretion in mice after injection of (82)Se-enriched selenomethionine. *Metallomics*, 5(5): 445-452.

Swanson, C., Longnecker, M., Veillon, C., Howe, M., Levander, O., Taylor, P., et al. (1990). Selenium intake, age, gender, and smoking in relation to indices of selenium status of adults residing in a seleniferous area. *American Journal of Clinical Nutrition*, 52(5): 858-862.

Swanson, C.A., Patterson, B.H., Levander, O.A., Veillon, C., Taylor, P.R., Helzlsouer, K., et al. (1991). Human [74Se]selenomethionine metabolism: a kinetic model. *American Journal of Clinical Nutrition*, 54(5): 917-926.

Tamashiro, H., Akagi, H., Arakaki, M., Futatsuka, M. et Roht, L.H. (1984). Causes of death in Minamata disease: analysis of death certificates. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 54(2): 135-146.

Thomson, C.D. (1998). Selenium speciation in human body fluids. *Analyst*, 123(5): 827-831.

Thomson, C.D. (2004). Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58(3): 391-402.

Thomson, C.D. et Robinson, M.F. (1986). Urinary and fecal excretions and absorption of a large supplement of selenium: superiority of selenate over selenite. *American Journal of Clinical Nutrition*, 44(5): 659-663.

Thomson, C.D. et Stewart, R.D. (1974). The metabolism of (⁷⁵Se)selenite in young women. *British Journal of Nutrition*, 32(1): 47-57.

Tuomisto, J.T., Tuomisto, J., Tainio, M., Niittynen, M., Verkasalo, P., Vartiainen, T., et al. (2004). Risk-benefit analysis of eating farmed salmon. *Science*, 305(5683): 476-477; author reply 476-477.

US EPA (1991, 10 Janvier 2008). Selenium and Compounds (CASRN 7782-49-2). Integrated Risk Information System. <http://www.epa.gov/ncea/iris/subst/0472.htm>, consulté le 27 Novembre 2008.

Vahter, M., Akesson, A., Lind, B., Bjors, U., Schutz, A. et Berglund, M. (2000). Longitudinal study of methylmercury and inorganic mercury in blood and urine of pregnant and lactating women, as well as in umbilical cord blood. *Environmental Research*, 84(2): 186-194.

Valera, B., Dewailly, E. et Poirier, P. (2009). Environmental mercury exposure and blood pressure among Nunavik Inuit adults. *Hypertension*, 54(5): 981-986.

Van Cauwenbergh, R., Robberecht, H., Van Vlaslaer, V. et Deelstra, H. (2004). Comparison of the serum selenium content of healthy adults living in the Antwerp region (Belgium) with recent literature data. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18(1): 99-112.

Van Dael, P., Davidsson, L., Ziegler, E.E., Fay, L.B. et Barclay, D. (2002). Comparison of selenite and selenate apparent absorption and retention in infants using stable isotope methodology. *Pediatric Research*, 51(1): 71-75.

Van Den Brandt, P.A., Goldbohm, R.A., Van't Veer, P., Bode, P., Hermus, R.J. et Sturmans, F. (1993). Predictors of toenail selenium levels in men and women. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 2(2): 107-112.

Van Der Pols, J.C., Heinen, M.M., Hughes, M.C., Ibiebele, T.I., Marks, G.C. et Green, A.C. (2009). Serum antioxidants and skin cancer risk: an 8-year community-based follow-up study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 18(4): 1167-1173.

Vinceti, M., Rovesti, S., Bergomi, M. et Vivoli, G. (2000). The epidemiology of selenium and human cancer. *Tumori*, 86(2): 105-118.

Wallace, K., Kelsey, K.T., Schned, A., Morris, J.S., Andrew, A.S. et Karagas, M.R. (2009). Selenium and risk of bladder cancer: a population-based case-control study. *Cancer Prevention Research*, 2(1): 70-73.

Wang, Q., Kim, D., Dionysiou, D.D., Sorial, G.A. et Timberlake, D. (2004). Sources and remediation for mercury contamination in aquatic systems--a literature review. *Environmental Pollution*, 131(2): 323-336.

Watanabe, C. (2002). Modification of mercury toxicity by selenium: practical importance? *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 196(2): 71-77.

Wennberg, M., Bergdahl, I.A., Hallmans, G., Norberg, M., Lundh, T., Skerfving, S., et al. (2011). Fish consumption and myocardial infarction: a second prospective biomarker study from northern Sweden. *American Journal of Clinical Nutrition*, 93(1): 27-36.

Whanger, P.D. (2004). Selenium and its relationship to cancer: an update. *British Journal of Nutrition*, 91(1): 11-28.

Wheatley, B. et Paradis, S. (1996). Balancing human exposure, risk and reality: questions raised by the Canadian aboriginal methylmercury program. *Neurotoxicology*, 17(1): 241-249.

Wilber, C.G. (1980). Toxicology of selenium: a review. *Clinical Toxicology*, 17(2): 171-230.

