

2m11. 2995.7

Université de Montréal

**Caractérisation et modélisation de la toxicocinétique du  
trichloroéthylène chez la souris CD-1 mâle**

Par

Véronique Nadeau

Département de santé environnementale et santé au travail

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de Maître ès sciences (M. Sc.)  
en santé environnementale et santé au travail

Avril, 2002

© Véronique Nadeau, 2002



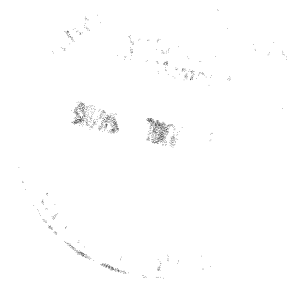
WA

5

U58

2002

V.017



Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

**Caractérisation et modélisation de la toxicocinétique du  
trichloroéthylène chez la souris CD-1 mâle**

présenté par :

Véronique Nadeau

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Docteur Joseph Zayed, président-rapporteur

Docteur Robert Tardif, directeur de recherche

Docteur Kannan Krishnan, membre du jury

## SOMMAIRE

Le trichloroéthylène (TCE) est utilisé principalement comme solvant lors des opérations de dégraissage de pièces métalliques. Des observations cliniques nous ont amenés à formuler l'hypothèse voulant que l'exposition au TCE puisse induire une toxicité au niveau des organes reproducteurs. L'objectif de ce projet consistait à caractériser la cinétique du TCE et de deux de ses métabolites, l'acide trichloroacétique (TCA) et le trichloroéthanol (TCOH), chez la souris CD-1 mâle et de développer un modèle toxicocinétique à base physiologique (TCBP) dans le but de décrire/prédire la cinétique du TCE, du TCA et du TCOH dans divers tissus, incluant les organes reproducteurs mâles (testicules, épидидymes). Le profil cinétique du TCE, du TCOH et du TCA a été caractérisé chez des groupes de souris CD-1 mâles exposées par voie intraveineuse (0,25, 0,50 et 0,75 mmole/kg), intra-péritonéale (0,50, 1,0, et 2,0 mmole/kg) ou par inhalation (250, 500 et 1000 ppm de TCE durant 4 heures). Nous avons également vérifié l'impact d'expositions répétées (1000 ppm, 6h/jour, 19 jours) sur l'excrétion urinaire des métabolites. Nous avons développé un modèle TCBP qui permet de prédire/simuler, selon le cas, les concentrations de TCE, TCA et de TCOH dans le sang, l'urine, le foie ou les testicules. L'ensemble des résultats suggère que la voie d'administration importe peu quant au devenir du TCE dans l'organisme, mais qu'elle joue un rôle important sur la concentration de TCE et de ses métabolites retrouvés dans le sang et les organes cibles. Les principaux métabolites formés sont le TCOH et le TCA; le TCOH est le principal métabolite urinaire tandis que le TCA est majoritairement présent dans le sang, le foie et les testicules. Les expositions répétées ont résulté en une augmentation de l'excrétion urinaire des métabolites du TCE. Finalement, le modèle TCBP proposé est le premier à inclure les testicules en tant qu'organe cible du TCE et à permettre de simuler la cinétique du TCE, du TCA et du TCOH au niveau de cet organe cible.

**Mots clés :** trichloroéthylène, acide trichloroacétique, trichloroéthanol, cinétique, modélisation, TCBP, testicules, sang, inhalation.



## SUMMARY

Trichloroethylene (TCE) is mainly used as a solvent for degreasing metal parts. Clinical observations in workers led us to formulate the hypothesis that the male reproductive system is susceptible to the toxic effects of TCE. This study was undertaken to evaluate the toxicokinetics of TCE and two metabolites, trichloroacetic acid (TCA) and trichloroethanol (TCOH), in CD-1 male mice, an animal model, and to develop a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model that will enable us to predict/simulate their kinetics in blood and tissues following exposure to TCE by various exposure routes. Groups of mice were administered 0.25, 0.50 or 0.75 mmol/kg (intravenous), 0.50, 1.0, or 2.0 mmol/kg (intraperitoneal), 250, 500 or 1000 ppm of TCE for 4 h (inhalation). The kinetics of TCE, TCOH and TCA in blood/tissue/urine was then characterized. In addition, the potential impact of repeated exposures at 1000 ppm (6h/day, 19 days) on urinary excretion of metabolites was evaluated. We have developed a PBPK model that allows us to predict/simulate TCE, TCA and TCOH concentrations in various organs including the testes. Results suggest that whereas the administration route does not exert an important influence on the kinetics of TCE in the organism, it plays an important role on TCE and metabolite concentrations in blood and target organs. The major metabolites are TCOH and TCA; TCOH is predominantly excreted in urine whereas TCA is the major metabolite in blood, liver and testis. Repeated exposures to TCE resulted in higher amounts of urinary metabolites and this was noticeable after the second week of exposure. The PBPK model proposed is the first one to include testes as a target organ of TCE toxicity and to simulate TCE, TCA and TCOH kinetics in this organ.

**Key words** : trichloroethylene, trichloroacetic acid, trichloroethanol, kinetics, modeling, PBPK, testes, blood, inhalation.

## TABLE DES MATIÈRES

PAGE TITRE .....	i
IDENTIFICATION DU JURY.....	ii
SOMMAIRE.....	iii
TABLES DES MATIÈRES.....	v
LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	xiv
LISTE DES ABBRÉVIATIONS.....	xvii
REMERCIEMENTS.....	xix
1. CHAPITRE PREMIER : INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
1.1. Considérations générales.....	2
1.1.1. Propriétés physico-chimiques.....	2
1.1.2. Sources.....	3
1.1.3. Utilisation.....	4
1.1.4. Voies exposition.....	6
1.1.5. Devenir environnemental.....	10
1.1.5.1. Air.....	10
1.1.5.2. Eau.....	10
1.1.5.3. Sol et sédiments.....	11
1.1.6. Impact sur la santé.....	12
1.2. Toxicocinétique.....	13
1.2.1. Absorption.....	13
1.2.2. Distribution.....	16
1.2.3. Biotransformation.....	17
1.2.3.1. Voie du Cytochrome P450.....	17

1.2.3.2. Voie de conjugaison au glutathion.....	20
1.2.4. Élimination.....	24
1.3. Toxicité.....	25
1.3.1. Mécanismes.....	25
1.3.2. Effets.....	31
1.3.2.1. Toxicité aiguë.....	31
1.3.2.2. Toxicité chronique.....	33
1.3.2.3. Reprotoxicité et toxicologie du développement.....	39
1.3.2.4. Génotoxicité.....	43
1.3.2.5. Cancérogénicité.....	43
1.3.3. Études épidémiologiques.....	50
1.4. Recommandations de niveaux d'exposition admissibles.....	57
1.4.1. Canada.....	57
1.4.2. États-Unis.....	58
1.5. Classification du trichloroéthylène quant à son potentiel cancérigène....	59
2. CHAPITRE DEUXIÈME : MODÉLISATION TOXICOCINÉTIQUE.....	61
2.1. Modèle toxicocinétique à base physiologique (TCBP).....	62
2.2. Modèles déjà publiés pour le trichloroéthylène.....	66
3. CHAPITRE TROISIÈME : OBJECTIFS DU PROJET DE RECHERCHE ET DÉMARCHE EXPÉRIMENTALE.....	72
3.1. Contexte du projet expérimental.....	73
3.2. Hypothèse de recherche.....	73
3.3. Objectif général.....	74
3.4. Objectifs spécifiques.....	75

3.5. Démarche expérimentale.....	75
4. CHAPITRE QUATRIÈME : PRÉSENTATION DES ARTICLES.....	76
PREMIER ARTICLE : “Characterization of the toxicokinetics of trichloroethylene and its metabolites, trichloroacetic acid and trichloroethanol, in CD-1 male mice exposed by inhalation.”.....	77
DEUXIÈME ARTICLE: “Metabolism and toxicity of trichloroethylene in epididymis and testis.”.....	98
TROISIÈME ARTICLE: "Modélisation toxicocinétique à base physiologique du trichloroéthylène, de l'acide trichloroacétique et du trichloroéthanol chez la souris CD-1 mâle après administration par voie intraveineuse, intra-péritonéale et respiratoire".....	134
5. CHAPITRE CINQUIÈME : DISCUSSION ET CONCLUSION.....	177
6. BIBLIOGRAPHIE.....	181
7. ANNEXES.....	196

## LISTE DES FIGURES

### 1. INTRODUCTION GÉNÉRALE :

Figure 1. Structure chimique du trichloroéthylène.....	1
Figure 2. Étapes de la biotransformation du TCE par le cytochrome P450.....	22
Figure 3. Étapes de la biotransformation du TCE par la conjugaison au glutathion. ....	23

### 2. CHAPITRE DEUXIÈME :

Figure 4. Représentation conceptuelle d'un modèle TCBP du trichloroéthylène pour des expositions par voie respiratoire .....	65
--	----

### 3. PREMIER ARTICLE:

Figure 1: Blood concentrations (mean $\pm$ SD) of unchanged trichloroethylene (TCE) in CD-1 mice following single inhalation exposure (250, 500 or 1000 ppm of TCE) during four hours.....	94
Figure 2: Blood, liver and testis concentrations (mean $\pm$ SD) of trichloroacetic acid (TCA) following single inhalation exposure to 250 (A), 500 (B) or 1000 (C) ppm of trichloroethylene during four hours. (Each point represents the mean $\pm$ SD from four mice).....	95
Figure 3 : Blood, liver and testis concentrations (mean $\pm$ SD) of trichloroethanol (TCOH) following single inhalation exposure to 250 (A), 500 (B) or 1000 ppm (C) of trichloroethylene during four hours. (Each point represents the mean $\pm$ SD from four mice).....	96
Figure 4: 24h urinary excretion (mean $\pm$ SD) of trichloroacetic acid (TCA) and trichloroethanol (TCOH) during and following inhalation exposures to 250, 500 or 1000 ppm of trichloroethylene during four hours. (n=6).....	97

### 4. DEUXIÈME ARTICLE:

Figure 1: Proposed scheme of TCE metabolism.....	126
--	-----

Figure 2: Protein immunoblotting for CYP2E1 with microsomes from testis, epididymis and liver of untreated mice. Microsomal proteins were subjected to SDS-PAGE, transferred to a nitrocellulose membrane, and reacted with the CYP2E1 mAb 1-98-1. Lanes were loaded with microsomal proteins as follows: lanes 1-3, testis; lanes 4-6, epididymis; lane 7, liver. Lanes 1-3 contained 10, 25 and 50  $\mu\text{g}$  of protein from testis, respectively; lanes 4-6 contained 5, 10 and 25  $\mu\text{g}$  of protein from epididymis, respectively; lane 7 contained 2  $\mu\text{g}$  of protein from liver.....127

Figure 3: Localization and distribution of CYP2E1 in testis and epididymis.

Immunohistochemical staining was performed on paraffin-embedded tissue sections, using a goat anti-rabbit CYP2E1 polyclonal antibody and the avidin-biotin complex procedure. In the epididymis, the CYP2E1 protein was localized in the epithelial cells (arrow). In the testis, this P450 protein was localized within the Leydig cells in the interstitial tissue (b). Scale bars: (a) 50  $\mu\text{m}$ , (b) 25  $\mu\text{m}$ .....128

Figure 4: Formation of chloral from TCE in incubations containing various concentrations (0.5-10 mg/ml) of microsomal proteins from testis and epididymis. Reaction mixtures contained microsomes (0.5-5.0 mg/ml for epididymis; 0.5-10 mg/ml for testis), 3 mM TCE and NADPH (5 mM). Control incubations were carried out in the absence of NADPH, and the values were subtracted from the experimental incubations. The incubations were performed at 37°C for 60 min. The samples were frozen in liquid nitrogen, thawed, extracted with 0.5 ml ethyl acetate, and analyzed by gas chromatography as described in "Materials and Methods". Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M. of three triplicate samples from each microsomal preparation; a total of three separate microsomal preparations were used for each protein concentration.....129

Figure 5: Time-dependent formation of chloral from TCE in incubations of microsomes from testis and epididymis. Reaction mixtures contained microsomes (5 mg/ml), 5 mM TCE and NADPH (5 mM). Control incubations were carried out in the absence of NADPH. The incubations were performed at 37°C for the duration indicated, and the reactions were terminated by immersion in liquid nitrogen. The samples were then thawed, extracted with 0.5 ml ethyl acetate, and analyzed by gas chromatography as described in "Materials and Methods". Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M. of three triplicate samples from each microsomal preparation; a total of three different microsomal preparations were used for each time-point.....130

Figure 6: Concentration-dependent metabolism of TCE in incubations of microsomes from testis and epididymis. Reaction mixtures contained microsomes (5 mg/ml), TCE (0.25-7.0 mM) and NADPH (5 mM). Control incubations were performed in the absence of NADPH, and the values were subtracted from the experimental incubations. The incubations were performed at 37°C for 60 min, and the reactions were terminated by immersion in liquid nitrogen. The samples were then thawed and extracted with 0.5 ml ethyl acetate. The samples were analyzed by gas chromatography as described in "Materials and Methods". Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M. of three triplicate samples from each microsomal preparation; a total of three different microsomal preparations were used for each TCE concentration.....131

Figure 7: Formation of chloral from TCE in microsomal incubations in testis and epididymis after preincubation with an inhibitory CYP2E1 mAb. In the control incubations, microsomes from testis (CT) and epididymis (CE) were preincubated with a nonspecific mAb (HyHel 9) before incubation with TCE. In the immunoinhibition experiments, microsomes from testis (AT) and epididymis (AE) were preincubated with the CYP2E1 mAb and subsequently incubated with TCE (3 mM). A mAb protein: microsomal protein ratio of 1:2 was used. Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M. of three triplicate samples from each microsomal preparation; a total of three different microsomal preparations were used. ....132

Figure 8: The epididymis in untreated mice (a) and mice exposed to TCE (1000 ppm) by inhalation for 6 h/day for 5 days/week for a total of 4 weeks (b). Tissues were fixed in Bouin's fluid, and paraffin-embedded tissue sections were stained with hematoxylin and eosin. Exposure to TCE resulted in sloughing of the epithelium. Scale bar = 25  $\mu$ m.....133

## 5. TROISIÈME ARTICLE

Figure 1 : Étapes de la biotransformation du TCE par le cytochrome P450 (voie oxydative). 1: Aldéhyde déshydrogénase, 2: Chloral déshydrogénase, 3:UDPglucuronyl-transférase, 4:Recirculation entérohépatique. Adapté de Forkert et coll. (2002). ....164

Figure 2 : Schéma conceptuel utilisé pour le développement du modèle TCBP du TCE et de ses métabolites oxydés chez la souris CD-1 mâle. ....165

Figure 3 : Sous-modèle du métabolisme (voie oxydative) du TCE au niveau du foie utilisé dans la conception du modèle TCBP du TCE et de ses métabolites chez la souris CD-1 mâle.....166



Figure 4 : Comparaison entre les concentrations veineuses de TCE simulées et observées suivant différents scénarios d'exposition; A) Exposition par voie respiratoire à 250, 500 et 1000 ppm de TCE durant 4 heures, B) Doses intraveineuses de 0,25, 0,50 et 0,75 mmole/kg de TCE, C) Doses de 0,5, 1,0 et 2,0 mmole/kg de TCE par voie intra-péritonéale.....167

Figure 5 : Excrétion urinaire de TCA et de TCOH sur une période de 24 heures dans l'urine de souris CD-1 mâles (n=6) en fonction de divers scénarios d'exposition au TCE; A) Exposition par voie respiratoire à 250, 500 et 1000 ppm de TCE durant 4 heures, B) Doses de 0,25, 0,5, et 0,75 mmole/kg de TCE par voie intraveineuse, C) Doses de 0,5, 1,0 et 2,0 mmole/kg de TCE par voie intra-péritonéale.....168

Figure 6 : Comparaison entre les simulations et les quantités excrétées de TCA et de TCOH sur une période de 24 heures dans l'urine de souris CD-1 mâles (n=6) en fonction de divers scénarios d'exposition au TCE; A) Exposition par voie respiratoire à 250, 500 et 1000 ppm de TCE durant 4 heures, B) Doses de 0,25, 0,5, et 0,75 mmole/kg de TCE par voie intraveineuse, C) Doses de 0,5, 1,0 et 2,0 mmole/kg de TCE par voie intra-péritonéale.....169

Figure 7 : Comparaison entre les simulations et les concentrations de TCA mesurées dans le foie (A), le sang (B) et les testicules (C) de la souris CD-1 mâle (n=28) suite à des expositions par inhalation à 250, 500 ou 1000 ppm de TCE durant 4 heures.....170

Figure 8 : Comparaison entre les simulations et les concentrations de TCOH mesurées dans le foie (A), le sang (B) et les testicules (C) de la souris CD-1 mâle (n=28) suite à des expositions par inhalation à 250, 500 ou 1000 ppm de TCE durant 4 heures.....171

- Figure 9 : Simulation des concentrations de TCE au niveau des testicules chez la souris CD-1 mâle exposée à 250, 500 et 100 ppm de TCE durant 4 heures. ....172
- Figure 10 : Simulation des concentrations de TCE, TCA et de TCOH total au niveau des testicules chez la souris CD-1 mâle exposée à 50 ppm de TCE durant 8 heures.....173
- Figure 11 : Analyse de sensibilité des paramètres influençant la concentration veineuse de TCE inchangé chez la souris CD-1 mâle à la fin d'une exposition de 1000 ppm de TCE d'une durée de 4 heures.....174
- Figure 12 : Analyse de sensibilité des paramètres influençant l'excrétion urinaire de TCOH et de TCA chez la souris CD-1 mâle à la fin d'une exposition de 1000 de TCE d'une durée de 4 heures.....175
- Figure 13 : Analyse de sensibilité des paramètres influençant les concentrations de TCOH et de TCA au niveau du foie chez la souris CD-1 mâle à la fin d'une exposition de 1000 de TCE d'une durée de 4 heures.....176

## LISTE DES TABLEAUX

### 1. INTRODUCTION GÉNÉRALE :

Tableau I. Résumé des DL <sub>50</sub> mesurées chez les rongeurs suite à une exposition aiguë au trichloroéthylène.....	31
Tableau II. Résumé des études chroniques effectuées chez le rat et portant sur le trichloroéthylène.....	36
Tableau III. Résumé des études chroniques effectuées chez la souris et portant sur le trichloroéthylène.....	37
Tableau IV. Résumé des études de reprotoxicité comportant des expositions par inhalation de trichloroéthylène.....	40
Tableau V. Résumé des études de reprotoxicité comportant des expositions par voie orale au trichloroéthylène.....	41
Tableau VI. Résumé des études de toxicologie développementale portant sur le trichloroéthylène.....	42
Tableau VII. Résumé des études portant sur la génotoxicité du trichloroéthylène chez la souris.....	46
Tableau VIII. Résumé des études portant sur la génotoxicité du trichloroéthylène chez <i>Salmonella typhimurium</i> et le rat.....	47
Tableau IX. Résumé des études portant sur la génotoxicité du trichloroéthylène chez l'humain et le hamster.....	48
Tableau X. Résumé des études de cancérogénicité portant sur le trichloroéthylène.....	49
Tableau XI. Résumé des études épidémiologiques portant sur l'impact d'une exposition au TCE.....	55
Tableau XII. Normes d'exposition au TCE selon les différents organismes américains.....	58

## 2. CHAPITRE DEUXIÈME :

Tableau XIII. Résumé des différents modèles TCBP construits pour le trichloroéthylène et/ou ses métabolites.....	69
--	----

## 3. PREMIER ARTICLE:

Tableau 1. Half-life ( $t_{1/2}$ ) values (Mean $\pm$ SD) of trichloroethylene, trichloroacetic acid and total trichloroethanol in blood, liver and testis of male CD-1 mice exposed to TCE vapours during four hours.....	92
Tableau 2. Area under the concentrations versus time curve (AUCs) [nmol/ml*h (blood); nmol/gr*h (tissues)] of trichloroethanol (TCOH) and trichloroacetic acid (TCA) and ratio of AUCs on TCE exposure (AUC/Conc).....	93

## 4. DEUXIÈME ARTICLE :

Tableau 1. Urinary excretion of TCA and TCOH following inhalation exposure to TCE.....	124
Tableau 2. Levels of <i>p</i> -nitrophenol hydroxylase activity in murine testis and epididymis.....	125

## 5. TROISIÈME ARTICLE :

Tableau I. Paramètres physiologiques du TCE utilisés dans le modèle TCBP pour la souris CD-1 mâle.....	160
Tableau II . Paramètres métaboliques du TCE et de ses métabolites utilisés dans le modèle TCBP pour la souris CD-1 mâle.....	161
Tableau III . Coefficients de partage du TCE mesurés dans divers organes chez la souris CD-1 mâle (n=28-44).....	162

Tableau IV. Comparaison de la surface sous la courbe concentrations en fonction du temps (SSC) et de la demie-vie du TCE en fonction d'une exposition aiguë à différentes doses par diverses voies d'administration (intraveineuse, intrapéritonéale ou respiratoire) chez la souris CD-1 mâle.....	163
---	-----

## LISTE DES ABBRÉVIATIONS

ACGIH: American Conference of Industrial Hygienists

ACSL: Advanced Continuous Simulation Language

ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry

AUC: Area under the concentration versus time curve (SSC)

BDCM: Bromodichlorométhane

Ca<sup>2+</sup> : Calcium

CH: Hydrate de chloral

CL<sub>50</sub> : Concentration létale pour 50% d'une population

C<sub>max</sub> : Concentration maximale

CYP450: Cytochrome P-450

DCA: Acide dichloroacétique

DCVC : S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cystéine

DCVG : S-(1,2-dichlorovinyl)-glutathion

DCVCG : S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cystéinyglycine

DCVSH: S-(1,2-dichlorovinyle)-thiol

DL<sub>50</sub>: Dose létale pour 50% d'une population

EPA : Environmental Protection Agency

GSH : Glutathion

GST : Glutathion- S- transférase

IARC: International Agency for Research on Cancer

K<sub>m</sub>: Constante d'affinité de Michaëlis-Menten

NADCVC : N-acétyl-dichlorovinylcystéine

NIOSH : National Institute for Occupational Safety and Health

NTP : National Toxicology Program

PBPK : Physiologically based toxicokinetic

SNC: système nerveux central

SSC: Surface sous la courbe de concentrations en fonction du temps

t<sub>1/2</sub>: demie-vie

TCBP: Toxicocinétique à base physiologique

TCA : Acide trichloracétique

TCE : Trichloroéthylène

TCOG : Trichloroéthanol glucuronidé

TCOH : Trichloroéthanol

Vmax: Vitesse maximale de transformation

VEMP : Valeur d'exposition moyenne pondérée

WHO: World Health Organization (Organisation Mondiale de la Santé)

## REMERCIEMENTS

Je désire remercier sincèrement le Dr Robert Tardif pour la confiance qu'il m'a démontrée en me proposant ce projet de recherche, ainsi que pour son soutien moral et ses précieux conseils tout au long de ces deux années.

Je remercie également Madame Ginette Charest-Tardif pour sa précieuse aide, tant à ce qui a eu trait aux manipulations expérimentales, qu'à la conception du modèle. Merci encore pour ta patience, ta confiance et ton support.

J'aimerais également remercier toutes les personnes qui, d'une façon ou d'une autre, m'ont apporté leur support dans la réalisation de ce projet. Parmi elles, je remercie Mylène Beaudoin, Annie St-Pierre, Geneviève Hamelin, l'équipe du département de santé environnementale et santé au travail, l'Institut de Recherche Robert-Sauvé en Santé et Sécurité au Travail ainsi que le Fonds pour la Recherche en Santé du Québec.

Je remercie du fond du cœur tous les gens qui me sont proches et qui m'auront soutenue moralement tout au long de ces deux dernières années. Un merci tout spécial à une amie exceptionnelle, Priscilla, ainsi qu'à mes parents, Nicole et Michel pour votre patience et votre écoute extraordinaire.



CHAPITRE PREMIER

**INTRODUCTION GÉNÉRALE**

## 1.1. Considérations générales

### 1.1.1. Propriétés physico-chimiques

Le trichloroéthylène ( $C_2HCl_3$ ) est un hydrocarbure halogéné, non saturé et de faible poids moléculaire (131,39 g/mole). Il est connu sous plusieurs autres appellations comme le trichlorure d'acétylène, le 1,1,2-trichloroéthylène, le trichloroéthène, le trichlorure d'éthylène ou le TCE.

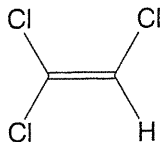


Figure 1. Structure chimique d'une molécule de trichloroéthylène

À température ambiante, le trichloroéthylène se retrouve sous la forme d'un liquide clair, transparent ou légèrement bleuâtre, et qui dégage une odeur se rapprochant de celle du chloroforme. C'est un liquide très volatil et non visqueux (pression de vapeur de 57,8 mmHg à 20°C et point d'ébullition de 86,7°C). Le TCE est faiblement soluble dans l'eau (1,1 g/L à 25°C), mais est soluble dans divers solvants comme le chloroforme, l'acétone, l'alcool et le diéthylique. Sa densité est de 1,4649 mg/L à 20°C et son coefficient de partage octanol/eau (log Kow) est de 2,29-2,42 (EPA, 2001).

Le trichloroéthylène est un produit relativement stable dans l'air, mais qui devient instable en présence de lumière et d'humidité, entraînant soit la production de gaz toxiques et irritants comme le chlorure d'hydrogène ou la production d'acide hydrochlorique. Les impuretés les plus souvent rencontrées dans le trichloroéthylène de type commercial sont le tétrachloroéthylène, le tétrachlorure de carbone, le chloroforme, le 1,1,2-trichloroéthane et le benzène (EPA, 2001).

La méthode analytique la plus largement utilisée pour quantifier la présence de TCE dans des échantillons est la chromatographie en phase gazeuse avec détection par capture d'électrons. Les limites de détection pouvant être obtenues dans la plupart des laboratoires sont de 0,9 ng/L dans l'eau et entre 1,5 et 75 pg/m<sup>3</sup> dans l'air (Gouvernement du Canada, 1993; WHO, 2000).

