

Sous la direction de Xavier Coumoul

Toxicologie

2^e ÉDITION

DUNOD

<p>Le pictogramme qui figure ci-contre mérite une explication. Son objet est d'alerter le lecteur sur la menace que représente pour l'avenir de l'écrit, particulièrement dans le domaine de l'édition technique et universitaire, le développement massif du photocopillage.</p> <p>Le Code de la propriété intellectuelle du 1^{er} juillet 1992 interdit en effet expressément la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Or, cette pratique s'est généralisée dans les établissements</p>	<p>d'enseignement supérieur, provoquant une baisse brutale des achats de livres et de revues, au point que la possibilité même pour les auteurs de créer des œuvres nouvelles et de les faire éditer correctement est aujourd'hui menacée.</p> <p>Nous rappelons donc que toute reproduction, partielle ou totale, de la présente publication est interdite sans autorisation de l'auteur, de son éditeur ou du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC, 20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris).</p>
	

© Dunod, 2017, 2023
 Nouvelle présentation 2019
 11, rue Paul Bert, 92240 Malakoff
 www.dunod.com
 ISBN 978-2-10-085444-8

Le Code de la propriété intellectuelle n'autorisant, aux termes de l'article L. 122-5, 2^o et 3^o a), d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective » et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, « toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite » (art. L. 122-4).

Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles L. 335-2 et suivants du Code de la propriété intellectuelle.

Les auteurs

Pascal Andujar

Professeur des universités et praticien hospitalier en médecine et santé au travail à l'université Paris-Est Créteil (UPEC) et au Centre hospitalier intercommunal de Créteil dans le service de Pathologies professionnelles et de l'Environnement.

Armelle Baeza-Squiban

Professeur des universités en toxicologie environnementale à l'université Paris Cité.

Robert Barouki

Professeur des universités et praticien hospitalier en toxicologie moléculaire à l'université Paris Cité.

Laurent Bodin

Pharmacien et docteur en toxicologie de l'université Paris Cité, manager de projets scientifiques à l'ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail)

Lucie Chevillard

Docteur en toxicologie, maître de conférences en pharmacocinétique à l'université Paris Cité.

Xavier Coumoul

Professeur des universités en toxicologie moléculaire à l'université Paris Cité. Directeur de l'équipe de recherche METATOX de l'unité Inserm T3S.

Xavier Declèves

Professeur des universités et praticien hospitalier en pharmaco-toxicologie à l'université Paris Cité.

Robert Garnier

Maître de conférences et praticien hospitalier en médecine et santé au travail à l'université Paris Cité.

Marie-Claude Jaurand

Directrice de recherches émérite - Centre de Recherche des Cordeliers, INSERM UMRS 1138, Sorbonne Université, Université Paris Cité.

Didier Jean

Chargé de recherches - Centre de Recherche des Cordeliers, INSERM UMRS 1138, Sorbonne Université, Université Paris Cité.

Francelyne Marano

Professeure émérite en biologie cellulaire et toxicologie à l'université Paris Diderot (Paris VII), vice-présidente de la commission spécialisée risques liés à l'environnement (CSRE) au Haut conseil de santé publique (HSCP).

France Massicot

Maître de conférences émérite à la faculté de pharmacie à l'université Paris Cité.

Jean-Claude Paireon

Professeur des universités et praticien hospitalier en médecine et santé au travail à l'université Paris-Est Créteil (UPEC) et au Centre hospitalier intercommunal de Créteil dans le service de Pathologies professionnelles et de l'Environnement.

Christian Mouglin

Directeur de Recherches à l'Institut national de recherche en agriculture, alimentation et environnement (INRAE). Membre correspondant de l'Académie d'agriculture de France.

Juliette Faburé

Maître de conférences en écotoxicologie à AgroParisTech, université Paris Saclay.

Avec la collaboration de

Antoine Villa

Praticien hospitalier - Service de médecine et de santé au travail de l'hôpital de la Timone (Assistance publique - Hôpitaux de Marseille).

Jérôme Langrand

Praticien hospitalier au centre antipoison de Paris - Hôpital Fernand Widal (Assistance publique - Hôpitaux de Paris).

Marie-Thérèse Lecam

Praticien hospitalier en dermatologie-allergologie dans le service de Pathologies professionnelles et de l'Environnement du centre hospitalier intercommunal de Créteil.



Table des matières

1	Introduction : sur le chemin d'une nouvelle toxicologie	1
	1. Un peu d'histoire	1
	2. Les scandales sanitaires et l'évolution de la toxicologie	4
	3. Vers une nouvelle toxicologie	5
	3.1 Une toxicologie systémique	6
	3.2 La toxicologie des faibles doses	6
	3.3 La toxicologie des cocktails	7
	3.4 La toxicologie des temps longs	7
	3.5 La toxicologie des cibles vulnérables	8
	3.6 Vers une intégration des approches toxicologiques pour l'évaluation de risque : les NAMs (<i>New Approach Methodologies</i>)	8
	3.7 Toxicologie et exposome	9
	4. Conclusion	9
	L'essentiel	11
2	Principales voies d'entrée des toxiques et mécanismes de contamination ou d'absorption	12
	1. Les mécanismes d'échange membranaire	15
	1.1 Les principales phases du devenir d'un xénobiotique au niveau cellulaire	15
	1.2 Les principaux mécanismes de passage des composés à travers des barrières de l'organisme	17
	1.3 Descripteurs physicochimiques du passage membranaire passif des xénobiotiques	18
	1.4 Les mécanismes de transport de composés à travers les membranes biologiques	19
	2. Superfamille des transporteurs SLC : nomenclature, classification, localisation cellulaire et tissulaire, fonctions	20
	3. Superfamille des transporteurs ABC : nomenclature, classification, localisation cellulaire et tissulaire, fonctions	21
	4. Les voies d'exposition	22
	4.1 La voie digestive	22
	4.2 La voie respiratoire : inhalation	24
	4.3 La voie cutanée ou percutanée	28
	L'essentiel	34