Xia, Y., Hill, K.E., Byrne, D.W., Xu, J. et Burk, R.F. (2005). Effectiveness of selenium supplements in a low-selenium area of China. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81(4): 829-834.

Xiong, Y.M., Mo, X.Y., Zou, X.Z., Song, R.X., Sun, W.Y., Lu, W., et al. (2010). Association study between polymorphisms in selenoprotein genes and susceptibility to Kashin-Beck disease. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18(6): 817-824.

Xue, F., Holzman, C., Rahbar, M.H., Trosko, K. et Fischer, L. (2007). Maternal fish consumption, mercury levels, and risk of preterm delivery. *Environmental Health Perspectives*, 115(1): 42-47.

Yaginuma-Sakurai, K., Shimada, M., Ohba, T., Nakai, K., Suzuki, K., Kurokawa, N., et al. (2009). Assessment of exposure to methylmercury in pregnant Japanese women by FFQ. *Public Health Nutrition*, 12(12): 2352-2358.

Yang, G., Yin, S., Zhou, R., Gu, L., Yan, B. et Liu, Y. (1989b). Studies of safe maximal daily dietary Se-intake in a seleniferous area in China. Part II: Relation between Se-intake and the manifestation of clinical signs and certain biochemical alterations in blood and urine. *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease*, 3(3): 123-130.

Yang, G. et Zhou, R. (1994). Further observations on the human maximum safe dietary selenium intake in a seleniferous area of China. *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease*, 8(3-4): 159-165.

Yang, G., Zhou, R., Yin, S., Gu, L., Yan, B., Liu, Y., et al. (1989a). Studies of safe maximal daily dietary selenium intake in a seleniferous area in China. I. Selenium intake and tissue selenium levels of the inhabitants. *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease*, 3(2): 77-87.

Yang, G.Q., Wang, S.Z., Zhou, R.H. et Sun, S.Z. (1983). Endemic selenium intoxication of humans in China. *American Journal of Clinical Nutrition*, 37(5): 872-881.

Yang, G.Q. et Xia, Y.M. (1995). Studies on human dietary requirements and safe range of dietary intakes of selenium in China and their application in the prevention of related endemic diseases. *Biomedical and Environmental Sciences*, 8(3): 187-201.

Yang, J., Wang, T., Wu, C. et Liu, C. (2010). Selenium level surveillance for the year 2007 of Keshan disease in endemic areas and analysis on surveillance results between 2003 and 2007. *Biological Trace Element Research*, 138(1-3): 53-59.

Zachara, B.A., Gromadzinska, J., Wasowicz, W. et Zbrog, Z. (2006). Red blood cell and plasma glutathione peroxidase activities and selenium concentration in patients with chronic kidney disease: a review. *Acta Biochimica Polonica*, 53(4): 663-677.

Zachara, B.A., Pawluk, H., Bloch-Boguslawska, E., Sliwka, K.M., Korenkiewicz, J., Skok, Z., et al. (2001). Tissue level, distribution, and total body selenium content in healthy and diseased humans in Poland. *Archives of Environmental Health*, 56(5): 461-466.

Zahir, F., Rizwi, S.J., Haq, S.K. et Khan, R.H. (2005). Low dose mercury toxicity and human health. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 20(2): 351-360.

Annexe 1

Questionnaire alimentaire utilisé dans l'étude présentée au Chapitre 2.

Questionnaire

Vous avez accepté de participer à l'étude menée par la Direction Santé et Sécurité - Hydro-Québec ayant pour but d'évaluer les quantités de poisson consommées ainsi que leurs apports en métaux et minéraux et nous vous en remercions.

Les résultats individuels seront communiqués confidentiellement à chacun des participants. Les résultats dépersonnalisés et groupés seront disponibles pour tous.

Ne rien inscrire ici / Partie réservée au chargé de projet	
Date : _____	Lieu : _____
Code dossier : _____	
Renseignements complémentaires : _____	

1. Nom, Prénom: _____

2. CIP: _____

3. Âge: _____

4. Sexe: M F

5. Taille: _____

6. Poids: _____

7. Lieu de résidence (hors Baie James): _____

8. Adresse pour l'envoi des résultats: _____

9. Avez-vous des amalgames dentaires ? oui / non (entourer la réponse adéquate)

Si oui, combien ?

1 à 5

5 à 10

+ de 10

10. Fumez-vous ? oui / non (entourer la réponse adéquate)

11. Si oui, combien fumez-vous de cigarettes par jour ? _____

12. Lors des repas, vous arrive-t-il souvent de ne pas finir votre assiette ? oui / non

13. Lors des repas, vous arrive-t-il souvent de vous resservir ? oui / non

Les questions suivantes concernent plus précisément les aliments qui contiennent du sélénium. Vous devez, pour chaque ligne des tableaux suivants, indiquer par une croix:

- la fréquence avec laquelle vous avez consommé cet aliment (2 fois ou plus par jour, 1 fois par jour, 1 fois par 2 jours, 1 ou 2 fois par semaine, 1 ou 2 fois par mois ou jamais) **au cours des 2 derniers mois**
- la quantité consommée à chaque fois (petite, moyenne ou grande portion)

Pour chaque ligne, vous pouvez ajouter des indications supplémentaires. Si vous consommez les aliments cités mais sous une autre forme que celle proposée, vous pouvez les ajouter aux lignes "autre", en précisant la fréquence, la quantité et la nature de l'aliment.

