

Le Directeur général

Maisons-Alfort, le 12 juillet 2018

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

relatif à une demande d'analyse critique des VTR du valproate de sodium (CAS n°1069-66-5)

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

L'Anses a été saisie le 29 juin 2018 par la Direction générale de la santé (DGS) et la Direction générale de la prévention des risques (DGPR) pour la réalisation de l'expertise suivante : demande d'analyse critique des valeurs toxicologiques de référence (VTR) du valproate de sodium.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Le site industriel de Sanofi Chimie situé à Mourenx, produit un médicament antiépileptique, la Dépakine®, dont le principe actif est le valproate de sodium. Il s'agit d'une installation classée pour la protection de l'environnement (ICPE) soumise à autorisation au titre du L.511 du Code de l'environnement. Les prescriptions fixées ne comprennent pas à ce jour d'autorisation de rejet du valproate de sodium. Compte tenu de l'existence de rejets de cette substance dans l'environnement, une évaluation quantitative des risques sanitaires (EQRS) associés au rejet du valproate de sodium a été requise par les autorités à Sanofi Chimie, ce qui nécessitait la sélection ou l'établissement d'une VTR.

En 2017, Sanofi Chimie a réalisé une évaluation de l'impact sur la santé et l'environnement de ces rejets. Pour la mener, une VTR à seuil basée sur des effets tératogènes proposée par le bureau d'étude CEHTRA (*Consultancy for Environmental & Human Toxicology and Risk Assessment*) pour le compte de l'entreprise Sanofi Chimie a été utilisée. L'EQRS conduite par la société AECOM pour le compte de Sanofi Chimie, en vue d'estimer les risques pour les riverains et les professionnels travaillant à proximité du site, conclut que « les risques sanitaires liés aux rejets actuels et passés de valproate de sodium sont inférieurs aux valeurs de référence ».

Par ailleurs, dans le cadre des évaluations de risques réalisées dans le traitement des dossiers relatifs aux ICPE ou à la gestion des sites et sols pollués, les Agences régionales de santé (ARS) ou les bureaux d'étude adressent à la DGS des questions relatives au choix des VTR pour certaines substances chimiques. Ce choix est effectué suivant les modalités définies dans la circulaire N° DGS/EA1/DGPR/2014/307 du 31 octobre 2014 relative aux modalités de sélection des substances chimiques et de choix des VTR pour mener les évaluations des risques sanitaires dans le cadre des études d'impact et de la gestion des sites et sols pollués. Dans cette note adressée par les ministres chargés de la santé et de l'environnement aux préfets et aux directeurs des services déconcentrés, l'Anses est désignée comme agence d'expertise pour le choix et la construction des VTR.

Ainsi, la DGS et la DGPR ont demandé à l'Anses de mener, en lien avec l'ANSM, une analyse critique des VTR élaborées pour le compte de Sanofi Chimie et plus particulièrement de celle utilisée dans le cadre de son EQRS, afin que l'autorité compétente puisse prendre les mesures de gestion du site adaptées à la qualification de la situation en termes de risques.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par le Groupe d'Expertise Collective d'Urgence (GECU) « VTR du valproate de sodium » entre le 05 juillet et le 12 juillet 2018. Ce GECU était constitué d'experts ayant les compétences suivantes : toxicologie expérimentale et clinique, endocrinologie, toxicité de la reproduction et du développement, embryologie, épidémiologie, thérapeutique, évaluation de risques sanitaires.

L'Anses a analysé les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

En réponse à cette saisine, une analyse de la méthode de construction des VTR élaborées par les bureaux d'études mandatés à cet effet par Sanofi Chimie (CEHTRA, 2017 ; Equitox, 2015) a été réalisée en comparaison avec la méthode préconisée par l'Anses (Anses, 2013 et 2017) ainsi qu'une analyse de la qualité scientifique de ces VTR.

Les documents mis à disposition et consultés par l'Anses incluent les rapports suivants :

- AECOM. (2017). Évaluation de l'impact sur la santé et l'environnement des émissions en valproate de sodium. Site de Mourenx. Préparé pour Sanofi Chimie.
- CEHTRA. (2017). Valproate de sodium. Valeur toxicologique de référence. Préparé pour Sanofi Chimie.
- Equitox. (2015). Acide valproïque et valproate de sodium : détermination de la valeur toxicologique de référence (VTR). Préparé pour Sanofi Chimie.
- Gouy. (1999). Sodium valproate. Preliminary summary. Sanofi Synthelabo.
- Communication de Sanofi Chimie sur les éléments relatifs à la génotoxicité du valproate de sodium. (2018)
- Dreal Nouvelle-Aquitaine. (2018). Installations classées. Rapport au préfet des Pyrénées Atlantiques. Rejets dans l'air non conformes du site Sanofi de Mourenx.

La littérature sur le valproate de sodium est conséquente (plus de 15 000 articles sur Pubmed avec le mot clé « sodium valproate »). Aussi, en raison du délai de réponse court, les experts ont établi leur analyse critique sur la base des rapports cités ci-dessus, de deux rapports de l'EMA (2014 et 2018) et d'une revue bibliographique non exhaustive et d'articles connus des experts.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GECU

■ Informations générales sur le valproate de sodium

Le valproate de sodium est un principe actif médicamenteux de la Dépakine®, utilisé dans l'Union européenne, dans le traitement de l'épilepsie et des troubles bipolaires sous forme orale ou intraveineuse, en mono ou en polythérapie. Aux USA, il est également utilisé dans la prévention des migraines. Il est synthétisé à partir de l'acide valproïque (Dreal Nouvelle-Aquitaine, 2018).

Les effets anti-épileptiques de l'acide valproïque font intervenir plusieurs mécanismes d'action. A l'origine, le principal mécanisme d'action décrit a été l'inhibition des canaux sodiques voltage-dépendants. L'acide valproïque module l'hyperexcitabilité neuronale principalement en bloquant le canal calcique de type T.

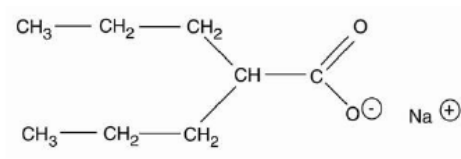
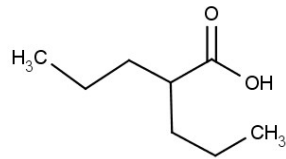
Son action antiépileptique résulte aussi de sa capacité à renforcer l'action inhibitrice du GABA (acide gamma-aminobutyrique) en se fixant sur le récepteur GABA-A et en provoquant une augmentation des concentrations cérébrales de GABA par une inhibition faible des deux enzymes impliquées dans la dégradation du GABA (la GABA-transaminase et la succinyl-hemi-aldéhyde déshydrogénase). Cependant, des études pharmacodynamiques suggèrent que ces effets sur la transmission GABA seraient très modérés aux doses thérapeutiques. Son mécanisme d'action pharmacologique demeure en grande partie inconnu. En revanche, il présente d'autres propriétés dont des effets antimitotiques (Yagi *et al.*, 2010 ; Barker *et al.*, 2013).

La posologie moyenne est de 30 mg/kg/j pour le nourrisson et l'enfant et de 20 à 30 mg/kg/j pour l'adolescent et l'adulte. Il existe également une formulation à libération prolongée, réservée à l'adulte et à l'enfant de plus de 17 kg, dont la posologie quotidienne initiale est de 10-15 mg/kg/j. Les doses sont ensuite augmentées jusqu'à la posologie optimale (Vidal, 2018). La fourchette

d'efficacité thérapeutique, exprimée en taux plasmatiques, est habituellement comprise entre 40 et 100 mg/L (300 à 700 µmol/L).

Les paramètres d'identification du valproate de sodium et de l'acide valproïque sont listés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : Identification du valproate de sodium et de l'acide valproïque

Nom	Valproate de sodium	Acide valproïque
Numéro CAS	1069-66-5	99-66-1
Numéro EC	213-961-8	202-777-3
Synonymes	2-propylpentanoic acid sodium 2-propylpentanoic acid, sodium salt sodium 2-propylpentanoate sodium 2-propylpentanoateDPANa sodium 2-propylvalerate sodium bispropylacetate	2-propyl-pentanoic acid 2-propylpentanoic acid 2-propylvaleric Acid n-dipropylacetic acid pentanoic acid, 2-propyl
Formule brute	C ₈ H ₁₅ NaO ₂	C ₈ H ₁₆ O ₂
Formule développée		
Masse molaire	166,2 g.mol ⁻¹	144,21 g.mol ⁻¹
Forme et caractéristiques	Poudre microcristalline blanche, inodore, hygroscopique et légèrement piquante au goût	

Le valproate de sodium est un intermédiaire de synthèse (ECHA¹). Il ne possède pas de classification harmonisée selon le règlement européen n°1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, dit « CLP ». La majorité des industriels proposent les classifications suivantes :

- Toxicité aiguë, catégorie 4 - H302 (nocif en cas d'ingestion)
- Corrosion/irritation cutanée, catégorie 2 - H315 (provoque une irritation cutanée)
- Lésions oculaires graves/irritation oculaire, catégorie 2 - H319 (provoque une sévère irritation oculaire)
- Toxicité spécifique pour le système respiratoire - Exposition unique, catégorie 3 – H335 (peut irriter les voies respiratoires)
- Toxicité pour la reproduction, catégorie 1A - H360 (peut nuire à la fertilité ou au fœtus).
-

L'acide valproïque est un intermédiaire de synthèse (ECHA). Il ne possède pas de classification harmonisée selon le règlement «CLP ». La majorité des industriels proposent les classifications suivantes :

- Toxicité aiguë, catégorie 4 - H302 (nocif en cas d'ingestion)
- Corrosion/irritation cutanée, catégorie 2 - H315 (provoque une irritation cutanée)

¹ Agence européenne des produits chimiques

- Lésions oculaires graves/irritation oculaire, catégorie 1 - H318 (provoque des lésions oculaires graves)
- Toxicité pour la reproduction, catégorie 1B - H360 Df (peut nuire au fœtus ; susceptible de nuire à la fertilité).