### 1.1.2. Sources

Le trichloroéthylène est produit par chloration de l'éthylène ou du chlorure d'éthylène (Gouvernement du Canada, 1993). Trois procédés peuvent être utilisés et entraînent la formation du TCE : un procédé d'oxychlorination à haute température où le dichlorure d'éthylène réagit avec du chlore et/ou du chlorure d'hydrogène et de l'oxygène, menant ainsi à la formation de TCE et de tétrachloroéthylène. Un procédé de chloration directe peut aussi être utilisé lorsque du dichlorure d'éthylène réagit avec du chlore et forme du TCE et du tétrachloroéthylène (ATSDR, 1997). Enfin, le TCE peut aussi être produit à partir de la déhydrochlorination du tétrachloroéthylène (WHO, 1985).

Jusqu'à tout récemment, on considérait qu'il n'existait aucune source naturelle de trichloroéthylène dans l'environnement. Cependant, Abrahamsson et coll. (1995) ont démontré l'existence de plusieurs espèces d'algues marines provenant de la famille des Rhodophytes, comme *Asparagopsis taxiformis* et *Falkenbergia hillebrandii*, ainsi que d'une espèce d'algue microscopique marine (*Porphyridium purpureum*) qui produisent du TCE au niveau des régions tempérées, subtropicales et tropicales du globe. Leur taux de production de trichloroéthylène varie entre 0,022 et 3400 ng/g de poids frais. Toutefois, on considère que les émissions de TCE provenant de ces sources sont négligeables (Wu et Schaum, 2000). Le trichloroéthylène

peut aussi être produit dans les eaux souterraines suite à la biodégradation du tétrachloroéthylène (Gouvernement du Canada, 1993).

Depuis 1985, le Canada ne produit plus de trichloroéthylène sur son territoire; les quantités utilisées sont donc principalement importées des États-Unis. En 1989, les quantités importées annuellement au Canada ont atteint 1,6 kt, pour se situer à 3,0 kt en 1994. Bien que l'utilisation du trichloroéthylène ait beaucoup diminuée depuis une vingtaine d'années, celle-ci a augmentée de nouveau depuis l'interdiction au Canada, en 1996, d'utiliser le 1,1,1-trichloroéthane pour le nettoyage de pièces métalliques (Mirza et coll., 2000). Auparavant, l'utilisation du 1,1,1-trichloroéthane lors de ces opérations était beaucoup plus importante que celle du TCE (En 1989, 14,5 kt vs 1,3 kt respectivement) (Gouvernement du Canada, 1993).

### 1.1.3. Utilisations

Le trichloroéthylène (TCE) a été décrit pour la première fois, en 1864, par un chimiste allemand du nom de Emil Fischer. Initialement, ce solvant a servi au dégraissage de pièces métalliques et, par la suite, dans le procédé de nettoyage à sec. En 1911, pour la première fois, K.B. Lehmann a démontré que le trichloroéthylène pouvait être utilisé efficacement en tant qu'anesthésique général. De plus, vers 1915, Oppenheim a rapporté que 12 patients souffrant de névralgies épileptiformes avaient été traités efficacement par l'inhalation de vapeurs de trichloroéthylène. Dans ce cas-ci, le TCE a, d'une part, servi d'agent analgésique et l'inhalation de vapeurs de TCE a, durant un certain temps, aussi été utilisée comme méthode de traitement de cette maladie (Hewer, 1975).

Jusqu'en 1977, le TCE a été utilisé à titre d'agent extractant des oléorésines d'épices, de la caféine, des graisses et des huiles naturelles (Maull et Lash,

1998; EPA, 2001). Le trichloroéthylène a aussi été utilisé en tant que véhicule pour l'épandage de certains pesticides et fongicides, en plus d'entrer dans la composition de produits cosmétiques et pharmaceutiques, et de servir d'additif dans les nourritures pour animaux. Depuis, son utilisation dans ces domaines a été interdite vu son potentiel cancérigène chez les animaux (ATSDR, 1997; Maull et Lash, 1998). Enfin, depuis quelques années, l'usage du TCE dans l'industrie du nettoyage à sec a été remplacé par celui du tétrachloroéthylène, considéré comme moins nocif (ATSDR, 1997).

De nos jours, le trichloroéthylène sert principalement au dégraissage à la vapeur et au nettoyage à froid de pièces métalliques dans les secteurs de l'industrie automobile et des métaux. Aux États-Unis, environ 80-85% du TCE produit sert au nettoyage de pièces métalliques étant donné son pouvoir d'extraction des graisses, huiles, cires et goudrons (ATSDR, 1997; EPA, 2001). En 1994, 93% du TCE utilisé au Canada servait au dégraissage de pièces métalliques (Environnement Canada, 2001). L'industrie du textile utilise le trichloroéthylène pour son pouvoir extractant afin de nettoyer le coton, la laine et certains autres tissus, mais il sert aussi en tant que solvant au niveau des opérations de nettoyage à sec et de finitions des tissus (ATSDR, 1997). Le TCE peut aussi être utilisé à titre de solvant dans les peintures, vernis, décapants et adhésifs. Environ 5% de la production de trichloroéthylène entre dans la composition de plusieurs autres composés chimiques organiques comme le tétrachloroéthylène et le chlorure de vinyle (ATSDR, 1997). Enfin, une faible quantité du trichloroéthylène importée sert comme fluide de transfert de chaleur à basse température dans certains appareils de refroidissement (Gouvernement du Canada, 1993).

Parmi les produits d'usage domestique contenant du trichloroéthylène, nous retrouvons les liquides correcteurs de machines à dactylographier, les décapants à peinture, les adhésifs, les détachants et les produits de nettoyage de tapis (Gouvernement du Canada, 1993; ATSDR, 1997).

#### 1.1.4. Voies d'exposition

Au Canada et aux États-Unis, la source principale d'émission de trichloroéthylène provient des vapeurs émanant des activités de dégraissage. Néanmoins, certaines quantités de TCE peuvent aussi être émises par d'autres sources telles que les usines de traitements d'eau et d'égouts, les décharges publiques, les incinérateurs, les fosses sceptiques, les réservoirs d'entreposage ainsi que par l'élimination de produits contenant du trichloroéthylène (ex : colles, adhésifs, peintures) (Wu et Schaum, 2000).

La majeure partie du trichloroéthylène produit et utilisé est relâché dans l'atmosphère, mais des quantités non négligeables de trichloroéthylène peuvent aussi être retrouvées au niveau des eaux de surface, du sol et de la nourriture contaminée (ATSDR, 1997). Les voies d'exposition pour l'homme deviennent alors l'inhalation de l'air ambiant (intérieur ou extérieur) ainsi que l'ingestion d'eau ou de nourriture contaminée. Entre 1988 et 1994, le *Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III) a effectué la mesure des concentrations sanguines de TCE auprès de 677 personnes non exposées professionnellement et représentant les différents segments de la population américaine (âge, race, genre et région de résidence). On a démontré qu'environ 10% de la population américaine présentait des niveaux détectables de trichloroéthylène dans le sang (moyenne de  $0.015 \mu\text{g/L}$ ) (Wu et Schaum, 2000).

La présence de trichloroéthylène dans l'air ambiant se traduit en une exposition de la population générale à ce solvant. L'exposition serait plus élevée en milieu industriel et urbain comparativement au milieu rural. Une étude menée aux États-Unis par Brodzinsky et Singh (1982) (citée dans ATSDR, 1997) a montré des niveaux de TCE en milieu urbain et rural qui étaient respectivement de 1,2 ppb et 0,03 ppb. Dann et Wang (1992) (cités dans Gouvernement du Canada, 1993) ont mesuré, entre 1988 et 1990, les

concentrations moyennes de TCE dans l'air ( $0,07$  à  $0,96 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) dans 11 villes canadiennes. La concentration maximale a été mesurée en milieu urbain et à proximité d'industries (Pointe-aux-Trembles, Qc) et était de  $19,98 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , tandis que la concentration moyenne en milieu rural (Walpole Island, Ont) était d'environ  $0,18 \mu\text{g}/\text{m}^3$ . Enfin, une étude menée par l'EPA indique que les concentrations ambiantes de TCE sont de  $0,01$ - $0,03$  ppb dans l'hémisphère Nord comparativement à moins de  $0,003$  ppb dans l'hémisphère Sud (ATSDR 1997).

Par ailleurs, les données du *Aerometric Information Retrieval System* (AIRS 1998) indiquent un niveau moyen extérieur de l'ordre de  $0,88 \mu\text{g}/\text{m}^3$ . En considérant un débit ventilatoire moyen de  $14 \text{ L}/\text{min}$  ( $20 \text{ m}^3$  d'air/jour), l'absorption quotidienne moyenne d'un individu serait d'environ  $18 \mu\text{g}/\text{jour}$ . L'*Agency for Toxic Substance and Disease Registry* (ATSDR) rapporte, quant à elle, des valeurs moyennes allant de  $11$  à  $33 \mu\text{g}/\text{jour}$  (Wu et Schaum, 2000; EPA, 2001).

Une exposition additionnelle au trichloroéthylène proviendrait de l'air ambiant intérieur. En effet, les niveaux d'exposition à l'intérieur d'un bâtiment peuvent être égaux ou supérieurs à ceux rencontrés à l'extérieur (ATSDR 1997). Par exemple, l'utilisation d'eau contaminée par le TCE (douches, nettoyage, vaisselle) peut augmenter significativement l'exposition dû à la volatilisation de ce produit dans l'air à partir de l'eau. Une étude menée par McKone et Knezovich (1991) ont montré que le transfert du trichloroéthylène à partir de l'eau d'une douche vers l'air était de  $61\%$ , et ce, indépendamment de la température de l'eau. Ils en ont conclu que la prise d'une douche avec de l'eau contaminée durant  $10$  minutes résultait en une exposition quotidienne comparable à celle obtenue en buvant de l'eau contaminée (ATSDR, 1997).

En fait, le trichloroéthylène est l'un des principaux polluants des eaux souterraines aux États-Unis (ATSDR, 1997). En effet, dans  $93\%$  des cas, les

systèmes d'eau publics des États-Unis sont alimentés par des sources d'eau souterraines, et, entre 9% et 34% de ces sources d'eau potable sont contaminées par le TCE (EPA, 1995; ATSDR, 1997). Néanmoins, ces niveaux de contamination demeurent bas pour ce qui est des systèmes d'eau publics. Par contre, environ 10% de la population américaine est desservie par des puits privés qui ne sont pas soumis aux mêmes réglementations que le système public (EPA, 1995 cité dans EPA, 2001). En Allemagne, des niveaux mesurables de TCE ont été détectés dans l'eau potable dans 40% des cas ( $<0,001-21\mu\text{g/L}$ ) et avec des niveaux de plus de  $1\mu\text{g/L}$  dans 5,5% des cas (WHO, 2000).

Au Canada, de manière générale, les concentrations de TCE dans les eaux de surface ne dépassent pas  $1\mu\text{g/L}$  et la plus grande partie des approvisionnements d'eau potable renferme moins de  $0,2\mu\text{g/L}$  de TCE, à l'exception de certaines sources d'eau souterraines. En effet, ce sont dans les eaux souterraines que l'on relève les plus fortes concentrations de TCE dans l'eau. Par exemple, les concentrations de TCE dans les eaux souterraines ont varié entre  $102\mu\text{g/L}$  et  $12950\mu\text{g/L}$  pour un même site (décharge de la ville de Mercier, Qc) (Gouvernement du Canada, 1993). Le fait que le TCE soit un contaminant important au niveau du sol des sites d'enfouissements des déchets fait en sorte que les eaux souterraines près de ces sites sont plus contaminées en raison de la migration du TCE des sols vers l'eau (ATSDR, 1997). L'absorption moyenne quotidienne de TCE via l'ingestion d'eau contaminée a été établie à moins de  $2\mu\text{g/jour}$  par le WHO (2000).

Au Canada et aux États-Unis, il est défendu, depuis 1977, d'utiliser le trichloroéthylène dans la préparation d'aliments transformés (ex : margarine, confitures, tartelettes). Des niveaux de TCE ont toutefois été décelés lors d'une étude effectuée en Alberta et portant sur 34 groupes d'aliments. Des concentrations de 51 et 410 ppb de TCE (limite de détection de 50 ppb) ont



été mesurées dans un composé de fromage/beurre et dans des tartes aux fruits, respectivement (Gouvernement du Canada, 1993). Aux États-Unis, du trichloroéthylène a été détecté dans une variété d'aliments. De fait, des concentrations variant entre 12 ppb et 16 ppb et 440,3 et 3600 ppb ont respectivement été mesurées dans la viande et la margarine (ATSDR, 1995). L'apport quotidien de TCE suite à l'ingestion de nourriture contaminée a été évalué entre 1 et 7  $\mu\text{g}/\text{jour}$ . Toutefois, cet apport est beaucoup plus faible dans les pays où l'utilisation du TCE dans la préparation d'aliments transformés a été interdite (WHO, 2000).

L'exposition professionnelle au TCE peut aussi contribuer significativement à l'exposition totale. L'exposition professionnelle est principalement rencontrée lors des activités de dégraissage. Une étude conduite, entre 1981 et 1983, par le *National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH) a montré qu'environ 401 000 personnes provenant de 23 225 usines des États-Unis étaient potentiellement exposées au TCE (NTP, 1998). Sandonato (1985) (cité dans ATSDR, 1997) a mesuré des concentrations de TCE de manière individuelle chez des travailleurs d'usine utilisant le TCE à titre de solvant. Les niveaux mesurés ont alors varié de 1,2 ppm à 5,1 ppm. On considère que des niveaux de trichloroéthylène plus élevés que les normes admises en industrie seraient dus à de mauvaises pratiques de travail (négligence au niveau de la maintenance de l'équipement, contrôles inadéquats, mauvaises procédures de travail) (ATSDR, 1997).

### 1.1.5. Devenir environnemental

#### 1.1.5.1 Air

La majorité du TCE utilisé lors des opérations de dégraissage de pièces métalliques est relâchée dans l'atmosphère par évaporation. Les émissions découlant de ce type d'activités représentent environ 91% des émissions atmosphériques de TCE (ATSDR 1997). Vu sa tension de vapeur élevée (57,9 mm Hg à 20°C), le TCE présent dans l'air est généralement sous forme de vapeur et non adsorbé aux particules ambiantes. Par contre, étant donné sa solubilité modérée dans l'eau (1,1 g/L), une partie du TCE gazeux peut être entraîné au sol lors des précipitations (ATSDR, 1997; Wu et Schaum, 2000).

Une fois dans l'atmosphère, un processus de dégradation du TCE s'enclenche et implique une réaction avec des radicaux hydroxyles. Le TCE peut alors réagir par photo-oxydation avec ceux-ci pour produire du phosgène, du chlorure de dichloroacétyle et du chlorure de formyle (Gouvernement du Canada, 1993). Le TCE atmosphérique a une demie-vie s'échelonnant entre 1 et 11 jours, dépendamment des facteurs comme la latitude, la saison et la concentration de radicaux hydroxyles dans l'air; la présence de smog augmente la vitesse de dégradation du TCE (demi-vie de l'ordre de quelques heures) (EPA, 2001). Au Canada, la demie-vie du TCE varie entre 1 et 3 jours durant l'été selon la latitude (Gouvernement du Canada, 1993).

#### 1.1.5.2. Eau

La source principale d'élimination du TCE présent dans l'eau est la volatilisation; la valeur de la constante de la loi de Henry pour le TCE (0.83 kPa.m<sup>3</sup>/mole à 20°C) suggère qu'il se dissipe rapidement de la surface de l'eau vers l'atmosphère. Une étude de Dilling et coll. (1975) a montré que la demie-vie du TCE dans l'eau était d'environ 21 minutes à 25°C en milieu

ouvert. Bien que le taux de volatilisation du TCE soit rapide dans l'eau, celui-ci dépend tout de même de plusieurs facteurs comme la température, les mouvements de l'eau, la profondeur de l'eau et le vent (ATSDR, 1997). Par exemple, un modèle mathématique construit par Thomas (1982) (cité dans ATSDR, 1997) a démontré que la demie-vie du TCE dans l'eau pouvait augmenter jusqu'à 3,4 heures au niveau d'une rivière de 1m de profondeur, s'écoulant à 1 m/sec et en présence de vent (3 m/sec).

Au niveau des eaux souterraines, la biodégradation est souvent le processus de transformation le plus important, bien qu'il demeure lent. Dans ce cas, la demie-vie du TCE s'échelonne de plusieurs mois à quelques années (Wu et Schaum, 2000). Le dichloroéthylène, le chloroéthane et le chlorure de vinyle représentent les principaux produits de dégradation du TCE (Smith et Dragun, 1984)

#### 1.1.5.3. Sols et sédiments

Le TCE présent dans le sol a généralement tendance à se volatiliser dans l'air, mais compte tenu de sa solubilité moyenne dans l'eau, il peut aussi migrer vers les eaux souterraines par des processus de diffusion, advection, dispersion du liquide pur ou diffusion gazeuse à travers les porosités du sol. Le TCE se retrouve dans les particules du sol et des sédiments ayant une haute teneur en matières organiques (Gouvernement du Canada, 1993). La biodégradation du TCE dans les sols et les eaux souterraines est lente et s'étend de quelques mois à quelques années (Wu et Schaum, 2000). Par conséquent, le TCE présent dans le sol peut continuer à contaminer les eaux souterraines et les sols longtemps après que la source ait été éliminée.

### 1.1.6. Impact sur la santé

Le TCE affecte un grand nombre d'organes, plus particulièrement le foie, les reins ainsi que le système nerveux central (SNC) suite à une exposition par la voie orale, respiratoire ou dermique.

On a longtemps utilisé le TCE à titre d'agent anesthésique, et ce, jusqu'à ce que ses effets toxiques sur le SNC soient reconnus (Maull et Lash, 1998). Des effets importants ont été dénotés, tels que des étourdissements, des maux de têtes, de la fatigue, des nausées, une vision trouble, une faiblesse généralisée ainsi qu'une perte de mémoire temporaire. Ces effets sont tous réversibles lorsque l'exposition cesse et leur sévérité est fonction de la concentration (Boyes et coll., 2000). L'exposition à de hautes concentrations de TCE cause des problèmes d'arythmie cardiaque, d'infarctus et, dans certains cas, la mort chez l'humain et les rongeurs (ATSDR, 1997). Suite à une exposition chronique, les effets au niveau du SNC peuvent devenir irréversibles et être accompagnées de changements comportementaux importants (Gist et Burg, 1995).

L'utilisation du TCE est maintenant interdite dans la fabrication d'aliments transformés ainsi que dans celle de produits cosmétiques compte tenu de son potentiel cancérigène démontré chez les rongeurs (Gouvernement du Canada, 1993). En effet, le TCE induit l'apparition de tumeurs au niveau du foie chez la souris mâle et femelle, augmente l'incidence de tumeurs pulmonaires chez la souris mâle et de tumeurs rénales chez le rat mâle (Lash et coll., 2000b). L'exposition prolongée au TCE entraîne aussi des altérations du système immunitaire tant chez la souris que l'humain (ATSDR, 1997). Les études épidémiologiques ont, quant à elles, associées l'exposition au TCE à l'apparition de cancers du foie et des reins et, possiblement, à la maladie de Hodgkin et à l'apparition de lymphomes autres que ceux de Hodgkin.

Chez les rongeurs, le TCE exerce aussi une certaine toxicité au niveau des organes reproducteurs mâles en plus d'être considéré comme une substance tératogène. Chez l'humain, les études épidémiologiques ont démontré un potentiel de toxicité néonatale associé à l'exposition maternelle au TCE ou à l'ingestion d'eau contaminée par les enfants (Bove et coll., 1995).

En somme, le potentiel cancérigène du TCE et sa présence dans l'air, le sol et l'eau font du TCE une préoccupation importante en environnement et en santé publique. Les différentes instances gouvernementales de plusieurs pays ont déjà adopté des mesures sévères quant à son utilisation et à son élimination afin de diminuer le plus possible les niveaux d'exposition de la population générale.

## 1.2. Toxicocinétique

### 1.2.1. Absorption

Compte tenu de son caractère à la fois volatil et lipophile, le TCE pénètre rapidement les membranes biologiques et est donc rapidement absorbé au niveau des muqueuses respiratoires, du tractus gastro-intestinal et de la peau (Lash et coll., 2000a).

Suite à une exposition au TCE par voie respiratoire, le TCE est considérablement absorbé au niveau de l'endothélium alvéolaire vu son coefficient de partage sang/air élevé (9,2 à 21,9 dépendamment des espèces) (Fisher et coll., 1991; Clewell et coll., 2000). En fait, chez l'humain, entre 25% et 64% du TCE inhalé est absorbé suite à des expositions à des niveaux de l'ordre de 100 à 200 ppm de TCE (Astrand et Ovrum, 1976; WHO, 2000). Par contre, puisque le coefficient de partage sang/air des humains (9,2) est plus faible que

celui des rats (15-21,9) et souris (13,4-15,91), le TCE est absorbé en plus grande quantité chez les rongeurs comparativement aux humains (Fisher et coll., 1991; Clewell et coll., 2000). Néanmoins, les concentrations sanguines maximales sont rapidement atteintes, et ce, indépendamment des espèces. En effet, l'exposition de souris à 100 et 600 ppm (4 heures) de TCE produit des concentrations maximales de TCE (Cmax) dans le sang, atteintes dès la fin de l'exposition, de l'ordre de  $0,86 \pm 0,33 \mu\text{g/ml}$  et  $7,32 \pm 1,59 \mu\text{g/ml}$  (Greenberg et coll., 1999). Les Cmax sanguines de TCE ont été atteintes en 1 à 2 heures lorsque des souris ont été exposées à des concentrations variant entre 110 et 750 ppm de TCE durant 4 heures et en 4-6 heures chez des rats exposés à 500 et 600 ppm de TCE (Fisher et coll., 1991).

Le caractère lipophile et non polaire (non ionisé) du TCE facilite son absorption au niveau du tractus gastro-intestinal par un mécanisme de diffusion passive (Lash et coll., 2000a). Ceci a été démontré par Prout et coll. (1985) qui ont exposé des souris et des rats à du trichloréthylène radioactif (1000 mg/kg) par voie orale. Leurs résultats ont montré qu'entre 95 et 99% des doses initiales étaient éliminées et que les Cmax de TCE au niveau du sang survenaient entre 1 heure (souris) et 3 heures (rat) après l'administration. De plus, Dekant et coll. (1986) ont effectué une étude de gavage (200 mg/kg de TCE radioactif dans l'huile de maïs) chez des souris et des rats. Ils ont observé qu'en moins de 72 heures, environ 98% de la dose administrée avait été excrétée dans l'urine et l'air expiré. Enfin, l'exposition de souris au TCE par voie orale (500 mg/kg de TCE dans l'huile) a montré que les Cmax sanguines de TCE apparaissent moins de 15 minutes après l'exposition (Templin et coll., 1993). Il est aussi à noter que l'absorption à partir du tractus gastro-intestinal conduit à un effet de premier passage au niveau du foie où il y a formation des métabolites (D'Souza et coll., 1985).

Toutefois, l'absorption gastro-intestinale peut être influencée par le type de véhicule utilisé, par le jeûne et la dose de TCE administrée. L'utilisation d'un véhicule aqueux par rapport à une huile favorise l'absorption du TCE; l'absorption du TCE est plus rapide et les Cmax sanguines de TCE sont environ

15 fois plus élevées chez des rats exposés au TCE (18 mg/kg) via un véhicule aqueux par rapport à des rats ayant reçu la même dose de TCE dans un même volume d'une solution d'huile végétale (Withey et coll., 1983). Les Cmax de TCE obtenues chez des rats à jeun exposés par voie orale à 10 mg/kg de TCE sont 2 à 3 fois plus élevées que celles de rats nourris, tandis que la demie-vie du TCE se trouve prolongée chez les animaux nourris (112 versus 174 minutes). C'est dire que la présence de nourriture dans le tractus gastro-intestinal altère l'absorption du TCE et diminue sa fraction bio-disponible (D'Souza et coll., 1985). Enfin, l'absorption systémique du TCE est un processus dose-dépendant, car l'exposition de rats au TCE par voie orale à des doses de plus de 16 mg/kg dans l'Alkamuls® entraîne une diminution significative de l'absorption et une augmentation de la demie-vie du TCE (Lee et coll., 2000).

La peau représente une voie d'entrée non négligeable pour le TCE. En effet, l'absorption cutanée du TCE est rapide lorsque la peau est exposée à des solutions aqueuses contenant du TCE ou au TCE liquide (pur) (ATSDR, 1997; Lash et coll., 2000a). À cet effet, lors d'expositions de rats au TCE par voie cutanée, les Cmax de TCE dans l'air alvéolaire ont été mesurées 1-2 heures après le début des expositions. En revanche, bien que l'exposition à du sol contaminé au TCE ait également donné lieu à une absorption cutanée aussi rapide, les concentrations alvéolaires sont toutefois demeurées stables pendant environ 5 heures; le sol devient ainsi une source disponible pour une absorption continue et prolongée du TCE (Poet et coll., 2000).

Chez les humains, l'absorption cutanée demeure très rapide suite à des expositions à des solutions aqueuses contenant du TCE. Sato et Nakajima (1978) ont montré que les Cmax sanguines et pulmonaires apparaissent 5 minutes après la fin de l'immersion de la main d'un sujet dans une solution de TCE durant 30 minutes. De plus, l'exposition d'une main dans une solution contenant du TCE (810-1300mg/l de TCE) pendant 2 heures a permis de mesurer des Cmax de TCE dans l'air expiré entre 36 et 96 minutes après le début de l'exposition (Poet et coll., 2000). Enfin, il a été démontré que 30% de la dose de TCE absorbée suivant la prise d'une douche de 10,4 minutes avec de

l'eau contaminée provenait de l'absorption cutanée du TCE (Nakai et coll., 1999).

### 1.2.2. Distribution

Le TCE est rapidement distribué à travers tout le corps via la circulation sanguine. Les principaux organes impliqués sont le foie, les reins, les poumons, le système nerveux, les muscles et les tissus adipeux compte tenu du caractère lipophile du TCE. Néanmoins, le TCE peut aussi se concentrer dans les ovaires, les spermatozoïdes (ATSDR, 1997; Gist et Burg, 1995). Le foie représente le principal organe métabolisant le TCE et ce, indépendamment de la voie d'exposition (Lash et coll., 2000a).

