

Suite des cours du Module : Evaluation des Risques

Devenir finale d'un xénobiotique dans l'organisme humain

La figure 2 (elle a été distribuée avant les vacances aux étudiants) schématise le devenir dans l'organisme d'un xénobiotique (cas d'un polluant) et sa relation avec les marqueurs d'exposition.

a) Le xénobiotique dans l'environnement

Le xénobiotique (cas polluant) peut être présent dans les différents compartiments de l'environnement, où les travaux peuvent être effectués pour déterminer: les niveaux de pollution décrite selon les normes, les doses externes et les valeurs de références. Ainsi un contaminant peut pénétrer un organisme suivant différentes voies:

b) Les voies de pénétration

-**Les poumons** sont les organes où se font les échanges gazeux entre l'air des alvéoles et le sang des vaisseaux capillaires qui tapissent les alvéoles pulmonaires. Ils sont le siège de la respiration, qui permet l'absorption et l'élimination des gaz. Dans la majorité des milieux de travail, la voie respiratoire représente la principale voie d'entrée des contaminants. La forte possibilité que l'air ambiant soit contaminé par des vapeurs, des gaz, des fumées, des poussières, etc. explique cette situation.

-**La peau** est une barrière imperméable qui recouvre toute la surface du corps et qui le protège. Cette enveloppe protectrice fait obstacle à la pénétration de nombreux contaminants. Toutefois, cette barrière n'offre pas une protection complète, car elle présente des failles, dont la base des poils et les pores. C'est un passage important, puisque plusieurs toxiques peuvent pénétrer dans l'organisme en traversant la peau

à la suite d'un contact avec un liquide, un solide ou des vapeurs (ex. : certains solvants employés pour nettoyer des pièces mécaniques ou encore des diluants ou des décapants qui sont utilisés sans protection).

- **Ingestion**: une ingestion accidentelle, voulue ou de mauvaises habitudes peuvent également être à l'origine d'une exposition au xénobiotiques par ingestion.

c) Le cheminement d'un toxique dans l'organisme

Un produit qui pénètre dans l'organisme peut avoir des effets bénéfiques (médicaments) ou néfastes (toxiques). Inversement, l'organisme peut agir sur ce produit : c'est ce qu'on appelle le métabolisme. La réponse de l'organisme à un toxique dépend, entre autres, de la quantité

du produit présent dans un tissu ou un organe. Après avoir atteint la circulation sanguine, le produit peut être transporté dans tout l'organisme. C'est ce qu'on appelle la distribution. Le sang transporte aussi des toxiques. Ceux-ci peuvent alors entrer en contact avec des cellules et se fixer dans certains tissus. La nature, l'intensité et la localisation de ces perturbations dans l'organisme diffèrent d'un produit à l'autre et dépendent souvent de la dose. Pendant ou après son transport dans le sang, le toxique peut entrer en contact avec différentes cellules de l'organisme qui ont la capacité de le transformer. L'ensemble des réactions de la transformation métabolique est appelée biotransformation, tandis que les produits de la biotransformation sont appelés métabolites. Il peut en résulter un produit moins toxique (détoxification) ou plus toxique (activation), l'accumulation ou l'élimination du produit et de ses métabolites. La transformation et la détoxification des toxiques est surtout effectuée par le foie, Il enrichit le sang d'éléments nutritifs et le purifie en concentrant et en éliminant beaucoup de substances (d'autres organes tels que les poumons et les reins peuvent aussi transformer des toxiques).

d) L'excrétion

Ce processus consiste à rejeter le produit inchangé ou ses métabolites à l'extérieur de l'organisme. L'excrétion peut se faire par voie rénale (l'urine), pulmonaire (l'air expiré).....etc. Par exemple, le sang transporte de nombreux produits vers les reins, dont plusieurs déchets provenant du métabolisme. Les reins filtrent le sang, remplissant ainsi une fonction essentielle au maintien de l'équilibre des éléments sanguins, et assurent l'élimination de nombreux produits.