■ Définition et méthode d'élaboration de VTR à l'Anses

L'Anses a publié un guide d'élaboration de VTR qui détaille la méthode utilisée par l'agence (Anses, 2017). Selon ce guide, « une VTR est un indice toxicologique qui permet de qualifier ou de quantifier un risque pour la santé humaine dans la population générale. Elle établit le lien entre une exposition à une substance toxique et l'occurrence d'un effet sanitaire indésirable. Les VTR sont spécifiques d'une durée d'exposition (aiguë, subchronique ou chronique) et d'une voie d'exposition (orale ou respiratoire). La construction des VTR diffère en fonction des connaissances ou des hypothèses formulées sur les mécanismes d'action des substances. Actuellement, l'hypothèse par défaut est de considérer une relation monotone entre l'exposition, ou la dose, et l'effet, ou la réponse. En l'état actuel des connaissances et par défaut, on considère généralement que, pour les effets non cancérogènes, la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose. »

A l'Anses, l'élaboration des VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives par des groupes de spécialistes. En pratique, la construction de la VTR comprend les étapes suivantes :

- recenser et analyser les données de toxicité disponibles, sur la base d'études épidémiologiques et/ou expérimentales,
- identifier le ou les organes cibles et l'effet critique (effet néfaste le plus sensible apparaissant à la plus faible dose chez la population la plus vulnérable),
- identifier l'hypothèse de construction, à seuil ou sans seuil de dose, en fonction du mode d'action de la substance,
- choisir une étude clé de bonne qualité scientifique permettant généralement d'établir une relation dose – réponse,
- définir une dose critique chez l'Homme ou l'animal à partir de cette étude, éventuellement dans le cas d'une dose critique obtenue chez l'animal, ajuster cette dose à l'Homme ;
- pour une VTR à seuil, appliquer des facteurs d'incertitude à cette dose critique de manière à dériver une VTR applicable à l'ensemble de la population concernée,
- pour une VTR sans seuil, réaliser une extrapolation linéaire à l'origine afin de déterminer un excès de risque unitaire.

Par ailleurs, en 2013, pour le cas particulier de résidus de médicament, l'Anses a publié, en collaboration avec l'ANSM, un rapport décrivant une méthode générale pour évaluer les risques sanitaires liés à la présence de résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH) (Anses, 2013). Cette méthode est composée de plusieurs modules dont un dédié à la détermination de la VTR à partir de laquelle est calculée la valeur guide pour l'eau.

Bien que les effets biologiques des principes actifs de médicaments soient étudiés de manière approfondie, les données nécessaires à l'utilisation de la démarche classique d'EQRS sont parfois inexistantes ou non accessibles en particulier pour la détermination de la VTR. Pour cela, la méthode propose plusieurs alternatives en fonction du niveau de données disponibles (Figure 1).

Dès que cela est possible, l'utilisation d'une VTR validée dans le dossier d'autorisation de mise sur le marché (AMM) ou par des organismes de sécurité sanitaire (cas n°1) ou la construction d'une VTR à partir de données de bonne qualité scientifique (cas n°2) sont à utiliser prioritairement car les VTR reposent sur des données toxicologiques spécifiques à la substance. En l'absence de ces données, il est néanmoins possible de proposer des VTR dotées d'un niveau de confiance inférieur, en se basant sur la posologie minimale journalière qui devra être associée à des facteurs d'incertitudes spécifiques (cas n°3). En dernier lieu, une approche probabiliste construite à partir de bases de données toxicologiques (seuil de préoccupation toxicologique ou TTC) peut être utilisée (cas n°4). Pour ce dernier cas, le seuil TTC le plus bas déterminé pour les substances mutagènes/cancérogènes sera appliqué (0,15 µg/personne/j).

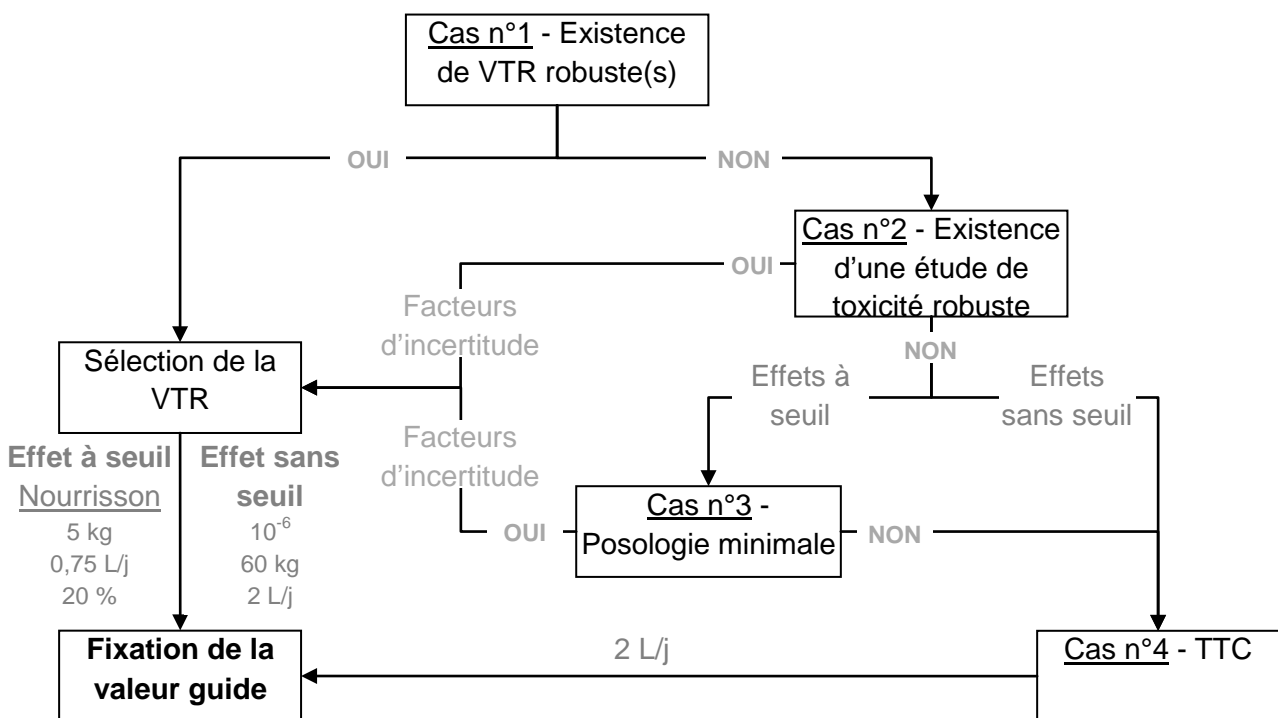


Figure 1 : Schéma de la démarche de fixation de la valeur guide adoptée pour les résidus de médicaments dans les EDCH (Anses, 2013)

Le valproate de sodium étant un principe actif médicamenteux, ce schéma de démarche est à privilégier.

■ **Description des VTR proposées par le CEHTRA (2017) et Equitox (2015) pour le compte de Sanofi Chimie**

Deux bureaux d'études ont élaboré des VTR pour le valproate de sodium : un premier en 2015 et CEHTRA en 2017(Annexe 2).