Le TCE s'accumule majoritairement au niveau des tissus adipeux étant donné que le coefficient de partage tissus:sang au niveau de ceux-ci est très élevé (36,38-41,30 pour la souris) par rapport à ceux des autres organes (ex: foie : 1,73, reins : 2,07, muscles : 2,36) (Greenberg et coll., 1999). La demie-vie du TCE dans les tissus adipeux a été estimée à 3,5 à 5 heures, tandis qu'au niveau des organes richement perfusés (foie, poumons, reins), la demie-vie du TCE n'est que de quelques minutes (Davidson et Beliles, 1991 cités dans Lash et coll., 2000a). La redistribution du TCE à partir des tissus adipeux donne lieu à une source d'exposition interne au TCE et permet une distribution continue de TCE aux organes cibles et ce, même après le retrait de la source d'exposition. En d'autres mots, l'accumulation du TCE au niveau des tissus adipeux a un impact majeur au niveau de la cinétique de ce produit dans l'organisme (Lash et coll., 2000a ; Albanese et coll., 2002).

Il a été démontré que le TCE pouvait aussi traverser la barrière placentaire et, ainsi, atteindre très rapidement la circulation fœtale et le liquide amniotique (Gist et Burg, 1995). Du TCE a été détecté, à la naissance, dans le sang de bébés



dont les mères avaient été anesthésiées à l'aide de TCE. De plus, chez des brebis et des chèvres exposées à des doses de TCE comparables à celles utilisées pour l'anesthésie, on a observé un transfert très rapide du TCE vers la circulation fœtale (C<sub>max</sub> au niveau du fœtus 40 à 50 minutes après l'exposition maternelle) (ATSDR, 1997).

### 1.2.3. Biotransformation

Le TCE est principalement métabolisé au niveau du foie, mais d'autres organes comme les reins et les poumons peuvent aussi métaboliser le TCE (Lash et coll., 2000a; Pastino et coll., 2000). Le métabolisme du TCE est considéré comme saturable et dose-dépendant (Dekant et coll., 1986; Dallas et coll., 1991). Il existe deux voies de biotransformation du TCE, bien que la biotransformation par le cytochrome P450 (CYP450) soit la plus importante :

- 1) La voie du CYP450 qui forme l'hydrate de chloral (CH), le chlorure de dichloroacétyle, le trichloroéthanol (TCOH), l'acide trichloracétique (TCA) et l'acide dichloroacétique (DCA).
- 2) La voie de conjugaison avec le glutathion (GSH) qui permet la synthèse du S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cystéine (DCVC) à partir du S-(1,2-dichlorovinyl)-glutathion (DCVG) et de l'acide mercapturique correspondant.

Les figures 2 et 3 représentent les différentes voies de biotransformation du TCE.

#### 1.2.3.1. Cytochrome P450

Au niveau du CYP450, quatre isoformes différents peuvent métaboliser le TCE; le CYP1A1/2, le CYP2B1/2, le CYP2C11/6 et le CYP2E1 (Nakajima et coll., 1992; Forkert et coll., 2002). Parmi ceux-ci, le CYP2E1 est le plus important, et ce, indépendamment de l'espèce, à cause de sa forte affinité pour le TCE (Lash et coll., 2000a). Lipscomb et coll. (1997) ont démontré que, chez l'humain,

l'isoforme CYP3A, tout en étant également impliqué dans le métabolisme du TCE, demeurerait de faible importance par rapport à l'activité du CYP2E1.

La première réaction du TCE avec le CYP450 engendre la formation de trois composés; l'oxyde de TCE, le chlorure de dichloroacétyle et le chloral. On a longtemps cru que l'oxyde de TCE était un intermédiaire nécessaire à la formation du chloral, mais plusieurs auteurs ont démontré que la production de chloral ne passait pas par la formation d'un intermédiaire, bien que l'oxyde de TCE soit un produit de la réaction entre le TCE et le CYP450 (Green et Prout, 1985; Lash et coll., 2000a). Quant au chlorure de dichloroacétyle produit par le CYP450, celui-ci est converti en DCA suite à la perte d'un atome de chlore (déshalogénéation oxydative).

L'hydrate de chloral (CH) provient de la réaction d'hydratation du chloral. Celui-ci est rapidement oxydé ou réduit, formant ainsi du TCA ou du TCOH :

- Oxydation de l'hydrate de chloral

L'oxydation du CH par une aldéhyde oxidase, la chloral déshydrogénase, au niveau du cytosol ou des mitochondries produit le TCA (Clewell et coll., 2000). Une partie du TCA, subit, à son tour, une déchlorination réductive pour former du DCA tandis que la majeure partie du TCA produit est excrété dans l'urine (Templin et coll., 1993; Elfarra et coll., 1998).

- Réduction de l'hydrate de chloral

La majeure partie du CH est réduite au niveau du cytosol par l'ADH pour former le TCOH (Lipscomb et coll., 1996; Clewell et coll., 2000). Celui-ci, peut, par la suite, former du trichloroéthanol glucuronidé (TCOG) par l'action de l'UDP-glucuronyl transférase ou, par une réaction d'oxydation avec le CYP450, engendrer de nouvelles molécules de TCA. Le TCOG produit est ensuite excrété dans l'urine, mais une large fraction du TCOG demeure dans l'organisme et est secrétée activement dans la bile. Le TCOG dans la bile est hydrolysé par une  $\beta$ -glucuronidase au niveau de l'intestin et reforme ainsi du

TCOH. Celui-ci est alors réabsorbé au niveau de la circulation sanguine (circulation portale) où il peut à nouveau être métabolisé en TCA ou en TCOG (Stenner et coll., 1997). La recirculation entérohépatique du TCOH représente donc une source considérable contribuant à la production de TCA (Stenner et coll., 1997, 1998).

Les étapes du métabolisme du TCE ainsi que la présence des différents métabolites, CH, TCA et TCOH, sont similaires d'une espèce à l'autre (Lipscomb et coll., 1997; Lash et coll., 2000a). En effet, chez toutes les espèces, le TCOH est le principal métabolite suivant la formation du CH (Lipscomb et coll., 1996). Toutefois, les quantités de métabolites sont beaucoup plus élevées chez la souris que chez le rat et l'humain (Prout et coll., 1985). En outre, la production de quantités significatives de DCA est un phénomène unique à la souris (Dekant et coll., 1986; Templin et coll., 1995; Elfarrar et coll., 1998).

La capacité métabolique vis-à-vis le TCE varie énormément entre les différentes espèces. En effet, il a été démontré que les rongeurs ont une capacité métabolique plus élevée que les humains (souris>rats>humains), ce qui les expose à de plus grandes quantités de métabolites toxiques (Green et Prout, 1985; Elfarrar et coll., 1998; Greenberg et coll., 1999). La capacité métabolique des humains à transformer le CH en TCA et TCOH équivaut à environ 60% de celles des rongeurs (Lipscomb et coll., 1996). Enfin, la recirculation entérohépatique est un phénomène plus important chez les humains que les rongeurs (Barton et Clewell, 2000).

Il existe aussi des différences liées au sexe au niveau du métabolisme. Elfarrar et coll. (1998) ont démontré que des souris femelles avaient une plus grande capacité à métaboliser le TCE en CH, mais que la capacité à transformer le CH était, par contre, plus faible. Ceci aurait pour conséquence d'augmenter le risque pour la souris femelle. Par contre, cette même étude n'a pas démontré d'effets liés au sexe chez l'humain.

### 1.2.3.2. Voie de conjugaison au glutathion (GSH)

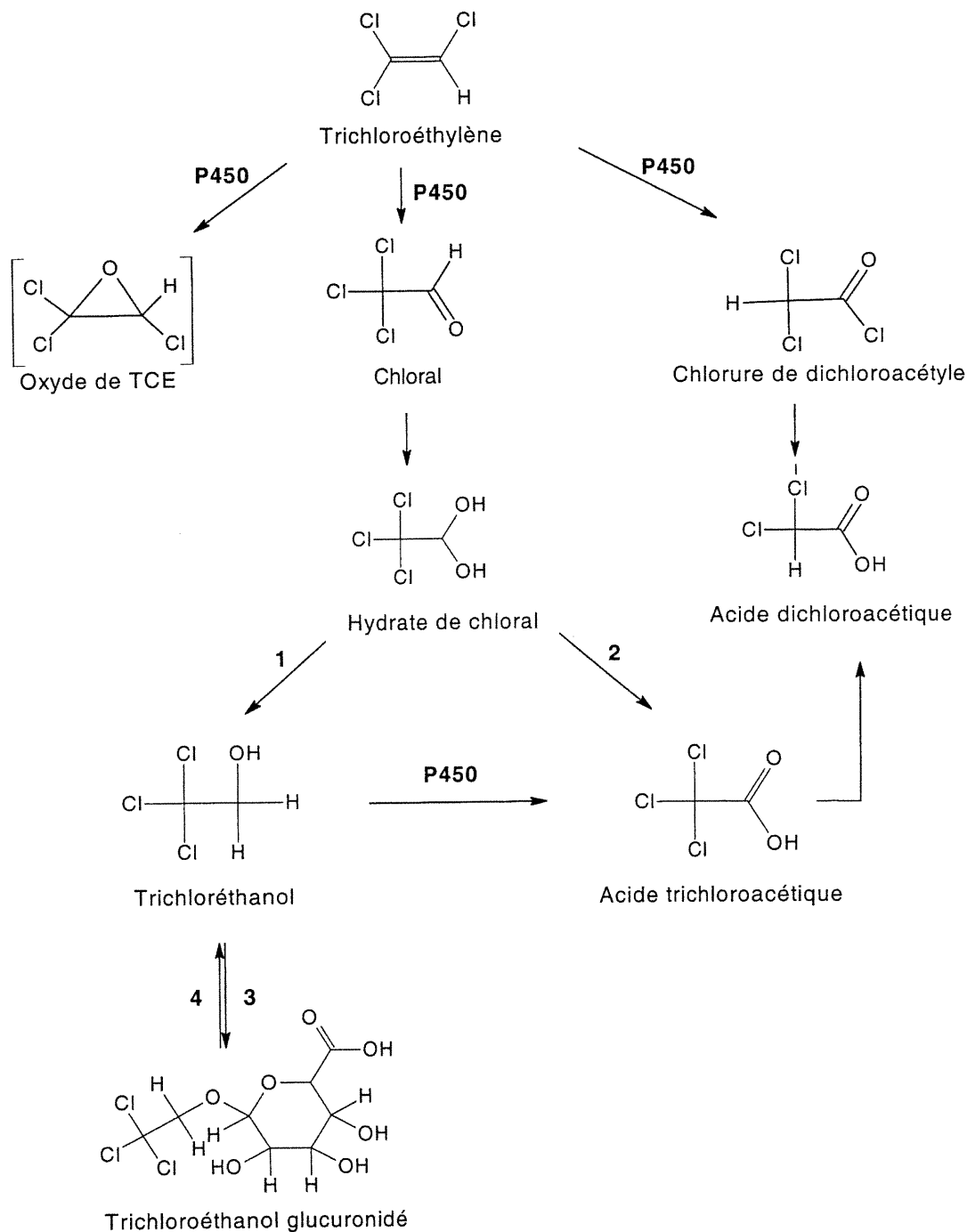
La première phase consiste à conjuguer le TCE au GSH par l'intermédiaire d'une enzyme, la glutathion-S-transférase (GST). Le TCE perd alors un atome de chlore et se lie à une molécule de GSH, formant ainsi le *S*-(1,2-dichlorovinyl)-glutathion (DCVG). Les GST sont des enzymes retrouvées principalement au niveau du foie; celles-ci représentent jusqu'à 5% des protéines cytosoliques du foie de rats et d'humains, mais sont aussi présentes, en moindre quantité, dans la plupart des tissus. Cette réaction de conjugaison peut donc se produire au niveau des organes cibles, comme le rein, en plus du foie (Lash et coll., 2000a).

Le DCVG, comme la plupart des conjugués du glutathion, est transformé en un conjugué cystéinyglycine, le *S*-(1,2-dichlorovinyl)-*L*-cystéinyglycine (DCVCG) par l'intermédiaire de la  $\gamma$ -glutamyltransférase. Par la suite, diverses dipeptidases membranaires clivent ce composé pour former le DCVC. Dans le cas où le DCVG serait formé au foie, le transport de celui-ci jusqu'aux reins dépend de la recirculation entérohépatique; le DCVG excrété dans la bile est converti par les bactéries intestinales en DCVC qui peut, alors, être réabsorbé dans la circulation sanguine (Anders et coll., 1988).

Au niveau du rein, la bioactivation du DCVC en un thiol réactif, le *S*-(1,2-dichlorovinyle)-thiol (DCVSH), est assurée par l'action d'une  $\beta$ -lyase qui hydrolyse le DCVC (Anders et coll., 1988, Clewell et coll., 2000a). Cet intermédiaire très instable se réarrange rapidement en diverses espèces réactives et alkylant les molécules nucléophiles présentes dans les cellules (*N,N*-diéthylchlorothioacétamide et acide chlorothioacétique). Par contre, une partie du DCVC peut être transformée suite à une réaction de *N*-acétylation au niveau du réticulum endoplasmique en *N*-acétyl-dichlorovinylcystéine (NADCVC ou acide mercapturique) et être excrétée dans l'urine (Lash et coll., 2000a).

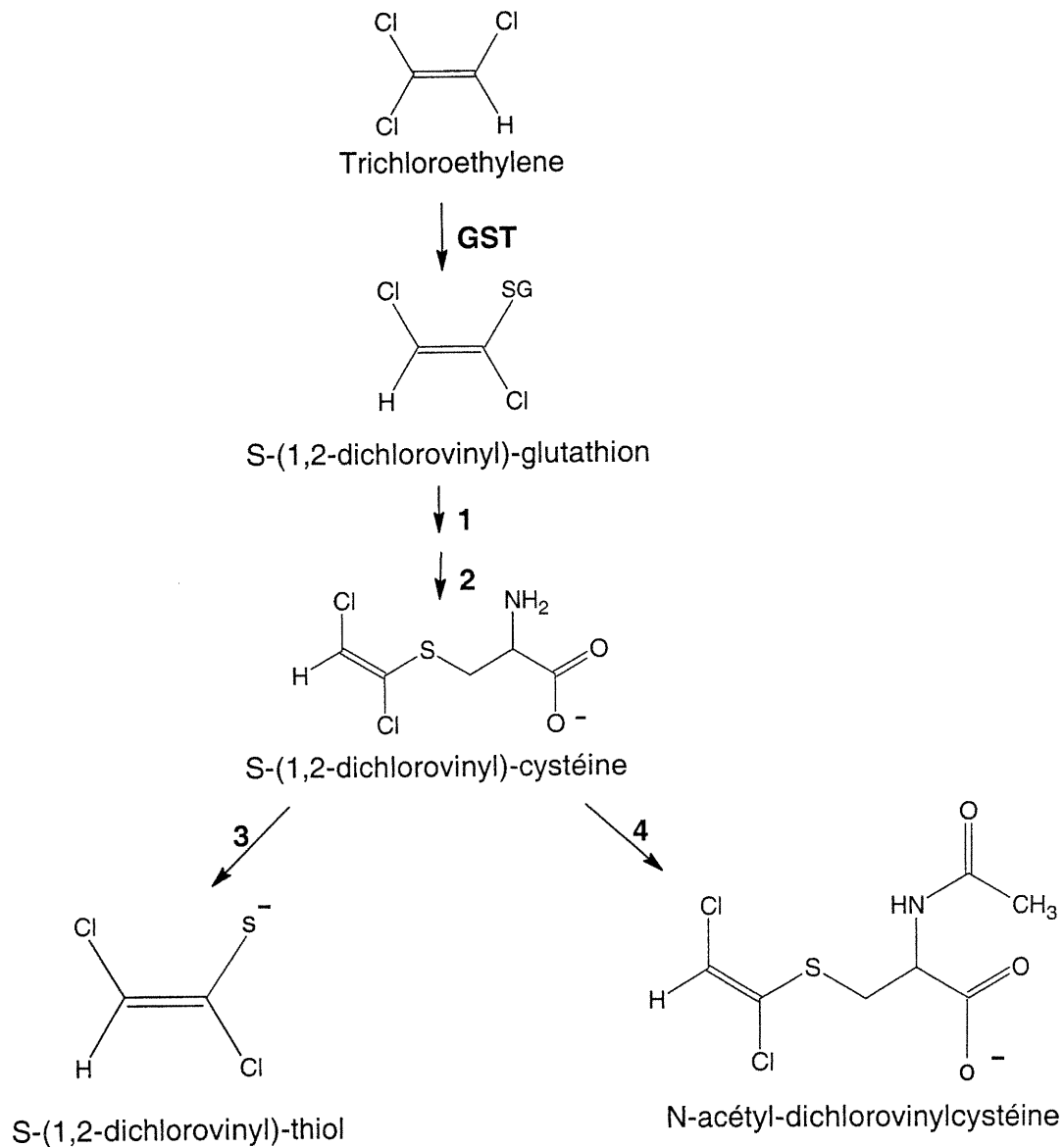
La capacité métabolique pour cette voie est beaucoup plus élevée chez la souris que le rat et l'humain. En effet, le taux maximal de formation du DCVG au niveau du foie et des reins est environ 5 fois plus faible chez l'humain par rapport à la souris, mais est comparable au taux mesuré chez le rat (Lash et coll., 2000a).

De plus, les quantités de DCVC, au niveau du rein, sont jusqu'à 12 fois plus élevées chez la souris que chez le rat, rendant ce produit beaucoup plus toxique pour la souris que le rat (Clewell et coll., 2000). Enfin, la conjugaison au GSH est un processus beaucoup plus important chez les rongeurs mâles que chez les femelles (Lash et coll., 2000a).



**Figure 2.** Étapes de la biotransformation du TCE par le cytochrome P450.

1: Aldéhyde déshydrogénase, 2: Chloral déshydrogénase, 3: UDPglucuronyl-transférase, 4: Recirculation entérohépatique (D'après Forkert et coll., 2002 et Clewell et coll., 2000).



**Figure 3.** Étapes de la biotransformation du TCE par la conjugaison au glutathion. **1:**  $\gamma$ -glutamyltransférase, **2:** cytéinyl-glycine dipeptidase, **3:**  $\beta$ -lyase, **4:** N-acétyltransférase (D'après Forkert et coll., 2002 et Clewell et coll., 2000).

#### 1.2.4. Élimination

Le TCE est éliminé soit par les réactions de biotransformation décrites plus haut ou sous forme inchangée dans l'air expiré ou de CO<sub>2</sub> également dans l'air expiré. Suite à des expositions de 100 et 600 ppm de [<sup>14</sup>C]TCE (6h), entre 0,79 et 2,4% du TCE absorbé par des souris a été expiré sous forme inchangée et environ 9,5% sous forme de CO<sub>2</sub>. Chez les rats, ces proportions ont varié entre 2 et 4% pour le TCE inchangé et entre 0,4 et 4,8% pour le CO<sub>2</sub> lors d'exposition de 100-600 ppm de [<sup>14</sup>C]TCE (6h) ou après administration orale de 2-20 mg/kg de [<sup>14</sup>C]TCE (Stott et coll., 1982; Dekant et coll., 1986).

Les différents métabolites du TCE sont distribués dans l'organisme. L'accumulation de TCE au niveau des poumons serait responsable de l'accumulation de l'hydrate de chloral au niveau des cellules de Clara (Green et coll., 1997). Le TCA est le principal métabolite retrouvé dans le sang, principalement à cause de son affinité élevée pour les protéines plasmatiques qui est responsable de sa longue demie-vie (Muller et coll., 1972; Lash et coll., 2000a). En effet, la demie-vie du TCA dans le sang de souris est estimée à 4h suivant une exposition par inhalation de TCE (42-748 ppm), comparativement à une demie-vie variant de 4,6 à 7,5 heures suite à une exposition par voie orale de TCE (20 à 200 mg/kg) (Fisher et coll., 1991; Templin et coll., 1993). Le TCOH et le TCOG sont excrétés beaucoup plus rapidement puisque leur demie-vie dans le sang est évaluée entre 0,2 et 3 heures chez la souris exposée à des doses orales de TCE (30 à 395 mg/kg) (Templin et coll., 1993).

Le TCE via ses métabolites peut aussi former des adduits avec les protéines sanguines ainsi que des liaisons covalentes avec certaines enzymes (CYP450), inhibant ainsi leur activité (Halmes et coll., 1996, 1997). La formation d'adduits avec les protéines facilite ainsi la distribution du TCE et de ses métabolites réactifs dans le corps et prolonge leur présence dans l'organisme (Halmes et coll., 1996). Mazullo et coll. (1992) ont démontré que le TCE pouvait se lier de façon covalente à l'ADN, à l'ARN et aux protéines chez le rat et la souris exposés au TCE par voie intra-péritonéale.



L'excrétion urinaire représente la voie majeure d'élimination des métabolites du TCE; entre 55 et 90% de la dose de TCE y est retrouvée dépendamment des espèces (Dekant et coll., 1986; ; Stott et coll., 1986; Templin et coll., 1995). Les principaux métabolites qui y sont retrouvés sont le TCOG, le TCOH et le TCA. En effet, le TCOH libre ou sous forme conjuguée (TCOG/TCOH) représente entre 75 et 90% des métabolites urinaires du TCE tandis que le TCA représente moins de 15% chez les rongeurs (Green et Prout, 1985; Dekant et coll., 1986). Les métabolites urinaires mineurs sont l'acide monochloroacétique (0,1%) et le *N*-(hydroacétyl)-aminoéthanol, toutes espèces confondues (Clewell et coll., 2000). Chez les rongeurs, le DCA (0,1 à 1%) et l'acide oxalique (<0,1%) sont aussi considérés comme des métabolites urinaires mineurs (Dekant et coll., 1986). L'excrétion biliaire et fécale sont des voies d'élimination considérées comme mineures compte tenu du fait que la majeure partie du TCOG produit et qui pourrait être excrétée dans la bile ou les fèces est réabsorbée grâce à la recirculation entérohépatique. En fait, l'excrétion fécale de TCOG représente moins de 7% de l'excrétion totale chez les souris et les rats exposés par inhalation au TCE (Stott et coll., 1986; Clewell et coll., 2000).

### 1.3. Toxicité

#### 1.3.1. Mécanismes

Il est généralement admis que le TCE exerce la plupart de ses effets toxiques à travers la formation de métabolites réactifs et ce, indépendamment de l'espèce (Elcombe et coll., 1985).

Il existe deux hypothèses majeures quant au mode d'action permettant au TCE d'induire des effets toxiques au niveau du système nerveux central

(SNC). Dans un premier cas, les effets neurologiques découlant d'une exposition à court terme résulteraient de l'action du TCE lui-même sur la fluidité des membranes cellulaires. Cette hypothèse est soutenue par le fait que les effets au niveau du SNC sont rapidement réversibles suite au retrait de la source d'exposition, ce qui serait plus difficile dans le cas où les métabolites du TCE seraient responsables de la toxicité neurologique (Clewell et coll., 2000). Néanmoins, des études ont déjà prouvé que le TCOH était le métabolite responsable des effets neurologiques découlant d'une exposition au CH et, de plus, les concentrations sanguines de TCOH forment une relation linéaire avec les effets du SNC (Barton et Clewell, 2000).

La cancérogénicité du TCE découle d'un processus complexe compte tenu du fait que les effets sont différents d'un organe à l'autre et différent d'une espèce à l'autre. En effet, bien que les études aient démontré un potentiel cancérogène du TCE chez le rat et la souris, ces cancers n'affectent pas les mêmes organes. Selon les études réalisées jusqu'ici, il existe une multitude de mécanismes d'action du TCE conduisant à l'apparition de cancers dans les différents organes cibles.

La majorité des études indiquent que les effets cancérogènes du TCE ne résultent pas d'une attaque directe du TCE ou de ses métabolites sur l'ADN; le potentiel cancérogène du TCE découlerait plutôt de l'induction d'une réponse cytotoxique et d'une subséquente prolifération cellulaire compensatoire au niveau des tissus atteints. L'intensification de cette prolifération cellulaire augmente, de par son action, la probabilité d'apparition de mutations spontanées durant la réplication (Elcombe et coll., 1983, Bull et coll., 1993, ATSDR, 1997). Le TCE, le TCA et le DCA peuvent tous induire la prolifération des peroxysomes; en particulier, le TCA qui est relativement plus puissant que le DCA (DeAngelo et coll., 1989, Nakajima et coll., 2000). Le mécanisme exact menant de la prolifération cellulaire à la cancérogénèse demeure toutefois encore inconnu.

Quant à l'apparition de tumeurs au niveau du foie, la communauté scientifique tend à accepter que l'exposition au TCE ou à certains de ses métabolites enclenche une prolifération des peroxysomes qui se traduit, à son tour, par l'apparition de tumeurs (Bull, 2000). Le TCA et le DCA seraient les intermédiaires responsables de l'apparition de tumeurs hépatocellulaires. En effet, des études chez la souris ont démontré que l'exposition au TCA ou au DCA provoquait, à elles seules, l'apparition de cancers au niveau du foie (Herren-Freund et coll., 1987). De plus, il est reconnu que ces deux métabolites sont des proliférateurs des peroxysomes, sans, toutefois, provoquer les mêmes effets au niveau du foie : le TCA induit la prolifération des peroxysomes et augmente le dépôt de lipides au niveau du foie, résultant ainsi en une accumulation de lipofucine dans cet organe, tandis que l'exposition au DCA induit une forte augmentation du poids du foie associée à une cytomégalie avec accumulation de glycogène. Cette cytomégalie, quant à elle, se caractérise par le développement de zones de nécrose récurrentes qui provoquent une augmentation de la prolifération cellulaire autour des régions affectées (Bull et coll., 1993).

Il a toutefois été proposé que les substances capables d'induire la prolifération des peroxysomes au niveau du foie provoquent aussi une réponse cancérigène chez les rongeurs par l'activation d'un récepteur, le *peroxysome proliferator-activated receptor* (PPAP) (Bull, 2000; Nakajima et coll., 2000). Ce récepteur peut ensuite interagir avec d'autres récepteurs, causant une augmentation de la synthèse des enzymes peroxisomales et la promotion de la transcription de gènes.

Une autre hypothèse demeurant à vérifier implique une modification, par le TCA et le DCA, des systèmes de communication cellulaires contrôlant la division cellulaire et la mort cellulaire, ce qui pourrait entraîner des altérations au niveau de la réplication cellulaire, de la sélection et de l'apoptose et, ainsi, conduire à l'apparition de cellules cancéreuses au niveau du foie (Bull, 2000).