e) Tolérance /résistance

Les organismes fonctionnent dans des conditions relativement constantes (pH, oxygène, autres). C'est ce que l'on appelle l'homéostasie ou la constance du milieu intérieur. Les organismes vivants cherchent à maintenir cet équilibre afin de conserver un degré optimal de fonctionnement. Le corps humain est un ensemble de systèmes finement rodés qui peut s'adapter à de nombreuses situations d'agression, tant biologiques que physiques ou chimiques. Les processus d'adaptation de l'organisme fonctionnent continuellement pour veiller à maintenir cet équilibre. Quand cet équilibre est perturbé, cela entraîne un dysfonctionnement, c'est l'effet toxique. Il y a alors mobilisation d'une partie de l'organisme et parfois de tout l'organisme ; des réactions diverses sont déclenchées pour répondre à l'agression et rétablir l'équilibre rompu. L'organisme peut résister à une agression toxique en autant qu'elle s'effectue à l'intérieur des limites de ses mécanismes de détoxification,

d'homéostasie et de réparation. Au delà, les mécanismes de compensation ne peuvent suffire à la tâche. Le système de défense ne peut alors contrer les effets toxiques et des manifestations, réversibles ou non, peuvent s'ensuivre.

f) L'effet toxique (activation)

IL est le résultat d'un processus souvent complexe et il peut entraîner une série de réactions physiologiques et métaboliques. Les effets causés par un toxique peuvent se traduire en changements fonctionnels ou lésionnels (morphologie). Les premiers touchent l'atteinte transitoire d'une fonction de l'organisme ou d'un organe sans créer de lésions et ils sont généralement réversibles. Les seconds causent une lésion à un ou à plusieurs tissus ou organes sans que le sujet présente des signes cliniques et sont souvent irréversibles. Enfin, des altérations biochimiques peuvent également se produire sans être accompagnées de changements morphologiques apparents.

g) La distribution

Les toxiques ne produisent pas des effets de même intensité sur tous les organes. Ils sont distribués à des organes en particulier, les organes cibles, pour des raisons qui ne sont pas toujours comprises. Certains effets toxiques sont réversibles (ils disparaissent plus ou moins rapidement après l'arrêt de l'exposition) tandis que d'autres sont irréversibles (ils persistent ou s'aggravent après l'arrêt de l'exposition). Des changements adaptatifs causés par un produit chimique dans un tissu ou un organe peuvent être accompagnés de changements fonctionnels et morphologiques. De tels changements peuvent être réversibles si on prévient ou arrête l'exposition. Cependant, dans certains cas, l'interruption de l'exposition n'est pas suivie d'une récupération. Il s'agit alors de changements irréversibles. Ainsi, pour un tissu tel que celui du foie, qui a une importante capacité de régénération, la majorité des atteintes sont réversibles ; au contraire, elles sont généralement irréversibles lorsqu'il s'agit d'une atteinte du système nerveux central, les neurones ne pouvant pas être facilement remplacés. Des effets tels que la cancérogénicité et la tératogénicité sont généralement considérés comme des effets irréversibles.

h) La dose interne et les biomarqueurs

Les indicateurs internes reflètent la réponse biologique à une exposition de différentes natures. Les biomarqueurs sont définis comme un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, et révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins un composé chimique à caractère polluant, il en est de même pour certains rayonnements physiques et contaminations

biologiques. Parmi Les éléments biologiques couramment utilisés pour les analyses d'intoxication chimique sont:

- ✓ Les cellules sanguines (les globules blancs totaux, la fraction lymphocytaire B et/ou T)
- ✓ Le sérum (les anticorps, les adduits aux protéines)
- ✓ L'urine pour une analyse des polluants mutagènes, carcinogènes et les modifications de base de l'ADN qu'ils peuvent engendrer.
- ✓ Les cellules des muqueuses buccale, nasale pour une détection des adduits et des cassures de l'ADN.
- ✓ Les tissus biologiques,

- Dose et effet toxique

Des doses croissantes résultent généralement en une augmentation de l'intensité et de la diversité des effets toxiques. C'est ce qu'on appelle la relation dose-effet ou exposition-effet (relation entre l'exposition et l'intensité d'un effet). L'exemple suivant « figure 3. Partie (A) » illustre bien cette relation: si une personne inhale accidentellement une substance très volatile, la manifestation des effets toxiques dépend de la quantité de vapeurs inhalées et du seuil d'apparition de ces effets. Ainsi, au delà de la dose seuil, les effets seront d'autant plus toxiques que la personne aura inhalé davantage de vapeurs.

La notion de seuil toxique est importante, car elle peut servir à fixer des normes. La valeur seuil représente la quantité minimale sous laquelle il ne se produit pas d'effet. Au-dessus de ce seuil, l'effet observé dépend de la dose, et ce, bien qu'il y ait théoriquement des exceptions: par exemple, les cancérogènes génotoxiques. Ce seuil s'explique par le fait que le corps humain est constitué d'un grand nombre de cellules, de tissus et d'organes ayant une sensibilité variable et qu'il possède des mécanismes de défense ou d'adaptation.

