

# Toxicologie

---

Claude Viau, Robert Tardif

La référence bibliographique de ce document se lit comme suit:

Viau C, Tardif R (2003)

Toxicologie.

In : Environnement et santé publique - Fondements et pratiques, pp. 119-143.

Gérin M, Gosselin P, Cordier S, Viau C, Quénel P, Dewailly É, rédacteurs.

Edisem / Tec & Doc, Acton Vale / Paris

Note : Ce manuel a été publié en 2003. Les connaissances ont pu évoluer de façon importante depuis sa publication.

# Toxicologie

---

Claude Viau, Robert Tardif

- 1. Historique de la toxicologie**
- 2. Définitions**
- 3. Principes de base**
  - 3.1 Intoxication aiguë et intoxication chronique
  - 3.2 Toxicité locale et toxicité systémique
  - 3.3 Relation dose-effet et relation dose-réponse
  - 3.4 Toxicocinétique
  - 3.5 Toxicodynamie
- 4. Facteurs modifiant la toxicité**
  - 4.1 Métabolisme
  - 4.2 Âge, sexe et habitudes de vie
  - 4.3 Bagage génétique
  - 4.4 Hypersusceptibilité
  - 4.5 Interactions
- 5. Sources d'information et prédiction de la toxicité chez l'humain**
  - 5.1 Enquêtes épidémiologiques
  - 5.2 Essais chez les volontaires
  - 5.3 Essais de toxicité chez l'animal
  - 5.4 Extrapolations inter-espèces, et doses fortes/doses faibles
  - 5.5 Modèles toxicocinétiques/pharmacocinétiques
- 6. Bio-indicateurs**
  - 6.1 Surveillance biologique de l'exposition
  - 6.2 Dépistage précoce des effets toxiques
  - 6.3 Évaluation de la susceptibilité

## 1. HISTORIQUE DE LA TOXICOLOGIE

(Lauwerys, 1999; Gallo et Doull, 1991)

On s'accorde généralement pour donner au mot toxicologie une origine grecque, «toxon», désignant un arc et surtout les flèches empoisonnées dont certaines peuplades faisaient usage pour tuer efficacement leurs ennemis. D'autres croient que le nom proviendrait de «taxus», l'arbre qui servait à la fois à la confection des flèches et dont on extrayait des baies toxiques un poison servant à enduire le bout de ces flèches. D'une certaine façon, on peut dire qu'il s'agissait donc, à l'origine, de l'art de confectionner des poisons. Progressivement, certains développèrent également l'art de se prémunir contre les effets toxiques de ces poisons. On raconte ainsi que le roi Mithridate consommait régulièrement des décoctions contenant plusieurs dizaines de poisons afin de se protéger d'un attentat de ses ennemis. Il aurait si bien réussi que, fait prisonnier, il échoua dans sa tentative de se suicider à l'aide de poisons. Le mot «mithridatisation» désigne aujourd'hui l'accoutumance ou «l'immunité» acquise à l'égard des poisons par exposition à des doses croissantes de ces derniers. On connaît aussi le père de la toxicologie, Paracelse, et sa phrase célèbre: «C'est la dose qui détermine si une chose est un poison». Un autre aspect du développement de la toxicologie mérite un détour. Le célèbre physiologiste Claude Bernard avait en effet observé que, en plus de leur utilisation pour détruire la vie ou pour guérir, les poisons constituent un outil précieux dans les mains des physiologistes. En permettant l'étude des phénomènes causant la mort, ceux-ci permettaient en même temps de comprendre les mécanismes physiologiques de la vie.

Ce bref voyage dans l'Histoire nous a donc menés de l'art à la science de la toxicologie. Aujourd'hui, ces deux facettes, la science et l'art, sont encore présentes dans la définition de la toxicologie. La science de la toxicologie est très largement empirique et s'appuie sur des observations factuelles. Elle étudie la toxicocinétique, la toxicodynamie et les mécanismes d'action. L'art de la toxicologie, dont en particulier le domaine de l'évaluation du risque, nous amène à prédire la toxicité des substances dans des circonstances données. Le toxicologue doit souvent recourir à l'une et l'autre de ces facettes, mais éviter de considérer comme des faits ce qui

ne serait que des prédictions, aussi éclairées fussent-elles.

Ce chapitre présente les éléments de base de la toxicologie nécessaires au praticien de la santé publique oeuvrant dans le champ de la santé environnementale. Le lecteur y trouvera les principales définitions, les éléments de la relation dose-réponse, les bases de la toxicocinétique des substances toxiques, les principaux facteurs susceptibles de modifier la réponse toxicologique et, enfin, les outils de la toxicologie utiles en santé environnementale. Ça et là, le texte est ponctué d'exemples spécifiques qui servent d'illustration au propos et ne sauraient prétendre être exhaustifs.

## 2. DÉFINITIONS

(Anonyme, 1998; Viala, 1998)

- Absorption: peut, avec « dose absorbée», désigner la dose d'un toxique qui a subi une absorption systémique dans le sens anglosaxon de «uptake».
- Bio-indicateur: paramètre toxicologique pouvant servir à montrer ou à prédire un événement toxique chez un individu ou chez un animal et qui peut servir de paramètre commun de toxicité entre espèces. On distingue les bio-indicateurs d'exposition, les bio-indicateurs d'effets et les bio-indicateurs de susceptibilité.
- Dose: s'appliquant aux toxiques, désigne la quantité absolue de ces derniers à laquelle un organisme est exposé (3,4 mg ou 7,5 mmol, par exemple). Selon le contexte, ce mot désigne aussi en français la quantité absolue d'un toxique auquel un organisme est exposé par unité de masse corporelle et par unité de temps ( $0,49 \text{ pmol}^{-1} \cdot \text{kg} \cdot \text{jour}^{-1}$ , par exemple).
- Effet: modification biochimique, cellulaire ou physiologique découlant de l'exposition à une substance chimique.
- Électrophile: se dit d'une substance chimique qui réagit avec des molécules de l'organisme pourvues de sites riches en électrons disponibles pour des liaisons. Plusieurs biotransformations de type «activation» produisent de tels intermédiaires toxiques. Les époxydes, qui peuvent notamment réagir avec l'ADN, en constituent un bon exemple.



- Exposition: peut, avec l'expression «dose d'exposition», désigner la dose d'un toxique dans le sens anglo-saxon de «*intake*». Les mots «consommation» et «prise» peuvent aussi être utilisés, surtout dans le contexte des toxiques entrant dans l'organisme par voie digestive (la prise de 30 pmol de biphényles polychlorés par consommation alimentaire de poisson, par exemple).
- Paramètre d'évaluation de la toxicité: cette expression que l'on pourra abrégé en «paramètre de toxicité» ou «mesure de toxicité» correspond au «endpoint» des anglo-saxons.
- Réponse: nombre d'individus ou proportion d'une population présentant un effet donné à la suite d'une exposition à une substance chimique.
- Toxicité: caractère des substances chimiques qui, au contact ou après pénétration dans un organisme, ont la propriété de causer un dysfonctionnement à l'échelle moléculaire, cellulaire ou organique.
- Toxicocinétique: étude du devenir des toxiques dans l'organisme.
- Toxicodynamie: étude du mécanisme d'interaction entre un toxique et une cible moléculaire ou cellulaire à l'origine de la toxicité de cette substance.
- Toxique: utilisé substantivement, ce mot désigne une substance chimique toxique.
- Xénobiotique: substance chimique étrangère à l'organisme; cette brève définition pourrait donner lieu à un long débat. En effet, doit-on par exemple considérer une substance comme le méthanol, produit «naturellement» par certaines voies métaboliques, comme un xénobiotique? Si l'on répond affirmativement, cela voudrait dire qu'on devrait aussi considérer le chlorure de sodium et l'eau, substances qui, en doses suffisantes, peuvent causer respectivement des hypernatrémies et des hyponatrémies fatales, comme des xénobiotiques! Pour les fins de ce livre, nous convenons qu'un xénobiotique est une substance chimique étrangère à l'organisme ou qu'on n'y trouve naturellement qu'à l'état de traces.

### 3. PRINCIPES DE BASE

#### 3.1 Intoxication aiguë et intoxication chronique

Les mots «aigu» et «chronique» peuvent être accolés à exposition, intoxication, toxicité et effets. Classiquement, on considère qu'il y a une intoxication aiguë lorsque des effets biologiques surviennent après une période d'exposition à un contaminant ne dépassant pas 24 heures. En pratique, en raison de l'imprécision associée à l'utilisation de ces mots conjointement avec exposition ou avec intoxication, certains auteurs recommandent d'en réserver l'usage pour décrire la nature des effets résultant d'une intoxication (Winder et coll., 1997; Lipniak-Gawlik, 1998). Dans le contexte de santé publique, il est toutefois utile de bien décrire le scénario d'exposition à une ou plusieurs substances toxiques. On peut ainsi observer des effets chroniques, une atteinte permanente de la fonction nerveuse par exemple, découlant d'une exposition aiguë à un agent chimique, un neurotoxique dans cet exemple.

En toxicologie expérimentale animale, l'intoxication aiguë concerne une seule dose d'une ou de plusieurs substances administrées sur une période n'excédant pas 24 heures. L'intoxication chronique concernera une exposition répétée de l'animal pendant une période de six mois ou plus. L'exposition de durée intermédiaire, généralement 13 semaines, déterminera l'intoxication subchronique. Il semble approprié d'utiliser les mêmes intervalles de temps pour définir le type d'intoxication subi par une population, même si la durée de vie moyenne des humains est de loin supérieure à celle des animaux de laboratoire.

D'emblée, le type d'intoxication déterminera également la facilité ou la difficulté d'établir une relation causale entre une exposition et l'observation d'effets toxiques. Il va de soi que, pour les intoxications aiguës à des doses élevées de toxiques provoquant des effets aisément mesurables, la relation sera beaucoup plus facile à établir que pour une intoxication chronique à de faibles doses. Ainsi, l'intoxication aiguë à des vapeurs de chlore provenant du système déficient de chloration d'une piscine et provoquant de graves irritations respiratoires sera aisée à retracer, alors que l'étude de l'association possible

entre le cancer de la vessie et l'absorption de traces de sous-produits de la chloration dans l'eau potable pose un défi de taille.

### 3.2 Toxicité locale et toxicité systémique

Un toxique peut provoquer une réaction immédiate au point de contact avec l'organisme. On parle alors de toxicité locale. Il en est ainsi de l'exposition aux irritants respiratoires comme l'anhydride sulfureux et du contact cutané avec des substances provoquant des brûlures chimiques comme les bases et les acides forts. Par opposition, un toxique systémique doit passer par la circulation sanguine et être acheminé à un organe cible pour exercer son effet délétère, comme l'effet néphrotoxique du cadmium provenant de l'ingestion de nourriture contaminée ou de l'inhalation de particules qui contiennent ce métal.

### 3.3 Relation dose-effet et relation dose-réponse

De façon générale, l'importance de l'effet causé par un toxique augmente avec la dose de ce dernier, déterminant ainsi la relation dose-effet comme illustré à la figure 5.1. On constate que plusieurs relations dose-effet peuvent être dessinées pour des doses croissantes d'un toxique donné. Dans cet exemple schématique, la droite A pourrait correspondre à la production d'espèces réactives de l'oxygène à l'origine d'une peroxydation lipidique dans un organe donné, la courbe B, à une diminution de l'activité d'une enzyme de cet organe, la courbe C, à l'augmentation de la concentration sanguine de certaines

protéines spécifiques de l'organe atteint et la courbe D, à la mesure morphométrique du volume de cellules nécrosées de l'organe. On constate qu'il y a gradation dans la gravité de ces effets, mais aussi un certain chevauchement entre ceux-ci. Par ailleurs, la pente de ces droites varie.

La figure 5.2 montre les relations dose-réponse qui pourraient être obtenues pour les mêmes mesures de toxicité. Dans ce cas, toutefois, il est nécessaire d'établir *a priori* l'importance de l'effet considéré comme significatif pour les fins de l'étude. On pourrait ainsi considérer qu'une augmentation de 20 % de la peroxydation des lipides, une réduction de 35 % de l'activité de l'enzyme, une augmentation de 50 % de la concentration sanguine des protéines tissulaires et l'observation de 3 % et plus de cellules nécrosées constituent des effets «significatifs». On réalise par la même occasion que toute modification de la définition d'effets significatifs modifie la position et peut-être l'allure générale de la courbe dose-réponse. Ce seuil d'effet significatif est souvent défini comme le 95<sup>e</sup> centile des mesures obtenues dans un groupe de référence n'étant pas exposé au toxique à l'étude ou à d'autres substances susceptibles de causer les effets considérés. On constate par ailleurs que l'étalement de ces courbes varie de l'une à l'autre. Ainsi, la plage de doses entre le début d'une réponse et la réponse maximale est égale pour les courbes A et B alors qu'elle augmente pour les courbes C et D.