En 2015, Equitox a proposé une VTR par voie respiratoire de 2,02 mg.m⁻³ basée sur des risques de malformations congénitales chez les enfants de mères traitées par du valproate de sodium et

aux substances apparentées (valpromide, divalproate) pendant la grossesse (anomalies du tube neural, dysmorphies faciales, fentes labiales et palatines, craniosténoses, anomalies cardiaques, rénales et urogénitales, anomalies des membres). Selon l'étude de Bromfield *et al.* (2008) retenue par Equitox, la dose journalière moyenne reçue par les patientes ayant eu un nouveau-né indemne de malformation congénitale est de 902 ± 497 mg/j ($n = 254$ grossesses). Equitox a retenu comme dose critique la borne inférieure de l'intervalle de confiance (405 mg/j), soit 5,7 mg/kg pc/j en considérant un poids de 70 kg. Une transposition voie à voie a été réalisée pour déterminer une concentration par inhalation en prenant en compte le poids corporel et le volume respiratoire de $20 \text{ m}^3/\text{j}$ par défaut. Enfin, un facteur d'incertitude (UF) de 10 a été appliqué pour prendre en compte le manque de données permettant d'évaluer complètement le risque d'autisme et de troubles du spectre autistique. Aucun facteur d'incertitude n'a été appliqué pour la variabilité interindividuelle (UF_H), considérant que l'étude clé concerne une population sensible (femmes en âge de procréer, enceintes et généralement atteintes d'épilepsie).

En 2017, le CEHTRA a construit des VTR reprotoxiques et chroniques par voie orale, cutanée et respiratoire.

Le CEHTRA a ainsi proposé deux VTR reprotoxiques par voie orale fondée sur des effets tératogènes, l'une de 0,090 mg/kg pc/j à partir de données humaines et une seconde de 0,545 mg/kg pc/j à partir des données animales.

La VTR fondée sur des données humaines a été construite à partir d'une dose posologique. La méta-analyse de Meador *et al.* (2008) montre que 10,73% des enfants de femmes épileptiques exposées au valproate de sodium en monothérapie présentent des malformations congénitales ($IC_{95\%} = 8,16-13,29$). Dans la population générale, le risque de malformations majeures est d'environ 2-3%. Selon l'Agence européenne du médicament (EMA, 2014), l'effet dépend de la dose, mais une dose en dessous de laquelle il n'existe aucun effet adverse (NOAEL²) ne peut être établie en l'état actuel des connaissances. Bromfield *et al.* (2008) ont suivi 284 grossesses exposées au valproate de sodium dont 30 ont abouti à des malformations congénitales majeures chez le nouveau-né. Les auteurs notent une tendance à une diminution importante des malformations lorsque la dose est inférieure à 750 mg/j, sans par ailleurs pouvoir identifier de NOAEL. Ainsi, la dose clinique initiale (600 mg/j selon le CEHTRA) a été choisie comme étant la dose la plus faible utilisée pendant la grossesse pour laquelle une augmentation du risque tératogène ne peut pas être exclue (LOAEL³ = 8,5 mg/kg pc/j en considérant un poids de 70 kg). Un facteur d'incertitude de 100 a été appliqué : 10 pour la variabilité interindividuelle et 10 pour l'utilisation d'un LOAEL.

La VTR reprotoxique par voie orale fondée sur une étude animale décrite dans le rapport de Gouy (1999) a été construite à partir d'un NOAEL de 50 mg/kg pc/j. Dans cette étude de toxicité sur le développement (segment II), des rates Wistar gestantes ($n = 20/\text{dose}$) ont été exposées du 7^{ème} au 13^{ème} jour de gestation (GD) à 0, 50, 100, 200, 400 et 600 mg/kg pc/j de valproate de sodium. Une augmentation des résorptions et une diminution du poids fœtal ont été observées aux deux plus fortes doses. Dès 100 mg/kg pc/j, une augmentation des incidences d'anomalies (vertèbres

² NOAEL = No Observed Adverse Effect Level (= Dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)

³ LOAEL = Lowest Observed Adverse Effect Level (= Dose minimale entraînant un effet néfaste observé)

cervicales incomplètes et côtes surnuméraires, retard d'ossification) a été mise en évidence. Le nombre d'anomalies a été augmenté à partir de 400 mg/kg pc/j (anomalies squelettiques, aberrations structurales des vertèbres). Un ajustement allométrique a été réalisé afin d'obtenir une dose équivalente humaine en utilisant la formule de l'US EPA (2011)⁴. Un facteur d'incertitude de 25 a été appliqué pour tenir compte de la composante toxicodynamique de la variabilité inter-espèce ($UF_{A-TD} = 2,5$) et de la variabilité interindividuelle ($UF_H = 10$).

Le CEHTRA a également construit une VTR chronique par voie orale de 0,93 mg/kg pc/j fondée sur une étude subchronique (Gouy, 1999). Les rats Sprague-Dawley ($n = 10$ /sexe/dose) ont été exposés par gavage pendant 6 mois à 0, 100, 230 et 540 mg/kg pc/j de valproate de sodium. À 540 mg/kg pc/j, les auteurs ont observé des troubles neurologiques (sédation, ataxie locomotrice) immédiatement après administration, une diminution de gain de poids corporel, de la consommation alimentaire et d'eau un mois après le début de l'étude, une diminution des leucocytes et des protéines sériques, une augmentation du poids du foie et des reins et une diminution du poids du thymus et des testicules, une atrophie des follicules spléniques et une prolifération des cellules réticulaires. Aucun effet n'a été observé aux deux plus faibles doses (NOAEL = 230 mg/kg pc/j). Un ajustement allométrique a été réalisé pour obtenir une dose équivalente humaine en appliquant la formule de l'US EPA (2011) puis un facteur d'incertitude de 75 a été appliqué ($UF_{A-TD} = 2,5$; $UF_H = 10$; $UF_s = 3$). Le CEHTRA a également calculé une VTR chronique par voie orale pour les travailleurs, fondée sur une toxicité testiculaire observée chez des chiens exposés douze mois (NOAEL = 90 mg/kg pc/j). Après ajustement allométrique et application d'un facteur d'incertitude de 25 ($UF_{A-TD} = 2,5$; $UF_H = 10$), le CEHTRA a obtenu une VTR de 2,27 mg/kg pc/j, moins conservatrice que celle calculée ci-dessus et a considéré que la VTR de 0,93 mg/kg pc/j protégeait également des effets testiculaires.

Pour chacune de ces VTR, le CEHTRA a réalisé une transposition voie à voie selon la méthode proposée par l'ECHA (2012) pour obtenir une VTR :

- **par contact cutané**, en multipliant la dose critique par voie orale par le rapport du taux d'absorption par voie orale chez le rat (100%) sur le taux d'absorption cutanée chez l'Homme (100% par défaut) ;
- **par voie respiratoire**, en multipliant la dose critique par voie orale par le rapport du taux d'absorption par voie orale chez le rat (100%) sur le taux d'absorption par inhalation chez l'Homme (100% par défaut) et divisé par le volume respiratoire standard chez le rat ($1,15 \text{ m}^3/\text{kg}/\text{j}$ par défaut).

Le CEHTRA a attribué à chaque VTR un niveau de confiance moyen (Annexe 2).

Le CEHTRA a retenu les VTR les plus conservatrices, à savoir les VTR construites sur la base des données humaines : 0,09 mg/kg pc/j pour les voies orale et cutanée et $0,3 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ pour la voie respiratoire. Ces VTR ont été utilisées pour mener une EQRS pour les riverains et les professionnels travaillant à proximité du site.

■ Analyse critique des VTR proposées par le CEHTRA (2017) et Equitox (2015)

⁴ Dose critique équivalente humaine = Dose critique animal x $[\text{poids}_{\text{animal}}/\text{poids}_{\text{Homme}}]^{1/4}$

Le GECU a confronté la construction des VTR élaborées par les deux bureaux d'études avec les méthodes préconisées par l'Anses décrites précédemment (Anses, 2013 et 2017).

- **Profil toxicologique**

Le GECU a analysé les données disponibles sur le valproate de sodium et l'acide valproïque issues du rapport du CEHTRA (2017) et du rapport industriel non publié (Gouy, 1999). Ces rapports contiennent des résumés d'études. Le GECU n'a pas réalisé une recherche bibliographique exhaustive complémentaire en raison des contraintes de délai très court requis de l'agence pour produire le présent avis.

De l'analyse des rapports, il ressort que de nombreuses études de toxicité subaiguë, chronique, fertilité et toxicité pré-, péri- et post-nataux uniquement par voie orale ont été réalisées dans les années 70-80, sur différentes espèces (rat, souris, lapin, chien, cobaye) avec une vaste gamme de doses de valproate de sodium ou d'acide valproïque. Les effets observés mentionnés dans le rapport de Gouy (1999) sont similaires entre les espèces.

Les principaux effets observés dans les **études subchroniques et chroniques**, sont des effets neurologiques (sédation, ataxie, tremblement) mis en évidence aux doses les plus élevées (250 mg/kg pc/j chez le chien, 650 mg/kg/j chez le lapin, 540 mg/kg pc/j chez le rat, dès 200 mg/kg pc/j chez le cobaye). Des effets testiculaires ont également été observés chez le rat (diminution du poids absolu des testicules dès 540 mg/kg pc/j) et le chien (dégénérescence testiculaire à 260 mg/kg pc/j) exposés par voie orale.