3	Distribution des xénobiotiques dans l'organisme	35
1.	Les espaces corporels et physiologiques	36
2.	La partition sang-tissus des xénobiotiques	36
3.	Le volume de distribution d'un xénobiotique	37
4.	Conséquence du volume de distribution sur les paramètres pharmacocinétiques observés	39
5.	Facteurs de variabilité du volume de distribution	40
5.1	Perfusion des organes	40
5.2	Perméabilité membranaire	41
5.3	La liaison aux protéines sanguines et tissulaires	42
6.	Notion de clairance de distribution	43
7.	Les barrières internes de l'organisme	44
	L'essentiel	46
4	Le métabolisme et l'élimination des xénobiotiques	47
1.	Les enzymes de phase I	48
1.1	Les cytochromes P450	48
1.2	Les époxyde hydrolases	51
2.	Les enzymes de phase II	51
2.1	Les glutathion-S-transférases	51
2.2	Les UDP-glucuronosyltransférases	52
2.3	Les sulfotransférases	52
2.4	Les N-acétyltransférases	52
3.	Les transporteurs de phase III	52
4.	Production de métabolites toxiques par le métabolisme des xénobiotiques	53
4.1	L'activité des CYP1 : génératrice de stress oxydant	55
4.2	L'activité des CYP1 : génératrice de métabolites toxiques	56
4.3	L'activité des CYP1 : rôle biologique des molécules « toxiques »	57
5.	Un métabolisme plus ou moins protecteur : l'apport des modèles KO	57
6.	Différences inter-espèces et intra-espèces	59
6.1	Différences intra-espèces	59
6.2	Différences inter-espèces	60
6.3	Les souris « humanisées »	60

7. Quelques exemples d'utilisation	62
7.1 Le métabolisme des amines hétérocycliques	62
7.2 Le métabolisme de la débrisoquine	64

8. Conclusion	65
----------------------	----

L'essentiel	66
--------------------	----

5 Mécanismes d'action et voies de signalisation activées par les toxiques 67

1. Mécanismes généraux modulés par les xénobiotiques	68
---	----

2. Voies de signalisation modulées par la réactivité des xénobiotiques	70
---	----

2.1 Les différentes formes de réactivité	70
--	----

2.2 Le stress oxydant	70
-----------------------	----

2.3 Une voie de signalisation en lien avec le stress oxydant : Nrf2	72
---	----

2.4 L'adductome	73
-----------------	----

3. Voies de signalisation modulées par la liaison à des récepteurs	74
---	----

3.1 Mécanismes généraux activés par les xénobiotiques à la suite de la liaison à une protéine cible	74
---	----

3.2 Mécanismes généraux d'activation des récepteurs de xénobiotiques	75
--	----

3.3 Les différents récepteurs de xénobiotiques	76
--	----

3.4 Perturbation endocrinienne et récepteurs nucléaires	80
---	----

3.5 Des voies de signalisation alternatives	81
---	----

4. Conclusion	82
----------------------	----

L'essentiel	84
--------------------	----

6 Approches méthodologiques 85

1. Modèles <i>in vivo</i> : utilisation des animaux de laboratoire	87
---	----

1.1 Les différents modèles animaux	87
------------------------------------	----

1.2 Les modalités d'exposition : voies et durée/fréquence	87
---	----

1.3 Paramètres toxicologiques étudiés	88
---------------------------------------	----

1.4 Intérêts et limites des études de toxicité chez l'animal	89
--	----

2. Modèles <i>in vitro</i> : utilisation de cultures de cellules	91
---	----

2.1 Types de cellules : cellules primaires – lignées cellulaires	91
--	----

2.2 Méthodes de culture : 2D – 3D – co-cultures	92
---	----

2.3 Paramètres toxicologiques étudiés	95
---------------------------------------	----

2.4 Intérêts et limites des cultures cellulaires	95
--	----

3. Modèles <i>in silico</i> : approche non expérimentale	97
3.1 SAR et QSAR	97
3.2 Les modèles toxicocinétiques classiques et PBPK (<i>Physiologically-Based Pharmacokinetics</i>)	97
4. La toxicologie prédictive	102
4.1 Concept d'AOP	103
4.2 Stratégie d'analyses intégrées et toxicologie des systèmes	104
5. Conclusion	104
L'essentiel	105
7 Pathologies tumorales d'origine toxique	106
1. Introduction	106
2. Cancers liés aux xénobiotiques	109
3. Processus impliqués dans le mécanisme de carcinogénèse	115
3.1 Mécanisme d'action des carcinogènes	115
3.2 Mécanisme de cancérisation des cellules	117
3.3 Association mode d'action et cancer	128
4. Conclusions générales et perspectives	133
L'essentiel	135
8 Pathologies toxiques non tumorales	136
1. Neurotoxicité	137
1.1 Organisation du système nerveux	137
1.2 Méthodes d'étude des effets neurotoxiques	143
1.3 Mécanismes des effets neurotoxiques	146
1.4 Conclusion	154
2. Pneumotoxicité	154
2.1 Rappels anatomiques et histologiques de l'appareil respiratoire chez l'être humain	154
2.2 Physiopathologie des atteintes respiratoires aiguës et subaiguës d'origine toxique	155
2.3 Pathologies respiratoires aiguës d'origine toxique	157
2.4 Pathologies respiratoires chroniques d'origine toxique	168
3. Dermatoxicité	174
3.1 Description anatomique et histologique de la peau	174
3.2 Éléments de toxicocinétique	176