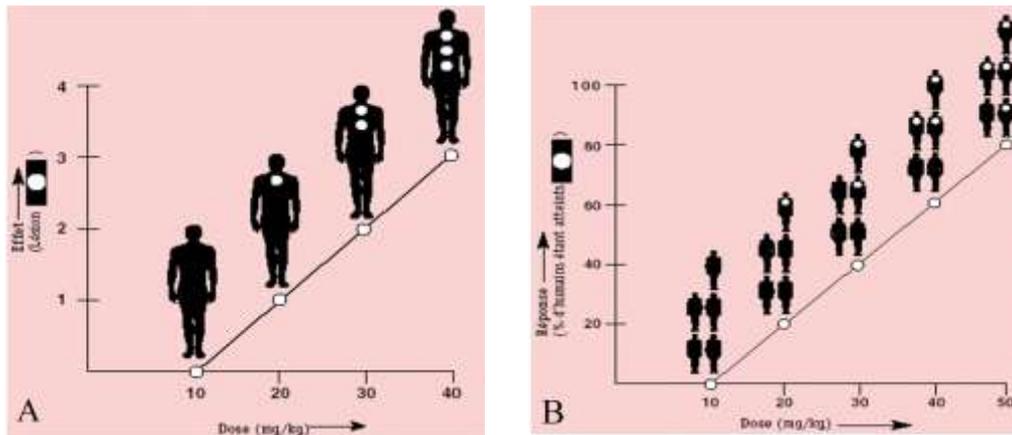


Figure 3. (A) relation dose-effet ; (B) relation dose-réponse.

Le même principe s'applique à une population d'individus « figure 3. Partie (B) », car l'effet ou les nombreux effets possibles peuvent se manifester différemment chez plusieurs personnes exposées à une même dose d'un toxique. C'est ce qu'on appelle la relation dose-réponse ou exposition-réponse, soit la relation entre l'exposition et le nombre d'individus qui présentent un effet donné. La figure illustre bien qu'à certaines doses toutes les personnes ne sont pas atteintes. Ainsi, une augmentation de la dose peut entraîner une augmentation des effets chez un individu ; et la proportion des individus affectés par une dose donnée devrait augmenter avec l'accroissement de la dose.

Les études et les tests : *in vivo*, *in vitro*, cytotoxique et épidémiologiques.

L'évaluation de la toxicité s'appuie sur des études **qualitatives** (non mesurables) ou **quantitatives** (mesurables) adéquates. Il existe plusieurs types d'études qui nous permettent d'évaluer les effets d'un toxique. On peut les classer dans quatre catégories:

- les études théoriques par modélisation,
- les études expérimentales *in vivo*, qui utilisent des animaux (ex. : lapin, rat et souris)
- les études *in vitro*, effectuées sur des cultures de tissus ou des cellules; (cytotoxicité).
- les études épidémiologiques, qui comparent plusieurs groupes d'individus ou les études de cas.

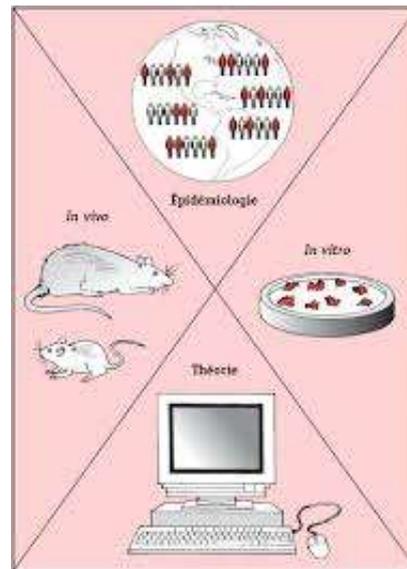


Figure 04. Les différents types d'études.

1. Les études théoriques par modélisation

La modélisation décrit sous une forme mathématique le comportement, le transfert de polluants. Elle permet d'estimer une exposition globale et une prise en compte multifactorielle des polluants. Elle n'a pas pour fonction de remplacer les essais en laboratoire mais de comprendre et de prédire des mécanismes d'intoxication au sein des écosystèmes, ou au sein de l'organisme humain. un modèle est une représentation simplifiée, une abstraction de la réalité permettant de synthétiser, de décrire et comprendre des phénomènes biologiques, écologiques ou physiques non-mesurés. A terme, il permet de prédire des phénomènes à des échelles de temps supérieures, à des niveaux d'organisation supérieurs et inférieurs, ou encore, d'extrapoler ces prédictions dans des scénarios jusqu'alors non-testés.