Deux études de **reproduction** (effets sur la **fertilité** des deux sexes et effets péri- et postnataux) par voie orale ont été réalisées pour Sanofi. Ces études sont disponibles dans le rapport non publié de Gouy (1999).

Une première étude a été conduite chez des rats CD (Sprague Dawley) des deux sexes exposés à 0, 65, 150 et 350 mg/kg/j d'acide valproïque (60 j avant la période d'accouplement pour les mâles et du 14^{ème} j avant l'accouplement jusqu'au 21^{ème} j post-partum pour les femelles). Cette étude montre des effets chez les femelles traitées consistant en un retard à la mise bas, une diminution du nombre de sites d'implantation aux deux doses les plus élevées, une réduction du nombre de petits par portée et une augmentation de la mortalité périnatale à la dose la plus élevée (aucun survivant à J4 à la dose forte). Dans cette première étude, aucun effet spécifique relatif au traitement des mâles n'est rapporté. Néanmoins, comme indiqué plus haut, les études subchroniques et chroniques par voie orale réalisées chez le rat et le chien montraient des effets testiculaires. Ces effets potentiels sur la fertilité mâle font également l'objet de publications plus récentes. Dans une étude par voie orale sur des rats Wistar mâles aux doses de 200 et 400 mg/kg/j pendant 60 jours, une diminution du nombre de spermatozoïdes et de la motilité spermatique, ainsi qu'une augmentation du nombre de spermatozoïdes anormaux, ont été observées. Seule la motilité spermatique est considérée comme totalement réversible 10 semaines après cessation du traitement (Bairy *et al.*, 2010).

Une deuxième étude de reproduction sur rats Long Evans est rapportée par Gouy (1999). Elle a été conduite pour clarifier les effets uniquement consécutifs au traitement des femelles, en particulier ceux relatifs à la survie et au développement des jeunes. Cette étude utilisant la méthode d'échange de portées entre des mères traitées et non traitées (groupe contrôle) (adoption croisée) a été effectuée avec la même gamme de doses administrées du 14^{ème} jour avant l'accouplement jusqu'au 21^{ème} jour post-partum (sevrage). Chez les portées échangées, la survie pré-, péri- et postnatale de la descendance F1 exposée *in utero* a été altérée à la plus forte dose mais de manière moins marquée que dans les portées non échangées. Cela confirme les effets prénataux de l'exposition au valproate observés dans la première étude. Aucun dosage dans le lait maternel n'a été réalisé. En revanche, si l'on émet l'hypothèse que l'acide valproïque se retrouve dans le lait maternel, la mortalité de la descendance F1 se poursuivant après J4 (remplacement complet du colostrum par le lait maternel) dans les groupes non échangés et la croissance des survivants jusqu'au sevrage étant altérée, on ne peut totalement exclure des effets postnataux également dus au passage de l'acide valproïque dans le lait maternel.

Par ailleurs, chez des patients masculins adultes traités par du valproate de sodium, les données cliniques publiées tendent à évoquer une possible altération de leur fertilité (Hamed *et al.*, 2015 ; Xiaotian *et al.*, 2013).

De nombreuses études de **tératogénicité**, réalisées chez le rat, la souris et le lapin exposés à l'acide valproïque et le valproate de sodium par Sanofi Chimie sont rapportées dans les rapports analysés et ont montré :

- un nombre réduit de rates gestantes,
- une toxicité sévère pour la progéniture pendant la période d'organogénèse chez le rat et la souris (résorptions, diminution du poids fœtal),
- une embryotoxicité et une tératogénicité chez le rat dès 100 mg/kg pc/j, la souris entre 200 et 400 mg/kg pc/j et le lapin dès 350 mg/kg pc/j. Les anomalies les plus souvent observées se situent au niveau des vertèbres, des côtes et des reins. Ces effets sont fréquemment décrits chez les rongeurs et les primates. Chez les souris, des fentes palatines et des exencéphalies sont également observées.

Une étude péri et post-natale présentée dans le rapport de Gouy (1999) conduite chez le rat CD a montré une toxicité péri- et post-natale chez le rat (mise-bas retardée dose-dépendante, mortalité péri- et post natale dose reliée dès 65 mg/kg pc/j).

Les effets tératogènes sont présents chez les animaux de laboratoire et chez l'Homme. A titre d'exemple :

- les atteintes squelettiques sont observées dans toutes les espèces,
- les malformations cardiaques sont présentes chez l'Homme, la souris (Wu *et al.*, 2010) et le rat (Binkerd *et al.*, 1988),
- les anomalies de la fermeture du tube neural observées chez l'Homme ont été également observées chez la souris et les primates non humains (Hendrikx et Binkerd, 1993).

Selon les experts, les différences inter-espèces observées dans les facteurs pharmacocinétiques et métaboliques seraient impliqués dans les variations inter-espèces d'incidence et de fréquence d'apparition des anomalies caractéristiques de l'acide valproïque/valproate de sodium.

Des **effets neurodéveloppementaux** ont été décrits chez des enfants de mères exposées au valproate de sodium pendant la grossesse (autisme et troubles du spectre autistique, retard mental) à des doses de 800-900 mg/j. Pour des doses inférieures à 750-800 mg/j, un faible risque d'atteinte neurodéveloppementale reste possible (Bromley *et al.*, 2014 ; Baker *et al.*, 2015). Le mécanisme d'action n'est pas clairement défini. De plus, des doutes persistent sur la fenêtre d'exposition. Dans la littérature, certains auteurs pensent que la fenêtre d'exposition se situe pendant le 1^{er} trimestre de grossesse tandis que d'autres retiennent la période couvrant toute la grossesse (Nadebaum *et al.*, 2011 ; Christensen *et al.*, 2013).

Chez la femme allaitante, le valproate de sodium pris par voie orale passe très peu dans le lait maternel. L'enfant allaité ingère 1 à 2% de la dose maternelle rapportée au poids et ses concentrations plasmatiques représentent environ 3% des concentrations maternelles. Par ailleurs, un bénéfice neurodéveloppemental de l'allaitement maternel sous valproate de sodium a été observé sur de petits effectifs d'enfants exposés *in utero* (Meador *et al.*, 2014a ; Veiby *et al.*, 2013a et b).

Des études disponibles dans la littérature suggèrent des **effets** du valproate de sodium pendant la **période de maturation pubertaire**.

Chez l'animal quatre études montrent un effet du traitement chronique pendant la période prépubère-pubère sur la structure du corps caverneux du pénis chez le rat (300 mg/kg/j) (Kutlu *et al.*, 2012), la morphologie des neurones GnRH (17 mg/kg/j) (Illig *et al.*, 2000 ; Snyder et Badura, 1998) ou encore les poids des testicules et de l'utérus et la spermatogenèse (17-20 mg/kg/j) (Snyder et Badura, 1995) chez la souris.

De manière similaire, plusieurs études humaines indiquent des effets endocriniens du valproate de sodium à des doses thérapeutiques sur des paramètres liés non seulement à la reproduction (âge de la puberté, augmentation des niveaux de testostérone et diminution de ceux des œstrogènes chez les adolescentes traitées) (Nalin *et al.*, 1988 ; Cook *et al.*, 1992 ; Vainionpää *et al.*, 1999 ; de Vries *et al.*, 2007, El-Khayat *et al.*, 2004, Rauchenzauner *et al.*, 2010) mais également à la croissance/métabolisme (El-Khayat *et al.*, 2004 ; Mikkonen *et al.*, 2005 ; Tan *et al.*, 2005 ; Kumandas *et al.*, 2006 ; Gungor *et al.*, 2007 ; Prodam *et al.*, 2010 ; Aksoy *et al.*, 2011 ; Cansu *et al.*, 2012 ; Sonmez *et al.*, 2013).

Enfin, une étude *in vitro* sur des cellules de follicule ovarien porcine prélevées sur des animaux prépubères montre des effets du valproate de sodium sur la sécrétion basale et stimulée par la LH et la FSH de la testostérone et de l'œstradiol (Taubøll *et al.*, 2006).

L'ensemble de ces données sur la maturation pubertaires, il est donc possible que le valproate de sodium affecte la mise en place des processus hypothalamiques, hypophysaires et/ou gonadiques nécessaires à la maturation de l'axe gonadotrope pendant la période de puberté. Ceci est validé cliniquement chez l'Homme en terme d'observations de troubles de l'axe hypothalamo-hypophysaire à partir de la période prépubère et pubère. Il n'est aujourd'hui pas possible d'identifier de dose en dessous de laquelle le syndrome des ovaires polykystiques et les troubles hypothalamo-hypophysaires sont observés (Hu *et al.*, 2011 ; Zhang *et al.*, 2016).