Enfin, bien que le TCE et le DCA aient un faible pouvoir génotoxique, il a été démontré qu'ils pouvaient, à hautes doses, se lier de façon covalente à l'ADN et aux protéines et, ainsi, induire des bris de l'ADN simple brin (Nelson et Bull, 1988, Moore et Harrington-Brock, 2000). Tao et coll., (1999, 1998) ont montré que le TCE, le TCA et le DCA inhibaient la méthylation de l'ADN et augmentaient l'expression des promoteurs de deux proto-oncogènes, *c-myc* et *c-jun*. Comme ces deux proto-oncogènes participent au contrôle de la prolifération cellulaire et de l'apoptose, l'induction de leur expression pourrait être associée à la promotion de tumeurs hépatiques.

Il existe beaucoup moins d'études portant sur les mécanismes induisant l'apparition de tumeurs pulmonaires. Les poumons peuvent métaboliser une partie du TCE puisqu'on y a découvert la présence d'enzymes du CYP450. Les cellules de Clara ont la capacité de métaboliser efficacement le TCE en CH et TCA, le CH étant le métabolite majeur au niveau de ces cellules (Green, 2000). Le métabolisme du CH dans les poumons a donc été identifié comme une source de toxicité potentielle au niveau des cellules de Clara. Cette toxicité est probablement due au fait que l'alcool déshydrogénase (ADH), une des enzymes responsables de la dégradation de CH, a une activité beaucoup plus faible dans le poumon comparativement à celle au foie, entraînant ainsi une accumulation de CH au niveau des cellules de Clara (Green *et coll.*, 1997, Green, 2000). Cette accumulation cause sans doute des dommages cellulaires importants. Il en résulte une prolifération cellulaire qui, par son action, augmente la probabilité de mutations et, par conséquent, la formation de tumeurs au niveau du poumon (Green, 2000). Le CH est mutagénique à hautes doses. Ceci implique donc qu'il existe une possibilité que l'induction de tumeurs pulmonaires soit également due à l'activité génotoxique du CH et non à l'hyperplasie découlant de la cytotoxicité qu'il produit (Moore et Harrington-Brock, 2000).

Il est généralement admis que les métabolites du TCE provenant de la conjugaison au GSH sont responsables de la majorité des effets toxiques au niveau des reins. Les métabolites les plus susceptibles d'induire une toxicité rénale et l'apparition de cancers sont le DCVG et le DCVC (Lash et coll., 2000b). Il existe toutefois plusieurs mécanismes possibles pouvant induire l'apparition de tumeurs rénales suite à une exposition au TCE. L'accumulation de l' $\alpha_{2u}$ -globuline ( $\alpha_{2u}$ ) chez le rat mâle pourrait être l'une des sources de cancérogénèse des reins. En effet, suite à une exposition au TCE, des gouttelettes protéiques augmentent en nombre et en taille au niveau des cellules épithéliales du tubule proximal. Par la suite, les métabolites se lient de manière irréversible à  $\alpha_{2u}$ , amenant ainsi la dégradation par les lysosomes de ce complexe. L'accumulation excessive des protéines réabsorbées sous forme de lysosomes secondaires au niveau du tubule rénal proximal cause alors une altération des fonctions lysosomiales et conduit à la nécrose tissulaire. Il y a alors induction de la prolifération cellulaire en réponse à la perte de cellule au niveau du tubule proximal et, par conséquent, une augmentation des dommages à l'ADN au niveau des cellules en réplication. Cette augmentation pourrait être alors la cause probable du développement des tumeurs rénales (Lash et coll., 2000b).

Un mécanisme d'action différent pourrait être relié à la génotoxicité des métabolites du TCE dans l'induction de tumeurs rénales. Le DCVC et le DCVG sont reconnus comme étant mutagéniques chez différentes souches de bactéries lors du test de Ames et chez diverses cellules animales (Lash et coll., 2000b; Moore et Harrington-Brock, 2000).

Le DCVC induit une augmentation des concentrations intracellulaires de calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Cette augmentation a pour conséquence d'inhiber les fonctions et le métabolisme des mitochondries, d'induire le bris de l'ADN double brin et des changements au niveau de la structure des protéines du

cytosquelette ainsi que la formation de vacuoles au niveau de la membrane (Lash et coll., 2000b). Le rôle critique du  $\text{Ca}^{2+}$  dans le maintien de l'homéostasie cellulaire suggère une implication importante de ce mode d'action au niveau des mécanismes biochimiques associés au DCVC. Plusieurs autres mécanismes d'action sont susceptibles de provoquer l'apparition de tumeurs rénales. L'exposition au DCVC à hautes doses entraîne des réactions de stress oxydatif, d'alkylation de l'ADN et des protéines ainsi que des altérations au niveau du fonctionnement des mitochondries. De plus, l'induction répétée de dommages provoquant la nécrose cellulaire et l'activation des mécanismes de réparation de la cellule conduisent à la prolifération cellulaire. L'exposition chronique ou aiguë au DCVC provoque aussi l'apparition de cytomégalie et de noyaux anormaux au niveau des cellules du tubule (Lash et coll., 2000b). Par conséquent, il est fort probable que des modes d'action différents puissent exister et que la combinaison de ces mécanismes d'action soit nécessaire pour induire l'apparition de tumeurs rénales (ATSDR, 1997; Lash et coll., 2000b).

Le mécanisme d'action le plus probable impliqué au niveau des cellules de Leydig (testicules) serait aussi la prolifération des peroxysomes. Cette prolifération induit l'apparition de cancer en modulant l'expression des facteurs de croissance via l'estradiol (Cook et coll., 1999). En effet, le TCE et ses métabolites peuvent induire l'activité d'une enzyme hépatique, l'aromatase, qui augmente les niveaux d'estradiol dans le sang et les testicules. Les niveaux d'estradiol peuvent alors moduler certains facteurs de croissance et stimuler la prolifération des cellules de Leydig (Cook et coll., 1999).

### 1.3.2. Effets

#### 1.3.2.1. Toxicité aiguë

Le TCE est considéré comme faiblement toxique chez les rongeurs exposés par voie respiratoire ou orale. Un résumé des doses létales 50% (DL<sub>50</sub>) chez les rongeurs est présenté au Tableau I. On a aussi estimé que la concentration létale 50% (CL<sub>50</sub>) chez les rongeurs était plus élevée que 45 mg/litre lors d'une exposition par voie respiratoire et qu'elle variait entre 7 200 et 47 700 ppm chez les rats (WHO, 2000, Gouvernement du Canada, 1993). Chez l'humain, l'ingestion de 7g de TCE par kg de poids corporel ou l'inhalation de 10 000 ppm entraîne la mort (WHO, 1985, Pastino et coll., 2000). La mort est généralement causée par une dépression du système nerveux central induite par l'exposition à de hautes concentrations de TCE (ATSDR, 1997).

**Tableau I.** Résumé des DL<sub>50</sub> mesurées chez les rongeurs suite à une exposition aiguë au trichloroéthylène.

Espèce	Voie d'exposition		Sources
	Orale (mg/kg)	Intra-péritonéale (mg/kg)	
Souris CD-1	2402 - 2443	3000 -3210	Tucker et coll., 1982, WHO, 1985
Rat	4920 - 7208	2725	WHO, 1985, ATSDR, 1997

Suite à une exposition aiguë ou subaiguë au TCE, le foie, les reins et le système nerveux sont les organes les plus affectés. Les effets sont généralement dose-dépendants et sont normalement réversibles après arrêt de l'exposition (Stotts et coll., 1982).

Une exposition aiguë au TCE provoque principalement des effets au niveau du système nerveux central (SNC). Des effets tels que des étourdissements, des maux de têtes, de la fatigue, des nausées, une vision trouble ainsi qu'une faiblesse généralisée surviennent à des concentrations aussi faibles que 100 ppm de TCE chez l'humain (Pastino et coll., 2000). On peut aussi observer un effet anesthésique lorsque l'exposition atteint 2000 ppm de TCE chez l'humain, 6800 ppm (6 min) chez la souris et 15 000 ppm (2 min) chez le rat (Pastino et coll., 2000, WHO, 1985). L'exposition aiguë d'animaux au TCE résulte en des effets similaires à ceux rapportés chez les humains (ATSDR, 1997). La toxicité au niveau du SNC des rongeurs se caractérise par de l'ataxie, de la léthargie, la paralysie des membres arrières et des convulsions (Gist and Burg, 1995). La plupart de ces effets sont réversibles lorsque l'exposition cesse et la sévérité des désordres nerveux est fonction de la concentration (ATSDR, 1997; Boyes et coll., 2000).

Chez les rongeurs, l'exposition aiguë et/ou subaiguë à de hautes concentrations de TCE provoque l'augmentation du poids de certains organes, comme le foie et les reins. Plusieurs études ont démontré qu'une augmentation du poids du foie chez la souris et le rat suivait une exposition par voie orale au TCE (Kimmerle et Eben, 1979; Stotts et coll., 1982; Tucker et coll., 1982). Les hépatocytes de souris sont plus sensibles aux effets aigus de l'exposition au TCE puisqu'une diminution de la quantité d'ADN par gramme de tissus, une augmentation de la synthèse d'ADN ainsi que la présence de vacuoles et de nécrose cellulaire au niveau de ces tissus, effets qui ne sont pas observables chez le rat pour une même exposition (Stotts et coll., 1982). De plus, une exposition de 10 jours au TCE entraîne une augmentation de la  $\beta$ -oxydation des peroxysomes chez la souris, mais pas chez le rat (Elcombe, 1985).

Le système rénal des rats est plus susceptible aux effets toxiques aigus du TCE. Chez cette espèce, l'exposition aiguë au TCE entraîne une



augmentation, quoique non-significative, du poids des reins et altère les fonctions des régions tubulaires et glomérulaires du néphron (Stotts et coll., 1982, Maltoni et coll., 1988).

Les poumons sont aussi un organe cible de la toxicité aiguë du TCE. Chez la souris, une exposition unique au TCE (100 ppm) durant 6 heures entraîne la formation de vacuoles et la dilatation du réticulum endoplasmique au niveau des cellules de Clara ainsi qu'une diminution de l'activité du CYP450 au niveau des poumons. Ces dommages cellulaires ne sont toutefois pas observables chez des rats exposés sous les mêmes conditions, bien qu'il y ait une diminution de l'activité du CYP450 (Odum et coll., 1992).

Le TCE est aussi reconnu comme étant un irritant dermique, tant chez les humains que les rongeurs. L'irritation de la peau, des rougeurs et des dermatites résultent souvent du contact direct entre la peau et une solution concentrée de TCE. Ce contact résulte alors en une dessiccation de la peau due aux propriétés dégraissantes de ce solvant (Gist et Burg, 1995).

L'inhalation de très hautes concentrations de TCE lors d'empoisonnement ou d'anesthésie ont causé des problèmes d'arythmie cardiaque et d'infarctus du myocarde chez l'humain (ATSDR, 1997).

#### 1.3.2.2. Toxicité chronique

L'exposition chronique au TCE engendre le même genre de désordres neurologiques qu'une exposition aiguë, et ce, chez toutes les espèces (ATSDR 1997). Des travailleurs exposés de façon chronique au TCE ont rapporté des symptômes de fatigue, d'étourdissements, de maux de tête et de nausées. D'autres effets neurologiques découlant d'expositions chroniques au TCE (niveaux inconnus) incluent la perte de mémoire, une fonction acoustique altérée, des dommages au nerf crânien VII, un

comportement psychotique ainsi que l'altération des fonctions cognitives (ATSDR, 1997). Des rats exposés par gavage à 500 et 1000 mg/kg/jour de TCE dans l'huile de maïs pendant 103 semaines ont montré des signes importants d'ataxie, de léthargie, de convulsions ainsi qu'une paralysie des pattes arrières (NTP, 1988, ATSDR, 1997). Ces lésions au SNC peuvent devenir irréversibles et être accompagnées de changements comportementaux importants (Gist et Burg, 1995).

Les résultats des différentes études chroniques réalisées avec le TCE sont présentées dans les tableaux II et III. Ils suggèrent que le TCE est toxique et cancérigène au niveau de plusieurs organes chez les rongeurs, mais qu'il existe une importante différence inter-espèce au niveau de la formation et de l'importance de ces lésions. En effet, le TCE induit l'apparition d'effets toxiques et de tumeurs au niveau du foie chez la souris mâle et femelle, augmente l'incidence de tumeurs pulmonaires chez la souris mâle, tandis que la toxicité et les tumeurs rénales ne sont induites que chez le rat mâle. L'augmentation du poids de certains organes, comme le foie et le rein, résultant d'une cytomégalie est aussi l'un des effets les plus souvent rapportés chez les animaux exposés de façon chronique au TCE par voie orale ou respiratoire. L'exposition prolongée au TCE entraîne aussi des altérations du système immunitaire tant chez la souris que l'humain. Sanders et coll. (1982) ont démontré que l'ingestion d'eau contaminée au TCE (18-800 mg/kg) a provoqué l'inhibition de la réponse immunitaire à médiation cellulaire, des effets sur les fonctions des macrophages et sur les cellules souches myéloïdes, et ce, tant chez le mâle que la femelle. De plus, ils ont observé une inhibition de la réponse immunitaire humorale chez la femelle, la rendant ainsi plus susceptible que le mâle aux effets immunologiques d'une exposition au TCE. Chez l'humain, des populations ayant été exposées via l'ingestion d'eau contaminée au TCE ont montré des problèmes de lymphocytose, une augmentation significative du nombre de lymphocytes T

ainsi qu'un déséquilibre au niveau de la proportion de cellules T auxiliaires par rapport aux cellules T suppressives (ATSDR, 1997).

Les études chroniques indiquent donc que l'organe cible, le sexe et une susceptibilité propre à chaque espèce sont des facteurs pouvant influencer grandement la formation de tumeurs. Les raisons pouvant expliquer ces différences de susceptibilité sont plus amplement abordées dans la section sur la cancérogénicité (section 1.3.2.5. ).

**Tableau II.** Résumé des études chroniques effectuées chez le rat et portant sur le trichloroéthylène.

Souche	Voie	Dose/concentration	Toxicité	Source
Wistar	Inhalation	0,100 et 500 ppm de TCE (6h/jour, 5j/semaine, 18 mois)	Aucun effet	Henschler et coll., 1980
Sprague-Dawley	Inhalation	50, 150 ou 450 ppm de TCE (7h/jour, 5j/semaine, 104 semaines)	Augmentation non-significative des tumeurs rénales	Fukuda et coll., 1983
Sprague-Dawley	Orale ou Inhalation	250 mg/kg/jour (52 semaines) 300 ou 600 ppm de TCE (7h/j, 5j/semaine, 104 semaines)	Nucléocytose des tubules rénaux	Maltoni et coll., 1986
Sprague-Dawley	Orale	500 et 1000 mg/kg/jour (103 semaines)	Cytomégalie des tubules rénaux Néphropathie toxique	NTP, 1988
Sprague-Dawley	Inhalation	100 à 600 ppm de TCE (7h/jour, 5j/semaine 104 semaines)	Augmentation des tumeurs des cellules de Leydig Adéno-carcinomes rénaux Cytokaryomégalie des cellules des tubules rénaux	Maltoni et coll., 1988

**Tableau III.** Résumé des études chroniques effectuées chez la souris et portant sur le trichloroéthylène.

Souche	Voie	Dose/concentration	Toxicité	Source
NMRI	Inhalation	0,100 et 500 ppm de TCE (6h/jour, 5j/semaine, 18 mois)	Augmentation de la mortalité Lymphomes malins chez la femelle	Henschler et coll., 1980
Suisse	Orale	1,8 ou 2,4 mg/kg/jour (18 mois)	Augmentation de la taille du foie Diminution du poids corporel Adénomes et carcinomes pulmonaires Augmentation non-significative des tumeurs hépatiques	Henschler et coll., 1984
CD-1	Eau de breuvage	393 à 793 mg/kg/jour (26 semaines)	Diminution du poids corporel Hypertrophie du foie et des reins Augmentation de l'excrétion urinaire de protéines Diminution des taux d'érythrocytes et de lymphocytes	Tucker et coll., 1982
CD-1	Eau de breuvage	18-800 mg/kg (6 mois)	Inhibition de l'immunité à médiation cellulaire Inhibition de l'immunité humorale	Sanders et coll., 1982
CD-1	Inhalation	50, 150 ou 450 ppm de TCE (7h/jour, 5j/semaine, 104 semaines)	Carcinomes hépatocellulaires Adéno-carcinomes pulmonaires	Fukuda et coll., 1983
B6C3F1	Eau de breuvage	40 mg de TCE/L (61 semaines)	Augmentation du poids du foie	Herren-Freund et coll., 1987
B6C3F1	Inhalation	100 à 600 ppm de TCE (7h/jour, 5j/semaine, 78 semaines)	Tumeurs pulmonaires Carcinomes hépatocellulaires	Maltoni et coll., 1988
B6C3F1	Orale	800 mg/kg/jour (76 semaines)	Adénomes hépatocellulaires Carcinomes hépatocellulaires	Anna et coll., 1994

### 1.3.2.3. Reprotoxicité et toxicologie du développement

De nombreuses études ont révélé le potentiel reprotoxique du TCE. Les tableaux IV et V présentent les données produites jusqu'à maintenant. La plupart des études ayant produit des résultats négatifs ont utilisé comme modèle les rongeurs femelles, alors que les résultats obtenus avec les mâles indiquent la présence d'altérations du système reproducteur après exposition au TCE par voie orale ou par inhalation. Il semble donc que le système reproducteur mâle est plus sensible à l'action du TCE que celui des femelles.

Il existe peu de données relatives à la toxicologie néonatale. Le tableau VI résume les données produites à ce sujet. Néanmoins, les résultats obtenus permettent d'affirmer que le TCE est un tératogène important. Il faut, toutefois, mentionner que l'exposition maternelle de rongeurs avant la gestation n'entraîne aucune toxicité fœtale tandis que l'exposition au TCE durant la grossesse provoque des effets tératogènes importants (Dawson et coll., 1993). En fait, le TCE lui-même ne serait pas un agent tératogène. Plusieurs hypothèses ont été émises à savoir que les métabolites oxydatifs du TCE seraient plutôt responsables de la toxicité néonatale du TCE. Il a depuis été démontré que l'exposition au TCA ou au DCA dans l'eau de breuvage durant la gestation entraîne une augmentation des sites de résorption chez des rats femelles exposées ainsi que des malformations cardiaques et squelettiques chez les rejetons (Smith et coll., 1992, Johnson et coll., 1998).

**Tableau IV. Résumé des études de reprotoxicité comportant des expositions par inhalation de trichloroéthylène.**

Espèce	Concentration	Toxicité	Source
Rats Long-Evans (F)	1800 ppm de TCE, (6h/jour, 2 à 5 semaines)	Aucun effet	Dorfmueller et coll., 1979
Souris (M)	100 ppm de TCE (7h/jour, 5 jours)	Augmentation des anomalies morphologiques des spermatozoïdes	Beliles et coll., 1980
Souris CD-1 (M)	2000 ppm de TCE (4h/jour, 5 jours)	Augmentation des anomalies morphologiques des spermatozoïdes	Land et coll., 1981
Rats Wistar et S.D. (F)	500 ppm de TCE (6-7h/jour, 19 jours)	Aucun effet	Hardin et coll., 1981
Lapin New Zealand (F)	500 ppm de TCE (6-7h/jour, 24 jours)	Aucun effet	Hardin et coll., 1981
Rats (M)	100 à 600 ppm de TCE (104 semaines)	Augmentation des tumeurs au niveau des cellules de Leydig	Maltoni et coll., 1988
Humains (M)	Milieu de travail (moyenne de 26,9 ppm de TCE)	Diminution de la production de l'hormone folliculostimulante	Chia et coll., 1997
Humains (M)	Milieu de travail (moyenne de 26,9 ppm de TCE)	Diminution de la production de testostérone et de l'hormone folliculostimulante	Goh et coll., 1998
Rats Wistar (M)	376 ppm de TCE (4h/jour, 5 jours/semaine, 24 semaines)	Diminution des quantités de sperme, de la motilité des spermatozoïdes et de la biosynthèse de testostérone	Kumar et coll., 2000

(M) Mâle; (F) Femelle

**Tableau V. Résumé des études de reprotoxicité comportant des expositions par voie orale au trichloroéthylène.**

Espèce	Véhicule	Dose	Toxicité	Source
Rats Long-Evans (M)	Huile de maïs	0, 10, 100 ou 1000* (6 sem)	Diminution non-significative des quantités de sperme Augmentation des anomalies comportementales lors de la copulation	Zenick et coll., 1984
Rats (F)	Huile de maïs	1000* (2 sem)	Aucun effet au niveau de la reproduction	Manson et coll., 1984
Rats et souris (M, F)	Huile de maïs	1097* (rat), 2239* (souris M) et 1739* (souris F)	Aucun changement histologique au niveau des organes reproducteurs	Maltoni et coll., 1986
Souris C6D2F1 (F)	Intra-péritonéale	24 et 240* (5 jours)	Aucun effet	Cosby et Dukelow, 1992
Souris CD-1 (M, F)	Micro-capsules dans la diète	100, 300 et 700* (2 sem)	Réduction du poids des rejetons Augmentation de la mortalité périnatale Diminution de la motilité des spermatozoïdes (F <sub>0</sub> , F <sub>1</sub> ) Augmentation des anomalies morphologiques des spermatozoïdes (F <sub>1</sub> )	Georges et coll., 1997
Rats F344 (M, F)	Micro-capsules dans la diète	76, 156 et 289* (2 sem)	Diminution du poids des testicules Diminution du nombre d'individus par portée Augmentation des anomalies morphologiques des spermatozoïdes (F <sub>1</sub> )	Lamb et coll., 1997

(M) Mâle; (F) Femelle,  
F<sub>0</sub> Génération exposée, F<sub>1</sub> Génération dont les parents ont été exposés  
\* mg/kg/jour de TCE



**Tableau VI. Résumé des études de toxicologie développementale portant sur le trichloroéthylène.**

Espèce	Voie	Dose/Concentration	Toxicité	Source
Rats	Inhalation	1800 ppm de TCE, (6h/jour, 2-5 semaines)	Anomalies squelettiques Ovaire droit déplacé	Dorfmueller et coll., 1979
	Inhalation	500 ppm de TCE (6-7h/jour, 19 jours)	Aucun effet	Hardin et coll., 1981
	Intra-utérine	1,5 à 1500 ppm de TCE (2 semaines)	Anomalies cardiaques	Dawson et coll., 1990
	Orale (eau de breuvage)	1,5 à 1500 ppm de TCE (avant, avant et durant ou durant la grossesse)	Anomalies cardiaques Aucun effet si l'exposition est avant la grossesse	Dawson et coll., 1993
	<i>In vitro</i>	2,5 à 30 mM de TCE	Diminution de la croissance Anomalies du développement de la tête	Sailienfait et coll., 1995
Souris	Orale	76, 156 et 289 mg/kg/jour de TCE (2 semaines)	Diminution du poids total Diminution du poids des testicules Augmentation des anomalies morphologiques des spermatozoïdes	Lamb et coll., 1997
	Orale	100, 300 et 700 mg/kg/jour de TCE (2 semaines)	Augmentation de la mortalité périnatale Augmentation du poids des organes Diminution de la motilité des spermatozoïdes Augmentation des anomalies morphologiques des spermatozoïdes	Georges et coll., 1997
Poulets	Œufs	1, 5, 19 ou 25 µmole de TCE	Augmentation de la mortalité des embryons Augmentation des malformations (tête, ailes, pattes)	Bross et coll., 1983
	Embryons	2 à 82 µg/g de TCE	Anomalies cardiaques	Loeber et coll., 1988
Lapin	Inhalation	500 ppm de TCE (6-7h/jour, 24 jours)	Aucun effet	Hardin et coll., 1981

#### 1.3.2.4. Génotoxicité

Les tableaux VII, VIII, et IX résument les données portant sur la génotoxicité du TCE. Le TCE est considéré comme faiblement mutagène. Les résultats positifs obtenus seraient plus souvent reliés à l'utilisation de faibles concentrations de stabilisateurs du TCE, tels le 1,2-époxybutane ou l'épichlorohydrine, qu'au TCE lui-même. Ces deux produits sont reconnus comme étant de puissants mutagènes. De plus, des études conduites sans l'utilisation de ces stabilisateurs n'ont pu démontrer de mutations induites par le TCE (McGregor et coll., 1989). Les études *in vitro* démontrant l'apparition de mutations suite à des expositions au TCE ont nécessité, dans la plupart des cas, des concentrations très élevées de TCE, concentrations ne pouvant vraisemblablement pas être rencontrées lors d'études *in vivo*. Néanmoins, il faut considérer le potentiel mutagène des différents métabolites du TCE dans l'évaluation de la capacité d'une exposition au TCE à induire des mutations. En effet, le CH, le DCA et le TCA sont tous capables d'induire des bris au niveau de l'ADN hépatique de souris et de rats (Nelson et Bull, 1988). Ceux-ci sont, toutefois, considérés comme des agents mutagènes de faible puissance. Par contre, le DCVC, est considéré comme mutagène, mais son potentiel génotoxique réel n'a pas encore été étudié et demeure donc encore mal connu (Moore et Harrington-Brock, 2000).

#### 1.3.2.5. Cancérogénicité

Les différentes études portant sur le potentiel cancérigène du TCE sont récapitulées dans le tableau X. Une controverse existe quant au potentiel cancérigène du TCE. En effet, bien que plusieurs études aient démontré l'apparition de tumeurs suivant l'exposition au TCE, plusieurs s'entendent à dire que l'apparition de tumeurs serait due non pas au TCE, mais à ses métabolites. Une multitude de tumeurs ont déjà été observées dans les nombreuses études portant sur le potentiel cancérigène du TCE, seules celles énumérées plus bas sont vraisemblablement susceptibles d'être induites par le TCE ou ses métabolites. Au niveau du foie, le type de tumeurs induites par l'exposition au

TCE sont des adénomes ou des carcinomes tandis qu'on dénote majoritairement des adéno-carcinomes aux poumons et des adénomes, principalement au niveau des tubules proximaux, au niveau des reins.

Il existe une grande variabilité entre les espèces au niveau de la susceptibilité des différents organes. En effet, la souris semble plus sensible au développement de tumeurs hépatiques et pulmonaires, tandis que le rat est plus susceptible de développer des tumeurs rénales. Il est toutefois à noter que bien que l'augmentation de tumeurs rénales ne soit pas significative dans plusieurs des études, ces résultats sont toutefois considérés comme biologiquement significatifs et demeurent très importants puisque ce type de cancer est normalement très rare chez les rats (Lash et coll., 2000b).