Ce sont des courbes semblables qui sont tracées lorsqu'on souhaite classifier la toxicité létale relative de plusieurs composés. On administre des doses croissantes du toxique à des groupes d'animaux et on détermine, par inter-

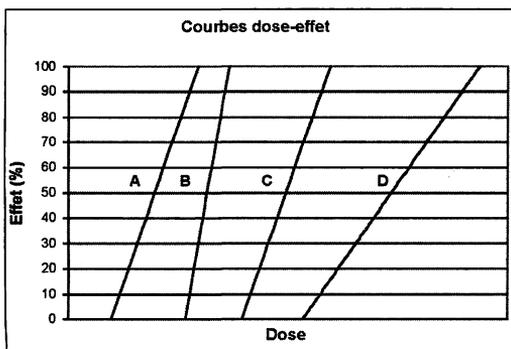


Figure 5.1 Exemples de relations dose-effet

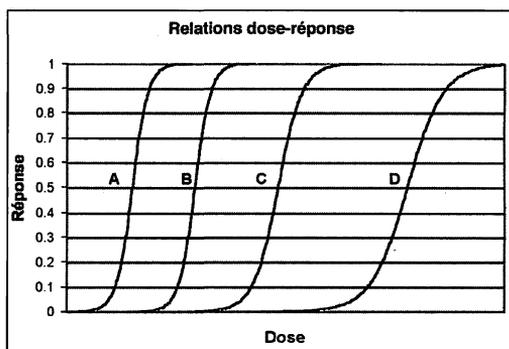


Figure 5.2 Exemples de relations dose-réponse

polution, la dose qui correspond à une réponse létale de 50 %, appelée «dose létale 50» que l'on abrège en DL50. Plus la DL50 est faible, plus le produit est jugé toxique. On retient habituellement la classification suivante (Viala, 1998):

- Extrêmement toxique -  $DL50 < 5 \text{ mg/kg}$
- Très toxique -  $5 \text{ mg/kg} < DL50 < 50 \text{ mg/kg}$
- Toxique -  $50 \text{ mg/kg} < DL50 < 500 \text{ mg/kg}$
- Peu toxique -  $0,5 \text{ g/kg} < DL50 < 5 \text{ g/kg}$
- Très peu toxique ou non toxique -  $DL50 > 5 \text{ g/kg}$

Pour les composés absorbés par voie respiratoire, on peut déterminer de la même façon la «concentration létale 50» ou CL50. Selon le contexte, il peut parfois être utile de définir une DL5, une DL75, une CL90 et ainsi de suite.

Supposons maintenant que les courbes A et B de la figure 2 désignent les relations obtenues pour deux substances différentes, en examinant cette fois le même effet. On dira alors que l'efficacité de A est plus grande que celle de B, car elle entraîne une réaction plus grande pour une même dose. Si on élève suffisamment les doses de l'une et de l'autre, les deux peuvent cependant causer une réponse de tous les individus ou organismes concernés.

### 3.4 Toxicocinétique

(Rozman et Klaassen, 1996; Bend et Sinal, 1998; Brodeur et Tardif, 1998a, b, c)

L'intensité des effets toxiques exercés par des xénobiotiques est liée à la concentration de l'espèce toxique dans le tissu ou l'organe cible. Dans bien des cas, la durée au cours de laquelle ces effets se manifestent dépend de la période pendant laquelle l'espèce toxique est en contact avec ce tissu ou cet organe.

Par ailleurs, de nombreux exemples montrent que l'administration d'une dose identique de deux substances ayant le même potentiel toxique ne se traduit pas nécessairement par des concentrations équivalentes de chacune d'elles au point d'action. Or, ce phénomène est souvent dû au métabolisme respectif des deux substances qui peut être différent.

C'est le métabolisme qui détermine le devenir d'une substance dans l'organisme, parce qu'il est le résultat des processus d'absorption, de distribution et d'élimination (biotransforma-

tion et excrétion) qui gouvernent son cheminement dans les divers compartiments du corps humain. Par conséquent, le métabolisme joue un rôle clé dans la détermination de la concentration et de la toxicité des espèces toxiques aux endroits cibles.

La toxicocinétique peut être définie comme l'étude des mouvements dynamiques des xénobiotiques durant leur passage dans le corps humain. En d'autres mots, la toxicocinétique renseigne sur la façon avec laquelle l'organisme agit sur une substance par l'intermédiaire des processus d'absorption, de distribution, de biotransformation et d'excrétion.

#### *Passage transmembranaire*

Ces processus d'absorption, de distribution, de biotransformation et d'excrétion impliquent le passage de substances à travers des membranes biologiques. Ce passage fait appel à divers mécanismes que nous décrirons sommairement. La diffusion passive est le mécanisme par lequel les molécules lipophiles et neutres (non chargées) traversent la membrane cellulaire. Le transfert se fait en fonction du gradient de concentration, c'est-à-dire du milieu le plus concentré vers le moins concentré et n'implique pas de dépense d'énergie. Les principaux facteurs pouvant influencer la diffusion passive des molécules sont: 1) leur caractère liposoluble, 2) leur degré d'ionisation et 3) leur taille moléculaire. La diffusion facilitée ressemble à la diffusion passive à l'exception qu'elle implique la participation de transporteurs de nature protéique incrustés dans la membrane cellulaire et qui font en sorte que le taux de transfert est plus rapide que dans la diffusion simple. Vu le nombre limité de transporteurs, ce mécanisme est sujet à saturation et au phénomène de compétition entre les substances. La filtration est le mécanisme utilisé par des molécules petites, hydrosolubles et chargées électriquement (ionisées). Le transfert se fait à travers des pores ou des canaux aqueux situés dans la membrane cellulaire; il est sous l'influence du gradient de pression osmotique et hydrostatique. Le transport actif est un mécanisme requérant la participation de transporteurs spécialisés (protéines) et une dépense d'énergie; il permet un transfert contre un gradient de concentration. Il est donc saturable et assujéti au phénomène de compétition. L'endocytose (phagocytose pour les solides, pinocytose pour les liquides) est une forme spécialisée de transport

limitée aux grosses molécules ou particules insolubles. Ce mécanisme implique un processus d'invagination de la membrane cellulaire et la formation de vésicules. Plusieurs cellules participant aux défenses de l'organisme (macrophages, leucocytes) l'utilisent.

### Absorption

La plupart des xénobiotiques exercent leur toxicité après avoir pénétré l'organisme. L'absorption est le processus par lequel les xénobiotiques atteignent la circulation sanguine après avoir traversé des membranes ou barrières biologiques. Les principales voies de pénétration des xénobiotiques présents dans l'environnement sont le poumon, la peau et le tractus gastro-intestinal.

#### *Poumon*

L'appareil respiratoire est la porte d'entrée privilégiée des xénobiotiques qui existent sous forme de gaz, de vapeurs ou de fines particules solides ou liquides. Trois facteurs contribuent à favoriser l'absorption des substances par le poumon: l'important volume d'air auquel un adulte est exposé quotidiennement ( $\approx 10\,000$  à  $20\,000$  L), la très grande surface de la région alvéolaire ( $\approx 80\text{ m}^2$ ) et l'extrême minceur de la paroi alvéolaire ( $\approx 1\ \mu\text{m}$ ).

La solubilité d'un xénobiotique détermine le point d'absorption et la quantité absorbée dans l'appareil respiratoire. Certains contaminants hydrosolubles ( $\text{SO}_2$ , acétone) peuvent se dissoudre dans la phase aqueuse du mucus tapisant la muqueuse nasale - où ils pourront être absorbés par diffusion passive - avant même d'atteindre la région alvéolaire. D'autres, comme le formaldéhyde, réagissent avec des composants du mucus pour former des complexes. Les contaminants liposolubles (solvants) traversent la paroi alvéolaire par diffusion passive et se dissolvent dans le sang. La ventilation alvéolaire (fréquence respiratoire, volume de l'inspiration) joue un rôle important dans les quantités absorbées de substances très solubles dans le sang (styrène, xylène). L'absorption pulmonaire des substances peu solubles (1,1,1-trichloroéthane, cyclohexane), tout en étant peu sensible aux modifications de la ventilation alvéolaire, peut être significativement accrue à la suite d'une augmentation de la perfusion sanguine des poumons résultant d'une activité musculaire intense. L'absorption des particules liquides ou solides, sous forme d'aérosols, est

fonction de leur forme, taille et diamètre, ces facteurs jouant un rôle prépondérant sur la localisation de leur dépôt dans l'appareil respiratoire. Les grosses particules se déposent principalement dans la région du naso-pharynx d'où elles seront éventuellement éliminées par la toux, l'éternuement ou le mouchage. Les particules insolubles de taille moyenne (entre 1 et  $5\ \mu\text{m}$ ) se déposent dans la région trachéo-bronchique et peuvent être vidangées par l'action de l'appareil muco-ciliaire. Celles qui sont captées par le mucus peuvent être repoussées par l'action des cils vibratiles vers le pharynx et dégluties. Les petites particules (entre 0,1 et  $1\ \mu\text{m}$ ) se retrouvent dans la région alvéolaire où elles pourront être phagocytées par des macrophages ou transportées dans le système lymphatique pulmonaire après diffusion à travers la paroi alvéolaire.

#### *Peau*

La peau est une barrière efficace, relativement imperméable aux contaminants de l'environnement. Elle est formée de deux éléments principaux: l'épiderme et le derme. Le premier comprend plusieurs couches de cellules dont une couche externe, formée de cellules mortes kératinisées, et la couche cornée ou *stratum corneum* ( $\approx 10\ \mu\text{m}$ ) dont l'épaisseur varie considérablement d'une région anatomique à l'autre. Certaines substances peuvent traverser l'épiderme par diffusion passive. Le derme, plus facilement franchissable, est formé principalement de tissu conjonctif et de tissu adipeux; il renferme des capillaires, des terminaisons nerveuses, des glandes sébacées, des glandes sudoripares et des follicules pileux. Les contaminants liposolubles (insecticides organophosphorés, solvants) traversent bien la peau. Le passage est facilité par la vasodilatation cutanée, le degré d'hydratation de la peau, la présence de lésions mécaniques ou l'irritation de l'épiderme.

#### *Tractus gastro-intestinal*

Le système digestif est une porte d'entrée importante pour certains xénobiotiques. Deux caractéristiques anatomiques contribuent à favoriser le passage à ce niveau: une surface de contact très grande ( $\approx 200$  fois la surface corporelle) et la minceur de la muqueuse. L'absorption peut se faire tout le long du tractus (estomac  $\rightarrow$  intestin), principalement par diffusion passive, et dépend surtout du degré d'ioni-

sation des molécules, lequel est fonction du pKa des substances et du pH du contenu des différentes régions. Les molécules non ionisées (neutres) ayant un caractère acide faible sont absorbées dans l'estomac (pH: 1-3) alors que les bases faibles sont plutôt absorbées par le petit intestin (pH: 5-8). Cependant, le petit intestin, en raison de sa très grande surface, est une région dans laquelle l'absorption d'acides faibles est parfois importante. Certains xénobiotiques font appel à des mécanismes spécialisés pour traverser la muqueuse gastro-intestinale: transport actif (plomb, manganèse), pinocytose (colorants, endotoxines bactériennes). Après avoir traversé la muqueuse gastro-intestinale, les xénobiotiques passent par le foie avant d'atteindre la grande circulation sanguine. Ce passage peut donner lieu à un phénomène appelé *effet de premier passage hépatique* au cours duquel une fraction plus ou moins grande du xénobiotique est biotransformée en un métabolite (métabolisée).

### Distribution

Une fois absorbés, les xénobiotiques sont, par l'entremise de la circulation sanguine, distribués dans les divers tissus et organes, où ils exercent leur toxicité, sont stockés ou sont éliminés. Deux facteurs ont un impact important sur la distribution des xénobiotiques dans l'organisme: la perfusion sanguine des organes et l'affinité des xénobiotiques pour les tissus et les protéines plasmatiques.

Certains tissus sont très vascularisés (cerveau, viscères) alors que d'autres le sont beaucoup moins (peau, os). Une perfusion sanguine importante favorise l'arrivée rapide des xénobiotiques. L'affinité des xénobiotiques pour un tissu est influencée principalement par leurs caractéristiques physico-chimiques et la composition des tissus de l'organisme. Le transfert du sang vers les tissus dépend de l'efficacité des membranes biologiques à agir comme barrière. Les albumines, présentes en grande quantité dans le plasma, représentent un site de stockage qui peut être important pour certains contaminants, bien que ce phénomène soit davantage connu pour les médicaments. La liaison aux protéines plasmatiques, bien que réversible, limite la distribution des substances en dehors du compartiment vasculaire vers d'autres tissus. Certains tissus agissent comme un réservoir de stockage

d'où les substances peuvent cependant être libérées pour éventuellement exercer leur toxicité. Ainsi, les graisses accumulent les substances liposolubles comme les pesticides organochlorés (DDT), les biphényles polychlorés (BPC), les dioxines, une foule de solvants organiques (toluène, benzène, styrène) et des anesthésiques volatils (halothane). Les os emmagasinent le plomb, le fluor (fluorose osseuse), le strontium (cancers osseux). Certaines protéines présentes dans le foie et le rein appelées *métallothionéines* possèdent une affinité particulière pour fixer certains métaux comme le cadmium et le zinc et constituent en quelque sorte une protection, bien que limitée, contre les effets toxiques de ces métaux.