3.3 Méthodes d'études de la toxicité cutanée	176
3.4 Pathologies toxicologiques cutanées non tumorales	178
3.5 Acné	184
3.6 Troubles de la pigmentation	185
3.7 Granulome	185
4. Hématotoxicité	185
4.1 Hématopoïèse	185
4.2 Cellules sanguines circulantes	187
4.3 Hématotoxicité	189
5. Néphrotoxicité	193
5.1 Anatomie et fonctions physiologiques du rein	193
5.2 Évaluation de la fonction rénale	196
5.3 Pathologies rénales d'origine toxique	197
5.4 Conclusion	199
6. Hépatotoxicité	199
6.1 Rappels sur le foie	200
6.2 Principaux types d'atteintes hépatiques	201
6.3 Exemples de substances chimiques hépatotoxiques	204
6.4 Conclusion	206
7. Reprotoxicité et toxicité du développement	206
7.1 Physiologie de la reproduction chez l'être humain	206
7.2 Principaux systèmes hormonaux	207
7.3 Effets toxiques pour la reproduction et le développement	208
7.4 Altération de la fertilité	209
7.5 Effet sur le développement lors d'une exposition à un toxique durant la grossesse	209
7.6 Effets sur le développement consécutifs à une exposition à un toxique durant l'allaitement	211
L'essentiel	212
9 De la toxicologie à l'écotoxicologie	213
1. Écotoxicologie : similitudes et spécificités vis-à-vis de la toxicologie	213
2. Les mécanismes d'effets écotoxiques sur les populations et communautés	214
2.1 Actions toxiques des contaminants sur une population	214
2.2 Actions toxiques des contaminants sur une communauté	216
2.3 Stress multiples ?	217
3. Les outils d'étude et de surveillance environnementale	218

3.1	Les approches de laboratoire	219
3.2	Les approches de terrain	220
3.3	Les outils en développement à des fins réglementaires	222
4.	Les problématiques émergentes en écotoxicologie et les nouveaux enjeux	223
4.1	Contaminants environnementaux et problématiques émergentes	223
4.2	Les nouveaux enjeux	226
5.	Conclusion sur les fonctions et services écosystémiques	227
10	Évaluation du risque et réglementations	228
1.	Valeurs de référence hors cadre réglementaire	228
1.1	Identification des dangers	231
1.2	Prise en compte de la sensibilité et de la vulnérabilité	232
1.3	Utilisation des approches QSAR, <i>in silico</i>	232
2.	Définition des relations dose-réponse	233
2.1	NOAEL-LOAEL	233
2.2	Benchmark dose	233
3.	Réglementations REACH et des produits phytosanitaires et biocides	236
3.1	Valeurs de référence dans le cadre du règlement REACH	237
3.2	Valeurs de référence dans le cadre des réglementations biocides et phytosanitaires	238
4.	Conclusion et perspectives	239
4.1	Effet néfaste – gravité de l’effet	239
4.2	Courbes non monotones	239
4.3	VTR interne	240
4.4	Comparaison des différentes valeurs réglementaires <i>versus</i> non réglementaires	240
	L’essentiel	241
	Sujets de synthèse	242
	Bibliographie	253
	Index	266

Introduction : sur le chemin d'une nouvelle toxicologie

Introduction

On connaît les poisons depuis la préhistoire, mais il a fallu les scandales sanitaires du xx^e siècle associés aux produits chimiques, médicaments, polluants de l'environnement, et les recherches qu'ils ont suscitées pour que des réglementations de plus en plus contraignantes se mettent en place. Cependant, la prise de conscience des expositions à faible dose à des cocktails de polluants tout au long de la vie, les questionnements sur l'augmentation des maladies chroniques remettent en cause ces réglementations et demandent le développement d'une nouvelle toxicologie, celle de « l'exposome ». La pandémie Covid 19 a fait aussi prendre conscience des liens étroits entre la santé des écosystèmes et la santé humaine. Le concept de « *One health* » porté depuis longtemps par l'OMS s'impose maintenant comme une nécessité.

Objectifs

- Comprendre** l'histoire de la toxicologie.
- Analyser** l'origine des réglementations au xx^e siècle.
- Tirer** les conséquences de l'évolution des connaissances biologiques.
- Développer** de nouvelles approches pour la toxicologie prédictive.

Plan

- 1 Un peu d'histoire
- 2 Les scandales sanitaires et l'évolution de la toxicologie
- 3 Vers une nouvelle toxicologie
- 4 Conclusion

1 Un peu d'histoire

La connaissance des poisons et de leurs effets sur l'être humain et les animaux remonte à la plus haute antiquité. Les papyrus égyptiens montrent une grande expertise dans la **science des poisons d'origine animale et végétale**. Le papyrus d'Ebers (Bardinet, 1995), qui date d'environ 3 500 ans, fait état de la toxicité de nombreuses substances naturelles. Il compile plus de sept cents drogues et poisons dont il décrit les effets délétères. Déjà, certains de ces extraits de plantes sont utilisés à des fins thérapeutiques ou contraceptives.

Le mot « toxique » est sans doute d'origine grecque, « *toxicon* » désignant les flèches empoisonnées utilisées dans la chasse. Cette pratique devait exister dès la préhistoire avec la connaissance de baies toxiques dont les extraits servaient à imprégner l'extrémité des armes, flèches ou lances et elle perdure chez certaines tribus d'Amérique centrale et de l'océan indien.

La toxicité des métaux était également connue et il était déconseillé de s'en servir sans précaution dans les ustensiles pour la préparation des aliments.

Par exemple, les effets néfastes **du cuivre** avaient été observés dès l'Antiquité car il a été l'un des premiers métaux utilisés dès la préhistoire et, en alliage avec l'étain, a donné naissance au bronze, lui-même à l'origine d'une révolution technologique caractérisant l'âge de bronze. Les anciens avaient constaté que les aliments devenaient toxiques s'ils étaient conservés trop longtemps dans des récipients en cuivre pur et avaient développé la pratique de l'étamage, c'est-à-dire le traitement de l'intérieur des récipients en cuivre par de l'étain. Mais il a fallu attendre le *xxe* siècle pour comprendre que la toxicité du cuivre était associée à ses formes oxydées : vert de gris, oxyde cuivreux, oxyde cuivrique et que l'étamage permettait de les éviter. C'est l'étude scientifique de ses propriétés qui a montré que le cuivre, outre ses remarquables capacités à conduire la chaleur, quand il est dissous dans l'eau devient un puissant antibactérien et antifongique, propriétés utilisées dans la bouillie bordelaise pour le traitement de la vigne et la lutte contre le mildiou. On l'autorise d'ailleurs en agriculture biologique à la différence de pesticides « modernes » de synthèse.