«All models are false, but some are useful »(Box, 1976).

Dans la modélisation, le toxicologue se réfère à de nombreuses références qui sont des seuils, des normes, des doses tolérables ou admissibles, etc. Ces références correspondent aux Valeurs Toxicologiques de Référence ou V.T.R, certaines sont avec seuil et d'autres sans seuil. La détermination des différentes valeurs telles que la dose journalière admissible (DJA) ...etc s'effectue sur la base d'un test statistique.

2. les études expérimentales *in vivo*

Les mesures de la toxicité aiguë: sont les plus courantes, on utilise la notion de **dose toxique** :

- La DL₅₀ (dose létale médiane): est la dose unique déduite statistiquement, censée provoquer la mort de 50 % des animaux auxquels la substance a été administrée. La valeur de la DL₅₀ est exprimée en masse de la substance étudiée rapportée à l'unité de masse corporelle des animaux soumis à l'expérimentation (rats, souris, lapin...etc) (mg/kg). (à réviser le tableau des classes de toxicité et le modèle d'animaux utilisés cités dans l'article 1).
- La CL₅₀ (concentration létale médiane): est la concentration d'une substance déduite statistiquement qui devrait provoquer au cours d'une exposition ou, après celle-ci, pendant une période définie, la mort de 50 % des animaux exposés pendant une durée déterminée. La valeur de la CL₅₀ est exprimée en masse de substance étudiée rapportée à un volume standard d'air (mg/L).

Les études de la toxicité chronique: Certains effets néfastes peuvent prendre plusieurs semaines ou de nombreuses années avant d'être diagnostiqués et éventuellement se révéler irréversibles (ex. : la neurotoxicité de l'hexane). L'évaluation de la toxicité aiguë ne permet pas de prédire ce type de toxicité d'une substance. Des études destinées à évaluer la toxicité chronique doivent donc être effectuées. Celles-ci durent plusieurs mois ou années et supposent l'administration de plus d'une dose à des intervalles variant selon la méthode employée. Le terme chronique caractérise bien l'objet de ce type d'évaluation. Ces études, qualifiées de pluridisciplinaires, sont généralement effectuées par plusieurs chercheurs spécialisés dans différents aspects de la toxicologie, par exemple l'immunotoxicologie et la cancérogénicité. Elles supposent généralement la collaboration de chercheurs de divers domaines scientifiques, comme la chimie, la biochimie, la biologie et la médecine.

Cas d'écotoxicologie

Dans les tests de toxicité sur l'eau (milieu aquatique), on recherche parfois une inhibition de la mobilité et non un effet létal difficile à mesurer. Le test daphnies, très pratiqué mesure par exemple la concentration immobilisant 50 % de la population de ces petits crustacés en 24 h. Il est également possible de réaliser des tests d'inhibition de croissance d'algues unicellulaires : la croissance de cultures d'algues soumises à des substances toxiques est mesurée (par numération au compte cellule ou spectrophotométrie) sur 3 à 5 jours et comparée à une culture témoin. On calcule la concentration qui diminue la croissance à moitié.

- Dans un milieu aquatique : on cite des exemples :
 - Daphnies : test de mobilité

- Poisson, test de survie
- Daphnies, test de reproduction.
- Algues, test de croissance.
- **Dans un milieu terrestre** : on site des exemples :
 - Vers de terre: test de survie, test de reproduction.
 - Végétaux: test de germination, test de croissance

Le test daphnie

- Physiologie des daphnies (détail du cours sur le cahier)

Les daphnies se nourrissent principalement d'algues phytoplanctoniques, qualifiant ainsi cette espèce de consommateur phytophage (consommateur primaire). Cependant, elles peuvent également se nourrir de bactéries et de champignons. Selon les types de nourriture ingérés les daphnies peuvent avoir une teinte verte, jaune, blanche ou même rose. Lorsque la source de nourriture est absente, les daphnies deviennent totalement translucides.

Les daphnies possèdent une circulation sanguine ouverte. Le cœur se situe dorsalement dans la partie antérieure de la chambre incubatrice (Figure 05). Le transport de l'oxygène est pris en charge par la protéine respiratoire d'hémoglobine. Lorsque que le taux d'oxygène dans l'eau diminue, la daphnie est capable d'augmenter la production d'hémoglobine, lui permettant ainsi de résister a des conditions défavorables.