### Biotransformation (métabolisme)

Au cours de l'évolution, les organismes vivants ont perfectionné des outils visant à favoriser l'élimination des xénobiotiques, ce qui constitue, en quelque sorte, un moyen de défense contre l'action néfaste de certains d'entre eux. Le processus de biotransformation est l'un de ces outils. La biotransformation désigne l'ensemble des réactions qui résultent en des modifications, par l'intermédiaire d'enzymes, de la structure chimique d'un xénobiotique. Ces réactions ont pour effet de rendre les xénobiotiques, qui sont plutôt liposolubles au départ, plus polaires (ionisables), les rendant plus solubles dans l'eau et ainsi plus facilement excrétables dans l'urine. Le foie est le principal organe impliqué dans la biotransformation des xénobiotiques, bien que la peau, le rein, la muqueuse intestinale et le poumon, pour ne nommer que ceux-là, puissent également biotransformer (métaboliser) certaines substances. En règle générale, les réactions de biotransformation ont pour effet de diminuer, voire d'annuler complètement, la toxicité d'un xénobiotique (détoxication). Cependant, il existe de plus en plus d'exemples montrant que la biotransformation rend, au contraire, certaines substances plus toxiques ou leur confère, dans certains cas, une toxicité nouvelle comparativement à celle qui est associée à la substance mère (bioactivation). Deux classes de réactions enzymatiques peuvent intervenir pour transformer un produit en un métabolite (produit de biotransformation): les réactions de phase I et les réactions de phase II

### Réaction de phase I

Trois types de réaction sont possibles: oxydation, réduction et hydrolyse. Les réactions d'oxydation, les plus importantes, font intervenir principalement un groupe d'enzymes appelées «monooxygénases à fonction mixte» (incluant le cytochrome P-450 et la NADPH-cytochrome-P-450 réductase) situées dans le réticulum endoplasmique le quel, lorsque isolé en laboratoire, est désigné sous l'appellation de microsomes. On parle alors d'oxydations microsomiques. Il existe plusieurs formes de cytochromes P-450 (isoformes CYP2E1, CYP1A2). Chacune de ces isoformes possède une affinité pour des substrats ou des familles de substrats particuliers. D'autres enzymes, également impliquées dans des réactions d'oxydation, sont présentes dans les mitochondries ou dans le cytosol. Les principales enzymes impliquées dans les réaction d'oxydation de phase I sont, en plus des monooxygénases à fonction mixte, les monooxygénases (indépendantes du P-450) faisant intervenir la flavine, les monoamine-oxydases, les déshydrogénases des alcools et des aldéhydes, et les peroxydases. Les réactions de réduction, moins fréquentes, présentent moins d'intérêts que les précédentes sur le plan toxicologique. Finalement, certains xénobiotiques (esters, amides) subissent des réactions d'hydrolyse qui ont pour résultat d'introduire des groupes fonctionnels polaires (-OH, -SH, -COOH) augmentant ainsi la polarité globale des molécules. Les enzymes (microsomiques ou cytosoliques) qui assurent ces réactions d'hydrolyse sont de deux types: 1) les hydrolases des époxydes lesquelles, par exemple, transforment le benzo(a)pyrène 7-8 époxyde en benzo(a)pyrène trans- 7-8-dihydrodiol, et 2) les carboxylestérases et les amidases, qui jouent un rôle plus important dans le métabolisme de certains médicaments.

### Réaction de phase II

Les réactions de phase II confèrent également un caractère hydrosoluble aux molécules et facilitent d'autant leur excréation, sauf pour les réactions d'acétylation et de méthylation. Les réactions de phase II ont souvent comme substrat un produit de biotransformation de la phase I. Cependant, certains produits peuvent être directement impliqués dans une réaction de phase II. Ces réactions produisent des conjugués suite au couplage entre un xénobiotique (ou un

métabolite) et un produit endogène, déjà présent dans l'organisme. Les réactions de phase II sont la glucuroconjugaison (glucuronyl-transférase), la sulfoconjugaison (sulfotransférase), la conjugaison avec le glutathion (glutathion transférase), la conjugaison avec des acides aminés (acyltransférase), l'acétylation (N-acétyltransférase) et la méthylation (N ou O-méthyltransférase).

### Induction et inhibition enzymatiques

Deux phénomènes peuvent contribuer à modifier de façon importante la biotransformation des xénobiotiques et affecter (augmenter ou diminuer) leur toxicité: l'induction et l'inhibition enzymatiques. L'induction enzymatique consiste en une augmentation de la quantité des enzymes capables de biotransformer un ou plusieurs xénobiotiques, augmentation consécutive à un accroissement du taux de synthèse enzymatique ou à une diminution du processus de dégradation. Elle résulte souvent d'une exposition répétée ou continue à un produit et peut conduire à un phénomène de tolérance caractérisé par une diminution graduelle des effets associés à une dose donnée d'un xénobiotique. Plusieurs substances, dont l'éthanol, certains médicaments (barbituriques, anti-inflammatoires) de même que plusieurs contaminants (insecticides organochlorés, hydrocarbures polycycliques aromatiques, solvants) sont capables de stimuler leur propre métabolisme ainsi que celui de substances biotransformées par les mêmes enzymes.

À l'inverse, la biotransformation d'un xénobiotique peut être inhibée par l'action d'une deuxième substance biotransformée par les mêmes enzymes ou celle-ci les inactive tout simplement. Ce phénomène suppose donc que les substances soient présentes simultanément. L'éthanol, certains médicaments (l'isoniazide, par exemple) et une foule de contaminants (butoxyde de pipéronyle) sont capables d'inhiber le métabolisme de nombreux produits.

### Excrétion

Le processus d'excrétion conduit à une élimination définitive d'une substance hors de l'organisme. Les substances mères et leurs métabolites sont alors principalement éliminées par le rein dans l'urine, par la bile (féces), par les poumons dans l'air exhalé, par le lait, la salive et parfois même les phanères (cheveux, ongles). Les méca-

nismes de transfert trans-membranaires impliqués dans l'excrétion des xénobiotiques et de leur(s) métabolite(s) sont ceux décrits plus haut: diffusion passive, filtration et transport actif.

La voie urinaire est sans contredit la plus importante des voies d'excrétion. Deux processus contribuent, de façon plus ou moins marquée, à la formation de l'urine et à l'excrétion urinaire des substances: la filtration glomérulaire et les mouvements tubulaires (réabsorption et sécrétion). Chacun est sous le contrôle de plusieurs facteurs, comme la pression hydrostatique (filtration glomérulaire), le pH de l'urine et l'ionisation des molécules (réabsorption), et la présence de transporteurs spécifiques pour les acides et les bases (transport actif).

Par ailleurs, certains xénobiotiques sont éliminés de façon importante dans les fèces. C'est notamment le cas pour une substance qui est peu ou pas absorbée au niveau du tractus gastro-intestinal ou pour une substance qui se retrouve dans l'intestin, après avoir été excrétée dans un premier temps dans la bile sous forme d'un conjugué de l'acide glucuronique ou du glutathion. L'expression «cycle entéro-hépatique» désigne le phénomène par lequel un xénobiotique, déjà conjugué, est hydrolysé dans l'intestin puis réabsorbé dans la circulation hépato-portale pour finalement effectuer un nouveau passage au foie et éventuellement dans la grande circulation.

Les substances volatiles dont la concentration sanguine est en équilibre avec les concentrations tissulaires peuvent être excrétées dans l'air exhalé par les poumons. On exploite parfois cette voie d'excrétion pour évaluer l'exposition de travailleurs à certains solvants (styrène, toluène) ou pour estimer le taux d'alcoolémie chez les individus ayant consommé de l'alcool.

Finalement, le lait maternel peut contenir des quantités appréciables de produits liposolubles (DDT, mercure méthylé) en raison de son contenu élevé en lipides. D'autres xénobiotiques comme le plomb sont excrétés dans le lait, en empruntant le système de transport du calcium. Certains métaux, comme le mercure, se déposent dans les cheveux dont la croissance est d'environ 1 cm par mois. À partir de sections de cheveux, il est possible de mesurer l'exposition à ce métal en fonction du temps. Il est également possible d'estimer l'exposition au plomb par la mesure de sa concentration dans la salive.

### 3.5 Toxicodynamie

Tous les effets toxiques découlent de l'interaction entre un xénobiotique (produit d'origine ou métabolite) et un constituant de l'organisme (membrane biologique, enzyme, ADN). L'analyse toxicodynamique s'intéresse spécifiquement à décrire et à comprendre la relation qui existe entre la dose d'un xénobiotique et la réponse toxique. Elle vise également à expliquer les mécanismes d'action impliqués dans la production des effets toxiques qui se manifestent dans diverses cibles biologiques (récepteur, cellule, organisme, population).

En termes simples, l'analyse toxicodynamique concerne les phénomènes à l'origine de la production des effets (toxicité) exercés par les xénobiotiques sur l'organisme alors que l'analyse toxicocinétique que nous aborderons plus loin (section 5.5) concerne plutôt les modifications (absorption, distribution, biotransformation, excrétion) exercées par l'organisme exposé sur les xénobiotiques eux-mêmes.

## 4. FACTEURS MODIFIANT LA TOXICITÉ

De nombreux facteurs sont susceptibles de modifier la toxicité des xénobiotiques auxquels l'humain est exposé. Il est utile de considérer chaque fois que cette modification de la toxicité est attribuable à une modification de la toxicocinétique des composés ou à une altération de la réponse toxicodynamique.

### 4.1 Métabolisme

Les biotransformations des xénobiotiques jouent souvent un rôle clé dans la détermination du type et de la gravité des effets obtenus. Très souvent, ces biotransformations, en éliminant la substance mère à laquelle un organisme est exposé, vont contribuer à annuler ou à faire disparaître l'effet, dans la mesure où c'est la substance initiale qui est effectivement à l'origine de la toxicité. Comme nous l'avons vu plus tôt, la biotransformation des substances organiques résulte souvent dans la production de métabolites hydrophiles susceptibles d'être excrétés dans la bile ou l'urine. Ainsi en est-il, par exemple, de l'exposition au toluène. Ce solvant volatil atteint le système nerveux central et cause, selon la dose, une panoplie d'effets allant

des céphalées légères à l'ébriété et au coma. La biotransformation de ce solvant en acide hippurique hydrosoluble permet l'élimination du toluène du sang et du système nerveux, et son excrétion urinaire sous forme de métabolite.

Par contre, il arrive qu'au cours de ce processus de biotransformation des intermédiaires particulièrement réactifs puissent être produits (bioactivation) et se lier à des cibles moléculaires critiques dans la cellule. De façon plus spécifique, les biotransformations oxydantes impliquant les enzymes dépendantes du cytochrome P-450 produisent fréquemment des intermédiaires électrophiles susceptibles de se lier à des protéines ou à l'ADN. Ces événements peuvent résulter, par exemple, en une inhibition de l'activité de certaines enzymes ou en une transformation du message génétique encodé dans l'ADN et susceptible d'entraîner, dans la pire situation, une transformation maligne de la cellule. C'est le mécanisme invoqué pour expliquer la cancérogénicité du benzo(a)pyrène, un membre de la famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Le benzo(a)pyrène est très lipophile et on ne connaît pas vraiment de toxicité associée à cette molécule. Toutefois, dans l'organisme, cette substance est éventuellement biotransformée en un diol époxyde, métabolite très électrophile qui se lie à l'ADN. Lorsque le métabolite produit est très réactif, on comprend que celui-ci réagira vraisemblablement avec une cible moléculaire très proche de son site de production, c'est-à-dire dans la cellule même où le métabolite est produit. Il en résulte que, pour les substances dont la toxicité dépend de la production d'un métabolite très réactif, il est probable que seules les cellules pourvues des enzymes de biotransformations adéquates seront touchées.