L'apparition de tumeurs hépatiques varie beaucoup entre les espèces. Ceci serait dû à des différences inter-espèces au niveau du mécanisme de prolifération des peroxysomes associé à la formation du TCA pour lequel il existe des différences inter-espèces dans la voie métabolique conduisant à sa formation. En effet, les hépatocytes de souris produisent environ 30 fois plus de TCA que ceux des rats qui, eux, en produisent 3 fois plus que les humains. Or, le TCA est reconnu comme étant un inducteur important de prolifération des peroxysomes, ce qui rend le foie des souris beaucoup plus sensible (Elcombe, 1985).

Il existe aussi une grande différence inter-espèce au niveau de la toxicité pulmonaire du TCE. Les souris sont beaucoup plus susceptibles au développement de tumeurs pulmonaires que les rats et les humains (Fukuda et coll., 1983, Maltoni et coll., 1986). Cette sensibilité chez la souris est expliquée par la morphologie de l'appareil respiratoire de la souris ainsi que par sa capacité métabolique plus élevée que chez les autres espèces. Odum et coll., (1992) ont démontré que les cellules de Clara étaient plus abondantes chez la souris et étaient distribuées principalement au niveau des bronches et des bronchioles,

tandis que chez le rat et l'humain, ces cellules sont situées plus profondément, réduisant ainsi leur exposition. De plus, la capacité métabolique plus élevée des souris fait en sorte qu'une plus grande quantité de CH parvient jusqu'aux cellules de Clara, augmentant ainsi la vulnérabilité de cet organe cible.

Le rein est un organe sensible aux dommages causés par des produits chimiques en raison, notamment, de son débit sanguin élevé et de la myriade de mécanismes de transport permettant aux cellules épithéliales des tubules proximaux de concentrer et de filtrer ces produits. En outre, ces cellules contiennent aussi un grand nombre d'enzymes permettant la bioactivation des xénobiotiques (Lash et coll., 2000b). Les effets rénaux sont spécifiques aux espèces et, à cet égard, le rat est considéré comme plus susceptible que l'humain et la souris. En effet, la présence de tumeurs rénales n'a été rapportée que chez les différentes souches de rats. De plus, les mâles seraient plus sensibles à ces effets que les femelles (Maltoni et coll., 1986, 1988).

Ainsi, la formation de tumeurs associées aux expositions au TCE, chez une espèce donnée, dépend principalement de l'organe cible, du sexe et de la susceptibilité propre à cette espèce.

**Tableau VII. Résumé des études portant sur la génotoxicité du trichloroéthylène chez la souris.**

Système	Dose/ concentration	Test	Résultat	Source
Foie	2400* (3jours)	Augmentation de la synthèse d'ADN	+	Stott et coll., 1982
Foie	1000*	Bris de l'ADN Induction de la synthèse d'ADN	- +	Doolittle et coll., 1987
Reins, foie	500 * (7 jours)	Induction de la synthèse d'ADN au niveau des cellules du rein (M) Induction de la synthèse d'ADN au niveau des hépatocytes (M) Induction de la synthèse d'ADN (F)	+ + -	Klauning et coll., 1991
Rein, poumons, foie, estomac,	200µCi/kg de TCE	Liaison du TCE à l'ADN	+	Mazzullo et coll., 1992
Foie	0 à 4000*	Bris de l'ADN simple brin	+	Nelson et Bull, 1988
Foie	100 à 1000* (10 jours)	Induction de la synthèse de l'ADN	+	Dees et Travis, 1993
Foie	800 *(76 semaines)	Mutations du codon H-ras 61	+	Anna et coll., 1994
Lymphocytes, reins et moelle osseuse	0, 5, 500 et 5000 ppm de TCE (6h)	Lymphocytes et reins Échanges entre chromatides sœurs Aberrations chromosomiques Induction de micro-noyaux Moelle osseuse Induction de micro-noyaux	- - - +	Kligerman et coll., 1994
Foie	1000 * (5, 12 ou 33 jours)	Diminution de la méthylation de l'ADN Diminution de la méthylation des promoteurs de protooncogènes Augmentation de l'expression de l'ARNm de protooncogènes	+ + +	Tao et coll., 1999

\*mg/kg/jour

**Tableau VIII.** Résumé des études portant sur la génotoxicité du trichloroéthylène chez *Salmonella typhimurium* et le rat.

Espèce	Système	Dose/concentration	Test	Résultat	Source
<i>Salmonella Typhimurium</i>		0,32 à 10% de TCE dans l'air	Test de Ames Avec stabilisateur Sans stabilisateur	+ -	Mc Gregor et coll., 1989
		0,03 ml de TCE	Test Ara	-	Roldan-Arjona et coll., 1991
Rats	Foie	1100* (3jours)	Augmentation de la synthèse d'ADN	+	Stott et coll., 1982
	Foie	0 à 4000*	Bris de l'ADN simple brin	+	Nelson et Bull, 1988
	Reins, foie	500 * (rats: 14 jours)	Induction de la synthèse d'ADN au niveau des cellules du rein (M) Induction de la synthèse d'ADN (F)	+ -	Klauning et coll., 1991
	Reins, foie poumons, estomac	200µCi/kg de TCE	Liaison du TCE à l'ADN de cellules du reins, des poumons, de l'estomac et du foie	+	Mazzullo et coll., 1992
	Lymphocytes, reins et moelle osseuse	0, 5, 500 et 5000 ppm de TCE (6h)	Lymphocytes et reins Échanges entre chromatides sœurs Aberrations chromosomiques Induction de micro-noyaux Moelle osseuse Induction de micro-noyaux	- - - +	Kligerman et coll., 1994
	Foie	500 et 1000*	Dommages à l'ADN	+	Toraason et coll., 1999

\*mg/kg/jour

**Tableau IX.** Résumé des études portant sur la génotoxicité du trichloroéthylène chez l'humain et le hamster.

Espèce	Système	Dose/concentration	Test	Résultat	Source
Humains	Lymphocytes	Milieu de travail	Échange entre chromatides sœurs	+	Gu et coll., 1981
	Lymphocytes, spermatozoïdes	Milieu de travail (Plus de 20h/ sem)	Lymphocytes Polyploïdie du chromosome Y (YFF%) Aberrations chromosomiques (bris, inversions, délétions, translocations, hyperploïdie) Spermatozoïdes Polyploïdie du chromosome Y (YFF%)	+/- +	Rasmussen et coll., 1988
Hamster	Lymphocytes	30 ppm de TCE	Échange entre chromatides sœurs	+/-	Nagaya et coll., 1989
	Cellules ovariennes	200 ppm de TCE	Échanges entre chromatides sœurs	-	White et coll., 1979

\* mg/kg/jour

+/- Résultat non-significatif

**Tableau X. Résumé des études de cancérogénicité portant sur le trichloroéthylène.**

<b>Espèce</b>	<b>Voie</b>	<b>Exposition (mg/kg/jour)</b>	<b>Toxicité</b>	<b>Source</b>
Rats	Inhalation	0,100 et 500 ppm de TCE (6h/jour, 5j/semaine, 18 mois)	Aucun effet	Henschler et coll., 1980
	Inhalation	50, 150 ou 450 ppm de TCE (7h/jour, 5j/semaine, 104 semaines)	Augmentation non-significative des tumeurs rénales	Fukuda et coll., 1983
	Inhalation	100 à 600 ppm de TCE (7h/jour, 5j/semaines, 8, 104 semaines)	Tumeurs des cellules de Leydig Adéno-carcinomes rénaux	Maltoni et coll., 1988
Souris	Inhalation	0,100 et 500 ppm de TCE (6h/jour, 5j/semaine, 18 mois)	Lymphomes malins chez la femelle	Henschler et coll., 1980
	Inhalation	50, 150 ou 450 ppm de TCE (7h/jour, 5j/semaine, 104 semaines)	Carcinomes hépatocellulaires Adéno-carcinomes pulmonaires	Fukuda et coll., 1983
	Orale	1,8 à 2,4 g de TCE/kg (18 mois)	Sans stabilisateur : Aucun effet Avec stabilisateur : Tumeurs au niveau de l'estomac	Henschler et coll., 1984
	Eau de breuvage	TCE: 3 ou 40 mg de TCE/L (61 semaines)	Aucun effet	Herren-Freund et coll., 1987
	Inhalation	100 à 600 ppm de TCE (7h/jour, 5j/semaines, 8, 78 semaines) 800 mg/kg (76 semaines)	Tumeurs pulmonaires Carcinomes hépatocellulaires	Maltoni et coll., 1988
	Orale		Adénomes hépatocellulaires Carcinomes hépatocellulaires	Anna et coll., 1994



### 1.3.3. Études épidémiologiques

Les études épidémiologiques permettent d'évaluer le risque découlant de l'exposition à un produit toxique à partir d'observations effectuées dans une population. Plusieurs études épidémiologiques ont été effectuées afin d'évaluer l'association entre une exposition au TCE et l'incidence de divers types de cancers. L'exposition humaine au TCE se fait principalement via l'exposition professionnelle à ce solvant, mais la consommation d'eau contaminée ou la proximité d'un site contaminé peuvent aussi être des sources potentielles d'exposition au TCE (ATSDR, 1997). Le Tableau XI résume les différentes études épidémiologiques effectuées sur les effets potentiels du TCE chez l'humain.

La plupart de ces études ont été conduites en milieu professionnel et ont évalué la cancérogénicité du TCE. Certaines études ont, toutefois, utilisé l'épidémiologie afin d'évaluer le potentiel de toxicité néonatale associé à une exposition de la population en général via la consommation d'eau contaminée au TCE ou à une exposition professionnelle maternelle au TCE (Bove et coll., 1995; Burg et Gist, 1995; Lorente et coll., 2000). Dans ce cas, il existe une relation significative entre l'exposition maternelle au TCE et le développement de fissures orales chez l'enfant. Ce risque serait encore plus élevé dans le cas d'une exposition professionnelle de la mère que lors de l'ingestion d'eau contaminée (OR: 6,47 versus 2,24) (Bove et coll., 1995; Lorente et coll., 2000). L'étude effectuée par Bove et coll. (1995) suggère aussi des relations significatives entre la consommation maternelle d'eau contaminée et un poids plus faible à la naissance et des altérations du SNC chez les enfants. Burg et Gist (1995) ont démontré une augmentation significative de l'incidence d'altérations auditives chez des sujets âgés de moins de 9 ans exposés au TCE par l'eau de consommation (OR:2,13 IC99% 1,12-4,07). Enfin, Windham et coll. (1991) ont démontré une association entre l'exposition maternelle au TCE et le taux d'avortement spontané à la 20<sup>e</sup> semaine de grossesse.

Les études sur le cancer du foie et du canal biliaire ont produit des données supportant le potentiel cancérigène du TCE. La plupart des études indiquent qu'il y a une augmentation du risque, même si dans plusieurs des cas, celle-ci n'est pas significative. Néanmoins, les seules études ayant permis d'estimer réellement l'exposition au TCE via le TCA urinaire ont produit, respectivement, des risques relatifs standardisés (SIR) de 1,4 (IC95% 0,6-3,6), 6,07 (IC95% 1,25-17,7) et 2,6 (IC95% 0,8-6,0) (Axelson et coll., 1994; Antilla et coll., 1995; Hansen et coll., 2001). De plus, la méta-analyse de Wartenberg et coll. (2000), combinant les études de Blair et coll., (1998), Boice et coll., (1995), Henschler et coll., (1995), Morgan et coll., (1998) et Ritz et coll., (1999), indique un risque moyen (RR) significatif de 1,9 (IC95% 1,0-3,4). Enfin, comme support additionnel prouvant l'association entre l'exposition au TCE et l'apparition de cancer du foie, les études de Antilla et coll., (1995) et de Ritz et coll., (1999) indiquent un gradient d'effet dépendant de la dose et de la durée d'exposition.

La consistance caractérisant les différentes études épidémiologiques indique aussi une association entre l'exposition au TCE et le développement de cancers rénaux (Wartenberg et coll., 2000). Bien que dans plusieurs cas, l'augmentation du risque ne soit pas significative, les données suggèrent tout de même une incidence accrue de cancers des reins ou de mortalité due à un cancer rénal. Wartenberg et coll. (2000) ont obtenu, suite à leur méta-analyse, un risque relatif moyen significatif de 1,7 (IC95% 1,1-2,7). Dosemeci et coll. (1999) ont rapporté un risque relatif significatif chez la femme (OR: 1,96, IC95% 1,0-4,0), montrant qu'elle serait particulièrement vulnérable. Les études de Henschler et coll. (1995) et de Vamvakas et coll. (1998) ont aussi montré des relations très importantes et significatives entre l'exposition au TCE et l'incidence de cancer des reins avec un SIR de 7,97 (IC95% 2,59-18,59 et un OR de 10,80 (IC95% 3,36-34,75), respectivement, pour chacune des études. Néanmoins, ces études sont controversées en raison de nombreux biais possibles. En effet, dans le cas de l'étude de Henschler et

coll. (1995), plusieurs s'entendent pour dire que la cohorte pourrait être un *cluster* qui aurait alors servi de support à cette étude rétrospective, ce qui va à l'encontre des règles reconnues en épidémiologie (Swaen et coll., 1995). Les opinions sur le sujet varient selon les différents auteurs. Dans le cas de l'étude de Vamvakas et coll. (1998), le choix du groupe témoin ainsi que l'évaluation de l'exposition seraient également affectés par des biais. Green et Lash (1999) soutiennent que puisque la cohorte a été établie à partir d'un hôpital précis, le groupe témoin aurait dû être choisi à partir de ce même hôpital, ce qui n'a pas été le cas. De plus, le groupe témoin ne présente pas les mêmes caractéristiques d'âge, de lieu de résidence, d'occupation professionnelle et a été recruté en 1993 alors que la cohorte l'a été entre 1989 et 1992. Or, on sait qu'une population témoin se doit d'être semblable en tout point à la cohorte étudiée, exception faite de la maladie recherchée (Wartenberg et coll., 2000).

Dans la majorité des études, l'exposition n'a pu être mesurée et aucune relation dose-réponse n'a été démontrée; il est donc difficile d'établir un lien de causalité direct entre l'exposition au TCE et l'incidence de tumeurs aux reins (Wartenberg et coll., 2000). Certaines revues de littérature sur la relation entre l'exposition au TCE et l'incidence de cancer des reins ont cependant conclu qu'il existait, à cet égard, un lien faible (Weiss, 1996; McLaughlin et Blot, 1997). Il faut toutefois noter que ces revues de littérature ont été effectuées avant la réalisation de la plupart des études qui ont produit des résultats positifs quant à cette association. Donc, l'ensemble des données converge tout de même pour une association, voir un lien de cause à effet, entre l'exposition au TCE et le développement de cancer des reins.

Un nombre limité d'études a tenté d'associer l'exposition au TCE au développement du cancer du pancréas. Cependant, les résultats disponibles indiquent une relation nulle ou très faible. Wartenberg et coll. (2000) ont, toutefois, observé un risque plus élevé chez les sujets oeuvrant dans

l'industrie du nettoyage à sec. Par contre, cette augmentation pourrait aussi bien être reliée à une exposition simultanée à plusieurs solvants, dont le TCE, utilisés dans ce type d'industrie (Weiss et coll., 1996).

La majorité des études indiquent une relation entre l'exposition au TCE et l'incidence de lymphomes autres que ceux de Hodgkin (Lymphome NH) ou de cancer lymphopoiétique. Les études menées par Antilla et coll. (1995) et Hansen et coll. (2001) sont les seules à démontrer une relation significative entre l'exposition au TCE et le développement de cancer lymphopoiétique (SIR de 2,98 et IC95% 1,20-1,99) et de lymphomes NH (SIR de 3,5 et IC95% de 1,5-6,9). Il faut considérer ces deux études comme de bonnes sources puisqu'elles sont parmi les seules avoir procédé à l'évaluation de l'exposition réelle au TCE grâce à l'analyse des taux de TCA urinaire. En ce qui a trait au développement de la maladie de Hodgkin, il existe une relation au niveau de l'incidence et de la mortalité associée à la maladie de Hodgkin et l'exposition au TCE, mais aucune étude n'a pu démontrer de relation significative. Il est donc possible qu'il y ait une relation entre l'exposition au TCE et le développement de lymphome NH, de cancer lymphopoiétique découlant probablement des lymphomes NH et de la maladie de Hodgkin.

Plusieurs autres types de cancer sont susceptibles d'être induits par l'exposition au TCE; le cancer du cerveau, des poumons, de l'oesophage, du col de l'utérus, des ovaires et de la prostate ont déjà été identifiés. Néanmoins, il demeure, pour l'instant, impossible de conclure à une association compte tenu du faible nombre d'études rapportant des résultats positifs et significatifs. La présence de plusieurs facteurs confondants dans ces études, tels que l'exposition simultanée à plusieurs produits chimiques, de même que l'incapacité à évaluer l'exposition réelle au TCE ainsi que le tabagisme font en sorte que les résultats obtenus ne permettent pas d'affirmer avec certitude qu'il existe une réelle association entre l'exposition au TCE et le développement de ces divers cancers.

En conclusion, l'ensemble des données disponibles supporte l'existence d'un lien causal entre l'exposition au TCE et l'apparition de cancers du foie et des reins ainsi qu'une association possible pour la maladie de Hodgkin et pour l'incidence de lymphomes autres que ceux de Hodgkin.

**Tableau XI.** Résumé des études épidémiologiques portant sur l'impact d'une exposition au TCE.

Source	Lieu	Analyse de l'exposition	Organe cible	Risque	Intervalle de confiance (95%)
Sharpe et coll.,	Québec	Questionnaire	Cancer du rein	OR:3,4	0,9-12,7
Windham et coll., 1991	Californie	Dossiers médicaux Questionnaires	Avortements spontanés	OR:3,1	0,9-10,4
Spiras et coll., 1991	Utah	Certificats de décès Indices d'exposition	Mort par cancers Reins (M) Foie Col de l'utérus Pancréas Lymphopoié. (F)	SMR:1,20 SMR:1,96 SMR:2,24 SMR:0,81 SMR:1,43	0,52-2,37 0,85-3,86 0,61-5,74 0,1-2,91 0,58-2,95
Axelsson et coll., 1994	Suède	TCA urinaire	Cancer Foie Rein Lymphome NH <sup>c</sup>	SIR:1,4 SIR:1,2 SIR:1,6	0,6-3,6 0,40-2,0 0,7-3,6
Bove et coll., 1995	New Jersey	Certificats de décès ou de naissance Eau brute	Faible poids SNC Tube neural Fissures orales	OR:1,23 <sup>a</sup> OR:1,68 <sup>a</sup> OR:2,53 <sup>a</sup> OR:2,24 <sup>a</sup>	1,09-1,39 <sup>1</sup> 1,14-2,40 <sup>1</sup> 1,51-4,02 <sup>1</sup> 1,65-3,62 <sup>1</sup>
Anttila et coll., 1995	Finlande	TCA urinaire Registre de cancers	Cancers Reins Foie (H,F) Foie (H) Pancréas Lymphopoiétique Maladie Hodgkin	SIR:1,48 SIR:6,07 SIR:13,0 SIR:2,30 SIR:2,98 SIR:1,70	0,0-2,48 1,25-17,7 2,68-37,9 0,99-4,52 1,20-6,14 0,35-4,96
Henschler et coll., 1995	Allemagne	Indices d'exposition Registre d'utilisation	Cancer reins	SIR:7,97	2,59-18,59
Boice et coll., 1995	Californie	Dossiers personnels Questionnaires	Mort par cancers Reins Foie Pancréas Lymphomes NH <sup>c</sup> Maladie Hodgkin	SMR:0,99 SMR:0,54 SMR:0,54 SMR:1,19 SMR:2,77	0,40-2,04 0,15-1,38 0,15-1,37 0,65-1,99 0,76-7,10
Morgan et coll., 1998	Arizona	Certificats de décès Index d'exposition	Cancer Reins Foie Pancréas Lymphopoiétique Maladie Hodgkin	SMR:1,78 SMR:0,78 SMR:0,76 SMR:0,99 SMR:1,25	0,72-3,66 0,16-2,28 0,38-1,47 0,64-1,47 0,60-2,30

Tableau XI (suite)

Vamvakas et coll., 1998	Allemagne		Cancer du rein	OR:10,80	3,36-34,75
Blair et coll., 1998	Utah	Dossiers personnels Indices d'exposition	Cancers Reins Foie Pancréas Lymphomes NH <sup>c</sup> Maladie Hodgkin	RR:1,6 RR:1,7 RR :0,7 RR:2,0 RR: 1,1	0,5-5,1 0,5-3,4 0,2-2,4 0,9-4,6 0,1-6,6
Burg et Gist, 1999	Michigan, Illinois, Indiana	Registre d'exposition TCE dans l'eau	Audition altérée Crise cardiaque	OR:2,03 OR:4,14	0,92-4,49 1,54-11,09
Dosemeci et coll., 1999	Minnesota	Registre des cancers	Cancers reins (H) Cancers reins (F) Total (H+F)	OR:1,04 OR:1,96 OR:1,30	0,6-1,7 1,0-4,0 0,9-1,9
Ritz, 1999	Ohio	Bases de données Indices d'exposition	Cancers Foie Lymphopoïétique	RR:12,1 RR:1,17	1,03-144 0,15-9,0
Lorente et coll., 2000	Europe	Dossiers médicaux Questionnaire	Fissures orales Palais fendu	OR:6,47 OR:7,8 <sup>b</sup>	1,02-40,9 0,8-71,8
Wartenberg et coll., 2000	Méta-analyse	---	Cancer <sup>e</sup> Rein Foie Pancréas Lymphome NH <sup>c</sup> Maladie Hodgkin	RR:1,7 RR:1,9 RR:1,2 RR:1,5 RR:1,5	1,1-2,7 1,0-3,4 0,7-2,0 0,9-2,3 0,6-3,7
Ojajärvi et coll., 2001	Méta-analyse	---	Cancer du pancréas	MRR:1,24	0,79-1,97
Hansen et coll., 2001	Danemark	TCA urinaire Registre des cancers	Cancers Reins (H) Reins (F) Foie Pancréas Lymphome NH <sup>c</sup>	SIR:0,9 SIR:2,4 SIR:2,6 SIR:1,0 SIR:3,5	0,2-2,6 0,03-14 0,8-6,0 0,2-3,0 1,5-6,9

SIR : *Standardized incidence ratio* (risqué d'incidence standardisé), OR : *Odd Ratio* (Risque relatif), SMR : *Standardized mortality ratio* (risque de mortalité standardisé), RR: *Weighted risk average* (Risque relatif moyen), MRR: *Meta-relative risk* (risque relatif d'une méta-analyse)

a: Exposition >10 ppb de TCE, b : Ajusté en fonction de l'âge de la mère, du statut socio-économique, du pays d'origine et de la consommation d'alcool et de cigarettes, c: lymphomes autres que ceux de Hodgkin, d: Risque lors d'une exposition cumulative à hautes doses, 1 :Intervalle de confiance de 50%, e: Données provenant des études faisant partie du groupe Tiers I.

#### 1.4. Recommandations des niveaux d'expositions admissibles

Les différents organismes, tant au niveau national qu'international, régissant les limites d'exposition au TCE s'appuient sur les effets du TCE au niveau du système nerveux (maux de têtes, fatigue, irritabilité) et sur son pouvoir cancérigène (Maull et Lash, 1998, ATSDR, 1997).

Au niveau international, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a établi une valeur d'exposition moyenne pondérée sur 8 heures/jour et 5 jours/semaine (VEMP) de 25 ppm (135 mg/m<sup>3</sup>) et une valeur plafond de 180 ppm (1000 mg/m<sup>3</sup>). La concentration maximale acceptable (CMA) dans l'eau potable est établie à 0,070 mg/L (ATSDR, 1997).

##### 1.4.1. Canada

Au niveau de la réglementation canadienne, la CMA de TCE dans l'eau potable est de 0,050 mg/L. Cette limite a été établie sur la base des données disponibles sur le TCE avant 1987. À cette époque, le TCE était classé dans le groupe IIIB (substance potentiellement cancérigène pour l'homme) et la CMA a donc été dérivée à partir de la dose sans effet nocif observée et d'un facteur d'incertitude de 10000. La découverte d'une exposition accrue au TCE via l'inhalation d'eau contaminé et les nouvelles données concernant le pouvoir cancérigène du TCE (groupe II) font en sorte que cette limite est présentement réévaluée par différentes instances gouvernementales (Gouvernement du Canada, 2001).

Au Québec, la VEMP pour le TCE est de 50 ppm (269 mg/m<sup>3</sup>) et la valeur d'exposition de courte durée (VECD) est fixée à 200 ppm (1070 mg/m<sup>3</sup>) (Gouvernement du Québec, 1998). Néanmoins, le Règlement québécois sur la Qualité du Milieu de Travail préconise que l'exposition au TCE soit réduite au minimum et ce, même à l'intérieur des normes établies (Mirza et coll., 1999).



### 1.4.2. États-Unis

Plusieurs organismes émettent des recommandations quant aux niveaux d'exposition permis pour le TCE. Le tableau XII présente les différentes normes d'exposition au TCE selon les différents organismes gouvernementaux américains.

**Tableau XII.** Normes d'exposition au TCE selon les différents organismes américains.

Organismes	VEMP (ppm)	VECD ou plafond (ppm)	CMA dans l'eau (mg/L)	Références
ACGIH <sup>1</sup>	50	100	--	ACGIH, 1998
EPA <sup>2</sup>	--	--	0,005	ATSDR, 1997
NIOSH <sup>3</sup>	25 *	--	--	NTP, 2001
OSHA <sup>4</sup>	100	300	--	Clewell et coll., 2000 ATSDR, 1997

\* Pour une exposition de 10 heures/jour, 5 jours/semaine

<sup>1</sup> ACGIH: American Conference of Government Industrial Hygienists

<sup>2</sup> EPA: Environmental Protection Agency

<sup>3</sup> NIOSH: National Institute of Occupational Safety and Hygiene

<sup>4</sup> OSHA: Occupational Safety and health Administration

Le NIOSH considère le TCE comme un produit cancérigène et, bien qu'ayant établi une VEMP, il préconise que l'exposition au TCE soit toujours le plus faible possible. De plus, cet organisme recommande un niveau d'exposition de 2 ppm

(11 mg/m<sup>3</sup>) lors de l'utilisation du TCE en tant qu'agent anesthésiant (NTP, 2001).