Le plomb est un autre bel exemple de cette évolution. Il s'agit là encore de l'un des métaux les plus anciennement connus et on le retrouve dans des objets datant de 6 000 à 8 000 ans avant J.-C. Or ses dangers sont observés et décrits depuis l'Antiquité et retrouvés dans des textes de l'époque romaine qui a utilisé le plomb depuis les canalisations jusqu'à la vaisselle sans prendre les précautions d'usage malgré les alertes sanitaires. Cette utilisation, constante depuis l'antiquité, s'est développée largement à l'ère industrielle avec des applications dans de nombreux produits : peintures, batteries, essence, plombages dentaires entre autres. Mais c'est également au *xxe* siècle que le saturnisme a été décrit par des médecins qui ont su mettre en relation l'intoxication au plomb chez les jeunes enfants et de graves déficits intellectuels. Aujourd'hui encore, on continue à découvrir des effets néfastes du plomb à des doses de plus en plus faibles.

Il y a donc eu très tôt dans l'histoire de l'humanité une conscience des effets néfastes de certaines substances naturelles animales et végétales qu'on a appelées poisons et de certains métaux mais cette connaissance est restée très longtemps empirique et fragmentaire. Cependant des philosophes, mathématiciens et médecins de l'antiquité comme Pythagore et Hippocrate ont introduit les **premiers concepts de la toxicologie** en se basant sur l'observation de la relation exposition/effets. Elle est à la base de l'approche scientifique qui se développera deux millénaires plus tard. C'est dans les écrits d'Hippocrate (Maréchaux, 1996) que l'on trouve les premières constatations sur la relation

dose-effet, une substance médicinale pouvant devenir un poison en fonction du mode et de sa dose d'administration.

Cependant, c'est seulement au xv^e siècle qu'un médecin alchimiste suisse, Paracelse, a repris et illustré le concept de **relation dose-effet**, « *toutes les choses sont poison, et rien n'est sans poison, seule la dose fait qu'une chose n'est pas un poison* » (Borzelleca, 2000). Il a défendu l'utilisation à des usages médicaux de substances considérées comme toxiques telles que le mercure en considérant que le rapport entre les bénéfices potentiels et les risques pouvaient dépendre de la dose. Il a également compris que, dans des extraits naturels animaux ou végétaux utilisés dans la pharmacopée traditionnelle, il y avait des « principes actifs » et qu'en les extrayant et en les concentrant, il était possible de les rendre plus efficaces ou plus toxiques. Cette notion a été un apport considérable et a fondé la relation entre substance chimique et effet biologique et physiologique qu'il soit bénéfique ou toxique. Au xix^e siècle, la toxicologie a évolué avec le développement de la physiologie et les grands physiologistes et médecins comme François Magendie et Claude Bernard, ont contribué à l'exploration des mécanismes toxiques. Il est intéressant de noter que, depuis quelques années, on assiste à nouveau à un rapprochement entre **physiologie et toxicologie**, notamment avec la découverte et l'exploration des effets des perturbateurs endocriniens.

La compréhension de la relation dose-effet a été déterminante pour le développement de la pharmacologie et de la toxicologie. Ce concept est resté central en toxicologie jusqu'à maintenant et a été largement à la base de la toxicologie réglementaire. C'est son application qui a conduit à définir des doses sans effet et des marges de sécurité pour les médicaments comme pour les produits chimiques environnementaux à partir d'une démarche expérimentale qui s'est développée essentiellement au siècle dernier. Les réglementations élaborées dans la seconde moitié du xx^e siècle reposent sur ce concept. Cependant, à la différence des observations ponctuelles sur des effets bénéfiques ou adverses après administration volontaire ou intoxication chez l'être humain, telles qu'elles apparaissaient dans les textes anciens, c'est dans le cadre de **protocoles établis scientifiquement** dans les laboratoires de recherche que la toxicologie moderne s'est développée (Marano et al., 2011). Elle bénéficie des avancées de la physiologie et de la biologie cellulaire et moléculaire ainsi que du développement des outils expérimentaux de la recherche fondamentale, en particulier ces dernières années avec le développement des approches « omiques ». Des règlements et des directives nationaux et internationaux se sont succédé au cours des cinquante dernières années, obligeant les industriels du médicament, des produits chimiques dont les pesticides et les biocides, à tester la toxicité de leurs produits avant de les mettre sur le marché. Les essais préconisés sont encore largement fondés sur la relation dose-effet, qui a été récemment remise en cause à partir de la découverte des perturbateurs endocriniens et des réponses toxicologiques non monotones. Ces nouvelles données ne remettent pas en cause l'importance de la dose en toxicologie mais elles indiquent que la relation dose-effet n'est pas nécessairement linéaire et que des effets peuvent être observés à faibles voire très faibles doses, comme nous le verrons plus loin.

2 Les scandales sanitaires et l'évolution de la toxicologie

Les avancées dans le domaine de la toxicologie, en particulier environnementale, se sont malheureusement souvent développées à la suite des scandales sanitaires qui ont émaillés le xx^e siècle. Rappelons celui de la **thalidomide**, médicament commercialisé à partir de 1957 dans près de 46 pays (mais pas en France) et utilisé pour traiter les états nauséeux des femmes enceintes, jusqu'à ce qu'on constate qu'il passait la barrière placentaire et qu'il était un puissant tératogène. Plus précisément, le traitement durant le premier trimestre du développement fœtal a été à l'origine d'avortements et de malformations des membres chez le fœtus. On considère que près de 20 000 bébés malformés sont nés à la suite de ces traitements jusqu'à leur interdiction en 1960. Or, tous les tests réglementaires de l'époque avaient été réalisés jusqu'aux essais cliniques chez l'adulte et ils avaient conclu à l'innocuité du produit. On a pris conscience alors que les effets sur la reproduction n'étaient pas correctement couverts par ces tests surtout lorsqu'une seule espèce animale était testée (Janicki, 2009) Ce drame a été à l'origine d'une **révision internationale des essais toxicologiques des médicaments et le développement de la pharmacovigilance**, ce qui n'a pas empêché d'autres scandales plus récents comme celui du **Mediator**.