#### 4.2 Âge, sexe et habitudes de vie

Un des éléments convaincants de la différence de susceptibilité en fonction de l'âge concerne l'embryotoxicité et la fœtotoxicité dans lesquelles on observe une toxicité sur le développement de l'embryon et du fœtus, en l'absence de signes de toxicité chez la mère (Kurzel, 1992; Beckman et coll., 1997). Un cas tristement célèbre de ce type d'effet est l'atteinte neurotoxique grave observée dans la baie de Minamata chez les enfants nés de mères ayant été exposées au méthylmercure pendant leur grossesse, sans que celles-ci ne présen-

tent elles-mêmes de signes de neurotoxicité. On sait par ailleurs que le foie du nouveau-né est immature, comme en atteste l'observation de sa sensibilité à la jaunisse néonatale due en partie à l'incapacité du foie d'éliminer de l'organisme la bilirubine, produit du catabolisme de l'hémoglobine. L'exposition aux nitrates peut être la cause de méthémoglobinémie chez le très jeune enfant. En effet, d'une part, la plus faible acidité gastrique chez ce dernier favorise la réduction du nitrate en nitrite et, d'autre part, la plus faible activité de la cytochrome b<sub>5</sub> réductase dans les hématies de l'enfant contribue à l'oxydation de l'hémoglobine en méthémoglobine. Parmi les autres éléments déterminant une sensibilité particulière des jeunes enfants, signalons que l'allaitement maternel permet le passage de la mère à l'enfant des toxiques lipophiles accumulés dans l'organisme de cette dernière. De plus, par unité de poids corporel, l'enfant a une ventilation pulmonaire plus élevée et une consommation supérieure d'aliments (et des toxiques qui peuvent s'y trouver) que l'adulte.

À l'autre extrémité de la vie, la réduction des fonctions et des réserves fonctionnelles de plusieurs organes comme le cœur, les poumons, les reins et le système immunitaire explique aussi une plus grande sensibilité des personnes âgées à l'action des substances toxiques (Tarcher et Calabrese, 1992). Les altérations de la couche cornée de la peau peuvent favoriser la pénétration cutanée de certains xénobiotiques. La diminution de l'activité des cils bronchiques et de la sécrétion de mucus peuvent aussi réduire la clairance respiratoire des particules aéroportées. Certains auteurs ont suggéré que les voies de biotransformations oxydantes (phase I) puissent également être altérées chez les personnes âgées alors que les fonctions de conjugaison (phase II) seraient préservées. On a également démontré une réduction avec le vieillissement de l'immunité cellulaire impliquant les lymphocytes T. La perte progressive des fonctions physiologiques peut également avoir une influence sur la réponse aux agressions de l'environnement. Ainsi, on sait que le débit sanguin cardiaque diminue avec l'âge, entraînant en partie une réduction de la perfusion hépatique, site de détoxication de plusieurs xénobiotiques, pouvant atteindre 50 % des valeurs observées chez de jeunes adultes. La filtration glomérulaire diminue également d'environ 0,5 % par année à

partir de l'âge de 20 ans. Enfin, la modification de la composition des tissus influence également la distribution des xénobiotiques dans l'organisme. En effet, la personne âgée a une plus grande proportion de tissu adipeux et une moindre concentration d'albumine sérique. En conséquence, le volume de distribution des substances lipophiles est augmenté alors que diminue le nombre de sites de liaison des substances susceptibles de se lier à des protéines telles que l'albumine.

Chez l'animal, on connaît de nombreux exemples de différences radicales entre les sexes dans les effets toxiques engendrés par l'exposition à certains xénobiotiques. Un des exemples spectaculaires dans ce domaine est la néphrotoxicité et la cancérogénicité des hydrocarbures aliphatiques ramifiés comme le 2,2,4-triméthylpentane, composés abondants, entre autres, dans l'essence automobile. Les rats mâles sont très sensibles à cet effet (pratiquement absent chez le rat femelle) en raison de la présence d'une protéine appelée  $\alpha_{2u}$ -globuline dont la production est sous la dépendance de la testostérone (Lock et coll., 1987). Chez l'humain, on reconnaît certaines différences liées au sexe dans la capacité de biotransformation des xénobiotiques et dans la susceptibilité à certains polluants de l'air, notamment ceux qui sont liés à la fumée de cigarette (Tarcher et Calabrese, 1992). La période du cycle menstruel a aussi une influence sur la capacité de biotransformation. Il semble toutefois que, de façon générale, les différences entre hommes et femmes en matière de susceptibilité aux toxiques ne soient pas très importantes (Sipes et Gandolfi, 1991).

En ce qui concerne les habitudes de vie, seuls les facteurs alimentaires seront ici brièvement considérés (Tarcher et Calabrese, 1992; Raiten, 1997). L'absorption des xénobiotiques ingérés ou déglutis suite au processus de clairance bronchique peut être modifiée par le type d'aliments consommés. Ainsi, la présence de fibres dans les aliments peut contribuer à réduire l'absorption de certains xénobiotiques par suite de l'accélération du transit intestinal ou par absorption des toxiques. Par contre, une alimentation riche en matières grasses peut favoriser l'absorption de substances lipophiles. Une carence en fer et en calcium favorise l'absorption intestinale de cadmium. Du côté de la distribution des toxiques dans l'organisme, l'obésité

déoulant d'un régime hypercalorique favorise la rétention des substances lipophiles dans l'organisme. À ce sujet, il faut ici envisager les conséquences possibles d'un régime amaigrissant entraînant une perte trop rapide de lipides sur la remise en circulation de toxiques stockés dans les graisses de l'organisme. Les biotransformations peuvent aussi être affectées par l'alimentation. Ainsi, une carence protéinique réduira l'activité des mono-oxygénases, tout comme un excès de consommation d'hydrates de carbone. Enfin, on connaît les effets positifs de la consommation de crucifères, contenant des flavones, isothiocyanates aromatiques et autres, sur la réduction expérimentale du cancer induit par des carcinogènes chimiques comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques.

#### 4.3 *Bagage génétique*

Grâce aux développements fulgurants des dernières années dans le domaine de l'étude des polymorphismes génétiques, on commence à comprendre la nature de certaines susceptibilités particulières à l'exposition aux toxiques (Klaassen et Eaton, 1991; Eaton et coll., 1998). Un des grands classiques de ce domaine est la sensibilité à la primaquine, un antimalarien pouvant causer une anémie hémolytique chez les personnes déficientes en glucose-6-phosphate déshydrogénase. Dans cette déficience, les globules rouges n'arrivent pas à maintenir la concentration de NADPH requise pour défendre la cellule contre les oxydants. On sait aussi qu'une déficience en  $\alpha_1$ -antitrypsine, une enzyme protégeant notamment le poumon des protéases libérées par les leucocytes, augmente le risque de maladie pulmonaire chez les fumeurs. La fumée de cigarette a par ailleurs elle-même un effet réducteur sur les réserves de cette enzyme. Dans ces deux exemples, les enzymes concernées ne sont pas directement impliquées dans la biotransformation des toxiques, mais sont au cœur du mécanisme de défense de l'organisme contre les résultats de l'agression.

Il existe aussi des exemples dans lesquels le polymorphisme enzymatique a une influence directe sur la biotransformation des xénobiotiques. On connaît ainsi un phénotype «acétylateur lent» que l'on rencontre chez environ 60 % des Caucasiens et des Noirs, mais chez seulement 10 à 20 % des Asiatiques. Certaines don-

nées expérimentales animales et les résultats d'enquêtes épidémiologiques suggèrent très fortement que les acétylateurs lents présentent un risque accru de cancer de la vessie, après l'exposition à des amines aromatiques (Sipes et Gandolfi, 1991; Tarcher et Calabrese, 1992). Dans ce cas, il s'agit d'une diminution de la capacité à éliminer les intermédiaires cancérogènes (N-hydroxylamines) produits par une première biotransformation de type oxydation. Finalement, environ 1 % de la population souffre aussi d'une déficience en méthémoglobine réductase, ce qui la rend particulièrement sensible aux effets des agents méthémoglobinémisants comme les nitrites et l'aniline.

Il va de soi que les progrès de la biologie moléculaire et la facilité de plus en plus grande de déceler divers polymorphismes enzymatiques devraient contribuer à mettre en évidence un nombre croissant de ces exemples d'interactions gène-environnement. Par ailleurs, à mesure que les concentrations de très nombreux toxiques diminuent dans les milieux de travail et dans l'environnement général, il est également possible que la composante génétique explique une proportion croissante du risque résiduel. Dans ce domaine spécifique, toutefois, les considérations éthiques doivent être omniprésentes chez les chercheurs et chez les praticiens du domaine de la santé.

#### 4.4 Hypersusceptibilité

Nous avons préféré hypersusceptibilité pour décrire l'augmentation de l'effet et de la réponse toxique observée chez certains individus d'une population, à hypersensibilité qui renvoie habituellement à des mécanismes immunologiques. L'hypersusceptibilité englobe ainsi les phénomènes d'hypersensibilité. On peut donc distinguer deux grands types d'hypersusceptibilité découlant de l'exposition à des agents environnementaux. D'abord, il y a les réactions allergiques (Lauwerys, 1999) dans lesquelles on distingue l'hypersensibilité immédiate (type I), l'hypersensibilité cytolytique (type II), l'hypersensibilité à complexes immuns (type III) et l'hypersensibilité retardée (type IV). Le lecteur intéressé par ce sujet devrait consulter un manuel d'immunologie. Les allergènes qui déclenchent ces réactions sont habituellement des substances de masse moléculaire élevée ou

des particules organiques comme le pollen de l'ambroisie ou de plus petites molécules capables de se lier de manière covalente à une macromolécule comme une protéine. La macromolécule modifiée devient ainsi l'allergène et on qualifie d'«haptène» la substance de faible masse moléculaire qui, ainsi liée, cause le phénomène allergique. Outre les pollens et les moisissures susceptibles de déclencher des phénomènes d'allergie chez les individus sensibles, les molécules impliquées dans de telles actions toxiques comprennent les isocyanates, les sels de nickel et le chrome.

Le second type d'hypersusceptibilité concerne l'idiosyncrasie illustrée de façon éloquente par un syndrome dont on ne connaît ni l'origine ni les mécanismes exacts, désigné sous le vocable de «sensibilité chimique multiple» (SCM). Les personnes atteintes de ce syndrome souffrent d'isolement, de frustration et de marginalisation. Les hypothèses soulevées quant aux mécanismes impliqués dans la SCM incluent les atteintes psychiques, les mécanismes immunologiques et les mécanismes toxicologiques (Tarcher et Calabrese, 1992). En dépit de l'impossibilité actuelle d'en découvrir les origines étiologiques et les mécanismes biologiques, nombre de cliniciens reconnaissent la souffrance réelle des personnes qui en sont atteintes. On peut habituellement relever les caractéristiques diagnostiques suivantes (Ducatman, 1998):

- histoire documentée d'exposition passée à des substances chimiques;
- symptomatologie polysystémique;
- symptomatologie pouvant être déclenchée ou apaisée par des stimuli précis;
- symptomatologie déclenchée par un ensemble de composés chimiques de structures diverses et ayant des mécanismes d'action différents;
- symptomatologie déclenchée par des expositions réelles, quoique faibles;
- très faibles doses d'exposition responsables du déclenchement des symptômes (souvent très nettement inférieures aux doses réputées toxiques chez la majorité des individus);
- absence de test fonctionnel connu des systèmes biologiques touchés pouvant expliquer la symptomatologie.

#### 4.5 Interactions

Le terme d'interaction en toxicologie désigne l'influence d'une substance sur la toxicité d'une autre substance (Kiaassen et Eaton, 1991 ; Beck et coll., 1994). Il y a additivité lorsque l'effet d'une combinaison de substances correspond précisément à la somme des effets des substances individuelles. On parlera de supra-additivité là où une exposition résulte en un effet supérieur à la somme des effets attendus de la part de chaque substance prise individuellement. Enfin, le terme d'infra-additivité indique que l'interaction résulte en un effet inférieur à la somme des effets individuels. Dans le cas de la supra-additivité, on distingue parfois la potentialisation lorsqu'une substance accroît la toxicité d'une autre substance sans produire elle-même l'effet toxique considéré. Ces interactions peuvent être de nature toxicocinétique ou toxicodynamique. On observe une interaction toxicocinétique lorsque la substance A modifie la distribution ou la biotransformation de la substance B. C'est le cas par exemple de deux substances empruntant les mêmes voies enzymatiques de biotransformation comme dans l'exposition simultanée à des concentrations élevées de toluène et de xylène (Tardif et coll., 1999). Dans le cas de l'interaction toxicodynamique, deux substances entrent en compétition pour le même site de liaison moléculaire responsable de l'effet observé comme dans les interactions entre certains BPC et la 2,3,7,8-tétrachloro-dibenzodioxine (TCDD) (Carrier, 1991). Il se peut aussi que l'une de ces deux substances modifie la liaison de la seconde sur le récepteur. Dans ce dernier exemple, une substance pourrait avoir un effet allostérique sur la molécule réceptrice, c'est-à-dire en modifier la structure tridimensionnelle, de façon à faciliter ou à empêcher la fixation de la seconde molécule sur son propre site de liaison.