### 1.5. Classification du trichloroéthylène quant à son potentiel cancérigène

Au niveau international, l'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer (IARC) classe le TCE dans le groupe 2A, c'est-à-dire en tant que substance probablement cancérigène chez l'humain. Cette classification est basée sur l'évidence suffisante de cancérigénicité chez différentes espèces animales ainsi que sur l'évidence limitée de cancérigénicité chez l'humain. En effet, une étude portant sur trois cohortes provenant des États-Unis, de Suède et de Finlande a montré une association entre l'exposition au TCE et l'augmentation de l'incidence de tumeurs au niveau du foie et du tractus biliaire ainsi que l'apparition de lymphomes (Clewell et coll., 2000, Maull et Lash, 1998).

Santé Canada et Environnement Canada, en se basant sur la position de l'IARC, classent le TCE dans le groupe II. Cette classification fait en sorte que le TCE est considéré comme une substance probablement cancérigène pour l'humain. (Santé Canada, 1996).

Les différents organismes américains adoptent des positions souvent opposées en ce qui a trait au pouvoir cancérigène du TCE. En effet, l'ACGIH, contrairement à l'IARC, considère le TCE comme une substance non soupçonnée cancérigène chez l'humain (groupe A5). Cet organisme base sa décision sur une étude épidémiologique négative conduite chez une cohorte de travailleurs de l'aéronautique affectés à une base militaire des États-Unis (Clewell et coll., 2000, Maull et Lash, 1998). La différence entre la position de l'IARC et celle de l'ACGIH réside dans les données utilisées et leur traitement. En effet, l'ACGIH privilégie les études portant sur l'exposition de travailleurs

tandis que l'analyse de l'IARC porte sur le potentiel général du TCE à causer des cancers, et ce, indépendamment des voies et des niveaux d'exposition. De plus, l'analyse de l'IARC regroupe les résultats de trois études, augmentant ainsi son pouvoir statistique puisque, sur une base individuelle, les différents auteurs de ces mêmes études n'ont dénoté aucune augmentation significative de l'incidence de cancer (Maull et Lash, 1998).

Quant à elle, l'EPA en est présentement à revoir sa classification du TCE. En effet, depuis 1996, elle place le TCE sur un continuum C-B2 (Substance possiblement-probablement cancérigène pour l'humain) (ATSDR, 1997). Les nombreuses et récentes études effectuées depuis quelques années tendent à suggérer un potentiel cancérigène important pour le TCE. De plus, le poids des récentes études épidémiologiques ainsi que la découverte de mécanismes d'action similaires au niveau de l'apparition de cancers chez les rongeurs et les humains tendent à supporter l'hypothèse que le TCE serait probablement cancérigène pour l'humain (EPA, 2001). Le NIOSH considère, quant à lui, le TCE comme un cancérigène potentiel pour l'humain (ATSDR, 1997).

Le *National Toxicology Program* (NTP) considère le TCE comme étant raisonnablement considéré comme cancérigène chez l'humain. Cette décision est basée sur l'évidence limitée de cancérogénicité provenant d'études chez les humains, d'évidences suffisantes quant à la formation de tumeurs malignes chez les rongeurs ainsi que sur la présence d'informations indiquant que les mécanismes induisant le cancer chez les rongeurs sont des mécanismes pouvant être rencontrés chez l'humain et, par conséquent, induire l'apparition de cancer chez l'humain (NTP, 1998; EPA, 2001).

CHAPITRE DEUXIÈME

**MODÉLISATION TOXICOCINÉTIQUE**

## 2.1. Modèle toxicocinétique à base physiologique (TCBP)

La modélisation TCBP est, en fait, une reconstruction mathématique du corps permettant la description quantitative du devenir (absorption, distribution et élimination) d'une substance. Les modèles TCBP décrivent donc l'évolution des concentrations d'un produit chimique et/ou de ses métabolites dans les divers organes et tissus cibles qui y sont représentés en faisant intervenir plusieurs paramètres de nature physiologique, biochimique et physico-chimique (Krishnan et Andersen, 1994).

Les modèles TCBP sont principalement utilisés dans le but d'évaluer la cinétique et les concentrations d'un produit et/ou de ses métabolites au niveau des organes cibles suite à divers scénarios d'exposition (variation de la dose, de la voie ou de la durée d'exposition) (Willhite et Clewell, 1997). Ils servent également à l'évaluation du risque de cancer. En fait, un des objectifs inhérents à la modélisation TCBP est de fournir une base rationnelle pour la comparaison du potentiel cancérigène d'une substance entre différentes espèces et, par conséquent, pour l'extrapolation du risque chez les espèces exposées en laboratoire vers l'humain. La modélisation TCBP est donc un moyen par lequel des évaluations quantitatives des concentrations observées au niveau d'un organe cible peuvent être obtenues chez différentes espèces et être, par la suite, utilisées dans la modélisation dose-réponse pour le cancer (Allen et Fisher, 1993).

Les principales étapes du développement d'un modèle TCBP sont la représentation conceptuelle du modèle, l'estimation des différents paramètres, la simulation et la validation du modèle (Krishnan et Andersen, 1994).

Un modèle TCBP comprend une série de compartiments représentant les divers organes ou tissus dans lesquels la substance se distribue (Medinsky et

Klaassen, 1996). La figure 4 représente un exemple de modèle conceptuel pour le trichloroéthylène. Le choix des compartiments varie donc en fonction de l'espèce et du produit chimique étudié. Chaque compartiment présente des caractéristiques physiologiques, biochimiques et physico-chimiques qui lui sont propres. Dans le cas d'un compartiment regroupant plusieurs tissus, comme pour les tissus richement perfusés (cerveau, reins, etc.) ou pauvrement perfusés (muscles, peau, etc.), les différents tissus faisant partie du-dit compartiment présentent des caractéristiques semblables au niveau de leur coefficient de partage et de leur débit sanguin respectifs (Krishnan et Andersen, 1994).

Les tissus jouant un rôle important en tant qu'organe cible au niveau de la toxicité, organe d'accumulation ou responsable de la biotransformation sont normalement représentés individuellement (Greenberg et coll., 1999). Le foie est normalement considéré comme un compartiment unique en raison de son importante activité métabolique, et ce, pour de nombreux composés chimiques, dont le trichloroéthylène. Les poumons sont souvent considérés comme un compartiment distinct en raison de l'exposition possible par la voie respiratoire (Medinsky et Klaassen, 1996). Les différents compartiments sont tous inter-reliés par la circulation artérielle et la circulation veineuse. Pour chacun des compartiments, des équations différentielles permettent de décrire l'évolution de la quantité d'une substance dans le temps.

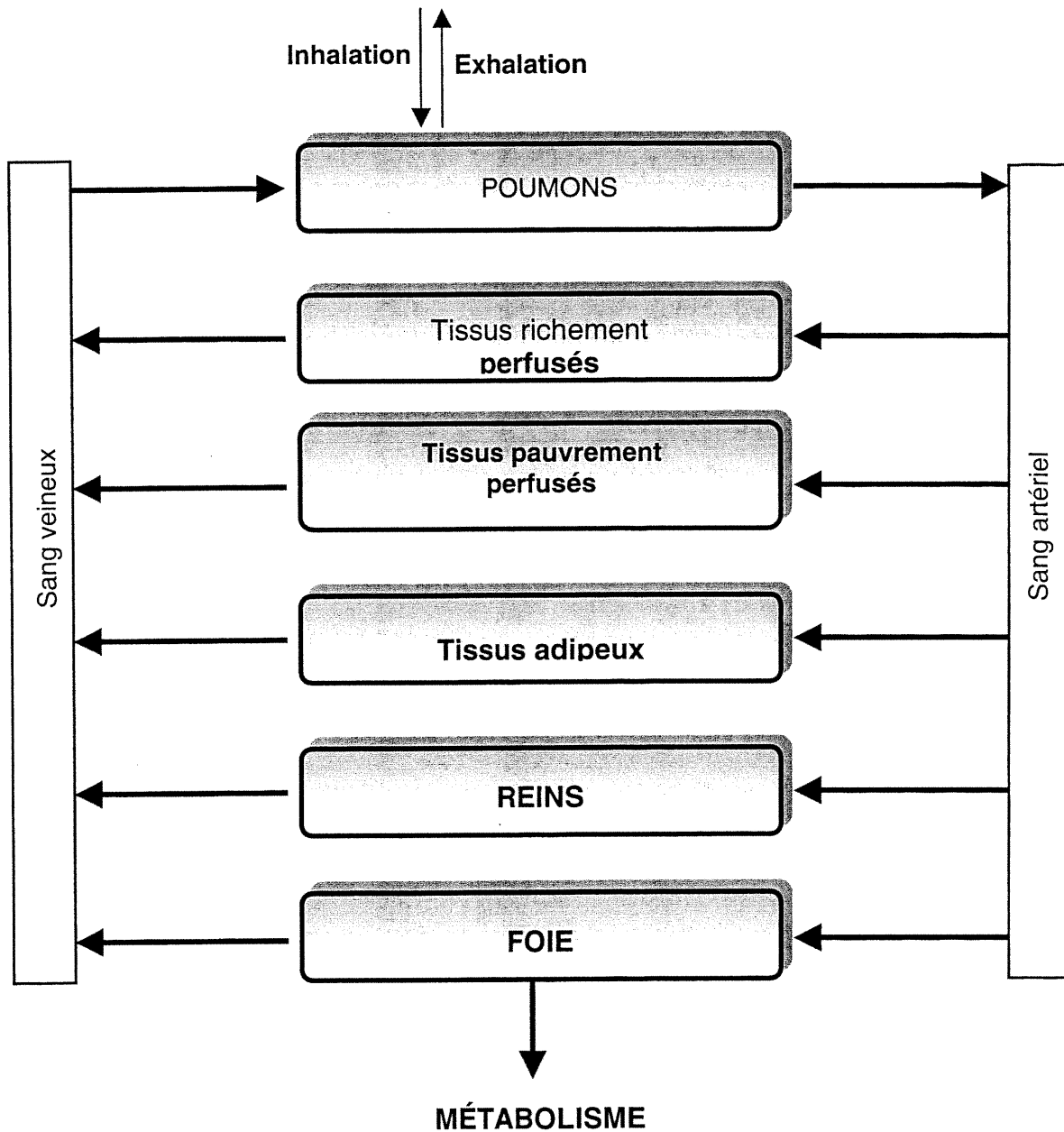
Les différents paramètres d'un modèle sont de nature physiologique, biochimique et physico-chimique. Les paramètres physico-chimiques dépendent de la substance étudiée puisqu'ils incluent des paramètres tels le poids moléculaire du produit ainsi que les coefficients de partage pour les divers tissus ou organes. Les paramètres physiologiques (constantes de débit alvéolaire, de débit cardiaque, de volume et de perfusion tissulaires) sont propres à chaque espèce et, fréquemment, ne varient pas en fonction de la substance à laquelle une espèce donnée est exposée (Young, 1997). Enfin, les paramètres biochimiques vont dépendre à la fois de l'espèce et de la substance étudiées

puisqu'ils représentent les constantes de métabolisme, de liaison aux protéines et d'élimination du produit.

La simulation du modèle est effectuée afin de résoudre les nombreuses équations différentielles composant le modèle. Ce sont les simulations qui permettent de générer des résultats suite à la conception du modèle.

Les structures mathématiques et physiologiques utilisées pour la construction d'un modèle TCBP simplifient énormément la complexité d'un système biologique. L'étape de la validation du modèle sert à s'assurer de la description adéquate, par le modèle, du devenir du produit étudié. Cette étape est habituellement effectuée en comparant les résultats des simulations à des données expérimentales. L'analyse de sensibilité permet d'établir l'importance de l'influence exercée par chacun des paramètres utilisés dans un modèle TCBP. Pour ce faire, chacune des variables biologiques, biochimiques et physico-chimiques est augmentée, par exemple, de 5 à 10% par rapport à sa valeur originale et une nouvelle simulation est effectuée. Un coefficient de sensibilité est ensuite déterminé en se basant sur le pourcentage de changement au niveau des concentrations du produit dans un tissu ou dans le sang par rapport aux données obtenues avec les valeurs originales (Evans et Andersen, 1995).

Les avantages de la modélisation TCBP par rapport aux modèles classiques résident en sa capacité à décrire la cinétique d'une substance au niveau des divers compartiments ainsi qu'à vérifier l'impact de la modification de certains paramètres physiologiques sur les concentrations observées dans les tissus. De plus, un modèle TCBP peut prédire la cinétique d'un produit chez différentes espèces et permet aussi de modifier certains paramètres d'exposition selon des scénarios plus ou moins complexes (Medinsky et Klaassen, 1996; Young, 1997).



**Figure 4.** Représentation conceptuelle d'un modèle TCBP pour le trichloroéthylène pour des expositions par voie respiratoire (Adapté de Greenberg et coll., 1999).



## 2.2. Modèles TCBP déjà publiés pour le trichloroéthylène

Une multitude de modèles TCBP ont été proposés pour le TCE, seul ou en y incluant certains métabolites. Le tableau XIII résume les principaux modèles connus à ce jour. Les compartiments retrouvés dans la plupart de ceux-ci comprennent le foie, les poumons, les tissus richement perfusés, les tissus pauvrement perfusés, les tissus adipeux et, dans certains cas, les reins. Le foie est considéré comme un compartiment unique parce qu'il représente le site principal de biotransformation du TCE et qu'il est aussi un organe cible quant à la toxicité et au potentiel cancérigène des métabolites du TCE (Abbas et Fisher, 1997; Greenberg et coll., 1999). Les poumons correspondent aussi à un compartiment, et ce, pour plusieurs raisons; ils représentent la voie d'exposition lors de l'inhalation de vapeurs de TCE, ils représentent aussi une source de biotransformation du TCE en CH et sont un organe cible quant au développement de tumeurs chez la souris (Abbas et Fisher, 1997). Le tissu adipeux, en tant que site principal de l'accumulation du TCE dans l'organisme, est aussi représenté en tant que compartiment unique. Certains auteurs placent les reins dans un compartiment puisqu'ils sont une cible où l'on a démontré l'induction de tumeurs chez le rat et en raison de la capacité qu'ont les reins pour biotransformer le TCE en DCVG en plus de ses métabolites réactifs (Clewell et coll., 2000).

Quelques modèles n'ont été développés que pour la caractérisation de certains paramètres très spécifiques du TCE et n'incluent pas les métabolites du TCE; les modèles développés afin de reproduire l'absorption gastro-intestinale (Staats et coll., 1991) ou cutanée du TCE (Poet et coll., 2000) ainsi que le transport du TCE au niveau des tissus adipeux (Albanese et coll., 2002). Le modèle proposé par Dallas et coll. (1991) a servi à la simulation des concentrations de TCE dans le sang et l'air exhalé suite à des expositions de 50 et 500 ppm de TCE (2 h) chez le rat.

Certains modèles ont été construits dans le but de décrire, entre autres, l'excrétion urinaire des métabolites du TCE, TCA et/ou TCOH, chez l'humain suite à des expositions par inhalation (Sato et coll., 1977; Allen et Fisher, 1993; Fisher et coll., 1998), la souris exposée par voie orale (Abbas et Fisher, 1997) ou chez l'humain, la souris et le rat exposés par voie orale ou respiratoire (Clewell et coll., 1995, 2000).

Les modèles les plus récents et dits de seconde génération, permettent, généralement, l'évaluation de la cinétique du TCE et des métabolites au niveau des organes cibles. Greenberg et coll. (1999) ont développé un modèle TCBP permettant la simulation des concentrations et du devenir du TCE, du CH, du TCA et du TCOH libre et glucuronidé suite à une exposition par inhalation chez la souris B6C3F1. Ce modèle permet, entre autres, la description de la cinétique des métabolites dans le sang, le foie, les reins et les poumons. Abbas et Fisher (1997) ont proposé un modèle pour la souris permettant la simulation du devenir du TCE dans le sang et les tissus adipeux et celui des métabolites (TCA, TCOH libre et glucuronidé, DCA) dans le sang, les poumons, le foie et l'urine suite à l'exposition orale de TCE. Le modèle de Clewell et coll. (2000) permet de simuler la cinétique des métabolites au niveau des poumons, des reins, du foie et de l'urine chez l'humain, le rat et la souris exposés par voie orale ou respiratoire.

Peu de modèles ont été développés en y incluant plusieurs voies d'administration. Toutefois, Fisher et coll. (1990) ont développé un modèle TCBP pouvant prédire le résultat d'exposition par voie respiratoire et orale (eau de breuvage) chez la rate allaitant et le raton. Clewell et coll. (1995, 2000) ont aussi proposé un modèle validé chez l'humain, le rat et la souris simulant le résultat d'expositions par voie respiratoire et orale.

Le concept de la modélisation TCBP a aussi été appliqué à l'évaluation du risque de cancer chez l'humain. En effet, Allen et Fisher (1993) ont évalué les paramètres cinétiques du TCA ( $K_m$ ,  $V_{max}$ , fraction du CH transformée en TCA,

excrétion urinaire du TCA, concentrations sanguines de TCA) en créant un modèle TCBP à quatre compartiments (foie, tissu adipeux, tissus rapidement et pauvrement perfusés) pour l'humain. Par la suite, Fisher et Allen (1993), à l'aide d'un modèle linéaire *multi-stage*, ont estimé le risque de cancer du foie et des poumons chez l'humain suite à des expositions environnementales au TCE. Leurs résultats indiquent que des concentrations de 7  $\mu\text{g/L}$  dans l'eau ou de 10 ppb de TCE dans l'air entraînent un risque de cancer de 1/1 000 000. Le modèle de Clewell et coll. (1995) indique, quant à lui, que des concentrations de l'ordre de 0,35, 41 et 300 ppb de TCE dans l'air ou de 5,5, 4 000 et 4 500  $\mu\text{g/L}$  dans l'eau sont susceptibles d'induire, respectivement, un risque de 1/1000 000 quant à l'apparition de cancer au niveau du foie, des poumons et des reins.

**Tableau XIII.** Résumé des différents modèles TCBP construits pour le trichloroéthylène et/ou ses métabolites.

Espèces	Voie	Dose	Substances étudiées	Simulation au niveau des tissus	Sources
Humains (M)	Inhalation	100 ppm (4 h)	TCE, TCA, TCOH	Sang et air expiré (TCE) Excrétion urinaire (TCA, TCOH)	Sato et coll., 1977
Rats F344 (F)	Inhalation Orale	27, 600 ppm (4h), 610 ppm (4h/j, 5j/sem, 2 semaines) 333 mg/kg (3 semaines)	TCE, TCA	Sang et lait maternel Sang des rats	Fisher et coll., 1990
Rats S. D. (M)	Inhalation	50 et 500 ppm (2h)	TCE	Sang, air exhalé	Dallas et coll., 1991
Rats F344 (M) Souris B6C3F1 (M,F)	Inhalation	Rats : 505-600 ppm (4h) Souris : 42-899 ppm (4h)	TCE, TCA	Sang	Fisher et coll., 1991
Rats Wistar (M)	Orale	18 mg/kg (eau)	TCE	Sang, air exhalé	Staats et coll., 1991
Humains (M)	Inhalation	100 et 140 ppm (6h) 70 ppm (4h/j, 5 jours)	TCE, TCA	Sang (TCE, TCA) Excrétion urinaire (TCA)	Allen et Fisher, 1993
Souris (M, F)	Orale Inhalation	497 à 1947 mg/kg (5 jours) 100 à 600 ppm (7 jours)	TCE, TCA	Sang (TCE, TCA) Risque de cancer (humain)	Fisher et Allen, 1993

**Tableau XIII (Suite)**

Espèces	Voie	Dose	Substances étudiées	Simulation au niveau des tissus	Sources
Rat Souris Humains	Orale Inhalation	Inconnue	TCE, TCA, TCOH, DCA, DCVC, TCOG, NADCVC, CH,	Poumons (CH) Reins (DCVC) Urine (TCOG, NADCVC) Foie (TCA, DCA) Risque de cancer (humain)	Clewell et coll., 1995
Humain (M, F)	Inhalation	200 ppm (7h), 100 ppm (3h), 50 ppm (6h/j, 5 jours)	TCE, TCOH	Air expire (TCE) Sang (TCE, TCOH)	Simon, 1997
Souris B6C3F1 (M)	Orale	300, 600, 1200 et 2000 mg/kg (huile de maïs)	TCE, CH, TCA, DCA, TCOH, TCOG	Sang, tissu adipeux (TCE) Sang (CH, TCOH, TCOG, TCA, DCA) Poumons (CH, TCOH) Foie (TCA, DCA) Excrétion urinaire (TCA, TCOG)	Abbas et Fisher, 1997
Humains (M, F)	Inhalation	50 et 100 ppm (4h)	TCE, TCA, TCOH, TCOG	Sang, air exhalé (TCE) Sang (TCOH, TCA) Excrétion urinaire (TCOG, TCA)	Fisher et coll., 1998
Rats F344	Orale	100 et 200 mg/kg	TCE, TCOH, TCOHT, TCA	Sang (TCE, TCOH, TCOHT, TCA)	Stenner et coll., 1998
Souris B6C3F1 (M)	Inhalation	100 et 600 ppm (4h)	TCE, CH, TCOH, TCOG, TCA, DCA	Sang (TCE, CH, TCOH, TCOG, TCA, DCA) Foie (TCA, DCA) Reins et poumons (TCA)	Greenberg et coll., 1999

Tableau XIII (Suite)

Espèces	Voie	Dose	Substances étudiées	Simulation au niveau des tissus	Sources
Rats F344 (M)	Dermale	500 ou 1500 mg TCE/L (eau) 5000 à 40000 mg/kg (sol)	TCE	Air exhalé Coefficient de perméabilité Quantité absorbée par la peau	Poet et coll., 2000
Humain (M, F)		1000 mg TCE/L (80 ml d'eau) 5000 mg TCE/kg (80g de sol)			
Souris	Orale Inhalation	499-1000 mg/kg 110-368 ppm (4 h)	TCE, TCA, TCOH, DCA	Sang (TCE, TCOH, TCA) Excrétion urinaire (TCA, TCOH) Risque de cancer au foie, reins et poumons	Clewell et coll., 2000
Rat		100-3000 mg/kg 505-600 ppm (4 h)			
Humains		100 ppm (6 h), 70 ppm (4h/j, 5 jours), 50 ppm (6h/j, 5 jours)			
Rats Long Evans (M)	Inhalation	2000 ppm (1h)	TCE	Tissus adipeux (espace extracellulaire et intracellulaire) Adipocytes	Albanese et coll., 2002

(M) Mâle, (F) Femelle

CHAPITRE TROISIÈME

**OBJECTIFS DU PROJET DE RECHERCHE ET DÉMARCHE  
EXPÉRIMENTALE**

### 3.1. Contexte du projet expérimental

Le trichloroéthylène est un agent dégraissant couramment utilisé dans les industries. Une cohorte de mécaniciens ayant des problèmes de fertilité a été identifiée. Ces patients montrent de faibles taux de spermatozoïdes ainsi qu'une diminution de la motilité des spermatozoïdes. Il a été démontré que ces personnes utilisent le TCE durant leur occupation professionnelle et ce, souvent sous conditions de faible ventilation. De plus, il est, dans ce milieu, pratique commune de s'immerger les mains dans les solutions de TCE afin de faciliter le nettoyage des mains. Certaines études chez les animaux ont montré des altérations du système reproducteur mâle suite à des expositions au TCE. Le projet ici présenté fait donc partie d'un projet multidisciplinaire visant étudier le potentiel reprotoxique du TCE au niveau des organes reproducteurs mâles en utilisant un modèle animal; la souris CD-1.

### 3.2. Hypothèse de recherche

L'exposition au TCE entraîne la formation et l'accumulation de métabolites toxiques au niveau des organes reproducteurs de la souris CD-1 mâle.

### 3.3. Objectif général

L'objectif du présent projet de recherche consiste à caractériser la toxicocinétique du TCE dans un modèle animal, la souris CD-1 mâle, en vue de développer éventuellement un modèle toxicocinétique. Ce modèle permettra de décrire/prédire la cinétique du TCE et de ses métabolites chez la souris CD-1 mâle suivant des expositions au TCE par diverses voies d'administration.



### 3.4. Objectifs spécifiques

- Caractériser le profil cinétique du TCE chez la souris CD-1 mâle suite à des expositions au TCE par diverses voies d'administration (intraveineuse, intra-péritonéale et respiratoire).
- Étudier l'excrétion urinaire des métabolites suite à des expositions au TCE par diverses voies d'administration.
- Caractériser la cinétique sanguine et tissulaire du TCA et du TCOH suite à des expositions au TCE par inhalation.
- Développer un modèle toxicocinétique à base physiologique permettant de prédire et simuler, entre autres, les concentrations de TCE, de TCA et de TCOH au niveau des testicules chez la souris CD-1 mâle.

### 3.5. Démarche expérimentale

La démarche expérimentale détaillée est présentée sous forme de trois articles qui sont présentés au chapitre 4. Le premier est soumis à la revue *Toxicological Sciences*, le second a été accepté pour publication dans la revue *Toxicology and Applied Pharmacology* et le troisième est en préparation.

- Premier article : Characterization of the toxicokinetics of trichloroethylene, trichloroacetic acid and trichloroethanol in male CD-1 mice exposed by inhalation. Nadeau, V., Charest-Tardif, G., Forkert, P. G., et Tardif, R.

- Deuxième article : Metabolism and toxicity of trichloroethylene in epididymis and testis. Forkert, P. G., Lash, L. H., Nadeau, V., Tardif, R., et Simmonds, A.
- Troisième article : Modélisation toxicocinétique à base physiologique du trichloroéthylène, de l'acide trichloroacétique et du trichloroéthanol chez la souris CD-1 mâle après administration par voie intraveineuse, intrapéritonéale et respiratoire. Nadeau, V., Charest-Tardif, G., et Tardif, R.

CHAPITRE QUATRIÈME

**PRÉSENTATION DES ARTICLES**

Premier article

**CHARACTERIZATION OF THE TOXICOKINETICS OF  
TRICHLOROETHYLENE, TRICHLOROACETIC ACID AND  
TRICHLOROETHANOL IN MALE CD-1 MICE EXPOSED BY INHALATION**

V Nadeau<sup>1</sup>, G Charest-Tardif<sup>1</sup>, PG Forkert<sup>2</sup> and R Tardif<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>TOXHUM (Groupe de recherche en toxicologie humaine), Département de santé environnementale et santé au travail. Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada, H3C 3J7. <sup>2</sup> Department of Anatomy and Cell Biology, Queen's University, Kingston, Ontario, Canada K7L 3N6.