Concernant la **génétoxicité** du valproate de sodium, la plupart des études ont été réalisées sur cellules somatiques. Elles n'ont pas été conduites dans une batterie de tests selon les guidelines

OCDE⁵. Les études ont montré des résultats négatifs *in vitro* (test de mutation reverse sur bactérie (test Ames), tests de réparation de l'ADN *in vitro* dans les hépatocytes de rats) et *in vivo* (test d'aberrations chromosomiques sur moelle osseuse de rat et un test de dominance létale chez la souris) (Gouy, 1999). Dans les deux études *in vivo*, les animaux étaient exposés par voie orale à des doses de 65, 150, et 350 mg/kg pc/j pendant 5 jours (i.e. les mêmes doses utilisées dans les études de tératogénèse et dans lesquelles des effets tératogènes avaient été observés).

Des publications récentes dans des journaux à comité de lecture ont rapporté des augmentations des dommages de l'ADN/chromosomiques (test d'aberrations chromosomiques et test micronoyau/ test des comètes) chez les rongeurs exposés au valproate (Fucic *et al.*, 2010, Ahamad *et al.*, 2013 ; Abdella *et al.*, 2014 ; Khan *et al.*, 2011). Chez l'Homme, des augmentations de l'incidence des dommages chromosomiques dans les tests d'échanges de chromatides sœurs (SCE), d'aberrations chromosomiques ou du micronoyau (Hu *et al.*, 1990 ; Taneja *et al.*, 1992) ont également été observées chez des patients épileptiques exposés au valproate, utilisé en monothérapie et/ou polythérapie, versus des contrôles. Cependant les résultats de ces études chez l'Homme sont contradictoires. A ce jour, les données disponibles ne permettent pas de conclure sur le potentiel génotoxique du valproate de sodium. Suite à un arbitrage européen par le Comité d'évaluation des risques en pharmacovigilance (PRAC) sur les aspects grossesse et troubles neurodéveloppementaux du valproate de sodium, l'EMA a recommandé de réaliser des tests de génotoxicité sur cellules germinales dans le but d'évaluer l'impact du risque transgénérationnel et l'exposition *via* le père (EMA, 2018). Le comité d'experts du PRAC a émis des recommandations au regard du potentiel mutagène et clastogène. Le comité a demandé de reconduire le test d'Ames selon les guidelines OCDE en incluant la souche *Salmonella thyphimurium* TA102 et à conduire un test de mutation sur lymphomes de souris *in vitro* (MLA) un bon indicateur de mise en évidence de mutations géniques et de clastogénicité. Selon les informations communiquées par Sanofi Chimie, le test d'Ames et le test de mutation génique au locus tk (ou test MLA) sont planifiés et les résultats sont attendus en début d'année 2019 (communication personnelle de Sanofi Chimie).

Deux études de **cancérogénicité** ont été réalisées chez le rat Sprague Dawley mâle et femelle, et la souris ICR mâle et femelle, avec l'acide valproïque (81 et 85 mg/kg pc/j ou 161 et 172 mg/kg pc/j pour les rats mâle et femelle, respectivement ; et 81 et 85 mg/kg pc/j ou 159 et 163 mg/kg pc/j pour les souris mâle et femelle, respectivement) (Gouy, 1999). Aucun potentiel cancérogène n'a été mis en évidence chez le rat et la souris.

⁵ Organisation de coopération et de développement économiques

- **Choix de l'effet critique et de l'hypothèse de construction**

Les effets tératogènes et neurodéveloppementaux sont clairement identifiés chez l'Homme, ainsi que chez l'animal. Les données cliniques existantes montrent que le risque de malformations congénitales augmente avec la dose, sans qu'un NOAEL puisse être clairement défini chez l'Homme. En effet, il ne peut pas être exclu que ces effets se produisent à des niveaux d'exposition inférieurs à la plus faible posologie usuellement administrée de 10-15 mg/kg pc/j, ces doses n'ayant pas été évaluées puisqu'elles ne présentent pas d'efficacité dans les indications thérapeutiques préconisées.

De plus, les experts soulignent qu'il n'est, aujourd'hui, pas possible d'écarter des effets neurodéveloppementaux et néfastes sur la reproduction chez les enfants, pré-adolescents et adolescents traités (non exposés pendant la grossesse). Ces effets pourraient apparaître à des doses plus faibles que celles induisant des malformations congénitales.

Des publications récentes existent et devraient être prises en compte pour préciser l'effet critique.

Aussi, la nature des effets à retenir pour la construction de la VTR devrait être justifiée au regard de l'ensemble des données publiées disponibles sur le valproate de sodium.

Par ailleurs, au vu des données disponibles qui ont été examinées dans le temps de l'expertise et de l'absence de potentiel cancérigène mis en évidence dans les données analysées, le choix d'une VTR à seuil n'est pas remis en cause.

- **Choix de l'étude clé et de la dose critique**

Suite à une analyse qualitative des données animales (rat, souris, lapin) disponibles dans les rapports mis à disposition et mettant en évidence des effets tératogènes et neurodéveloppementaux, les experts considèrent ces données expérimentales insuffisantes pour fixer des VTR (études anciennes, non BPL⁶, etc.). Le plus faible NOAEL identifié chez l'animal (50 mg/kg pc/j chez le rat) est très supérieur aux doses thérapeutiques les plus faibles, considérées comme le LOAEL chez l'Homme. Par ailleurs, les experts jugent que les données humaines sont pertinentes pour élaborer une VTR conformément à la méthode d'élaboration des VTR de l'Anses. En effet, les données chez l'Homme doivent être privilégiées si elles sont de qualité suffisante et si les données d'exposition sont de qualité suffisante, en particulier si elles permettent d'établir une relation dose-réponse (Anses, 2017).

Equitox (2015) a retenu l'étude humaine de Bromfield *et al.* (2008) comme étude clé. Les experts ont jugé que cette étude n'apportait pas les éléments suffisants pour l'élaboration de la VTR. En particulier, elle ne met pas en évidence de relation dose-réponse et ne peut pas représenter, à elle seule, l'ensemble des résultats de la littérature existante et dense sur cette question. Bromfield *et al.* (2008) observent une diminution importante du risque de malformation congénitale pour les nouveau-nés de femmes traitées (n = 284) avec <750 mg/j vs ≥750 mg/j (p = 0,06). Le CEHTRA considère qu'il n'est pas possible de définir une dose en dessous de laquelle il n'existe aucun effet

⁶ Bonnes Pratiques de laboratoire

tératogène. La dose clinique initiale (600 mg/j selon le CEHTRA ; LOAEL = 8,5 mg/kg pc/j en considérant un poids de 70 kg) a été choisie comme étant la dose la plus faible utilisée pendant la grossesse pour laquelle une augmentation du risque tératogène ne peut pas être exclu. Cependant, **selon les experts, la posologie minimale utilisée par le CEHTRA ne correspond pas à la posologie minimale administrée : la plus faible dose administrée est de 10-15 mg/kg/j en posologie initiale (Vidal, 2018). Les doses sont ensuite augmentées jusqu'à la posologie optimale.**

Des publications récentes ont été identifiées et devraient être incluses dans l'analyse. Les experts recommandent en première intention l'utilisation d'une étude chez l'Homme, de bonne qualité, plus récente et réalisée sur des effectifs plus importants, mettant en évidence une relation dose-réponse. A défaut, les experts recommandent l'utilisation de la dose posologique minimale (10 mg/kg pc/j) comme dose critique.

○ **Choix des facteurs d'incertitude**

En cas d'utilisation d'une étude chez l'Homme de bonne qualité, un facteur d'incertitude de 10 pour la variabilité interindividuelle (UF_H) doit être appliqué. Equitox n'a pas utilisé d' UF_H considérant que l'étude était réalisée sur une population sensible (enfants exposés *in utero*). Il n'est pas possible d'exclure le fait que d'autres populations (enfant, pré-adolescents, adolescents) ne constituent aussi une population sensible. Le choix des autres facteurs d'incertitude devrait suivre la méthode de l'Anses (Anses, 2017).

Le CEHTRA a utilisé les facteurs d'incertitude suivants lors de la construction de leur VTR fondée sur la dose posologique :

- 10 pour l'utilisation d'un LOAEL à la place d'un NOAEL,
- 10 pour la variabilité interindividuelle.

Cependant, selon le guide Anses (2013), un facteur d'incertitude supplémentaire de 10 doit être appliqué pour l'utilisation d'une posologie minimale.

○ **Transposition voie à voie**

Le CEHTRA a proposé des VTR par voies respiratoire et cutanée par transposition de VTR par voie orale. Aucune étude par voies respiratoire et cutanée n'a été identifiée. A l'heure actuelle, il n'y a pas d'élément permettant d'indiquer que les effets observés par voie orale sont différents des effets attendus induits par une exposition par voie respiratoire et cutanée. Étant donné la nature des effets systémiques décrits, l'hypothèse d'une transposition voie à voie est jugée recevable.

La méthode utilisée pour transposer la VTR orale en VTR par voie respiratoire ou cutanée suit les recommandations de l'ECHA (2012). Le CEHTRA utilise un taux d'absorption de 100% par voie orale alors que les données disponibles rapportent un taux d'absorption entre 87-96% chez le rat et le chien (Gouy, 1999). Les données cliniques confirment toutefois la très bonne absorption du valproate de sodium.