### 5. SOURCES D'INFORMATION ET PRÉDICTION DE LA TOXICITÉ CHEZ L'HUMAIN

#### 5.1 Enquêtes épidémiologiques

Dans la hiérarchie de valeur des données de diverses sources visant à permettre de prédire le type de toxicité et à définir la relation dose-réponse pour un toxique ou un groupe de toxiques, il va de soi que les données obtenues chez

l'humain occupent *a priori* un rang très élevé. Parmi les écueils possibles de ce type d'études, on compte la difficulté de déterminer les doses d'exposition des populations, la pluralité des causes possibles des effets utilisés comme paramètres d'évaluation de la toxicité et le délai possible entre l'exposition et la survenue d'effets délétères, surtout lorsqu'il s'agit de cancers. Par ailleurs, et notamment à cause de ce qui précède, il ne faut pas confondre association statistique et relation causale. La plausibilité biologique d'une association statistique observée doit être démontrée (Hennekens et coll., 1998). Le lecteur est invité à lire un exposé plus complet dans ce domaine dans les chapitres sur l'épidémiologie (chapitre 4) et sur l'analyse des risques (chapitre 8).

#### 5.2 Essais chez les volontaires

Une foule de données très utiles peuvent également être obtenues par l'entremise d'études faisant appel à des sujets humains en bonne santé qui acceptent de participer volontairement, moyennant rémunération ou non, et en toute connaissance de cause, à des protocoles dont l'objectif est d'étudier le comportement des substances toxiques dans l'organisme ou, encore, de mettre en évidence certains effets qui y sont associés. De telles études impliquant des volontaires sont courantes dans le domaine pharmaceutique. On y a recours notamment pour déterminer la bioéquivalence et la biodisponibilité des médicaments. Évidemment, les protocoles de telles études doivent préalablement être évalués et jugés acceptables du point de vue éthique et, entre autres, respecter la Déclaration d'Helsinki (1964) concernant les règles s'appliquant à l'utilisation de sujets humains. Ainsi, les volontaires doivent être tout à fait libres de participer ou non, doivent être en mesure de comprendre la nature de l'étude de même que les risques potentiels et peuvent refuser de participer sans que cela ne leur cause préjudice. En outre, toute rétribution en argent pouvant être versée aux volontaires ne doit pas constituer une incitation trop forte à participer (Smith, 1997).

Il existe deux principaux types d'études impliquant des volontaires. Celles où, par exemple, des sujets, placés dans une chambre d'inhalation, sont exposés à une substance dans des conditions rigoureusement contrôlées (Tardif et coll., 1991; Wilson 1997), notamment en ce

qui regarde la dose d'exposition. D'autres, qui s'apparentent en partie à certaines études épidémiologiques, font appel à des travailleurs (milieu de travail) (Truchon et coll., 1999) ou, encore, à des individus exposés dans leur milieu de vie (résidence personnelle, lieu de loisir) (Lévesque et coll., 1994). Le choix de l'une ou l'autre de ces deux approches, qui s'avèrent souvent complémentaires, dépend de l'information recherchée et des objectifs poursuivis. Il peut s'agir, par exemple, de caractériser le comportement toxicocinétique d'un contaminant dans l'organisme, de développer et de valider un test basé sur l'utilisation d'un indicateur d'exposition, de valider un modèle toxicocinétique, de mesurer des effets toxiques (neurocomportementaux ou neuromoteurs) ou, encore, d'évaluer le potentiel irritant d'un xénobiotique (Basketter et Reynolds, 1997). Ces études sont extrêmement utiles puisqu'elles fournissent des données et des informations qui sont obtenues directement auprès de sujets humains et donc particulièrement pertinentes pour l'évaluation des risques pour la santé humaine pouvant être associés à l'exposition à un contaminant. En revanche, le nombre de ces études est relativement faible et l'information qui en découle, limitée. Conséquemment, l'essentiel de l'information toxicologique disponible aujourd'hui provient, pour la plupart des substances, d'essais de toxicité réalisés sur des animaux de laboratoire.

### 5.3 Essais de toxicité chez l'animal

(Ecobichon, 1997, 1998a, b, c)

Pendant longtemps, l'évaluation toxicologique visait essentiellement à reconnaître et à décrire les effets néfastes pouvant découler d'expositions aux xénobiotiques. Plus tard, la disponibilité toujours grandissante de techniques et d'instrument de mesure a permis, par le biais d'études mécanistes, de mieux comprendre comment les xénobiotiques exercent leur action toxique. Aujourd'hui, la dimension prédictive de la toxicologie s'impose de plus en plus et vise entre autres à établir l'innocuité des substances et à définir des niveaux d'exposition sécuritaires et acceptables pour la population.

Une part importante des connaissances sur la toxicité des xénobiotiques provient des études au cours desquelles des animaux d'espèces variées

reçoivent plusieurs doses d'un même xénobiotique, selon des conditions d'exposition et des durées qui peuvent être très variables. Ces études ont pour objectif de renseigner sur la nature des effets toxiques résultant de ces expositions et sur la relation quantitative entre les niveaux d'exposition et les effets mesurés (physiologiques, biochimiques, morphologiques). En principe, ces évaluations doivent être conduites chez les espèces les plus sensibles et faire appel aux techniques de mesures d'effets les plus performantes. Ces évaluations permettent de récolter une foule de données, et ce, dans des circonstances d'exposition où les doses et les conditions d'expositions sont rigoureusement contrôlées.

L'évaluation de la toxicité repose sur l'utilisation de paramètres ou d'indicateurs de toxicité qui peuvent être plus ou moins spécifiques et qui sont associés à des lésions organiques affectant certains tissus et organes (peau, foie, rein, cerveau) ou systèmes particuliers (immunitaire, reproducteur). Plusieurs facteurs sont susceptibles d'affecter la toxicité d'un xénobiotique. Mis à part la dose qui, évidemment, exerce un rôle majeur, on peut citer, à titre d'exemples, la nature du produit, le véhicule utilisé pour l'administration, la voie d'administration, l'espèce animale testée, la diète et également la durée d'exposition plus ou moins longue. Il existe trois catégories d'essais de toxicité qui diffèrent en fonction de la durée d'exposition: les essais de toxicité aiguë, les essais de toxicité subchronique et les essais de toxicité chronique.

#### *Essais de toxicité aiguë*

Ces tests visent à reconnaître les effets néfastes (physiologique, biochimique, morphologique) survenant après un délai déterminé, suivant l'administration de doses généralement élevées de xénobiotiques; ces tests permettent parfois de déceler les principaux organes cibles. Les voies d'administration peuvent être variées (cutanée, orale, inhalation). En règle générale, les effets mesurés sont proportionnels aux doses administrées. En outre, ces épreuves sont en principe conduites chez des animaux des deux sexes. Les valeurs de DL50 ou de CL50 représentent des indicateurs de toxicité aiguë (voir section 3.3). Les principales manifestations toxiques étudiées par ces tests sont la létalité, le pouvoir irritant, la sensibilisation et, parfois, des réactions photo-allergiques ou phototoxiques.

### *Essais de toxicité sub-chronique et chronique*

La toxicité de nombreux xénobiotiques apparaît souvent à la suite d'administrations ou à d'expositions répétées durant une période de 90 jours ou moins. C'est le cas de plusieurs expositions environnementales dans lesquelles les doses ou les niveaux d'exposition ne se traduisent pas nécessairement par des effets observables au cours des jours qui suivent le début des expositions. Cette évaluation est réalisée chez deux espèces animales incluant des rongeurs (rats, souris) et des non-rongeurs (chien, singe).

Les principaux objectifs de ces essais de toxicité sont les suivants: 1) déceler la nature des effets produits suite à l'administration répétée de doses moyennes d'un xénobiotique, afin de fournir les premiers éléments nécessaires à la compréhension du mécanisme de l'action toxique; 2) examiner la possibilité que l'exposition répétée se traduise par des effets cumulatifs ou par l'accumulation du xénobiotique (ou d'un métabolite toxique); 3) trouver les doses ou les concentrations qui produisent des effets toxiques en tenant compte du facteur temps; 4) reconnaître les effets néfastes associés aux expositions répétées au cours de longues périodes et 5) prédire l'éventualité que des effets néfastes apparaissent chez l'humain, en se basant sur une extrapolation des données de toxicité à long terme chez l'animal.

Les études sub-chroniques, bien que très utiles, ne permettent pas de prédire avec un degré suffisant de certitude les conséquences d'une exposition à long terme, c'est-à-dire pendant une partie importante de la vie d'un individu. Il est bien connu que les modifications physiologiques et biochimiques qui accompagnent le processus de vieillissement, chez un animal ou un être humain, ont une influence importante sur la nature et l'intensité des effets toxiques pouvant découler d'une exposition qui s'étend sur une longue durée.

Ces études chroniques sont réalisées surtout chez des groupes de rats (mâles et femelles) auxquels les xénobiotiques sont administrés à des doses croissantes pendant des périodes variant de 6 à 24 mois. Dans certains cas, le chien et le singe doivent être utilisés, ce qui a pour effet d'allonger considérablement la durée des études. Ces essais sont privilégiés pour déterminer, entre autres, les niveaux d'exposition sans effets

néfastes (NOEL, NOAEL) (*voir chapitre 8*), pour les toxiques systémiques et le risque cancérogène associé à certains produits; ces valeurs représentent des données essentielles à la fixation des normes d'exposition à long terme pour les humains.

Il existe également des tests permettant de détecter certaines formes particulières de toxicité comme par exemple le potentiel tératogène ou mutagène et la reprotoxicité. Ces essais exigent l'application de protocoles précis et, tout comme les précédents, impliquent une réglementation relativement exigeante. Pour plus de détails, le lecteur est invité à consulter les nombreux ouvrages publiés sur le sujet, dont plusieurs sont cités en référence.

### *5.4 Extrapolations inter-espèces et doses fortes/doses faibles*

Il existe deux principales contraintes à l'utilisation d'animaux dans l'évaluation de la toxicité des xénobiotiques. La première repose sur les différences qualitatives et quantitatives - principalement au niveau toxicocinétique - entre les espèces animales entre elles ou entre ces dernières et l'être humain. Conséquemment, une attention particulière doit être portée à la façon dont les données toxicologiques animales sont extrapolées à l'humain. L'utilisation de l'espèce la plus sensible - qui n'est peut-être pas la plus représentative de l'espèce humaine - n'est pas sans poser quelques difficultés d'interprétation.

La deuxième contrainte est liée à l'utilisation de doses relativement élevées lors des études animales. L'emploi de doses fortes vise à s'assurer que tous les effets toxiques pouvant être associés à un xénobiotique seront effectivement détectés. De plus, l'emploi de doses fortes - en augmentant la probabilité que la toxicité se manifeste - permet de limiter le nombre d'animaux utilisés, compte tenu de la variation biologique et de l'incidence attendue si des humains étaient exposés à cette même substance. Ainsi, il serait impensable de vérifier le potentiel toxique de plusieurs xénobiotiques en exposant des animaux aux concentrations susceptibles d'être rencontrées dans l'environnement. Cependant, il est bien connu que l'administration de doses fortes entraîne la saturation d'une foule de phénomènes impliqués dans les processus d'ab-

sorption, de distribution, de biotransformation et d'excrétion décrits plus haut. Il est donc permis de poser la question suivante: comment doit-on s'y prendre pour extrapoler adéquatement les données toxicologiques obtenues chez des animaux ayant reçu des doses massives de toxiques à des situations humaines dans lesquelles les exposition sont à des niveaux beaucoup plus faibles? Aucune réponse définitive à cette question n'a encore été proposée, sans doute parce qu'elle n'existe pas à ce jour.

Cependant, de nombreux projets de recherche sont actuellement en cours pour mettre au point des outils permettant de raffiner ces extrapolations inter-espèces et doses fortes/doses faibles. La modélisation toxicocinétique évoquée ci-après en est un exemple.

### 5.5 Modèles toxicocinétiques/ pharmacocinétiques

(Renwick, 1994; Krishnan et Andersen, 1994; Tardif et Brodeur, 1998)

Étymologiquement, le terme «pharmacocinétique» concerne l'étude du devenir des médicaments dans le corps humain; les principes et méthodes utilisés aujourd'hui dans l'étude des mouvements des xénobiotiques dans le corps sont pour la plupart issus des études ayant porté sur des médicaments.