**Address correspondence to:**

Robert Tardif, Ph. D.  
Département de santé environnementale et santé au travail  
Université de Montréal  
2375, Chemin de la Côte Ste-Catherine  
Montréal, Québec  
Canada  
H3T 1A8  
Tel.: (514) 343-6111 ext.1515  
Fax: (514) 343-2200  
E-mail: [robert.tardif@umontreal.ca](mailto:robert.tardif@umontreal.ca)

**Running title:** Kinetics of TCE, TCA and TCOH following TCE inhalation

## ABSTRACT

Trichloroethylene (TCE) is a persistent environmental contaminant, which can be encountered in ground- and surface water, soil and contaminated foods. Occupational exposure in poorly ventilated workplaces is an important source of human exposure to TCE. This study was undertaken to evaluate the toxicokinetics of TCE, trichloroacetic acid (TCA) and trichloroethanol (TCOH) in CD-1 male mice following inhalation exposure to TCE. Mice were exposed to 250, 500 or 1000 ppm of TCE for 4h. Blood samples were analyzed for unchanged TCE and the metabolites, TCA and TCOH, were also measured in liver and testis, as well as in urine. Concentrations of TCE in venous blood decreased rapidly after termination of exposures. Half-life values for blood TCE increased with exposure concentration: (mean  $\pm$  SD)  $5.90 \pm 1.48$  min (250 ppm),  $12.46 \pm 2.87$  min (500 ppm) and  $15.45 \pm 4.22$  min (1000 ppm), suggesting that metabolism may be saturated in this concentration range. TCOH was the major metabolite excreted in urine (86% of the total trichloro compounds). The results also showed a linear relationship between urinary excretion of both TCA and TCOH and inhaled TCE concentrations. TCA and TCOH were detected in liver, blood and testes. However, TCA levels were higher whereas TCOH concentrations in blood and testes decreased more rapidly than TCA. Tissue concentrations of both metabolites were higher in liver than in than in testes. Since TCA and TCOH are present in testes following inhalation exposure, the possibility exists that that TCE may produce toxic effects in the male reproductive system.

Key words: Trichloroethylene, kinetics, blood, urine, trichloroacetic acid, trichloroethanol, inhalation, mice, testes, liver

## INTRODUCTION

Trichloroethylene (TCE:ClCHCl<sub>2</sub>) is a volatile organic compound (VOC) that is mainly used as a degreasing agent for metal parts and as a solvent. Most of the TCE is released into the atmosphere, but it is also found in ground- and surface water, soil and contaminated foods. Occupational exposure in poorly ventilated workplaces is an important source of human exposure to TCE (Wu *et al.* 2000). TCE is classified as a potential carcinogen by the U.S. EPA and as a possible human carcinogen (group 2A) by IARC, based on sufficient evidence of carcinogenicity in experimental animals and limited evidence of carcinogenicity in humans (ATSDR, 1997).

Regardless of administration route, TCE is distributed into three major compartments: richly perfused tissues including liver and lungs, poorly perfused tissues including muscle and skin and adipose tissues. It has been reported that TCE may concentrate in ovaries and spermatocytes (Gist and Burg, 1995).

Few studies have described the kinetics of TCE and its main metabolites following inhalation exposure. There is evidence indicating that metabolic saturation occurred in Osborne-Mendel rats but not in B6C3F1 mice exposed to 600 ppm of [<sup>14</sup>C] TCE for 6h. Saturation was manifested in decreased TCE metabolism and increased exhalation (Stott *et al.*, 1982). It was also shown that exposure of rats to 500 ppm of TCE for 2h resulted in rapid absorption of TCE from the lung into the circulation. Moreover, this TCE concentration exceeded the metabolic capacity of the rat (Dallas *et al.*, 1991). Furthermore, it was shown that mice metabolized a greater amount of TCE than rats and are, consequently, exposed to higher levels of toxic metabolites (Prout *et al.*, 1985).

TCE is mainly metabolized by cytochrome P450 and primarily by the CYP2E1 enzyme which has the highest affinity for TCE in humans and rodents (Lash *et al.*, 2000). A minor pathway also exists and involves a conjugation with

glutathione (GSH). Both metabolic pathways have the potential to produce reactive metabolites that can bind covalently to cellular proteins and DNA (Halmes *et al.*, 1997). The two major TCE metabolites produced following oxidative biotransformation are trichloroethanol (TCOH) and trichloroacetic acid (TCA). TCA is believed to be responsible for liver injury and cell proliferation following TCE exposure (Lash *et al.* 2000). TCA and TCOH, free and conjugated, constitute the main urinary metabolites of TCE. Ikeda *et al.* (1972) reported that urinary excretion of TCOH is proportional to the inhaled dose of TCE when exposure is less than 200 ppm in human subjects.

Several studies suggested that exposure to TCE might affect the male reproductive system in rodents (Land *et al.*, 1981; George *et al.*, 1997; Kumar *et al.*, 2000). However, studies of the effects of TCE on the human reproductive system have not been reported (Barton and Clewell 2000). Our recent studies were undertaken to determine the potential to produce reproductive toxicity of TCE in CD-1 male mice. This paper reports the toxicokinetics of TCE and its main metabolites, TCA and TCOH, in male CD-1 mice, following inhalation exposure.

## MATERIAL AND METHODS

**Animals** Adult male CD-1 mice, weighing 25-30g each, were obtained from Charles River Laboratories (St-Constant, Québec, Canada). One week prior to use, the animals were acclimated to a 12 hr light/dark cycle in a temperature-controlled room (20-22°C). Tap water and food were available *ad libitum* during this period but not during the exposures.

**Chemicals** 1,1,2-Trichloroethylene (99.5%), trichloroethanol (99%), trichloroacetic acid (99%) and dibromochloromethane (98%) were purchased

from Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI). Alkamus® was obtained from Rhodia (Montréal, Québec).

**Inhalation exposure to TCE** For studies on the blood kinetics of TCE and urinary excretion of TCA and TCOH, 6 groups of 5-6 mice were exposed to 250, 500 or 1000 ppm of TCE for 4 h. Studies on the kinetics of TCA and TCOH in blood, liver and testes required 3 groups of 28 mice that were exposed under the same conditions.

**Inhalation exposure system** Inhalation exposures were conducted in a dynamic controlled-environment exposure chamber of 500 L (Unifab, Kalamazoo, Mich). Solvent was delivered with a high-pressure liquid chromatography (HPLC) pump 2510 (Varian Canada, Montréal) into the inlet ducting of the chamber, where it was mixed with clean air. Air concentration in the chamber was verified every four minutes using a Hewlett-Packard (HP) 5890 series II gas chromatograph equipped with an automatic gas sampling valve and a HP 3396 series II integrator. During the experiment, the solvent concentration was always within 4% of the target values.

**Measurement of unchanged TCE in blood** Serial blood samples of 10-30  $\mu$ l were collected through the saphenous vein at specific times ranging from 1.5 to 100 min following the end of exposures. Blood samples and a volume of 10  $\mu$ l of a methanolic solution containing dibromochloromethane (internal standard) were placed in vials, sealed and kept on ice. Concentrations of unchanged TCE were measured by headspace gas chromatography using electron-capture detection according to the method described by Da Silva et al. (1999).

**Measurement of urinary metabolites** Animals were placed in custom-designed metabolic cages, and urine samples were collected (over ice) over a period of 48 hours (0-24h, 24-48h) from the beginning of exposures (including the 4-h inhalation exposure) and kept frozen until analyses. Urinary concentrations of



TCA and TCOH were determined by headspace gas-chromatography using electron-capture detection. The complete analytical procedure was based on methods described by O'Hara et al. (1991) and Muralidhara and Bruckner (1999). Briefly, a sample of 10  $\mu$ l of diluted urine was mixed with 550  $\mu$ l of an esterification solution and placed in a 22 ml vial. The vial was sealed and heated at 85°C for 65 min following which the headspace vapour was injected into a gas chromatograph equipped with a flame-ionization detector.

**Measurement of TCA and TCOH in blood, liver and testes** Blood and tissue samples (liver and testis) for TCOH and TCA determination were collected at 1, 2, 4, 5, 7, 20 and 24 h after exposure. Tissue samples were homogenized, diluted in NaCl (0.9%) and concentrations of TCA and TCOH were measured by headspace chromatography using electron-capture detection according to a procedure based on the method of Muralidhara and Bruckner (1999). Tissue homogenates (10-50  $\mu$ l) were placed in a 22 ml vial with 10  $\mu$ l of water and 150  $\mu$ l of an esterification solution. The vials were sealed and heated at 105°C for 65 minutes after which the headspace vapour (1 ml) was injected into a gas chromatograph.

**Data analysis** Area under the blood concentration versus time curves (AUCs) of TCE, TCA and TCOH were calculated according to the trapezoidal rule from the first sampling time to infinity for TCE, from 1 to 24h for TCA and from 1 to 7 hours for TCOH. The half-life ( $t_{1/2}$ ) of TCE was also calculated for each exposure concentration.

**Statistical analysis** One-way analysis of variance (ANOVA) was used to compare the kinetics of TCE according to the various exposures to TCE. Statistical significance between treatment groups was given by the Bonferroni test and was set at  $p < 0.05$ .

## RESULTS

### **Kinetics of unchanged TCE in blood**

In mice exposed to 250 and 500 ppm of TCE by inhalation, blood was obtained at 1.5, 10, 20, 30 and 40 min while in mice exposed to 1000 ppm of TCE, blood was obtained at 1.5, 15, 30, 45, 60 and 75 min. Profiles of TCE concentrations in venous blood are presented in Figure 1.

Concentrations of unchanged TCE in venous blood after the end of exposures decreased rapidly. However, there was a significant increase in  $t_{1/2}$  values, from  $0.10 \pm 0.02$  h at 250 ppm, to  $0.21 \pm 0.05$  h and  $0.26 \pm 0.07$  h at 500 ppm and 1000 ppm, respectively (Table I). For instance, the blood level at 1.5 min post-exposure was about 4-5 times higher after exposure at 1000 ppm compared to 500 ppm.

### **Kinetics of TCA and TCOH in blood, liver and testis**

Blood, liver and testis concentrations of TCA were measured at 1, 2, 4, 5, 7, 20, and 24 hours, whereas total (free and conjugated) TCOH concentrations were measured at 1, 2, 4, 5 and 7 hours, following inhalation exposures to 250, 500 and 1000 ppm of TCE. Profiles of TCA concentrations in blood and tissues versus time post-exposure are presented in Figure 2 (A, B and C, respectively), while profiles of total TCOH concentrations are shown in Figure 3 (A, B and C).

Among the two measured metabolites, TCA was the main metabolite in liver, blood and testes whereas TCOH concentrations decreased more rapidly than TCA concentrations. Values of half-life for TCA and TCOH in blood, liver and testes are showed in Table I. TCA concentrations remained stable during the first 4h post-exposure and, then, decreased. Liver concentrations of both metabolites were higher than those found in the testes (TCOH: 5.3-8.6 fold; TCA: 3.6-3.7 fold) and in blood ( TCOH:4.3-4.5 fold; TCA: 1.1-1.4 fold). TCA showed a non proportional relationship between blood, liver and testes AUCs and inhaled

concentrations. TCOH showed a proportional relationship between blood, liver and testes AUCs at 250 and 500 ppm which was not the case at 1000 ppm. (Table II).

### **Urinary excretion of TCE metabolites**

TCA and total TCOH excretion were measured during the exposure period (4h) and the following 44 hours (0-24h, 24-48h), but only results from the 0-24 period are reported in Figure 4 since more than 95% of TCA and 98.5% of TCOH were excreted within the first 24 hours.

Total TCOH (free and conjugated) was the major excreted metabolite and represented about 88.4%, 86.3% and 86.9% of the total excreted metabolites following exposure to 250, 500 or 1000 ppm of TCE, respectively. Moreover, results showed a very good linear and proportional relationship between urinary excretion of both TCA and TCOH and all inhalation concentrations.

## **DISCUSSION**

### **Kinetics of unchanged TCE in blood**

Elimination of TCE from the blood was rapid with half-lives ranging from  $0.1 \pm 0.02$  hours to  $0.26 \pm 0.07$  h. These values suggested that once absorbed, TCE is readily distributed throughout the body or eliminated through metabolism and/or exhalation. Templin *et al.* (1993) reported a plasma half-life ranging from 0.19-1.0 h in B6C3F1 male mice exposed to TCE by oral gavage (0.76-15 mmol/kg). Although blood concentrations of TCE were not measured during the exposure period, post-exposure concentrations suggested that during a 4 h inhalation exposure, substantial amounts of TCE were absorbed resulting in TCE accumulation in tissues. Lash *et al.* (2000) reported that TCE is primarily distributed to adipose tissues.

The lower value for  $t_{1/2}$  following the 250 ppm exposure ( $0.10 \pm 0.02$  h) compared to those from the 500 ppm ( $0.21 \pm 0.05$  h) and 1000 ppm ( $0.26 \pm 0.07$  h) suggested saturation of TCE metabolism in this concentration range. These findings supported the contention that exposure to 500 and 1000 ppm of TCE for 4 h may have exceeded the metabolic capacities of the CD-1 male mice used in this study. It has been proposed that biotransformation of TCE in mice and rats is a dose-dependant saturable process and that metabolic saturation results in decreased TCE metabolism (Dallas *et al.*, 1991). It has also been suggested that saturation of TCE metabolism in mice may increase the proportion of unchanged TCE in exhaled air with no change in the proportion of excreted metabolites in urine (Dekant *et al.*, 1986). Other studies produced evidence showing metabolic saturation in Osborne-Mendel rats but not in B6C3F1 mice exposed to 600 ppm of [ $^{14}\text{C}$ ]TCE for 6 h. Saturation was manifested in decreased excretion of radioactivity and increased exhalation of TCE (Stott *et al.*, 1982). The impact of such saturation was not observed in our results for the urinary excretion of TCA and TCOH over 24 h. This is plausible because the main effect was probably a delay in the metabolic production of these metabolites which did not affect the total amount found in urine over a 24 h period implying that any changes affecting the time-course was not readily apparent.

### **Kinetics of TCA and TCOH in blood and tissues**

Inhalation exposure to TCE resulted in substantial amounts of TCA and TCOH in blood and tissues. TCA, which was the major metabolite found in blood, liver and testes has high affinity for binding to plasma proteins and, consequently, a long half-life (Clewell *et al.* 2000, Lash *et al.* 2000). The half-lives of TCA in blood, liver and testes were determined from 1 to 20 h after TCE exposure (250-1000 ppm) and were about  $4.35 \pm 1.38\text{h}$ ,  $5.53 \pm 0.81\text{h}$  and  $5.32 \pm 0.90\text{h}$ , respectively (Table 1). These results are consistent with those obtained by Fisher *et al.* (1991) who reported a TCA plasma half-life of 5.6 h in B6C3F1 male mice exposed to TCE vapors (42-748 ppm) for 4 h. Templin *et al.* (1993) reported

values ranging from 4.6 - 7.5 h for male B6C3F1 mice exposed to 0.15-15 mmol/kg of TCE by oral gavage. A plasma half-life of 4.2 - 5.8 h was also found in male B6C3F1 mice following a single oral dose (20-100 mg/kg) of TCA (Larson and Bull, 1992). Our results also showed no significant decreases of TCA concentrations in blood, liver and testes between 1 and 4 h after exposure. These findings may be the result of TCA binding to tissue and plasma proteins as well as a potential delay in TCE biotransformation resulting from saturation.

There was a rapid decline of TCOH concentrations in tissues and blood. TCOH half-life in blood, liver and testes were determined between 1 and 5 h post-exposure and were  $0.78 \pm 0.07$ ,  $0.97 \pm 0.04$  and  $1.63 \pm 0.16$  h, respectively (Table I). This is in agreement with findings showing that concentration and residence time for TCOH in blood are less than those reported for TCA. (Lash *et al.* 2000). A plasma half-life value for TCOH of 0.23 - 3.0 h in male B6C3F1 mice dosed with 0.38 - 15 mmol/kg of TCE was found (Templin *et al.*, 1993). A value of 3 h was determined in mice following an oral dose of 1200 mg/kg of TCE (Abbas et Fisher, 1997).

The lack of proportional relationship between TCA tissue AUCs and exposure concentration and the proportional excreted amount of TCA in urine over a 24-h period suggested that a portion of TCA production may have been delayed by the saturation of TCE metabolism at 500 and 1000 ppm and of TCOH at 1000 ppm. A large portion of TCA generated may come from enterohepatic recirculation of TCOH (Stenner *et al.*, 1997). The contribution from enterohepatic recirculation to the amount of TCA in systemic blood is about 76%. In the case of TCOH metabolism, there appeared to be saturation of metabolism leading to a delay in TCOH production. The linear relationship between AUCs and concentrations found for the testes suggested that saturation of TCE metabolism may be, in part, compensated by metabolism *in situ* within the testes. Forkert *et al.* (2002) reported that CYP450 2E1 was present in epididymal epithelium and testicular Leydig cells and that TCE can be metabolized *in vitro* in microsomes of

testes and epididymis of CD-1 male mice following inhalation exposures to 1000 ppm of TCE.

Liver concentrations of both TCA and TCOH were higher than those found in the testes. This difference was not surprising since the liver is the main site of TCE metabolism regardless of the administration route; virtually all doses of TCE pass through the liver for metabolism (Lash *et al.* 2000). In addition, tissue : air partition coefficients (Pt) for TCE measured in our laboratory showed that Pt (liver) was higher than Pt (testis) ( $18.32 \pm 2.25$  vs.  $11.58 \pm 2.33$ ). The ratio between liver and blood AUCs for TCA are consistent with those of Abbas *et al.* (1996) indicating a similar difference between AUCs following exposure of B6C3F1 male mice to chloral hydrate by iv injections ( $67.8$ - $2034 \mu\text{mol/kg}$ ).

### **Urine**

TCA and TCOH are TCE two major metabolites excreted in urine (Lash *et al.* 2000). Our results showed that TCOH was excreted at higher levels in urine than TCA (between 86-88% of the total trichloro compounds excreted). Dekant *et al.* (1986), using female mice dosed with 200 mg/kg of TCE, reported that TCOH represented approximately 86% of the total trichloro-compounds found in urine. Other studies have shown that following single dose of TCE (10-2000 mg/kg TCE) in B6C3F1 and Swiss-Webster male mice, TCOH accounted for 90% of the urinary metabolites whereas TCA accounted for only 8% (Green and Prout, 1985). The linear relationship between urinary excretion of TCA and TCOH and exposure concentrations suggested that even though metabolism appeared to be saturated during and after exposure at high concentrations, the urinary excretion of metabolites over a 24h period was not really affected. Urinary excretion of these metabolites was exponential and followed first-order kinetics for male Wistar rats exposed to 0-500 ppm of TCE for two hours but not after a 1000 ppm exposure, suggesting that metabolism was saturated in this dose range (Nakajima *et al.*, 1988). This phenomenon was not observed in our study, which

is consistent with the higher metabolic capacity of mice compared to rats (Prout *et al.* 1985)

## **CONCLUSION**

In conclusion, the results from this study indicated that inhalation exposure to TCE 1) resulted in the presence of TCOH and TCA in liver and testes and 2) can cause saturation of metabolism in a dose-dependant manner. The presence of TCA and TCOH in the testes supported the possibility that TCE exposure may produce toxic effects in the male reproductive system. Since humans exhibit dose-response relationships for TCE metabolism that are more similar to those of mice than of rats, human exposure to TCE may result in reproductive risk. Our data are being used to develop a physiologically based toxicokinetic model for the CD-1 mice that should enable us to better understand the reprotoxic risks associated with TCE exposure.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

This research was supported by Environment Canada and Health Canada (Toxic Substances Research Initiative program). V. Nadeau is the recipient of a scholarship from the Institut Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail (IRSST) du Québec.

## REFERENCES

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (1997). Toxicological profile for Trichloroethylene. U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, Georgia.
- Abbas, R.R., Seckel, C.S., Kidney, J.K., and Fisher, J.W. (1996). Pharmacokinetics analysis of chloral hydrate and its metabolism in B6C3F1 mice. *Drug. Metab. Dispos.* **24**, 1340-1346.
- Abbas, R., and Fisher, J.W. (1997). A physiologically based pharmacokinetics model for Trichloroethylene and its metabolites, chloral hydrate, trichloroacetate, dichloroacetate, Trichloroethanol, and Trichloroethanol glucuronide in B6C3F1 mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **147**, 15-30.
- Barton, H.A., and Clewell III, H.J. (2000). Evaluating noncancer effects of Trichloroethylene: dosimetry, mode of action and risk assessment. *Environ. Health. Perspect.* **108** (suppl.2), 323-334.
- Clewell, H.J., Gentry, P.R., Covington, T.R., and Gearhart, J.M. (2000). Development of a physiologically based pharmacokinetic model of Trichloroethylene and its metabolites for use in risk assessment. *Environ. Health. Perspect.* **108** (suppl.2), 283-305.
- Dallas, C. E., Gallo, J. M., Ramanathan, R., Muralidhara, S., and Bruckner, J. V. (1991). Physiological pharmacokinetic modeling of inhaled Trichloroethylene in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **110**, 303-314.
- Da Silva, M.L., Charest-Tardif, G., Krishnan, K. and Tardif, R. (1999). Influence of oral administration of a quaternary mixture of trihalomethanes on their blood kinetics in the rat. *Toxicol. Lett.* **106**, 49-57.
- Dekant, W., Schulz, A., Metzler, M., and Hensler, D. (1986). Absorption, elimination and metabolism of Trichloroethylene: a quantitative comparison between rats and mice. *Xenobiotica* **16**, 143-152.
- Fisher, J.W., Gargas, M.L., Allen, B.C., and Andersen, M.E. (1991). Physiologically based pharmacokinetics modeling with Trichloroethylene and its metabolite, trichloroacetic acid, in the rat and mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **109**, 183-195.
- Forkert, P.G., Lash, L.W., Nadeau, V., Tardif, R., and Simmonds, A. (2002). Metabolism and toxicity of Trichloroethylene in epididymis and testis. (Accepted in *Toxicology and Applied Pharmacology*).



- George, J., Reel, J., Myers, C., and Lawton, A.D. (1997). Trichloroethylene. *Environ. Health. Perspect.* **105** (suppl.1), 357-359.
- Gist, G. L. and Burg, J.E. A. (1995). Trichloroethylene. A review of the literature from a health effects perspective. *Toxicol. Ind. Health.* **11**(3), 253-307.
- Green, T., and Prout, M.S. (1985). Species differences in response to Trichloroethylene. II. Biotransformation in rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **79**, 401-411.
- Halmes, N.C., Samokyszyn, V.M., and Pumford, N.R. (1997). Covalent binding and inhibition of cytochrome P4502E1 by Trichloroethylene. *Xenobiotica* **27**(1), 101-105.
- Ikeda, M., Otsuji, H., Imamura, T., and Komoike, Y. (1972). Urinary excretion of total trichloro-compounds, trichloroethanol, and trichloroacetic acid as a measure of exposure to trichloroethylene and tetrachloroethylene. *Br. J. Ind. Med.* **29**, 328-333.
- Kumar, P., Prasad, A.K., and Dutta, K.K. (2000). Steroidogenic alterations in testis and sera of rats exposed to Trichloroethylene (TCE) by inhalation. *Human Exp. Teratol.* **19**, 117-121.
- Land, P.C., Owen, E.L., and Linde, H.W. (1981). Morphologic changes in mouse spermatozoa after exposure to inhalational anesthetics during early spermatogenesis. *Anesthesiology* **54**, 53-56.
- Larson, J.L., and Bull, R.J. (1992). Metabolism and lipoperoxidative activity of trichloroacetate and dichloroacetate in rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **115**, 268-277.
- Lash, L.H., Fisher, J.W., Lipscomb, J.C. and Parker, J.C. (2000). Metabolism of trichloroethylene. *Environ. Health. Perspect.* **108** (suppl 2), 177-200.
- Muralidhara, S., and Bruckner, J.V. (1999). Simple method for rapid measurement of Trichloroethylene and its major metabolites in biological samples. *J. Chromatogr. B* **732**, 145-153.
- Nakajima, T., Okino, T., Okuyama, S., Kaneko, T., Yonekura, I., and Sato, A. (1988). Ethanol-induced enhancement of Trichloroethylene metabolism and hepatotoxicity: Difference from the effect of Phenobarbital. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **94**, 227-237.
- O'Hara, A., Michitsuji, H., Jyoyama, Y., Yamaguchi, K., and Fukiji, Y. (1991). Determination of Trichloroacetic acid and Trichloroethanol by headspace gas chromatography (HS • GC). *Japan. J. Ind. Health.* **33**, 94-103.

- Prout, M.S., Provan, W.M., and Green, T. (1985). Species differences in response to Trichloroethylene. I. Pharmacokinetics in rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **79**, 389-400.
- Stenner, R.D., Merdink, J.L., Stevens, D.L., and Bull, R.J. (1997). Enterohepatic recirculation of Trichloroethanol glucuronide as a significant source of Trichloroacetic acid. *Drug. Metab. Dispos.* **25**, 529-535.
- Stott, W.T., Quast, J.F., and Watanabe, P.G. (1982). The pharmacokinetics and macromolecular interactions of Trichloroethylene in mice and rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **62**, 137-151.
- Templin, M.V., Parker, J.C., and Bull, R.J. (1993). Relative formation of dichloroacetate and trichloroacetate from trichloroethylene in male B6C3F1 mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **123**, 1-8.
- Wu, C., and Schaum, J. (2000). Exposure assessment on Trichloroethylene. *Environ. Health. Perspect.* **108** (suppl 2), 359-363.

**Table I:** Half-life ( $t_{1/2}$ ) values (Mean  $\pm$  SD) of trichloroethylene, trichloroacetic acid and total trichloroethanol in blood, liver and testis of male CD-1 mice exposed to TCE vapours during four hours.