La prise de conscience des risques de l'exposition environnementale aux polluants atmosphériques a émergé à partir d'une part du scandale de l'amiante (Henry, 2007) et d'autre part du constat des méfaits sanitaires des polluants gazeux et particuliers d'origine anthropique dans les zones urbaines (Dockery et *al.*, 1993). Celle des effets des métaux lourds à des moments critiques de la vie, comme le mercure, pendant la grossesse, est partie de l'analyse des causes de la maladie de **Minamata** au Japon. La démonstration par des scientifiques japonais que des effluents industriels contenant du mercure, rejetés dans la mer à des concentrations faibles et ne dépassant pas les valeurs admises à l'époque pouvaient se concentrer dans la chaîne alimentaire jusqu'à des valeurs toxiques pour l'être humain, a jeté les bases de **nouvelles réglementations plus protectrices** (Grandjean et *al.*, 2010).

Si les scandales sanitaires provoquent une prise de conscience des populations et des décideurs politiques, **le véritable enjeu de la toxicologie moderne** n'est pas tant dans les effets les plus visibles et frappants mais plutôt dans cette **toxicité à bas bruit et au long cours** que l'on suspecte avec le développement d'outils d'analyse de plus en plus sensibles. Ce type de toxicité est par essence plus difficile à visualiser et à prouver et peut se prêter de ce fait à une double instrumentalisation. D'une part, le fait que les effets sont le plus souvent suspectés plutôt qu'avérés conduit certains à un déni complet et à une stigmatisation de ce qu'ils appellent de la mauvaise science. Pour d'autres au contraire, la frontière entre le possible et le certain est facilement ignorée et on assiste alors à une approche dramatisante encouragée par certains médias. Faut-il croire qu'une grande partie des maladies chroniques (allergies, obésité, diabète, cancers, maladies neuro-dégénératives) est

associée aux dérives de l'industrialisation ? A-t-on actuellement les données objectives qui permettent de répondre à cette question qui fait l'objet de vives controverses entre experts ? La toxicologie, associée à l'épidémiologie et à l'expologie, est ici en première ligne pour une évaluation des risques, protectrice des populations et tout particulièrement des plus vulnérables. L'augmentation des maladies chroniques dans les pays industrialisés où elles sont la première cause de mortalité, 88 % en France en 2016, pose la question du rôle des expositions chroniques et en mélange. L'étude de biosurveillance de la population française, ESTEBAN, a mesuré, sur un échantillon représentatif, l'imprégnation par une centaine de molécules chimiques dont des pesticides et des perturbateurs endocriniens. ESTEBAN montre que la plupart de ces substances se retrouve dans la totalité de la population y compris les enfants et les femmes enceintes (Fillol, 2021). Ceci pose la question d'une bonne évaluation de leurs impacts sanitaires.

3 Vers une nouvelle toxicologie

Les controverses les plus récentes, par exemple autour de l'interdiction du bisphénol A (BPA), emblématique des perturbateurs endocriniens, et de la définition de ces PE, montrent les difficultés à intervenir au niveau européen et à introduire des tests adaptés dans les réglementations. Il reste encore beaucoup à faire pour la recherche dans le domaine de la toxicologie !

Celle-ci évolue avec **l'intégration des connaissances de la biologie cellulaire et moléculaire** pour comprendre les mécanismes d'action (MoA) (Troise, 2016), **de la biologie systémique et des approches « omiques »** pour avoir une vision plus globale des effets des xénobiotiques (Barouki *et al.*, 2006 ; National Academies Press, 2009). On peut considérer que, si la toxicologie réglementaire a encore de beaux jours devant elle et a apporté une masse de données absolument nécessaire en définissant en particulier les LOAEL (*Low Adverse Effect*), les NOAEL (*No Adverse Effect*) et les VTR (*Valeurs toxicologiques de référence*), elle se doit cependant d'évoluer et d'intégrer les nouvelles approches rapidement. Elle le fait à travers les AOP (*Adverse Outcome Pathways*) ou voies des effets adverses, et les approches intégrées en matière d'essai et d'évaluation (IATA).

La toxicologie s'oriente actuellement vers la **connaissance la plus fine possible des perturbations induites par les xénobiotiques**. Cette approche implique qu'il ne faut pas se contenter d'une étude classique de toxicité aiguë, sous-chronique et chronique sur des modèles animaux, encore largement préconisée par les règlements européens et internationaux même si des restrictions à leur utilisation s'expriment dans le règlement REACH et s'ils sont interdits par la directive cosmétique. On y intègre actuellement les données obtenues au niveau moléculaire, cellulaire, tissulaire, systémique voire sur une population afin de déterminer les étapes clés d'une AOP. On y décrit, lorsque c'est possible, les interactions moléculaires sur le site d'action, la cascade des réactions produites au niveau des cellules cibles qui peut différer en fonction de leur différenciation, et les perturbations

induites au niveau de l'organe et de l'organisme en identifiant à chaque fois les étapes critiques menant à l'effet toxique final (Troise, 2016). Ainsi, le développement des AOP (et à plus long terme des AON, N pour *Network* ou réseau, mettant en commun plusieurs AOP) en toxicologie vise à augmenter la prédictivité d'effets adverses, à déterminer des « familles » de xénobiotiques ayant des mécanismes d'action proches voire similaires et à déterminer à partir d'une base scientifique les tests nécessaires chez l'animal afin de les réduire le plus possible. Il doit également conduire à des stratégies de tests intégrés et d'évaluation IATA. Celles-ci, à terme, devraient remplacer les batteries de tests prédéfinies de la réglementation actuelle par une approche « à la carte » reposant sur les connaissances développées sur des familles de molécules ayant des mécanismes d'action équivalents. Cette nouvelle toxicologie qui se développe sous nos yeux se caractérise par un certain nombre de notions fondamentales.