Le terme «toxicocinétique» possède une signification plus large, en ce sens que l'analyse toxicocinétique consiste à appliquer les principes pharmacocinétiques dans le but de prédire l'éventualité que des effets toxiques puissent apparaître et la gravité de ces effets (liés à l'intensité et à la durée d'une exposition) pour des xénobiotiques (médicaments, additifs alimentaires, contaminants industriels, contaminants environnementaux, etc.). L'intérêt de cette approche vient de ce que la production d'effets toxiques est liée à la concentration des xénobiotiques dans les organes cibles. La compréhension des divers phénomènes impliqués dans le devenir des xénobiotiques est facilitée par le recours à des représentations simplifiées du corps humain sous forme de compartiments, lesquels correspondent à divers tissus, organes ou liquides biologiques. Ce type de représentation fonctionnelle est appelé modélisation pharmacocinétique ou toxicocinétique. Deux types de modèles sont principalement utilisés en toxicologie: les modèles comparu men-

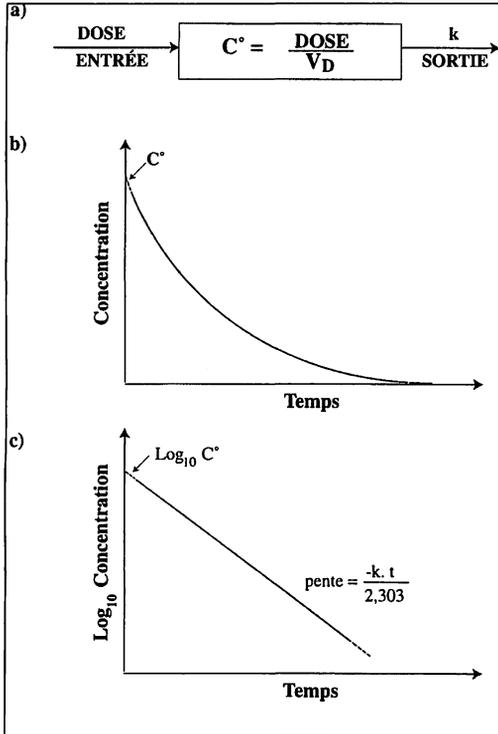
taux (classiques) et les modèles toxicocinétiques à base physiologique (TCBP).

#### Modèles compartimentaux

Ces modèles sont essentiellement utilisés pour décrire l'évolution temporelle des concentrations d'une substance dans des «compartiments» comme le sang, le plasma ou l'urine. Dans cette approche, le corps est représenté par un ou plusieurs compartiments hypothétiques n'ayant pas nécessairement de correspondance physiologique ou anatomique.

La modélisation compartimentale consiste à trouver l'équation mathématique appropriée qui permet de décrire le mieux possible le comportement cinétique d'un xénobiotique dans un compartiment, comme le sang, en faisant appel à une technique dite de «lissage». Dans le plus simple des cas, le corps est représenté par un seul compartiment (modèle à un compartiment). Cependant, pour certaines substances, il est parfois nécessaire d'ajouter des compartiments supplémentaires pour être en mesure de fournir une description adéquate de leur comportement cinétique (modèles à deux ou trois compartiments).

Lorsqu'on utilise ces modèles, on suppose que le métabolisme des substances dépend de processus (absorption, distribution, biotransformation et excrétion) de premier ordre. Cela signifie, par exemple, que le taux d'élimination d'une substance est proportionnel à la quantité de substance présente dans le corps, et ce, à tout moment. En d'autres mots, la quantité de substance éliminée est élevée lorsque la quantité présente dans le corps est importante (immédiatement après une exposition), alors que la quantité éliminée est faible lorsque la quantité présente dans le corps est minimale (plusieurs heures après une exposition). La plupart des xénobiotiques se caractérisent par des cinétiques de premier ordre, pour autant que les différents processus impliqués dans leur élimination ne soient pas saturés. Nous limiterons notre propos à la description du modèle de représentation du corps humain le plus simple, soit le modèle ouvert à un compartiment. En effet, le corps y est représenté par un seul compartiment homogène avec une entrée et une sortie (figure 5.3a). Ceci suppose que les changements qui se produisent au niveau des concentrations sanguines reflètent des changements similaires au niveau tissulaire,



**Figure 5.3** Représentation schématique du modèle ouvert à un compartiment (a). Illustration d'une cinétique sanguine après administration intraveineuse [(b) coordonnées cartésiennes; (c) coordonnées semi-logarithmiques]

par le fait qu'il s'établit un équilibre rapide entre les concentrations tissulaires et sanguines.

La figure 5.3b illustre l'évolution des concentrations sanguines d'une substance après administration intraveineuse (bolus). On remarque que la concentration diminue rapidement au début, puis plus lentement par la suite. Ce profil cinétique est typique d'un processus d'élimination de premier ordre. La courbe peut être décrite par l'équation suivante:

$$C = C^0 \cdot e^{-k \cdot t}$$

dans laquelle C représente la concentration sanguine (ou plasmatique) à un temps donné «t»,  $C^0$  représente la concentration initiale, extrapolée à  $t = 0$ , et k, la constante d'élimination de premier ordre. Pour des considérations pratiques, cette équation est modifiée par une transformation logarithmique (figure 5.3c):

$$\log_{10} C = \log_{10} C^0 - \frac{k \cdot t}{2,303}$$

Cette description mathématique est très utile et permet de calculer une série de paramètres cinétiques qui servent à caractériser le profil toxicocinétique d'une substance. Ces paramètres toxicocinétiques sont le volume de distribution, la constante d'élimination, la demi-vie, la clairance, l'aire sous la courbe et la biodisponibilité.

#### Volume de distribution ( $V_D$ )

Le volume de distribution est défini comme le volume apparent (litre, millilitre) dans lequel une substance semble avoir été dissoute, après absorption dans l'organisme, pour donner une concentration initiale égale à  $C^0$ :

$$V_D = \frac{\text{DOSE}}{C^0}$$

Dans plusieurs cas, la valeur du volume de distribution ne correspond pas à un volume biologique réel et peut être plus élevée que le volume correspondant à un homme moyen. En effet, puisque la valeur du volume de distribution est inversement proportionnelle à la concentration sanguine, les substances possédant une affinité particulièrement élevée pour les tissus adipeux (insecticides de la famille du DDT, plusieurs solvants industriels, certains médicaments) ont tendance à quitter la circulation sanguine et possèdent des volumes de distribution dont les valeurs peuvent être très élevées (> 200 L). À l'inverse, une substance qui possède une forte affinité pour les constituants sanguins, comme les protéines et les globules rouges (warfarine), demeurera en grande partie dans la circulation sanguine, et la valeur de son volume de distribution sera voisine de la valeur du volume sanguin (~5 L).

#### Constante d'élimination (k)

La constante d'élimination (constante de premier ordre) est un paramètre très utile qui représente la fraction d'une substance qui est éliminée du corps au cours d'une période de temps donnée. Par exemple, si la valeur de «k» est égale à 0,25 par heure ( $0,25 \text{ h}^{-1}$ ), cela signifie que 25 % de la quantité de substance présente dans le corps est éliminée à chaque heure. La valeur de cette constante est calculée à partir de la pente de la droite qui décrit l'évolution de la concentration sanguine en fonction du temps (figure 5.3c). Sa valeur reflète l'influence conjuguée des nombreux processus (distribution, biotransformation, excrétion) qui

contribuent à l'élimination de la substance de la circulation sanguine (ou de l'organisme).

#### *Demi-vie d'élimination ( $t_{1/2}$ )*

Ce paramètre décrit le temps (minute, heure, jour, etc.) requis pour que la concentration sanguine diminue de 50 % de sa valeur de départ par l'effet des processus de distribution, de biotransformation et d'excrétion. La valeur de la demi-vie est directement liée à la valeur de « $k$ » selon l'équation suivante:

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{k}$$

Les substances qui possèdent des valeurs de demi-vies faibles sont éliminées rapidement du corps, pendant que celles dont les valeurs sont élevées sont éliminées plus lentement et sont, par conséquent, plus susceptibles de s'accumuler dans l'organisme. Les insecticides de la famille du DDT et certains métaux lourds (plomb, cadmium, mercure) possèdent des demi-vies longues, alors que l'aspirine est un médicament dont la demi-vie est courte.

#### *Clairance (CL)*

La clairance représente le volume virtuel de sang (millilitre, litre) qui est totalement épuré d'une substance au cours d'une période de temps donnée, habituellement une minute ou une heure (mL/min, L/h). La clairance est donc une mesure quantitative du taux d'élimination d'une substance. Toutes les voies d'élimination (biotransformation, excrétion urinaire, biliaire, pulmonaire, etc.) contribuent à la valeur de la clairance, chacune exerçant sa contribution propre (clairance spécifique). Une valeur de clairance élevée suggère que la substance est éliminée rapidement de l'organisme, alors qu'une valeur peu élevée suggère un taux d'élimination plus lent. La clairance est calculée en multipliant la constante d'élimination ( $k$ ) par le volume de distribution ( $V_D$ ):

$$CL = k \cdot V_D$$

#### *Biodisponibilité (F)*

La biodisponibilité représente le pourcentage (ou la fraction « $F$ ») d'une dose administrée d'une substance qui atteint la circulation systémique sous forme inchangée. La biodisponibilité est pratiquement de 100 % ( $F = 1$ ) après administration intraveineuse. La biodisponibilité peut cependant être plus faible ( $F < 1$ ) et,

dans certains cas, négligeable selon la voie d'entrée de la substance (orale, cutanée, pulmonaire). Ceci dépend de la facilité avec laquelle une substance traverse les diverses membranes biologiques (poumons, peau, estomac, intestin) ou encore de la capacité de certains tissus (poumon, peau, foie, intestin) à biotransformer une substance avant qu'elle n'atteigne la circulation systémique (effet de premier passage). La biodisponibilité peut varier considérablement d'une substance à l'autre. Par exemple, on vérifie régulièrement la biodisponibilité d'une foule de médicaments afin de s'assurer que la fraction absorbée d'une forme pharmaceutique donnée demeure dans des limites qui assurent des niveaux sanguins thérapeutiques.

#### *Aire sous la courbe (AUC)*

L'aire ou la surface sous la courbe des concentrations sanguines d'une substance reflète la quantité de substance ayant atteint la circulation systémique. Sa valeur est directement influencée par la biodisponibilité d'une substance et par la vitesse d'élimination de celle-ci. La surface sous la courbe est un bon indicateur de l'exposition interne, dans la mesure où ce paramètre tient compte à la fois de la concentration sanguine et également du temps pendant lequel une substance est présente dans le compartiment sanguin.

Les paramètres toxicocinétiques que nous venons de décrire aident à mieux comprendre le comportement d'une substance, une fois celle-ci présente dans le corps. Ils renseignent notamment sur l'étendue de la distribution, les quantités disponibles pouvant exercer des effets ou les quantités éventuellement éliminées, la contribution de différents organes à l'élimination et le taux d'élimination. Ces informations peuvent s'avérer utiles pour prédire l'intensité et la durée d'une contamination de l'organisme.

#### **Modèles à base physiologique**

Contrairement aux modèles compartimentaux qui sont des représentations mathématiques «*abstraites*» du corps humain, les modèles TCBP permettent de décrire le devenir des substances en faisant intervenir des considérations liées à l'anatomie, à la physiologie et à certains processus biochimiques du corps humain. Ces modèles sont considérés comme plus réalistes, puisqu'ils tiennent compte des relations entre divers déterminants de nature biologique ou

physicochimique: débit sanguin tissulaire, ventilation alvéolaire, constantes métaboliques ( $K_m$  et  $V_{max}$ ), solubilité des substances dans les tissus et capacité des substances à se lier à des protéines (albumine, glycoprotéines) ou à d'autres macromolécules (ADN, hémoglobine). Les modèles TCBP possèdent cette particularité de permettre une description simultanée de l'évolution des concentrations d'une substance dans les divers organes et tissus qui sont représentés dans le modèle. En outre, ils offrent la possibilité de vérifier l'influence résultant de changements anatomiques (augmentation de la masse adipeuse), physiologiques (augmentation de la ventilation alvéolaire) ou biochimiques (inhibition ou induction enzymatique) sur la cinétique d'une substance.

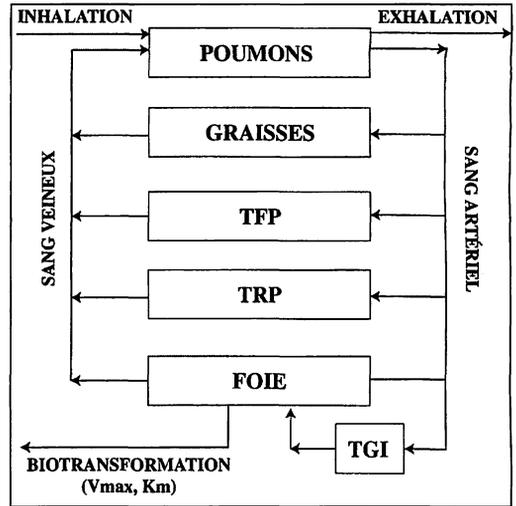
Un modèle TCBP comprend une série de compartiments, définis anatomiquement, représentant les tissus et organes dans lesquels les substances se distribuent ou exercent leur toxicité (figure 5.4). À chacun des compartiments correspond une équation différentielle qui représente le taux de changement de la quantité d'une substance dans le compartiment à mesure que la substance pénètre dans le compartiment, s'y distribue puis finalement en ressort:

$$\frac{dAMt_i}{dt} = Q_i \cdot (C_a - C_{vi})$$

dans laquelle  $Q_i$  représente le volume de sang qui perfuse le tissu «i» par unité de temps,  $C_a$ , la concentration artérielle de la substance et  $C_{vi}$ , la concentration de substance présente dans le sang veineux à la sortie du tissu. En ce qui concerne particulièrement les tissus et organes (foie) impliqués dans la biotransformation d'une substance, un terme additionnel décrivant ce processus est ajouté à l'équation décrite plus haut. Ce terme doit, idéalement, permettre de tenir compte de la capacité parfois limitée des tissus à biotransformer une substance, notamment lorsque les quantités sont très élevées (saturation métabolique):

$$\frac{dAMt_i}{dt} = Q_i \cdot (C_a - C_{vi}) - \frac{V_{max} \cdot C_{vi}}{K_m + C_{vi}}$$

Les termes  $K_m$  et  $V_{max}$  décrivent respectivement l'affinité d'une substance pour les enzymes métaboliques et la vitesse maximale d'une réaction de biotransformation.