- **Utilisation de la VTR**

Les VTR s'appliquent à l'ensemble de la population, y compris les populations sensibles telles que les enfants.

Des effets tératogènes ont clairement été identifiés chez l'Homme. En l'absence de données contraires, on considère, dans la démarche d'évaluation du risque sanitaire, que ce type d'effets peut survenir à la suite d'une exposition courte (généralement fixée à 24h), la sensibilité à l'effet tératogène pouvant dépendre d'une période d'exposition critique au cours du développement (notion de fenêtre d'exposition). **La VTR basée sur des effets tératogènes s'applique donc sur une durée d'exposition maximale de 24h. Cette approche nécessite donc de s'assurer que la VTR doit être toujours respectée et ce de manière répétée sur le long terme.** La mesure de l'exposition pour ce qui concerne le risque chronique ne peut être une valeur moyennée sur plusieurs semaines ou plusieurs mois mais doit prendre en compte les pics d'exposition possibles sur 24h.

Les individus salariés des entreprises situées à proximité du site rejetant du valproate de sodium, dans l'environnement doivent être considérés comme la population générale. Ainsi, les experts préconisent l'utilisation de la même VTR que pour les riverains.

Les conditions d'exposition des travailleurs sur le site de production de Sanofi Chimie devraient aussi être considérées dans des scénarios d'exposition spécifiques.

- **Conclusions et recommandations du GECU**

Au vu des données disponibles auxquelles les experts ont pu avoir accès dans le temps court de l'expertise, le choix d'une VTR à seuil n'est pas remis en cause. Néanmoins, les experts ne retiennent pas les VTR élaborées à partir des données animales ou humaines par Equitox et par le CEHTRA car de nombreuses données chez l'Homme sont disponibles dans la littérature. La VTR fondée sur la dose posologique minimale doit être revue au regard des nouvelles études publiées et des effets observés. Les experts soulignent que des effets neurodéveloppementaux et néfastes sur la reproduction pourraient apparaître à des doses plus faibles que celles induisant des malformations congénitales.

De plus, les experts rappellent que malgré un grand nombre de données existantes, aucune dose minimale en dessous de laquelle des effets sur la reproduction et le développement sont susceptibles de ne pas se produire, n'a pu être identifiée.

Les experts soulignent que la VTR basée sur des effets tératogènes s'applique donc sur une durée d'exposition maximale de 24 h. Cette approche nécessite donc de s'assurer que la VTR doit être toujours respectée et ce de manière répétée sur le long terme.

Recommandations du GECU :

Les experts recommandent :

- de réaliser une revue systématique de la bibliographie sur le valproate de sodium prenant en compte les données plus récentes, en particulier les données chez l'Homme,
- d'utiliser pour la construction de la VTR :
 - o des données humaines récentes de bonne qualité, mettant en évidence une relation dose-réponse et si elles le permettent d'utiliser l'approche benchmark dose (BMD),
 - o à défaut, la dose posologique minimale (10 mg/kg pc/j) et les facteurs d'incertitude associés (Anses, 2013).

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions et recommandations du GECU.

Dr Roger GENET

MOTS-CLES

Valproate de sodium, acide valproïque, valeur toxicologique de référence, oral, inhalation, cutané
Sodium valproate, valproic acid, toxicological reference value, oral, inhalation, dermal

BIBLIOGRAPHIE

- Abdella EM, Galaly SR, Mohammed HM, Khadrawy SM.(2014). Protective role of vitamin E against valproic acid-induced genotoxicity and hepatotoxicity in mice. *The Journal of Basic & Applied Zoology*. 2014;676:127-39.
- AECOM. (2017). Évaluation de l'impact sur la santé et l'environnement des émissions en valproate de sodium. Site de Mourenx. Préparé pour Sanofi Chimie.
- Aksoy A, Sönmez FM, Deger O, Hosver I, Karagüzel G.(2011). The effects of antiepileptic drugs on the relationships between leptin levels and bone turnover in prepubertal children with epilepsy. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2011;24(9-10):703-8.
- Ahmad T, Shekh K, Khan S, Vikram A, Yadav L, Parekh CV,(2013). Pre-treatment with valproic acid, a histone deacetylase inhibitor, enhances the sensitivity of the peripheral blood micronucleus assay in rodents. *Mutat Res*. 2013 Feb 18;751(1):19-26.
- Anses. (2013). Rapport d'expertise collective relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine : méthode générale et application à la carbamazépine et à la danofloxacin. (saisine 2009-SA-0210). Maisons-Alfort : Anses, 82p. Disponible sur <https://www.anses.fr/fr/system/files/EAUX2009sa0210Ra.pdf>
- Anses. (2017). Rapport d'expertise collective relatif aux valeurs toxicologiques de référence. Guide d'élaboration de l'Anses. (saisine 2007-SA-0432). Maisons-Alfort : Anses, 156p. Disponible sur <https://www.anses.fr/fr/system/files/SUBSTANCES2017SA0016Ra.pdf>
- Bairy L., Paul V., Rao Y. (2010). Reproductive toxicity of sodium valproate in male rats. *Indian J Pharmacol*. 42(2): 90–94.
- Baker GA, Bromley RL, Briggs M, Cheyne CP, Cohen MJ, García-Fiñana M, Gummery A, Kneen R, Loring DW, Mawer G, Meador KJ, Shallcross R, Clayton-Smith J; Liverpool and Manchester Neurodevelopment Group.(2015). IQ at 6 years after in utero exposure to antiepileptic drugs: a controlled cohort study. *Neurology*. 2015 Jan 27;84(4):382-90.
- Barker CA, Bishop AJ, Chang M, Beal K, Chan TA. (2013). Valproic acid use during radiation therapy for glioblastoma associated with improved survival. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2013 Jul 1;86(3):504-9.
- Bromfield E.B., Dworetzky B.A., Wyszynski D.J., Smith C.R., Baldwin E.J., Holmes L.B. (2008). Valproate teratogenicity and epilepsy syndrome. *Epilepsia*, 49(12):2122–2124, 2008.
- Bromley R, Weston J, Adab N, Greenhalgh J, Sanniti A, McKay AJ, Tudur Smith C, Marson AG.(2014). Treatment for epilepsy in pregnancy: neurodevelopmental outcomes in the child. *Cochrane Database Syst Rev*.2014 Oct 30;(10):CD010236.
- Cansu A, Yesilkaya E, Serdaroglu A, Camurdan O, Hirfanoglu TL, Karaoglu A, Bideci A, Cinaz P. (2012). The effects of oxcarbazepine and valproate therapies on growth in children with epilepsy. *Endocr Res*. 2012;37(4):163-74. doi: 10.3109/07435800.2012.662663. Epub 2012 May 25.CEHTRA. (2017). Valproate de sodium. Valeur toxicologique de référence. Rapport n°CFR-17.033. Asnières-sur-Seine, CEHTRA : 62p.