3.1 Une toxicologie systémique

La biologie systémique est une **approche globale** pour qui vise à intégrer au niveau d'une cellule, d'un tissu, d'un organisme, voire d'un écosystème, l'ensemble des informations disponibles, qu'elles soient d'ordre génomique, protéomique, métabolomique ou autre. L'objectif est de construire un modèle le plus quantitatif possible intégrant les données sous la forme d'un réseau mettant en relation les différents composants cellulaires et les différentes informations disponibles (Barouki et *al.*, 2006). Une des ambitions affichées est de pouvoir prédire les conséquences d'une perturbation donnée sur l'ensemble du système.

On voit bien l'intérêt d'une telle approche en toxicologie : en effet, plutôt que de se contenter de données parcellaires sur un gène ou un métabolite, celle-ci **intègre les données**. Ce faisant, on peut s'attendre à avoir une meilleure représentation des effets globaux d'une substance chimique et de compenser ainsi au moins partiellement les insuffisances d'un modèle ou d'un système simplifié.

Cette approche globale et intégrée peut apporter des réponses aux questions actuelles de la toxicologie telles que nous les avons énoncées ci-dessus.

3.2 La toxicologie des faibles doses

Les données récentes montrent que **la relation entre dose et toxicité n'est pas toujours linéaire** et que des effets toxiques chroniques peuvent se manifester à des doses faibles voire très faibles, proches des doses auxquelles certaines populations peuvent être exposées et non prévisibles par les études classiques à forte dose (Vanderberg et *al.*, 2012 ; Bouskine et *al.*, 2009).

Ce sont les relations non monotones mises en évidence avec les découvertes de la perturbation endocrinienne provoquée par de nombreuses molécules. Celles-ci, parfois déjà autorisées selon les critères classiques de la toxicologie réglementaire, vont devoir être revues sur cette nouvelle base et les tests à venir devront en tenir compte. (Marano 2017)

Le bouleversement de la toxicologie induit par la découverte de la perturbation endocrinienne démontre bien qu'il s'agit d'une science millénaire mais qui ne doit pas être figée dans un carcan de normes et réglementations non évolutives et qu'elle doit **suivre l'évolution des connaissances de la biologie fondamentale**.

3.3 La toxicologie des cocktails

Nous sommes exposés chaque jour à travers notre alimentation, l'air que nous respirons, nos produits cosmétiques, à une multitude de produits chimiques auxquels il faut ajouter les expositions physiques de notre environnement. Cette **exposition chronique à une multitude de substances présentes chacune à faible dose** est connue sous le nom d'effet « cocktail ».

L'univers chimique qui nous constitue et nous entoure est complexe et comprend plus de 100 000 molécules différentes. Il est déjà très difficile d'étudier la toxicité de ces molécules une à une sur une gamme de doses. Il est impossible d'envisager l'étude de toutes les combinaisons possibles de ces molécules. Il y a là un vrai **défi conceptuel et méthodologique**.

On peut imaginer que certaines de ces molécules aient un effet additif, synergique, voire antagoniste (Kortenkamp, 2007). On peut l'aborder en définissant un ensemble limité de mélanges typiques en s'appuyant sur le type de consommation, sur la vie urbaine ou non, etc. Il s'agit là d'une **approche par exposition** (exposome, Wild, 2005) qui a l'avantage d'être réaliste, mais le désavantage d'être descriptive.

Une autre **approche, mécanistique**, consiste à s'intéresser principalement non aux composés chimiques eux-mêmes, mais plutôt aux voies de toxicité principales qu'ils évoquent. Ces voies sont en nombre bien plus limité et on peut les estimer à une vingtaine ou une trentaine principalement. C'est la base du projet Tox 21 aux États-Unis (National Academies Press, 2009 ; Kawlock, 2009) qui vise à définir les voies de toxicité de milliers de composés chimiques. Il suffit, en principe, d'étudier les interactions entre ces voies pour avoir une idée des effets de mélanges simples.

On peut ensuite **grâce à la biologie systémique compliquer davantage les mélanges et tenter de prédire les conséquences**. Cette approche est, elle aussi, ardue, mais elle est plus satisfaisante pour qui veut comprendre les choses et entrer dans une démarche prédictive. Elle peut représenter un beau défi pour des toxicologues à la recherche de nouvelles frontières.

3.4 La toxicologie des temps longs

C'est là aussi un défi majeur, assez difficile du reste. Comment prédire ce qui peut se passer 30 ans après une exposition, voire quelques générations plus tard ? À l'évidence, il n'y a pas de réponse unique à cette question.

La **compréhension des mécanismes de toxicité à long terme**, qui reste très parcelaire aujourd'hui, est sans doute nécessaire. Il est clair que l'épigénétique avec les modifications hérissables d'une cellule à une autre des modes d'expression génique qu'elle

implique, peut apporter une réponse partielle. Une autre notion soulevée par l'analyse des effets à long terme est que les mécanismes adaptatifs ou systèmes de détoxification qui sont essentiels à la survie des organismes vivants sont en partie responsables des phénomènes toxiques au long cours (Barouki, 2010). Il est donc difficile de séparer des réponses dites « adaptatives » de réponses « toxiques ». En effet, une réponse biologique qui nous permet de survivre à une exposition aiguë peut, si elle est répétée sur le long terme, être à l'origine de toxicité chronique.

3.5 La toxicologie des cibles vulnérables

La toxicologie ne doit pas s'intéresser seulement à l'agent toxique et caractériser sa dose, le temps d'exposition ou les conditions d'exposition. Elle doit aussi s'intéresser à la cible.