**Figure 5.4** Représentation schématique d'un modèle toxicocinétique à base physiologique (TCBP) permettant de décrire la cinétique d'un contaminant absorbé par la voie pulmonaire; TFP: tissus faiblement perfusés (ex, peau, os); TRP: tissus richement perfusés (ex, cerveau, reins); TGI: tractus gastro-intestinal;  $V_{max}$  et  $K_m$ : constantes métaboliques

Les équations décrites plus haut sont caractéristiques des modèles «débit-dépendants»: on suppose alors que le passage d'une substance à travers la membrane cellulaire se fait par diffusion passive et donne lieu à un équilibre instantané entre le sang et les compartiments tissulaires. Cette hypothèse est valable pour un grand nombre de substances. Cependant, la cinétique de certaines autres substances ne peut être décrite convenablement à l'aide de ces modèles «débit-dépendants». Ceci est souvent dû au fait que ces substances traversent difficilement les membranes cellulaires, ce qui oblige à ajuster les équations mathématiques pour prendre en compte cette réalité.

Une étape essentielle dans le développement d'un modèle TCBP est la validation du modèle. Celle-ci se fait en comparant les données prédites par un modèle avec des données expérimentales (réelles) observées chez l'humain ou l'animal. Une fois validés, les modèles TCBP peuvent être utilisés à diverses fins. Par exemple, ces modèles permettent

- de décrire le profil temporel de distribution d'une substance (ou de ses métabolites) dans les différents compartiments du corps, incluant les tissus ou organes cibles;

- de procéder à des extrapolations diverses (d'une espèce à une autre, d'une dose forte à une dose faible, d'une voie d'administration à une autre);
- de déterminer et d'ajuster des limites d'exposition moyennant divers scénarios d'exposition;
- de prédire l'impact, sur la cinétique d'une substance, de modifications physiologiques ou de certaines conditions pathologiques;
- de faire varier les paramètres d'exposition selon des scénarios plus ou moins complexes.

Les modèles TCBP sont de plus en plus utilisés, particulièrement en analyse de risque, étant donné qu'ils facilitent grandement l'estimation de la dose interne, contribuant ainsi à réduire l'incertitude lorsque l'on doit extrapoler à des humains (doses faibles) les résultats provenant des études faites chez des animaux (doses fortes).

## 6. BIO-INDICATEURS

Tel que défini au début de ce chapitre, un bio-indicateur est un paramètre toxicologique pouvant servir à montrer ou à prédire un événement toxique chez un individu ou chez un animal et qui peut servir de paramètre commun de toxicité entre espèces. La sensibilité et la spécificité d'un bio-indicateur, de même que la période d'exposition prise en compte par sa mesure, sont d'importants paramètres devant en guider le choix dans un contexte donné (Hennekens et coll., 1998; Zhitkovich et Costa, 1998). De façon générale, un bio-indicateur d'exposition possède une plus grande spécificité qu'un bio-indicateur d'effet. Un effet a toujours plus de chances d'avoir des causes multiples, indépendantes de l'exposition à un contaminant spécifique, et ces chances augmentent avec le temps qui s'écoule entre l'exposition et la mesure du bio-indicateur. Bien que plusieurs milieux biologiques se prêtent, en principe, à la détermination de bio-indicateurs variés, l'urine et le sang demeurent de loin les milieux les plus fréquemment utilisés, avec une place particulière aux cheveux dans le cas de l'exposition à certains métaux comme le méthylmercure. La figure 5.5 montre le continuum d'événements

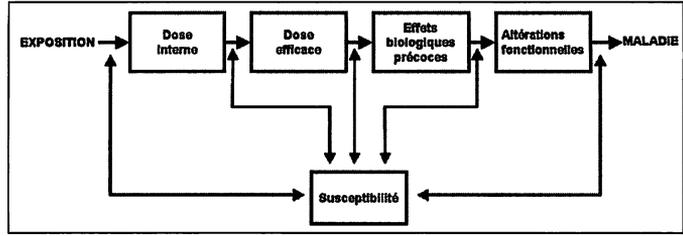


Figure 5.5 Le continuum exposition-modèle

entre l'occurrence de l'exposition et le développement de la maladie. Ce continuum définit en même temps les divers types de bio-indicateurs auxquels le toxicologue ou l'épidémiologiste peuvent avoir recours.

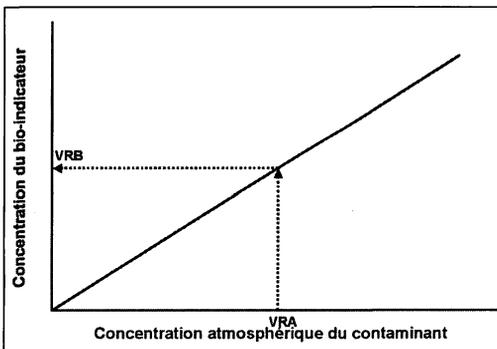
### 6.1 Surveillance biologique de l'exposition

La surveillance biologique de l'exposition est une approche préventive primaire visant l'appréciation du risque pour la santé des personnes exposées, en comparant une mesure du toxique ou d'un de ses métabolites, dans un ou plusieurs milieux biologiques, avec une valeur de référence appropriée (Lauwerys et Hoet, 1993; Lauwerys, 1999). Le recours à un bio-indicateur d'exposition requiert une bonne connaissance de la toxicocinétique du composé parent et, le cas échéant, du métabolite mesuré, afin de permettre une interprétation adéquate de la mesure, en termes d'exposition contemporaine ou passée. Cette approche n'est utile que pour les composés à action systémique, c'est-à-dire ceux dont l'effet exige une absorption par l'organisme. De ce fait, on dit des bio-indicateurs d'exposition qu'ils mesurent la «dose interne», par opposition par exemple à une mesure atmosphérique d'un contaminant qui évalue la «dose externe».

La détermination de la valeur de référence utilisée pour juger si une exposition présente un risque inacceptable pour un individu ou pour un groupe d'individus repose sur deux approches principales (Lauwerys et Hoet, 1993). Dans la première, on détermine la valeur du bio-indicateur qui correspond à l'exposition à une concentration environnementale du toxique jugée comme la valeur d'exposition à ne pas dépasser. L'exemple classique de cette approche est celle qui est utilisée pour les milieux de travail par l'American Conference of Govern-

mental Industrial Hygienists pour établir les «*Biological Exposure Indices*». La valeur de référence est déterminée par la concentration du bio-indicateur qui correspond à une exposition atmosphérique du contaminant égale à la valeur d'exposition limite dans l'atmosphère («*Threshold Limit Value*»). C'est ce qu'illustre la figure 5.6a dans laquelle VRA (valeur de référence atmosphérique) est la valeur limite d'exposition établie pour la concentration atmosphérique du toxique et VRB (valeur de référence biologique) est la valeur correspondante du bio-indicateur. Cette approche a le mérite de la simplicité, mais souffre de plusieurs inconvénients. D'abord, une mauvaise corrélation peut découler de l'existence de voies d'absorption autres que la voie pulmonaire, de même que de l'exposition à des sources du contaminant extérieures au milieu de travail. De plus, les différences interindividuelles de la mesure du bio-indicateur à une dose d'exposition externe donnée peuvent refléter des différences dans le métabolisme du toxique, que ce soit au niveau de son absorption ou de sa cinétique subséquente dans l'organisme. Alors que la conclusion tirée d'une mauvaise corrélation entre les mesures atmosphériques et la mesure du bio-indicateur en ce cas peut être que le bio-indicateur est inadéquat, il se peut fort bien que la conclusion correcte soit que la mesure environnementale n'assure pas une protection adéquate des sujets!

La deuxième approche permettant d'établir la valeur de référence d'un bio-indicateur d'exposition repose sur la connaissance de la relation entre la mesure du bio-indicateur et la mesure

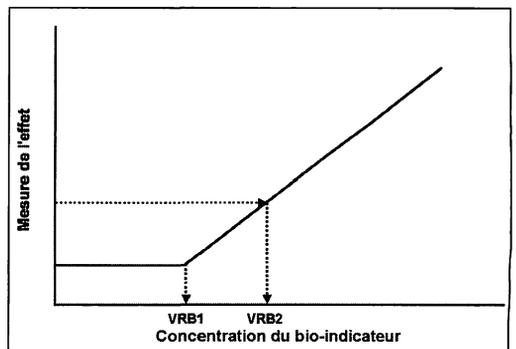


**Figure 5.6a** Détermination d'une valeur de référence biologique à partir de la relation dose interne-dose externe

d'un paramètre précoce d'évaluation de la toxicité causée par l'exposition à la substance étudiée. On trouve des exemples d'effets précoces possibles dans la détermination de l'activité des cholinestérases sanguines ou encore de la méthémoglobémie infraclinique. Cette approche présente l'avantage de se situer au cœur même des fondements toxicologiques touchant les relations dose-effet et dose-réponse. On en trouve une illustration à la figure 5.6b. Cette fois, la VRB peut être établie comme étant la valeur du bio-indicateur observée lorsque la mesure de l'effet commence tout juste à s'écarter de la valeur moyenne observée dans un groupe non exposé ou peu exposé (VRB1). On peut aussi choisir une valeur critique autre de la mesure de l'effet qui déterminera alors la valeur de référence VRB2. Il faut toutefois sélectionner le paramètre de toxicité avec soin, puisqu'un paramètre trop peu spécifique ou trop peu sensible pourrait mener à l'établissement d'une valeur de référence inadéquate. Une discussion plus complète sur la surveillance biologique de l'exposition est proposée au chapitre 7.

## 6.2 Dépistage précoce des effets toxiques

Un test de dépistage précoce des effets se situe le long du continuum exposition-maladie, en amont des altérations fonctionnelles (figure 5.5). L'événement biologique mesuré appartient donc à la cascade d'événements qui peut mener le sujet surexposé à la maladie et constitue un élément du mécanisme d'action du toxique. C'est ainsi par exemple qu'un des premiers



**Figure 5.6b** Détermination d'une valeur de référence biologique à partir de la relation dose effet-dose interne

événements biologiques mesurables chez le sujet suffisamment exposé au cadmium, métal néphrotoxique, est une protéinurie tubulaire (Lauwers et coll., 1984). Dans ce type de protéinurie, il y a augmentation importante de l'excrétion urinaire de protéines de faible masse moléculaire comme la protéine transporteuse du rétinol ou la  $\beta_2$ -microglobuline, sans qu'il y ait nécessairement élévation de la protéinurie totale ou de l'albuminurie décelable au bâtonnet urinaire et, surtout, avant qu'il y ait chute de la filtration glomérulaire. Par ailleurs, les mutations génétiques et les aberrations chromosomiques, mesurées notamment dans les lymphocytes circulants, ont été utilisées comme bio-indicateurs de cancérogénicité (Zhitkovich et Costa, 1998). Il est toutefois évident, dans ce cas, qu'il existe de très nombreux cancérogènes dans l'environnement, de sorte que la relation de causalité peut être difficile à établir entre une exposition particulière et ces événements génotoxiques.

Par définition, une démarche préventive qui incite au recours à un dépistage précoce des effets possibles découlant d'une situation environnementale donnée requiert l'utilisation de tests sensibles. Devant une telle situation, le praticien de santé publique ne doit pas perdre de vue que la valeur prédictive positive d'un test dépend fortement de la spécificité du test et de la prévalence de l'anomalie que l'on cherche à dépister. Rappelons que la valeur prédictive positive d'un test est la probabilité qu'un sujet testé positif présente réellement une anomalie. On peut calculer cette valeur prédictive positive (VPP) au moyen de la formule suivante:

$$VPP = \frac{\text{Prévalence} \times \text{Sensibilité}}{[\text{Prévalence} \times \text{Sensibilité}] + [(1 - \text{Prévalence}) \times (1 - \text{Spécificité})]}$$

Le tableau 5.1 présente quelques données concernant la valeur prédictive positive d'un test donné en fonction des caractéristiques de ce test. Il importe donc aussi de savoir si l'on parle de prévalence d'une véritable maladie déclarée ou de prévalence d'une anomalie infraclinique révélée par le test.