- Christensen J, Grønberg TK, Sørensen MJ, Schendel D, Parner ET, Pedersen LH, Vestergaard M.(2013). Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism. *JAMA*. 2013 Apr 24;309(16):1696-703.
- Cook JS1, Bale JF Jr, Hoffman RP. (1992). Pubertal arrest associated with valproic acid therapy. *Pediatr Neurol*. 1992 May-Jun;8(3):229-31.
- Dreal Nouvelle-Aquitaine. (2018). Installations classées. Rapport au préfet des Pyrénées Atlantiques. Rejets dans l'air non conformes du site Sanofi de Mourenx. Pau : DREAL :4p.
- ECHA. (2012). Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R.8: Characterisation of dose [concentration]-response for human health. Version 2.1. ECHA-2010-G-19-EN. November 2012. Helsinki, ECHA : 195p.
- El-Khayat HA, Abd El-Basset FZ, Tomoum HY, Tohamy SM, Zaky AA, Mohamed MS, Hakky SM, El Barbary NS, Nassef NM. (2004). Physical growth and endocrinal disorders during pubertal maturation in girls with epilepsy. *Epilepsia*. 2004 Sep;45(9):1106-15.
- EMA. (2014). Assessment report. Procedure under Article 31 of Directive 2001/83/EC resulting from pharmacovigilance data. Substances related to valproate. International non-proprietary name(s): sodium valproate, valproic acid, valproate semisodium, valpromide. Procedure number: EMEA/H/A-31/1387. 9 October 2014. EMA/686022/2014. Pharmacovigilance Risk Assessment Committee (PRAC).
- EMA. (2018). Assessment report. Referral under Article 31 of Directive 2001/83/EC. Medicinal products containing substances related to valproate. Active substance: sodium valproate, valproic acid, valproate semisodium, valpromide, valproate magnesium. Procedure number: EMEA/H/A-31/1454. 08 February 2018. EMA/198940/2018. Pharmacovigilance Risk Assessment Committee (PRAC)
- Equitox. (2015). Acide valproïque et valproate de sodium : détermination de la valeur toxicologique de référence (VTR). 40p.
- Fucic A, Stojković R, Miškov S, Zeljezic D, Markovic D, Gjergja R, (2010). Transplacental genotoxicity of antiepileptic drugs: animal model and pilot study on mother/newborn cohort. *Reprod Toxicol*. 2010 Dec;30(4):613-8.
- Gouy. (1999). Sodium valproate. Preliminary summary. Gouy D 06.09.99. Report n°022.3.136. Sanofi Synthelabo. Paris-Gentilly. DARG. Documentation réglementaire.
- Gungor S, Yücel G, Akinci A, Tabel Y, Ozerol IH, Yologlu S.(2007). The role of ghrelin in weight gain and growth in epileptic children using valproate. *J Child Neurol*. 2007 Dec;22(12):1384-8. doi: 10.1177/0883073807307096.
- Hamed SA, Moussa EM, Tohamy AM, Mohamed KO, Mohamad ME, Sherif TM, Abdallah MM. (2015). Seminal fluid analysis and testicular volume in adults with epilepsy receiving valproate. *J Clin Neurosci*. 2015 Mar;22(3):508-12.
- Hendrickx H., Nau H., Binkerd P., Rowland J.M., Rowland J.R., Cukerski M.J., Cuvierski M.A. (1988). Evaluation of Valproic Acid (VPA) Developmental Toxicity and Pharmacokinetics in Sprague—Dawley Rats. *Toxicological Sciences*, Volume 11, Issue 1, 1 January 1988, Pages 485–593.
- Hendrickx A.G., Binkerd P.E. (1993). Congenital Malformations in Nonhuman Primates. In: Jones T.C., Mohr U., Hunt R.D. (eds) *Nonhuman Primates I. Monographs on Pathology of Laboratory Animals*. Springer, Berlin, Heidelberg. Pages 170-180.
- Hu LJ, Lu XF, Lu BQ, Huang YQ.(1990). The effect of valproic acid on SCE and chromosome aberrations in epileptic children. *Mutat Res*. 1990 Jan;243(1):63-6.
- Hu X, Wang J, Dong W, Fang Q, Hu L, Liu C.(2011). A meta-analysis of polycystic ovary syndrome in women taking valproate for epilepsy. *Epilepsy Res*. 2011 Nov;97(1-2):73-82.
- Illig A.M., Melia K., Snyder P.J., Badura L.L. (2000). Sodium valproate alters GnRH-GABA interactions during development in seizure-prone mice. *Brain Res*. 2000 Dec 8;885(2):192-200.
- Khan S, Ahmad T, Parekh CV, Trivedi PP, Kushwaha S, Jena G.(2011). Investigation on sodium valproate induced germ cell damage, oxidative stress and genotoxicity in male Swiss mice. *Reprod Toxicol*. 2011 Dec;32(4):385-94.
- Kumandas S, Koklu E, Gümüs H, Koklu S, Kurtoglu S, Karakukcu M, Keskin M.(2006). Effect of carbamezapine and valproic acid on bone mineral density, IGF-I and IGFBP-3. *J Pediatr Endocrinol*

- Metab. 2006 Apr;19(4):529-34. Kutlu O., Cansu A., Karagüzel E., Gürgen S.G., Koç O., Gür M., Özgür G.K. (2012). Effect of valproic acid treatment on penile structure in prepubertal rats. *Epilepsy Res.* 2012 May;99(3):306-11.
- Meador KJ, Baker GA, Browning N, Cohen MJ, Bromley RL, Clayton-Smith J, Kalayjian LA, Kanner A, Liporace JD, Pennell PB, Privitera M, Loring DW. (2014). Neurodevelopmental Effects of Antiepileptic Drugs (NEAD) Study Group. (2014). Breastfeeding in children of women taking antiepileptic drugs: cognitive outcomes at age 6 years. *JAMA Pediatr.* 2014 Aug;168(8):729-36.
- Mikkonen K, Knip M, Pakarinen AJ, Lanning P, Isojärvi JI, Vainionpää LK.(2005). Growth and lipid metabolism in girls and young women with epilepsy during pubertal maturation. *Epilepsia.* 2005 Jul;46(7):1114-20.
- Nadebaum C, Anderson VA, Vajda F, Reutens DC, Barton S, Wood AG.(2011). Language skills of school-aged children prenatally exposed to antiepileptic drugs. *Neurology.* 2011 Feb 22;76(8):719-26.
- Nalin A., Galli V., Ciccarone V., Grandi F., Baraldi E., Carani C.(1988). Antiepileptic drugs and puberty. *Brain Dev.* 1988;10(3):192-4.
- Prodan F, Bellone S, Casara G, De Rienzo F, Grassino EC, Bonsignori I, Demarchi I, Rapa A, Radetti G, Bona G.(2010). Ghrelin levels are reduced in prepubertal epileptic children under treatment with carbamazepine or valproic acid. *Epilepsia.* 2010 Feb;51(2):312-5. doi: 10.1111/j.1528-1167.2009.02307.x. Epub 2009 Sep 22.
- Rauchenzauner M, Bitsche G, Svalheim S, Tauboll E, Haberlandt E, Wildt L, Rostasy K, Luef G.(2010). Effects of levetiracetam and valproic acid monotherapy on sex-steroid hormones in prepubertal children- results from a pilot study. *Epilepsy Res.* 2010 Feb;88(2-3):264-8. doi: 10.1016/j.epilepsyres.2009.11.003. Epub 2009 Dec 16.
- Snyder P.J., Badura L.L. (1998). A potential mechanism of slowed pubertal maturation after chronic administration of sodium valproic acid. *Neurology.* 1998 Apr;50(4):922-5.
- Sonmez FM, Zaman D, Aksoy A, Deger O, Aliyazicioglu R, Karaguzel G, Fazlioglu K.(2013). The effects of topiramate and valproate therapy on insulin, c-peptide, leptin, neuropeptide Y, adiponectin, visfatin, and resistin levels in children with epilepsy. *Seizure.* 2013 Dec;22(10):856-61. doi: 10.1016/j.seizure.2013.07.007. Epub 2013 Aug 9.
- Tan H, Orbak Z, Kantarci M, Koçak N, Karaca L.(2005). Valproate-induced insulin resistance in prepubertal girls with epilepsy. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2005 Oct;18(10):985-9.
- Taneja N, Kucheria K, Jain S, Tandon JK, Maheshwari MC. (1992). Sister-chromatid exchanges are increased in epileptics, but not by sodium valproate. *Mutat Res.* 1992 Dec;283(4):233-5.
- Taubøll E, Gregoraszczuk EL, Tworzydło A, Wójtowicz AK, Ropstad E. (2006). Comparison of reproductive effects of levetiracetam and valproate studied in prepubertal porcine ovarian follicular cells. *Epilepsia.* 2006 Sep;47(9):1580-3.
- US EPA. (2011). Recommended use of body weight^{3/4} as the default method in derivation of the oral reference dose. EPA/100/R11/0001. Washington DC., US EPA: 50p.
- Vainionpää LK, Rättyä J, Knip M, Tapanainen JS, Pakarinen AJ, Lanning P, Tekay A, Myllylä VV, Isojärvi JI. (1999). Valproate-induced hyperandrogenism during pubertal maturation in girls with epilepsy. *Ann Neurol.* 1999 Apr;45(4):444-50.
- Veiby G, Daltveit AK, Schjølberg S, Stoltenberg C, Øyen AS, Vollset SE, Engelsen BA, Gilhus NE. (2013a). Exposure to antiepileptic drugs in utero and child development: a prospective population-based study. *Epilepsia.* 2013 Aug;54(8):1462-72.
- Veiby G, Engelsen BA, Gilhus NE. (2013b). Early child development and exposure to antiepileptic drugs prenatally and through breastfeeding: a prospective cohort study on children of women with epilepsy. *JAMA Neurol.* 2013 Nov;70(11):1367-74.
- VIDAL. (2018). Le dictionnaire.
- de Vries L, Karasik A, Landau Z, Phillip M, Kiviti S, Goldberg-Stern H. (2007). Endocrine effects of valproate in adolescent girls with epilepsy. *Epilepsia.* 2007 Mar;48(3):470-7. Epub 2007 Feb 22.

- Wu G., Nan C., Rollo J.C., Huang X., Tian J. (2010). Sodium valproate-induced congenital cardiac abnormalities in mice are associated with the inhibition of histone deacetylase *Journal of Biomedical Science* 2010, 17:16.
- Xiaotian X, Hengzhong Z, Yao X, Zhipan Z, Daoliang X, Yumei W. (2013). Effects of antiepileptic drugs on reproductive endocrine function, sexual function and sperm parameters in Chinese Han men with epilepsy. *J Clin Neurosci.* 2013 Nov;20(11):1492-7.
- Yagi Y, Fushida S, Harada S, Kinoshita J, Makino I, Oyama K, Tajima H, Fujita H, Takamura H, Ninomiya I, Fujimura T, Ohta T, Yashiro M, Hirakawa K. (2010). Effects of valproic acid on the cell cycle and apoptosis through acetylation of histone and tubulin in a scirrhous gastric cancer cell line. *J Exp Clin Cancer Res.* 2010 Nov 17;29:149.
- Zhang L, Li H, Li S, Zou X. (2016). Reproductive and metabolic abnormalities in women taking valproate for bipolar disorder: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016 Jul;202:26-31.