En effet, pour un même toxique, les effets dépendent de l'individu ciblé car un fœtus, un jeune enfant ou un adulte ne présentent pas la même sensibilité vis-à-vis des toxiques et les variations individuelles d'ordre génétique conduisent à une sensibilité différente à certains toxiques. De très nombreux travaux sont actuellement consacrés à l'étude des **effets d'agents toxiques au cours du développement fœtal**. Plusieurs exemples indiquent qu'une exposition au cours de cette période du développement, y compris à faible dose, peut conduire à une augmentation du risque d'effets pathologiques plus tard dans la vie (enfance, adolescence, âge adulte). Ces travaux entrent dans la cadre du concept de DOHaD (*Developmental Origine of Health and Disease*, Junien, 2016).

Plusieurs mécanismes pourraient rendre compte de ces **effets différés**, en premier desquels se trouvent les modifications épigénétiques. D'autres sources de vulnérabilité viennent du fond génétique ou de l'association avec des pathologies chroniques ou certains régimes alimentaires (Barouki, 2013).

3.6 Vers une intégration des approches toxicologiques pour l'évaluation de risque : les NAMs (*New Approach Methodologies*)

L'évolution des réglementations européennes, et tout particulièrement le règlement REACH qui contraint les industriels à évaluer le danger de plus de 100 000 molécules chimiques, a accéléré la prise en compte des approches *in silico*, *in chemico* et *in vitro*, jusqu'ici insuffisamment utilisées et associées aux données venant de l'expérimentation animale quand elles sont disponibles. Elles sont regroupées sous l'acronyme NAMs et comprennent des outils méthodologiques, tels que les QSARs (*Quantitative Structure Activity*), les techniques de génomique, protéomique, et métabolomique, les AOPs. Cette nouvelle approche vise à accélérer l'évaluation des substances chimiques (Neslany F, 2022).

Les NAMs sont aussi des outils haut débit pour réaliser des prévisions d'exposition. Elles peuvent rapidement fournir des estimations d'exposition pour des milliers de substances chimiques, en examinant plusieurs voies d'exposition. Il existe des bases de données importantes issues de NAMs, par exemple, ToxCast/Tox21 issues du programme

Tox21 aux USA en 2008, qui utilisent des méthodes de criblage à haut débit (HTS) permettant d'identifier ou de prédire des voies de toxicité et d'obtenir d'éventuelles signatures de toxicité de produits chimiques.

Cette approche intégrée des outils toxicologiques vise aussi à diminuer l'utilisation des animaux de laboratoire avec l'application de la règle des 3R (règle des 3R pour l'expérimentation animale : *Replace, Reduce, Refine*) intégrée dans les directives européennes et la législation française sur l'expérimentation animale. Cependant, cette approche intégrée nécessite qu'elle soit acceptée par les agences internationales et nationales pour l'évaluation des risques des produits chimiques, ce qui reste encore à faire mais est inéluctable.

3.7 Toxicologie et exposome

L'exposome a été défini comme l'ensemble des expositions qu'un individu ou une population peut subir tout au long de sa vie. Ces expositions peuvent être de nature chimique, physique, biologique ou psychosociale. Par sa nature holistique, ce concept influence considérablement la recherche en santé environnementale et la toxicologie doit à présent en tenir compte (Barouki et *al.*, 2022). Comme nous l'avons évoqué, l'étude des effets cocktails s'inspire du concept d'exposome. Mais ce concept incite surtout à étudier l'interaction entre des stress de nature différente, par exemple entre un déséquilibre alimentaire et l'exposition à des substances toxiques, le bruit et la pollution de l'air, les stress psychosociaux et la contamination alimentaire, etc. Par ailleurs, ce concept ajoute aux méthodes « omiques » traditionnelles, l'analyse exposomique à large spectre. Au total, le concept d'exposome incite à intégrer la toxicologie avec les autres disciplines en environnement santé comme l'épidémiologie, l'expologie, les approches computationnelles et systémiques et conduit ainsi à éviter les frontières disciplinaires trop étanches.

4 Conclusion

L'évolution de la toxicologie nous conduit à aller au-delà de la notion initiale de « science des poisons ». Ainsi, **une bonne définition de la toxicologie est l'étude de l'interaction entre un agent toxique et une cible**, cette interaction recouvrant les effets de l'agent toxique sur la cible mais aussi l'action de la cible sur l'agent toxique. Il s'agit en somme d'étudier les effets de l'environnement sur l'être humain mais aussi les mécanismes adaptatifs et leurs coûts en termes de santé. De nos jours, une bonne compréhension des mécanismes de toxicité est indissociable d'une bonne connaissance des mécanismes physiologiques, développementaux, cellulaires et moléculaires. De même, la toxicologie humaine doit être intégrée dans un ensemble plus large décrivant les effets des perturbations de l'environnement sur les écosystèmes, les sources et les voies des expositions, les analyses à l'échelle populationnelle et individuelle. Cette vision systémique est sans doute très ambitieuse mais elle seule permet une analyse objective et rationnelle des mécanismes toxiques. Elle est devenue tout particulièrement nécessaire avec la crise

Chapitre 1 • Introduction : sur le chemin d'une nouvelle toxicologie

Covid 19 qui a mis en évidence les conséquences de la dégradation de l'environnement sur la survenue de la pandémie. La gravité de la maladie a pu être reliée à l'exposition à des niveaux élevés de polluants atmosphériques. Elle a également été associée aux maladies chroniques, dont on sait que l'exposition à des mélanges de produits chimiques fait partie des facteurs de risques. Le concept « *One Health* » porté par l'OMS (Organisation mondiale de la santé) se doit d'être intégré à l'évaluation des nouvelles approches en toxicologie.