On le voit, l'utilisateur doit clairement définir l'objectif de l'étude dans laquelle il utilise un test de dépistage précoce. Pour reprendre les exemples cités ci-haut, on peut vouloir dépister tout signe précoce de néphrotoxicité dans un groupe de personnes fortement exposées au cadmium en milieu industriel afin de prévenir la dégradation de la fonction rénale chez ces sujets. Par ailleurs, on peut aussi souhaiter vérifier si la consommation d'eau potable chlorée provenant d'une usine de filtration donnée entraîne une augmentation des aberrations chromosomiques dans les lymphocytes circulants au sein d'une population. Dans ce dernier cas, il faut cependant prendre garde de ne pas interpréter les données positives comme des mesures, à l'échelle individuelle, d'un risque quantifiable de survenue d'un cancer. Lorsqu'une relation causale entre l'exposition à un toxique faisant l'objet d'une étude et le développement d'une maladie est clairement défini, il convient donc de se demander si une mesure d'imprégnation par le biais d'un bio-indicateur d'exposition remplit les objectifs de l'étude ou s'il est nécessaire d'ajouter la mesure d'un bio-indicateur d'effet précoce ayant d'inhérentes limites d'interprétation dans plusieurs cas.

**Tableau 5.1** Valeur prédictive positive d'un test de dépistage selon la prévalence de l'anomalie recherchée et en fonction de certaines caractéristiques de ce test

Prévalence (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Valeur prédictive positive (%)
1	90	90	8,3
10	90	90	50,0
1	90	95	15,4
10	90	95	66,7
1	95	90	8,8
10	95	90	51,4

### 6.3 Évaluation de la susceptibilité

Il est des cas où l'établissement d'une susceptibilité accrue est particulièrement aisé. Ainsi, on devrait chercher à éviter ou à limiter l'exposition à un agent néphrotoxique chez une personne qui souffre d'insuffisance rénale. On sait aussi qu'une personne souffrant de troubles cutanés altérant l'intégrité de la couche cornée sera susceptible d'absorber de plus grandes quantités de toxiques par contact cutané. Dans ces cas, l'histoire médicale suffit souvent à déceler les susceptibilités particulières, mais il se peut aussi qu'une insuffisance rénale ou une insuffisance cardiaque partielles soient silencieuses ou inconnues du sujet.

À un second niveau, on peut mesurer l'activité de certaines enzymes dans un prélèvement sanguin pour dépister par exemple les personnes déficientes en glucose-6-phosphate déshydrogénase ou en méthémoglobine réductase, afin de réduire le contact de ces personnes avec des substances oxydantes qui peuvent traverser les globules rouges. On évite ainsi à ces personnes de s'exposer à un risque sanitaire plus important pour elles que pour la majorité des personnes.

Les développements de la biologie moléculaire permettent aussi maintenant de déterminer avec une assez grande facilité divers polymorphismes génétiques spécifiques associés, ou que l'on suppose être associés, à un risque plus ou moins grand de cancer à la suite d'une exposition à une substance génotoxique. Plus particulièrement, la technique d'amplification en chaîne par polymérase (ACP ou «*Polymerase Chain Reaction*», PCR des Anglo-Saxons) permet aujourd'hui de déterminer des polymorphismes associés à la glutathion-S-transférase (GSTM1, GSTM2), à la N-acétyl-transférase (NAT1, NAT2), aux divers cytochromes P-450 (CYP1A1 Msp) et autres. Il s'agit ici le plus souvent d'une mesure de la capacité de détoxification de l'organisme ou, à l'inverse, de la capacité de production de métabolites réactifs. Une importante proportion de ces mesures est associée au traitement que l'organisme réserve aux cancérogènes. Un outil en plein développement pourrait nous permettre de mieux comprendre les mécanismes de la cancérogenèse chimique; il convient cependant de rappeler les dangers de son utilisation discriminatoire, comme ce pourrait être le cas lorsqu'il est utilisé à des fins de sélection des individus les plus résistants au sein d'une population.

## Bibliographie

- Anonyme. *Dictionary of Toxicology*, London, Macmillan Reference, 1998, p. 1-504.
- Basketter, D. et F. Reynolds. «The use of human volunteers for hazard and risk assessment of skin irritation», dans B. Close, R. Combes, A. Hubbard et J. Hollingworth (rédacteurs) *Volunteers in Research and Testing*, 1997, p. 117-127, Taylor and Francis, London.
- Beck, B. D., R. Rudel et E. J. Calabrese. «Use of toxicology in the regulatory process», dans A. W. Hayes *Principles and Methods of Toxicology*, 3<sup>e</sup> édition, Raven Press, New York, 1994, p. 19-58.
- Beckman, D. A., L. B. Fawcett et R. L. Brent. «Developmental toxicity», dans E. J. Massaro *Handbook of Human Toxicology*, CRC Press, Boca Raton 1997, 24, p. 1007-1084.
- Bend, J. et C. J. Sinal. «Biotransformation», *Encyclopedia of Toxicology*, P. Wesler (rédacteur), vol. 1, Academic Press, San Diego, 1998
- Brodeur, J. et R. Tardif. «Absorption», dans P. Wexler (rédacteur) *Encyclopedia of Toxicology*, v. 1, p. 1-7, Academic Press, San Diego, 1998.
- Brodeur, J. et R. Tardif. «Distribution», dans P. Wexler, (rédacteur) *Encyclopedia of Toxicology*, v. 1, p. 500-503, Academic Press, San Diego, 1998b.
- Brodeur, J. et R. Tardif. «Excretion», dans P. Wexler (rédacteur) *Encyclopedia of Toxicology*, v. 2, p. 585-588, Academic Press, San Diego, 1998c.
- Carrier, G. «Réponse de l'organisme humain aux BPC, dioxines et furannes et analyse des risques toxiques», 1991.
- Ducatman, A. M. «Multiple chemical sensitivity», dans W. N. Rom *Environmental and Occupational Medicine*, 3<sup>e</sup> édition, Lippincott-Raven, Philadelphie, 1998, p. 891-904.
- Eaton, D. L., F. M. Farin, C. J. Omiecinski et G. S. Omenn. «Genetic susceptibility», dans W. N. Rom «*Environmental and Occupational Medicine*, 3<sup>e</sup> édition, Lippincott-Raven, Philadelphie, 1998, p. 209-221.
- Ecobichon, D. J. «Toxicity, Acute», dans P. Wexler (rédacteur) *Encyclopedia of Toxicology*, v. 3, Academic Press, San Diego, 1998a, p. 252-259.
- Ecobichon, D. J. «Toxicity, Chronic», dans P. Wexler (rédacteur) *Encyclopedia of Toxicology*, v. 3, Academic Press, San Diego 1998b, p. 259-264.
- Ecobichon, D. J. «Toxicity, Subchronic», dans P. Wexler (rédacteur) *Encyclopedia of Toxicology*, Academic Press, San Diego, 1998c, p. 264-269.
- Ecobichon, D. J. *The Basis of Toxicity Testing*, 2<sup>e</sup> édition, CRC press, Boca Raton, 1997, p. 1-220.
- Gallo, M. A. et J. Doull. «History and scope of toxicology», dans M. O. Amdur, J. Doull et C. D. Klaassen, 4<sup>e</sup> édition, *Casarett and Doull's Toxicology*, Pergamon Press, New York, 1991, p. 3-11.
- Hennekens, C. H., J. E. Buring et S. L. Mayrent. *Épidémiologie en médecine*, Frison-Roche, Paris, 1998, p. 1-375.
- Klaassen, C. D. et D. L. Eaton. «Principles of Toxicology», dans M. O. Amdur, J. Doull et C. D. Klaassen *Casarett and Doull's Toxicology*, 4<sup>e</sup> édition, Pergamon Press, New York, 1991, p. 12-49.
- Krishnan, K. et M. E. Andersen. «Physiologically- based pharmacokinetic modeling in toxicology», dans W Hayes (rédacteur) *Principles and Methods in Toxicology*, Raven Press, New York, 1994, p. 149-188.
- Kurzel, R. B. «Disorders of the female reproductive system and developmental disorders», dans A. B. Tarchier *Principles and Practice of Environmental Medicine*, Plenum Medical Book, New York, 1992, p. 413-435.
- Lauwerys, R. R. et P. Hoet. *Industrial Chemical Exposure. Guidelines for Biological Monitoring*, Boca Raton, Lewis, 1993, p. 1-318.
- Lauwerys, R. R. *Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles*, Masson, Paris, 1999, p. 1-961.
- Lauwerys, R. R., A. Bernard, H. Roels, J.-P. Buchet et C. Viau. «Characterization of cadmium proteinuria in man and rat», *Environ Health Perspect*, 54, 1984, p. 147-152.
- Lévesque, B., P Ayotte, A. Leblanc, E. Dewailly, D. Prud'homme, R. Lavoie, S. Allaire et P Levallois. «Evaluation of dermal and respiratory chloroform exposure in humans». *Environ Health Perspect*, 102, 1994, p. 1082-1087.
- Lipniak-Gawlik, M. «Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on the elimination kinetics of pyrene and the urinary excretion profile of 1-hydroxypyrene in the rat», *J Toxicol Environ Health*, Part A, 55, 1998, p. 503-516.
- Lock, E. A., M. Charbonneau, J. Strasser, J. A. Swenberg et J. S. Bus. «2,2,4-Trimethylpentane-induced nephrotoxicity II. The reversible binding of a TMP metabolite to a renal protein fraction containing  $\alpha_2\mu$ -globulin», *Toxicol Appl Pharm* 91, 1987, p. 182-192.

- Raiten, D. J. «Nutrition, pharmacology, and toxicology: A dialectic», dans E. J. Massaro *Handbook of Human Toxicology*, CRC Press, Boca Raton, 1997, p. 328-345.
- Renwick, A. G. «Toxicokinetics - pharmacokinetics in Toxicology», dans W. Hayes (rédacteur) *Principles and Methods in Toxicology*, Raven Press, New York, 1994, p. 101-147.
- Rozman, K. et C. D. Klaassen. «Absorption, distribution, and excretion of toxicants», dans C. D. Klaassen (rédacteur) *Casarett and Doull's Toxicology. The Basis Science of Poisons*, 5<sup>e</sup> édition, McGraw-Hill, New York, 1996, p. 50-87.
- Sipes, G. I. et A. J. Gandolfi. «Biotransformation of toxicants», dans M. O. Amdur, J. Doull et C. D. Klaassen *Casarett and Doull's Toxicology*, 4<sup>e</sup> édition, Pergamon Press, New York, 1991, p. 88-126.
- Smith, D. «The limits of human studies», dans B. Close, R. Combes, A. Hubbard et J. Hollingworth (rédacteur) *Volunteers in Research and Testing*, Taylor and Francis, Londres, 1997, p. 125-1143.
- Tarcher, A. B. et E. J. Calabrese. «Enhanced susceptibility to environmental chemicals», dans A. B. Tarcher *Principles and Practice of Environmental Medicine*, Plenum Medical Book, New York, 1992, p. 189-213.
- Tardif, R. et J. Brodeur. «Pharmacokinetics/Toxicokinetics», dans P. Wexler (rédacteur) *Encyclopedia of Toxicology*, v. 2, Academic Press, San Diego, 1998, p. 503-511.
- Tardif, R., S. Laparé, K. Krishnan et J. Brodeur. «A descriptive and mechanistic study of the interaction between toluene and xylene in humans», *Internat Arch Occup Environ Health*, 65, 1999, p. S135-S137.
- Tardif, R., S. Laparé, G. L. Plaa et J. Brodeur. «Effect of simultaneous exposure to toluene and xylene on their respective biological exposure indices in humans», *Int Arch Occup Environ Health*, 63, 1991, p. 279-284.
- Truchon, G., R. Tardif et J. Brodeur. «o-Cresol: a good indicator of exposure to low levels of toluene», *Appl Occup Environ Hyg*, 14, 1999, p. 677-681.
- Viala, A. *Elements de toxicologie* Tec & Doc Lavoisier, Paris, 1998, p. 1-521.
- Wilson, K. «Volunteer studies using the health and safety laboratory exposure chambers», dans B. Close, R. Combes, A. Hubbard et J. Hollingworth (rédacteur) *Volunteers in Research and Testing*, Taylor and Francis, Londres, 1997, p. 129-134.
- Winder, C, C. L. Bai et N.H. Stacey. «Occupational and Environmental Exposures», dans E. J. Massaro, *Handbook of Human Toxicology*, CRC Press, Boca Raton 1997, p. 117-148.
- Zhitkovich, A. et M. Costa. «Biologic markers», dans W. N. Rom *Environmental and Occupational Medicine*, 3<sup>e</sup> édition, Lippincott-Raven, Philadelphie, 1998, p. 177-185.