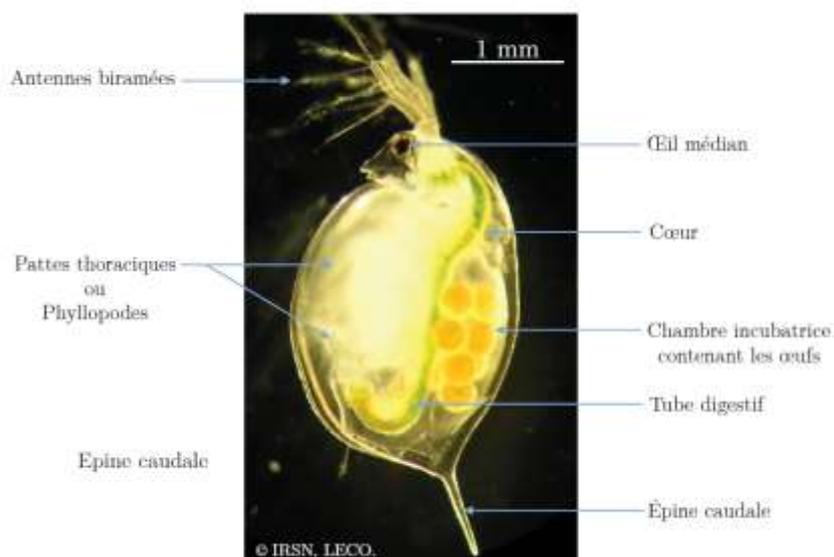


Figure 05. Anatomie d'une femelle adulte *Daphnia magna*.

- Le cycle de vie des daphnies:

Il est caractérisé par deux modes de reproduction : asexué (parthénogenèse) et sexué (à suivre)

- La reproduction chez les daphnies

Les populations de daphnies sont essentiellement composées de femelles. Sans aucune fécondation par l'autre sexe, les femelles adultes produisent des œufs génétiquement identiques, aussi bien entre eux qu'avec leurs mères. On parle alors de reproduction « parthénogénétique ». La première ponte d'œufs d'une femelle adulte se produit après 6-7 jours de vie, lorsqu'elle a atteint sa maturité. Les œufs sont déposés dans la chambre incubatrice des femelles, localisée dorsalement sous la cuticule. Les embryons éclosent après un jour mais restent dans la chambre incubatrice, afin de terminer leur développement. Les juvéniles issus de la 1^{ère} ponte sont donc libérés lorsque la daphnie est âgée de 9 à 10 jours. Au plus tard une heure après cette libération, la daphnie mue et dépose une nouvelle ponte dans sa poche incubatrice. Une fois la daphnie devenue mature, elle pond tous les 3 à 4 jours jusqu'à sa mort (50-70 jours) (Figure 06).



Figure 06. Reproduction de la daphnie en condition favorable par parthénogénèse.

Etude des effets aigus et chroniques des substances dans le cas des daphnies

L'étude de la réponse des organismes vivants à un stress peut se faire à différents niveaux d'organisation allant de l'échelle moléculaire à l'échelle de l'individu, jusqu'à l'échelle des populations ou même des communautés. Contrairement à la toxicologie humaine, l'unité biologique visant à être protégée dans le milieu aquatique et plus généralement le milieu environnementale n'est pas l'individu mais la population. Avant que les effets ne soient visibles à

l'échelle de la population, il est souvent possible de mesurer les effets à des niveaux d'organisation inférieurs (figure 07).

***Daphnia magna* et l'écotoxicologie**

Les connaissances biologiques et physiologiques acquises chez *D. magna* ont contribué au choix de cette espèce comme modèle biologique de référence dans les domaines de la toxicologie et de l'écotoxicologie, en particulier, concernant la gestion des risques environnementaux liés aux produits chimiques. Aujourd'hui, *D. magna* est recommandée en tant qu'espèce standard dans différents tests d'écotoxicité. Le choix de la daphnie tient à sa petite taille, son cycle de vie court, sa reproduction parthénogénétique (individus génétiquement identiques), sa fécondité élevée et sa sensibilité à une large gamme de produits chimiques. Toutes ces caractéristiques font de la daphnie un organisme relativement facile à maintenir en laboratoire et particulièrement adapté pour évaluer les effets toxiques de divers polluants au cours de plusieurs générations.