Les points clefs du chapitre

- 1 L'histoire de la toxicologie débute avec la découverte des poisons animaux et végétaux mais ce sont les scandales sanitaires du xx^e siècle, thalidomide, amiante, méthylmercure entre autres et les changements sociétaux qui ont été à l'origine des réglementations actuelles.
- 2 Les réglementations actuelles ont apporté un grand nombre de données basées sur le dogme de la relation dose-effet.
- 3 Les avancées des connaissances fondamentales en biologie et la découverte des effets des faibles doses et des « fenêtres d'exposition » avec la perturbation endocrinienne ont modifié considérablement les approches modernes de la toxicologie.
- 4 Elle doit maintenant s'orienter vers une toxicologie systémique qui inclue l'ensemble des perturbations d'un organisme en réponse à son environnement et qu'on regroupe actuellement dans le concept d'exposome.

Principales voies d'entrée des toxiques et mécanismes de contamination ou d'absorption

Introduction

Les êtres vivants peuvent être exposés à de très nombreux xénobiotiques (médicaments, polluants de l'environnement, additifs alimentaires ou stupéfiants non médicamenteux) qui peuvent avoir un effet nocif sur leur organisme. L'effet nocif systémique de ces toxiques ne peut s'exercer qu'après leur pénétration dans l'organisme. Dans ce chapitre nous décrirons les principaux mécanismes moléculaires permettant d'expliquer le passage membranaire des xénobiotiques au travers des barrières physiologiques de l'organisme afin qu'ils puissent arriver dans la circulation sanguine. Nous nous intéresserons ensuite davantage aux voies d'absorption orale, pulmonaire et cutanée qui représentent les trois principales modalités d'entrée des xénobiotiques dans l'organisme.

Objectifs

Comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires du passage membranaire des xénobiotiques.

Décrire les différents transporteurs SLC et ABC ainsi que leur mode de fonctionnement.

Décrire les trois principales voies d'entrée des xénobiotiques dans l'organisme (orale pulmonaire et cutanée).

Plan

- 1 Les mécanismes d'échange membranaire
- 2 Superfamille des transporteurs SLC : nomenclature, classification, localisation cellulaire et tissulaire, fonctions
- 3 Superfamille des transporteurs ABC : nomenclature, classification, localisation cellulaire et tissulaire, fonctions
- 4 Les voies d'exposition

Les êtres vivants peuvent être exposés à de très nombreux xénobiotiques, synthétiques ou naturels (toxines), provenant de microorganismes, de plantes ou d'animaux, qui peuvent perturber le fonctionnement normal de l'individu qui les aura absorbés et ainsi

avoir un effet nocif sur l'organisme. Il s'agit de toxiques médicamenteux ou non tels les polluants environnementaux (métaux, pesticides et produits phytosanitaires, hydrocarbures polychlorés comme les dioxines en suspension dans l'air, la formation de produits de combustion lors d'un incendie : monoxyde de carbone, dioxines, acides chlorhydrique et cyanhydrique, émission de poussières, telle l'amiante, et nanoparticules), les additifs alimentaires, les stupéfiants non médicamenteux.

L'objectif de ce chapitre consiste à décrire les voies d'entrée des toxiques dans l'organisme. De manière générale, le devenir des xénobiotiques dans l'organisme (ou pharmacocinétique) consiste en l'étude en fonction du temps de l'évolution des concentrations d'un composé auquel un individu est exposé, mais également de ses métabolites éventuels, dans les liquides biologiques de l'organisme (sang, liquides extracellulaires et intracellulaires, urine, liquide céphalorachidien...) et les tissus associés. La pharmacocinétique d'un xénobiotique est divisée en trois grandes phases appelées l'absorption (A), la distribution (D) et l'élimination (E) dont va dépendre l'évolution de la concentration d'un xénobiotique dans le corps humain (**Fig. 2.1**).

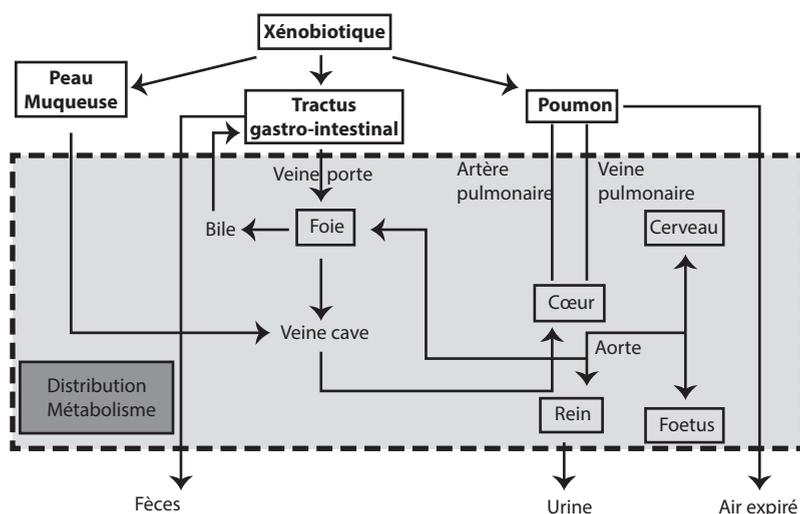


Figure 2.1 – Voies de pénétration et devenir des xénobiotiques dans l'organisme (cours en ligne Toxicocinétique, P. Andujar).

Le suivi des concentrations sanguines des xénobiotiques au cours du temps permet de caractériser chacune de ces phases (**Fig. 2.2**). L'absorption décrit le passage du xénobiotique à partir de son site d'administration (médicaments) ou d'exposition (toxiques), par exemple les voies orale, pulmonaire et cutanée, vers la circulation sanguine générale. Lors de l'ingestion de toxiques par voie orale, la phase d'absorption représente le passage de la substance active en solution, donc à l'état moléculaire, depuis la lumière du tractus gastro-intestinal vers la circulation sanguine générale après avoir subi un éventuel effet de premier passage intestinal et/ou hépatique qui correspond à une perte d'une certaine quantité de substance active avant même qu'elle n'ait pu atteindre la circulation générale.