ŒUFS ET CÉRÉALES

	Quand ?						Combien ?		
	2 fois ou + / jour	1 fois / jour	2 fois ou + / sem	1 fois / sem	1 ou 2 fois / mois	Jamais	petite portion	moyenne portion	grande portion

Au cours des deux derniers mois, avez-vous mangé:

	Quand ?						Combien ?			Remarques
	2 fois ou + / jour	1 fois / jour	2 fois ou + / sem	1 fois / sem	1 ou 2 fois / mois	Jamais	petite portion	moyenne portion	grande portion	
ŒUFS										nombre / quantité
œufs (tounés, brouillés, miroir, etc.)										
omelette										
sandwichs aux œufs										
gâteaux / crêpes										
autre:										
autre:										
PAIN & CEREALES										nombre / quantité
pain blanc										
pain brun										
bagel										
céréales déjeuner										
riz										
pâtes										
couscous										
autre:										
autre:										
autre:										

SNACKS & BOISSON

Quand ?	Combien ?		
	petite portion	moyenne portion	grande portion
2 fois ou + / jour			
1 fois / jour			
2 fois ou + / sem			
1 fois / sem			
1 ou 2 fois / mois			
jamais			

Au cours des 2 derniers mois, avez-vous mangé:

	Combien ?			Quand ?	Remarques
SNACKS & COLLATIONS					
gâteaux					
barres tendres					
gomme					
croustilles					
biscuits secs					
noix					
autre:					
autre:					
autre:					
autre:					
autre:					
autre:					
BOISSONS					
bière					

La partie suivante du questionnaire porte sur vos habitudes de pêche vos consommations de poisson pêché.

14. Avec quelle fréquence pratiquez-vous la pêche:

- jamais
- 1 fois par mois et moins
- 2 à 5 fois par mois
- 1 fois par semaine
- 2 à 5 fois par semaine
- plus de 5 fois par semaine

15. Quels sont vos 3 principaux lieux de pêche:

- 1) _____
- 2) _____
- 3) _____

16. Quelles sont les espèces de poisson que vous pêchez le plus fréquemment:

- 1) _____
- 2) _____
- 3) _____

17. Avec quelle fréquence consommez-vous le poisson que vous pêchez:

- jamais
- 1 fois par mois et moins
- 2 à 5 fois par mois
- 1 fois par semaine
- 2 à 5 fois par semaine
- plus de 5 fois par semaine

18. Quelle quantité consommez-vous en moyenne à chaque repas de poisson pêché:

- 50 à 100 g
- 100 à 150 g
- 150 à 200 g
- 200 à 250 g
- plus de 250 g

Si vous ne connaissez pas le poids en gramme, consommez-vous:

- des petites portions
- des portions moyennes
- des grandes portions

19. Quand avez-vous consommé du poisson pour la dernière fois ?

20. De quelle espèce s'agissait-il ? _____

21. Etait-ce du poisson : pêché / acheté (entourer la bonne réponse)

22. S'il s'agissait de poisson pêché, où a t'il été pêché ? _____

23. Quelle quantité avez-vous mangé ? _____

La partie suivante du questionnaire porte sur vos habitudes de chasse et vos consommations de gibier.

23. Avec quelle fréquence pratiquez-vous la chasse:

- jamais
- 1 fois par mois et moins
- 2 à 5 fois par mois
- 1 fois par semaine
- 2 à 5 fois par semaine
- plus de 5 fois par semaine

24. Quels sont vos 3 principaux lieux de chasse:

- 1) _____
- 2) _____
- 3) _____

25. Quelles sont les espèces de gibier que vous chassez le plus fréquemment:

- 1) _____
- 2) _____
- 3) _____

26. Avec quelle fréquence consommez-vous le gibier que vous chassez:

- jamais
- 1 fois par mois et moins
- 2 à 5 fois par mois
- 1 fois par semaine
- 2 à 5 fois par semaine
- plus de 5 fois par semaine

27. Quelle quantité consommez-vous en moyenne à chaque repas de gibier chassé:

- 50 à 100 g
- 100 à 150 g
- 150 à 200 g
- 200 à 250 g
- plus de 250 g

Si vous ne connaissez pas le poids en gramme, consommez-vous:

- des petites portions
- des portions moyennes
- des grandes portions

28. Mâchez-vous régulièrement de la gomme ? oui / non (entourer)

29. Si oui, avec quelle fréquence:

- toute la journée
- plus de 2 fois par jour
- 1 à 2 fois par jour
- plus de 2 fois par semaine
- 1 à 2 fois par semaine
- plus de 2 fois par mois
- 1 à 2 fois par mois ou moins