ANNEXE 1

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

GROUPE D'EXPERTISE COLLECTIVE EN URGENCE

Président

Mme Elisabeth ELEFANT- AMOURA – Praticien hospitalier à l'AP-HP - Compétences : tératovigilance, biologie de la reproduction et du développement, thérapeutique.

Membres

M. Nicolas CABATON – Chargé de recherche à l'INRA – ToxAlim - Compétences : Toxicologie, métabolisme des xénobiotiques, biologie de la reproduction

Mme Cécile CHEVRIER – Chargé de recherche à l'INSERM/IRSET - Compétences : épidémiologie, neurodéveloppement, biostatistiques

M. François CLINARD – Épidémiologiste à Santé publique France – Compétences : Pharmacien toxicologue, épidémiologie, évaluation des risques sanitaires

M. Paul HOUETO – Référent métier toxicologue à l'ANSM - Compétences : toxicologie

Mme Cécile KAIRO – Évaluateur de risques sanitaires à Santé publique France - Compétences : Docteur en pharmacie spécialisé en environnement, toxicologie générale, évaluation des risques, VTR

M. Dominique MASSET – Chef de pôle évaluation centralisée à l'ANSM - Compétences : toxicologie

Mme Sakina MHAOUTY-KODJA – Directrice de recherche au CNRS - Compétences : Endocrinologie, biologie de la reproduction, toxicologie, neurodéveloppement

Mme Jeanne STADLER – Consultante indépendante - Compétences : pharmacien toxicologue spécialisée en toxicologie de la reproduction et du développement

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Isabelle MANIÈRE – Chargé de projets scientifiques - Anses

Mme Aurélie MATHIEU-HUART – Chef de projets scientifiques – Anses

Contribution scientifique

M. Guillaume BOULANGER – Adjoint au chef d'unité - Anses

Mme Isabelle MANIÈRE – Chargé de projets scientifiques - Anses

Mme Aurélie MATHIEU-HUART – Chef de projets scientifiques – Anses

M. Christophe ROUSSELLE – Chef d'unité – Anses

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX-PETRE – Anses

Avis de l'Anses
Saisine n° 2018-SA-0150

ANNEXE 2 : SYNTHÈSE DES VTR ELABOREES POUR LE VALPROATE DE SODIUM (VOIE RESPIRATOIRE, ORALE ET CUTANEE)

Organisme	Type de VTR	Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	VTR
Equitox (2015)	VTR reprotoxique par voie respiratoire	Augmentation des malformations congénitales chez l'Homme Bromfield <i>et al.</i> (2008)	NOAEL = 405 mg/j = 5,7 mg/kg pc/j <u>Transposition voie à voie</u> NOAEC = NOAEL x 70 kg/20 m ³ = 20,25 mg.m ⁻³	10 UF _H = 1 UF _D = 10	2,02 mg.m ⁻³
CEHTRA (2017)	VTR reprotoxique par voie orale à partir de données humaines	Malformations congénitales chez 10,73% des enfants de femmes épileptiques exposées au valproate en monothérapie Méta-analyse évaluée par le PRAC*	Dose posologique = 600 mg/j LOAEL = 8,5 mg/kg pc/j	100 UF _H = 10 UF _{L/B} = 10	0,09 mg/kg pc/j Niveau de confiance : moyen
	VTR reprotoxique par voie cutanée à partir de données humaines		Dose posologique = 600 mg/j LOAEL = 8,5 mg/kg pc/j <u>Transposition voie à voie</u> LOAEL _{cutané} = LOAEL _{VO} x Abs _{orale Homme} / Abs _{cutanée Homme} = 8,5 mg/kg pc/j		0,09 mg/kg pc/j Niveau de confiance : moyen
	VTR reprotoxique par voie respiratoire à partir de données humaines		Dose posologique = 600 mg/j LOAEL = 8,5 mg/kg pc/j <u>Transposition voie à voie</u> LOAEC = LOAEL _{VO} x Poids Homme / Abs _{inh Homme} = LOAEL _{VO} x 70 kg/20 m ³ /j = 29,75 mg.m ⁻³		0,3 mg.m ⁻³ Niveau de confiance : moyen

*Comité d'évaluation des risques en pharmacovigilance de l'EMA

Avis de l'Anses
Saisine n° 2018-SA-0150

Organisme (année)	Type de VTR	Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	VTR
CEHTRA (2017)	VTR reprotoxique par voie orale à partir de données animales	Augmentations des résorptions et des anomalies (vertèbres cervicales incomplètes et côtes surnuméraires, retard d'ossification, anomalies squelettiques, aberrations structurelles des vertèbres et des côtes) et diminution du poids fœtal chez le rat Étude de toxicité développementale chez des rats exposés par voie orale de GD 7-13 (non publiée)	NOAEL = 50 mg/kg pc/j <u>Ajustement allométrique</u> NOAEL _{HED} = NOAEL x (poids _{animal} /poids _{Homme}) ^{1/4} = 50 x (0,3857 / 70) ^{1/4} = 13,6 mg/kg/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	0,545 mg/kg pc/j Niveau de confiance : moyen
	VTR reprotoxique par voie cutanée à partir de données animales		NOAEL _{VO} = 50 mg/kg pc/j <u>Transposition voie à voie</u> NOAEL _{cutané} = NOAEL _{VO} x Abs _{orale rat} /Abs _{cutanée Homme} = 50 mg/kg pc/j <u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{HEC} = NOAEL x (poids _{animal} /poids _{Homme}) ^{1/4} = 50 x (0,3857 / 70) ^{1/4} = 13,6 mg/kg/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	0,545 mg/kg pc/j Niveau de confiance : moyen
	VTR reprotoxique par voie respiratoire à partir de données animales		NOAEL = 50 mg/kg pc/j <u>Transposition voie à voie</u> NOAEC = NOAEL/Volume respiratoire _{rat} x (poids _{Homme} /Abs _{inh Homme}) = NOAEL/1,15 m ³ /kg/j x 100%/100% = 43,5 mg.m ⁻³	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	1,74 mg.m ⁻³ Niveau de confiance : moyen

Avis de l'Anses
Saisine n° 2018-SA-0150

Organisme (année)	Type de VTR	Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	VTR
CEHTRA (2017)	VTR chronique par voie orale	<p>Troubles neurocomportementaux, diminution du gain de poids corporel et de la consommation alimentaire et augmentation du poids du foie, des reins et diminution du poids du thymus et des testicules</p> <p>Étude de toxicité répétée chez des rats exposés 6 mois (étude non publiée)</p>	<p>NOAEL = 230 mg/kg pc/j</p> <p><u>Ajustement allométrique</u> $NOAEL_{HED} = NOAEL \times (\text{poids}_{\text{animal}}/\text{poids}_{\text{Homme}})^{1/4} = NOAEL \times 0,6/70 = 69,98 \text{ mg/kg pc/j}$</p>	<p>75</p> <p>$UF_{A-TD} = 2,5$</p> <p>$UF_H = 10$</p> <p>$UF_S = 3$</p>	0,93 mg/kg pc/j
	VTR chronique par voie cutanée		<p>NOAEL = 230 mg/kg pc/j</p> <p><u>Transposition voie à voie</u> $NOAEL_{\text{cutané}} = NOAEL_{VO} \times \text{Abs}_{\text{orale rat}} / \text{Abs}_{\text{cutanée Homme}} = 230 \text{ mg/kg pc/j}$</p> <p>Ajustement allométrique $NOAEL_{\text{cutané HED}} = NOAEL_{\text{cutané}} \times (\text{poids}_{\text{animal}}/\text{poids}_{\text{Homme}})^{1/4} = 230 \times (0,6 / 70)^{1/4} = 68,98 \text{ mg/kg/j}$</p>		0,93 mg/kg pc/j
	VTR chronique par voie respiratoire		<p>NOAEL = 230 mg/kg pc/j</p> <p><u>Transposition voie à voie</u> $NOAEC = (NOAEL/\text{Volume}_{\text{respiratoire rat}}) \times (\text{poids}_{\text{Homme}} / \text{Abs}_{\text{inh Homme}}) = NOAEL / 1,15 \text{ m}^3/\text{j} \times 100\%/100\% = 200 \text{ mg.m}^{-3}$</p>		2,67 mg.m ⁻³
					Niveau de confiance : moyen
					Niveau de confiance : moyen
					Niveau de confiance : moyen