- Etude des effets au niveau de l'individu (à suivre)
- Effets sur le développement des œufs (à suivre)
- Effets sur la survie des juvéniles « toxicité aigue » (à suivre)

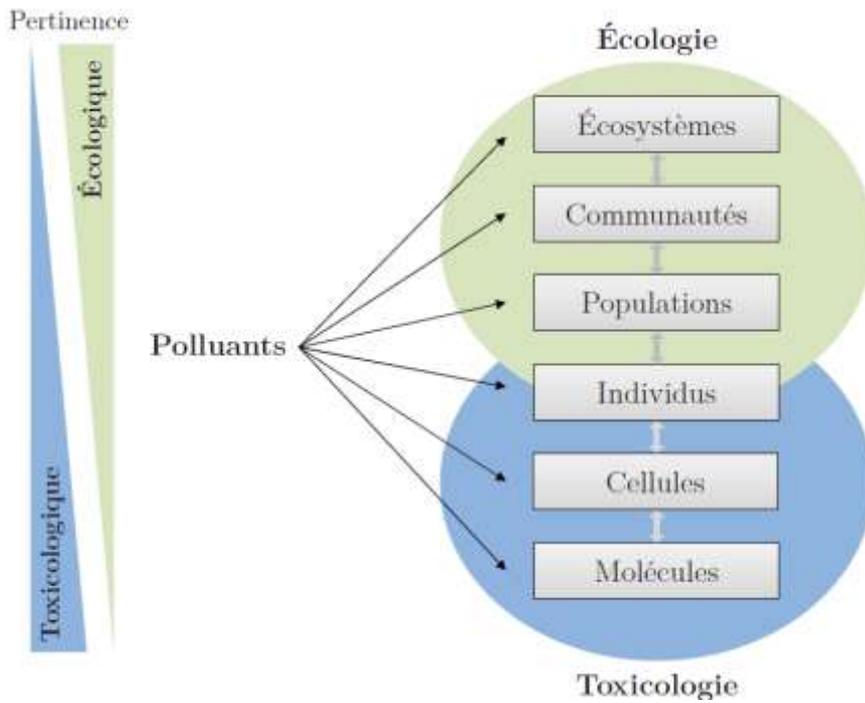
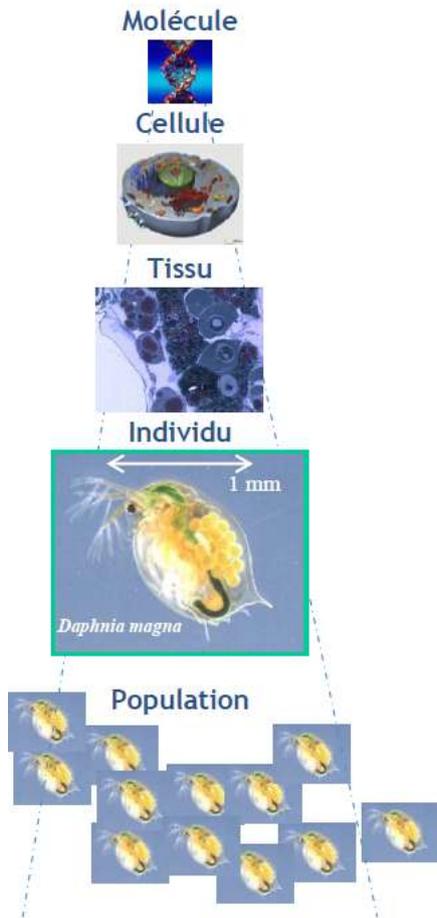


Figure 07. Les différents niveaux d'organisation.

Effets sur la croissance et la reproduction

Les daphnies sont exposées à une série de concentrations croissantes d'une substance d'intérêt. Différents paramètres peuvent être étudiés comme la mortalité, la fécondité ou la croissance. Le nombre de juvéniles produits par daphnie en 21 jours est le critère d'effet couramment utilisé pour évaluer les effets chroniques.

Effet sur la population

Une altération des traits de vie des organismes peut donc avoir des effets rapides et directs sur la population comme une diminution de l'effectif, de la biomasse ou une altération de la structure de la population. Chez la daphnie, de nombreuses études évaluant la toxicité de contaminants ont démontré que les réponses pouvaient différer d'une génération à l'autre. Les organismes peuvent présenter à long terme, soit une augmentation de la résistance aux polluants, soit une augmentation de la sensibilité aux polluants.