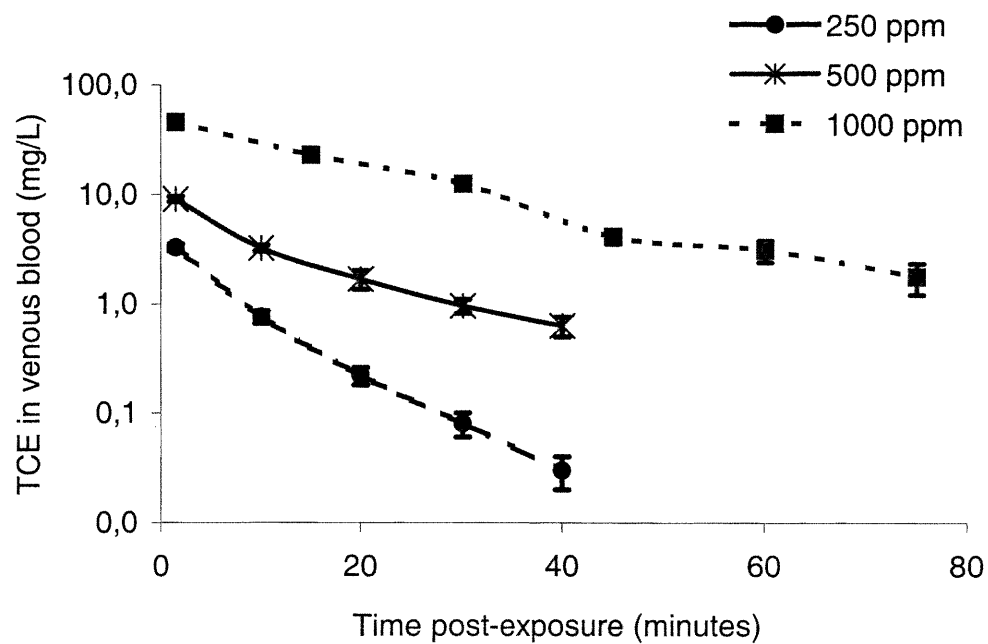
Exposure (ppm)	$t_{1/2}$ (hours)		
	TCE	TCA	TCOH
<b>Blood</b>			
250	0.10 $\pm$ 0.02	5.93 $\pm$ 0.80	0.77 $\pm$ 0.07
500	0.21 $\pm$ 0.05	3.39 $\pm$ 0.07	0.76 $\pm$ 0.02
1000	0.26 $\pm$ 0.07	3.72 $\pm$ 0.11	0.80 $\pm$ 0.15
<b>Liver</b>			
250	-	6.07 $\pm$ 0.61	1.00 $\pm$ 0.11
500	-	4.60 $\pm$ 0.22	0.919 $\pm$ 0.03
1000	-	5.93 $\pm$ 0.42	0.989 $\pm$ 0.10
<b>Testis</b>			
250	-	6.14 $\pm$ 0.42	1.653 $\pm$ 0.15
500	-	4.36 $\pm$ 0.06	1.784 $\pm$ 0.14
1000	-	5.47 $\pm$ 0.46	1.459 $\pm$ 0.15

**Table II:** Area under the concentrations versus time curve (AUCs) [nmol/ml\*h (blood); nmol/gr\*h (tissues)] of trichloroethanol (TCOH) and trichloroacetic acid (TCA) and ratio of AUCs on TCE exposure (AUC/Conc). Data are expressed as mean  $\pm$  S.D. (TCOH:  $\overline{\text{AUC}}_{7\text{h}}^{1\text{h}}$ , TCA:  $\overline{\text{AUC}}_{24\text{h}}^{1\text{h}}$ ).

Doses (ppm)		TCOH (blood: nmol/ml*h, tissues: nmol/gr*h)		
		Blood	Liver	Testis
250	AUC	15.39 $\pm$ 2.07	68.67 $\pm$ 15.54	12.78 $\pm$ 1.06
	AUC/Conc	0.06 $\pm$ 0.01	0.27 $\pm$ 0.06	0.05 $\pm$ 0.004
500	AUC	32.36 $\pm$ 5.50	141.76 $\pm$ 27.09	29.68 $\pm$ 1.61
	AUC/Conc	0.06 $\pm$ 0.01	0.28 $\pm$ 0.05	0.06 $\pm$ 0.003
1000	AUC	164.71 $\pm$ 61.10	717.73 $\pm$ 264.80	105.65 $\pm$ 51.42
	AUC/Conc	0.16 $\pm$ 0.06	0.72 $\pm$ 0.26	0.11 $\pm$ 0.05

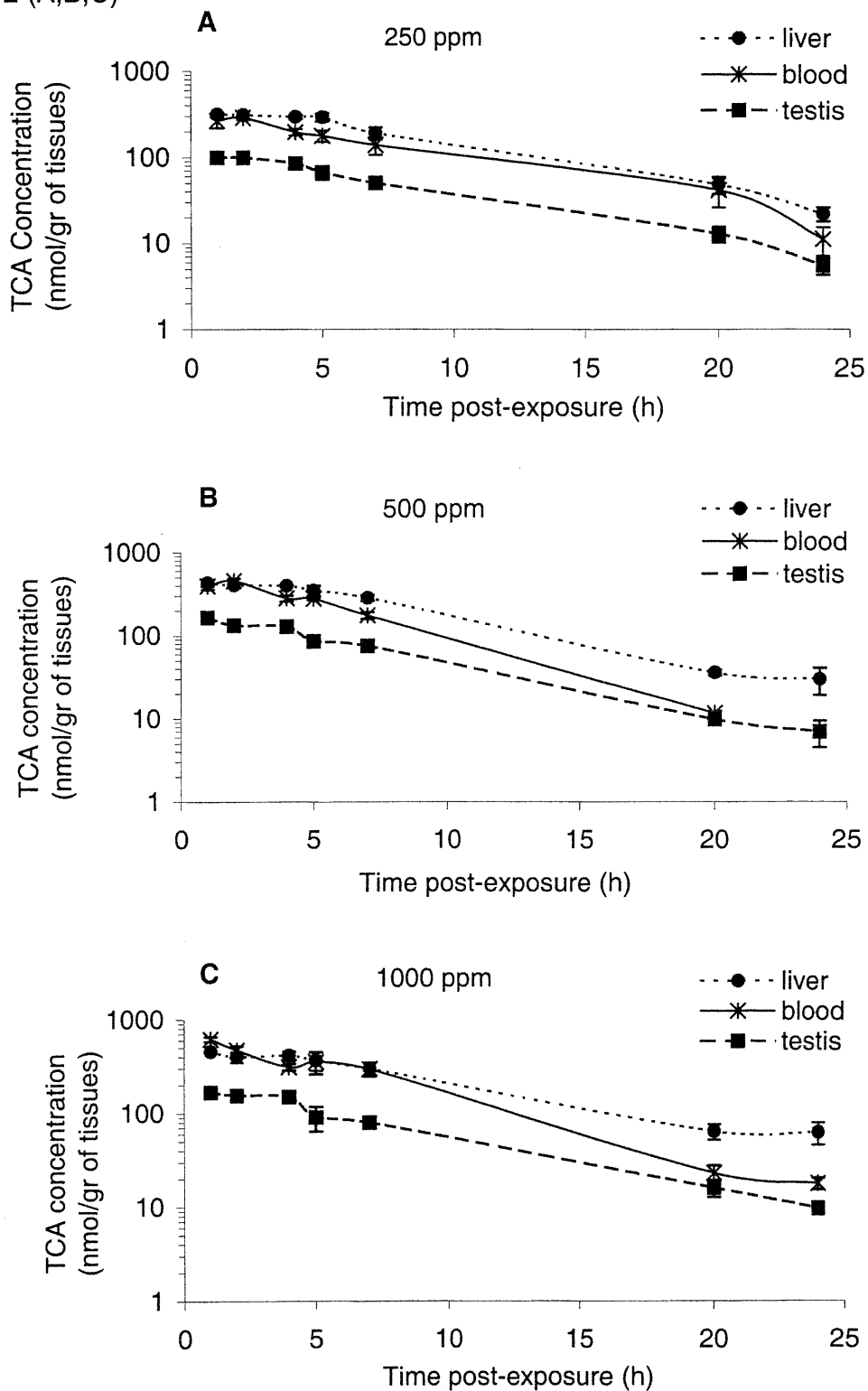
  

Doses (ppm)		TCA (blood: nmol/ml*h, tissues: nmol/gr*h)		
		Blood	Liver	Testis
250	AUC	2709.74 $\pm$ 537.20	3381.17 $\pm$ 537.22	923.33 $\pm$ 125.71
	AUC/Conc	10.84 $\pm$ 2.15	13.52 $\pm$ 2.56	3.69 $\pm$ 0.50
500	AUC	3284.89 $\pm$ 290.21	4507.90 $\pm$ 365.11	1256.69 $\pm$ 117.32
	AUC/Conc	6.57 $\pm$ 0.58	9.02 $\pm$ 0.73	2.51 $\pm$ 0.23
1000	AUC	4940.96 $\pm$ 611.70	5536.50 $\pm$ 161.11	1585.85 $\pm$ 90.24
	AUC/Conc	4.94 $\pm$ 0.61	5.54 $\pm$ 0.16	1.59 $\pm$ 0.09

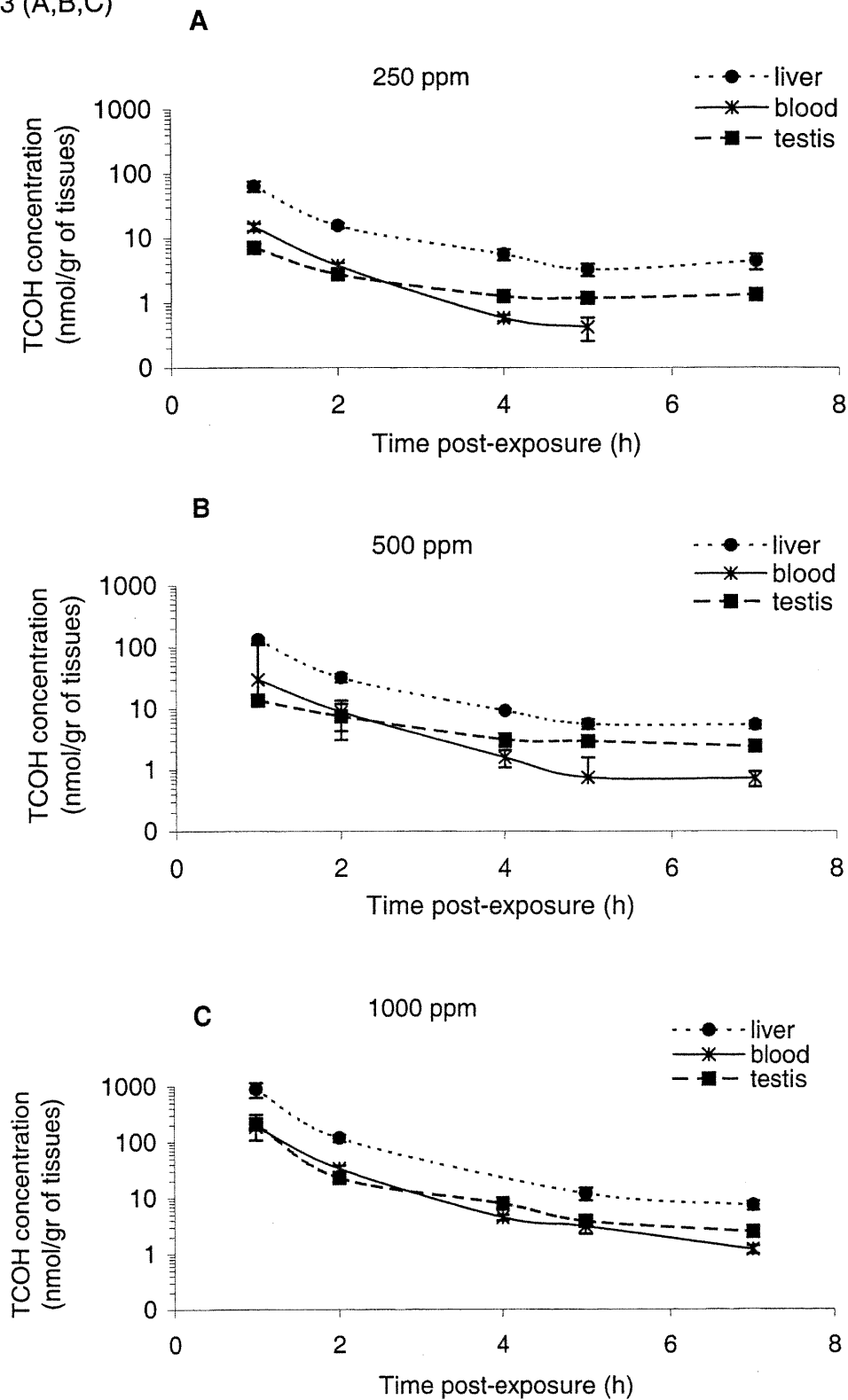


**Figure 1.** Blood concentrations (mean  $\pm$  SD) of unchanged trichloroethylene (TCE) in CD-1 mice following single inhalation exposure (250, 500 or 1000 ppm of TCE) during four hours. (n=5)

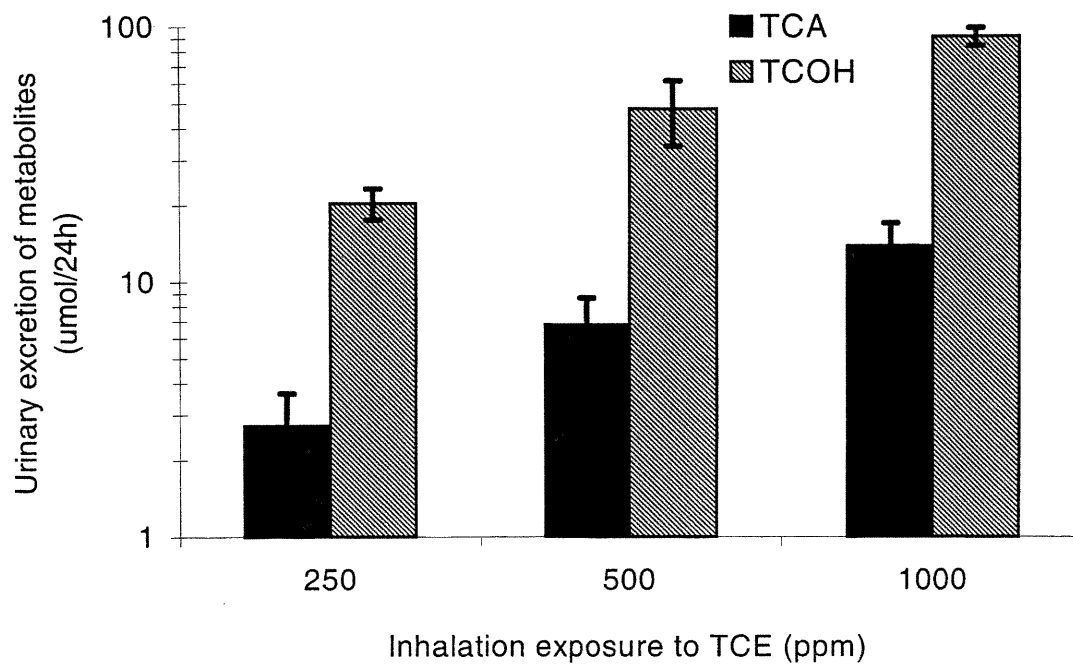
Figure 2 (A,B,C)



**Figure 2.** Blood, liver and testis concentrations (mean  $\pm$  SD) of trichloroacetic acid (TCA) following a 4-hr inhalation exposure to 250 (A), 500 (B) or 1000 (C) ppm of trichloroethylene. (Each point represent the mean  $\pm$  SD from four mice)



**Figure 3.** Blood, liver and testis concentrations (mean  $\pm$  SD) of trichloroethanol (TCOH) following a 4-hr inhalation exposure to 250 (A), 500 (B) or 1000 ppm (C) of trichloroethylene. (Each point represent the mean  $\pm$  SD from four mice)



**Figure 4.** 24h urinary excretion (mean  $\pm$  SD) of trichloroacetic acid (TCA) and trichloroethanol (TCOH) during and following inhalation exposures to 250, 500 or 1000 ppm of trichloroethylene during four hours (n=6).



Deuxième article**Metabolism and Toxicity of Trichloroethylene in  
Epididymis and Testis**

Poh-Gek Forkert,<sup>\*1</sup> Lawrence H. Lash,<sup>§</sup> Veronique Nadeau,<sup>†</sup> Robert Tardiff and  
Andrea Simmonds\*

\*Department of Anatomy and Cell Biology, Queen's University, Kingston, Ontario, Canada; §Department of Pharmacology, Wayne State University School of Medicine, Detroit, Michigan; and †Département de santé environnementale et de santé au travail University of Montréal, Montréal, Québec, Canada

**Address correspondence to:** Poh-Gek Forkert  
Department of Anatomy and Cell Biology  
Queen's University  
Kingston, Ontario  
Canada K7L 3N6  
Phone: (613) 533-2854  
Fax: (613) 533-2566  
E-mail: forkertp@post.queensu.ca

**Running title:** Trichloroethylene Toxicity in Epididymis and Testis

Accepted for publication in Toxicology and Applied Pharmacology  
(April, 2002)

## Abstract

The widespread occupational exposure to trichloroethylene (TCE) led us to test the hypothesis that TCE causes toxicity in the male reproductive system. We also investigated mechanisms mediating the potential cytotoxic response. Mice were exposed to TCE (1000 ppm) by inhalation for 6 h/day for 5 days/week for a total of 19 days. Exposure after the first week was interspersed by a "weekend". To estimate internal exposure, we measured the TCE metabolites, trichloroacetic acid (TCA) and trichloroethanol (TCOH), in urine at days 4, 9, 14 and 19. Urinary excretion of TCOH was significantly higher than TCA; levels of TCOH and TCA significantly increased by the second and third week, respectively. Cytochrome P450 2E1 (CYP2E1), an enzyme involved in TCE metabolism, was localized in the epididymal epithelium and testicular Leydig cells, and was found at higher levels in the former than the latter. Immunoblotting confirmed that CYP2E1 protein was present in greater amounts in epididymis than in testis. *p*-Nitrophenol hydroxylation, a CYP2E1 catalytic activity, was also higher in the epididymis than in the testis. Chloral, a major TCE metabolite, was generated in microsomal incubations at significantly higher levels in epididymis than in testis. Antibody inhibition of CYP2E1 reduced chloral formation, which was more pronounced in epididymis than in testis. After four weeks of TCE exposure, damage to the epididymis was manifested as sloughing of epithelial cells. These results indicated that TCE is metabolized in the male reproductive tract, leading to adverse effects that are more severe in the epididymis than in the testis.

Key Words: testis, epididymis, cytochrome P450, CYP2E1, chloral, trichloroacetic acid, trichloroethanol, mice.

## Introduction

Trichloroethylene ( $C_2HCl_3$ ; TCE) is a colorless, volatile chemical that is used extensively in the automotive and metal industries for vapor degreasing and cold cleaning of metal parts. Five major industrial groups apply vapor or cold degreasing operations: furniture and fixtures, fabricated metal products, electrical and electronic equipment, transport equipment and miscellaneous manufacturing industries (IARC, 1995a, b). It may also be found as a component in adhesives, lubricants, paints, varnishes, paint strippers, pesticides, spot removers and rug cleaning fluids. Because of its versatility and its widespread use, TCE is a prevalent contaminant in occupational environments, leading to a high potential of human exposure. It has been estimated that 3.5 million workers are exposed to TCE (NTP, 1988, 1990).

There is a large body of data regarding the toxic and/or carcinogenic risk of TCE exposure (Scott and Cogliano, 2000; IARC, 1995a, b; Weiss, 1996). Target organs in rodents are the liver, kidney, lung, testis and hematopoietic system, depending on the species, strain, sex and route of exposure. The male reproductive system has not been a focus of many studies, although an increased incidence of Leydig cell tumors has been reported in rats exposed to TCE by inhalation (Maltoni et al., 1988). In other studies, mice administered 0.2% (2000 ppm) of TCE by inhalation for 4 h/day for 5 days per week for a total of 28 days exhibited increased sperm abnormalities (Land et al., 1981). Furthermore, micronuclei were produced in germ cells of male mice treated intraperitoneally with chloral hydrate, a TCE metabolite (Allen et al., 1994). However, increased frequencies of micronuclei were not produced in mice exposed to 5, 50 or 5000 ppm of TCE. Spermatotoxic effects were not observed in rats administered TCE orally at concentrations of 10, 100 or 1000 mg/kg for 5 day/week for a total of 6 weeks (Zenick et al., 1984). These findings suggested that the outcome may be dependent on factors including TCE dose, species

and/or route of exposure. Hence, further studies are required to clarify the potential of TCE to produce toxic effects in the male reproductive system.

The metabolism of TCE proceeds by two separate pathways: conjugation with glutathione and oxidation via cytochrome P450 (Fig. 1). Conjugation with glutathione produces *S*-(1,2-dichlorovinyl)glutathione, which can be further metabolized to *S*-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine (Bruckner et al., 1989; Lash et al., 2000). Oxidative metabolism of TCE is believed to produce the primary metabolites TCE oxide, dichloroacetyl chloride and chloral. Chloral is rapidly converted to its hydrate, which undergoes reduction under aqueous conditions to form trichloroethanol (TCOH) and trichloroethanol glucuronide, while oxidation yields trichloroacetic acid (TCA) (Kimmerle and Eben, 1973). TCOH and TCA are major metabolites excreted into urine, and are used to monitor occupational exposure to TCE. TCE can also be metabolized to form dichloroacetyl chloride, which can subsequently be converted to dichloroacetic acid. Dichloroacetic acid may also be formed through dechlorination of TCA. Chloral hydrate, dichloroacetic acid and TCA are metabolites associated with liver and lung damage, whereas *S*-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine is associated with kidney toxicity (Lash et al., 2000). Four P450 enzymes have been reported to be involved in hepatic metabolism of TCE: CYP1A1/2, CYP2B1/2, CYP2C11 and CYP2E1 (Guengerich et al., 1991; Nakajima et al., 1990, 1992a, b, 1993). More recent studies indicated that CYP2E1 plays an important role in TCE metabolism in rat kidney (Cummings et al., 2001). The identification of CYP2E1 in rat testis (Jiang et al., 1998) as well as in rat epididymis and efferent ducts (Du Teaux and Miller, 2001) suggested the possibility that, in addition to metabolism in the liver, TCE might also be bioactivated by this P450 in the male reproductive system, leading possibly to adverse consequences.

In view of the widespread exposure of humans to TCE, especially in occupational settings, we have used a mouse model to investigate the potential effects of TCE exposure on the testis and epididymis. Since occupational exposure is usually

via inhalation, we have exposed mice to TCE by this route for 6 h per day for 5 days per week for a total of 1 to 4 weeks, and determined the effects of this cumulative exposure. Urinary excretion of TCA and TCOH was also measured during the exposure period. Since CYP2E1 plays a major role in TCE metabolism, we investigated the expression of this P450 in testis and epididymis, and its involvement in TCE activation. Our results demonstrated that cell damage evoked by TCE was more severe in the epididymis than in the testis. Importantly, CYP2E1 was present at higher levels in the epididymis than in the testis, and the extent of metabolism of TCE to chloral was greater in the former than in the latter.

## METHODS

**Materials.** Chemicals and reagents were purchased from suppliers as follows: Bio-Rad protein assay dye reagent concentrate (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA); bovine serum albumin (BSA), *p*-nitrophenol, 4-nitrocatechol, paraformaldehyde, hydrogen peroxide (30%, v/v), 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride, NADPH (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO); sodium pentobarbital (Somnotol; MTC Pharmaceuticals, Hamilton, Ontario, Canada); biotinylated goat anti-rabbit IgG, avidin-biotin blocking reagent (Vector Laboratories, Inc., Burlingame, CA); streptavidin-conjugated to horseradish peroxidase (Zymed Laboratories, San Francisco, CA); trichloroethylene (99% purity; Aldrich Chemical Co., Montreal, Quebec, Canada); enhanced chemiluminescence Western blotting detection reagents (Amersham Life Science, Buckinghamshire, England). A goat polyclonal antibody directed against rabbit liver microsomal CYP2E1 was obtained from Oxford Biomedical Research, Inc., Oxford, MI). The CYP2E1 monoclonal antibody (mAb) 1-98-1 and the inhibitory CYP2E1 mAb 1-91-3 (Ko et al., 1987) were generously donated by Dr. S. S. Park (Laboratory of Comparative Carcinogenesis, National

Cancer Institute, Frederick, MD). All other chemicals used were purchased from standard commercial suppliers.

**Animal treatment.** Male CD-1 mice, weighing 22-30 g (Charles River Canada, St. Constant, Quebec, Canada) were maintained on a 12-h light/dark cycle and acclimated to laboratory conditions for at least 5 days. Mice were given free access to food (Mouse Diet 5015; PMI Nutrition International, Inc., Brentwood, MO) and drinking water. Mice were sacrificed by cervical dislocation for preparation of microsomes. For the immunohistochemical studies, mice were anesthetized with sodium pentobarbital (120 mg/kg, i.p.). The thoracic cavity was exposed, a cannula was inserted into the right ventricle, and blood was removed from tissues by perfusion with saline (Forkert, 1999). When the perfusate became clear, perfusion was continued and the testes and epididymides were fixed with 4% paraformaldehyde in 0.1 M Sorensen's phosphate buffer (12.0 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 69.0 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) pH 7.4. Tissues were then removed and immersed in fixative overnight at 4°C. For histopathologic evaluation, testis and epididymis were excised, cleared of extraneous tissues and immersed into Bouin's fluid for fixation.

**Inhalation exposure to TCE.** Four groups of six male CD-1 mice were exposed to TCE (1000 ppm) for 6 h per day, 5 days per week (Monday through Friday) for 4 consecutive weeks. The mice were exposed to TCE at the same time each day (8:00 AM-2:00 PM). The high TCE concentration was used in order to elicit an acute response within a limited exposure time. Exposures were conducted in a dynamic controlled-environment exposure chamber of 500 L, in which the airflow rate was set at 188.5 L/min. Solvent was delivered with a high-pressure liquid chromatography (HPLC) pump 2510 (Varian Canada, Montréal) into the inlet ducting of the chamber, where it was mixed with clean air. The concentration of TCE in the chamber was monitored during all exposures by infrared spectrophotometry, using a Miran 1-A (Foxboro Co) coupled with a Nortech Control Equipment MB-41 pump. On the first and fourth days of each

week, air concentration in the chamber was also verified every 4 min, using a Hewlett-Packard (HP) 5890 series II gas chromatograph equipped with an automatic gas sampling valve and a HP 3396 series II integrator. Air flow, temperature and humidity were also monitored.

**Measurement of TCA and TCOH in urine.** Urine was obtained over a period of 24 h (including the 6-h exposure period) on days 4, 9, 14 and 19 of the 4-week exposures; the samples were collected in custom-designed metabolic cages and kept frozen until analysis. Urinary concentrations of TCA and TCOH were determined by head-space gas-chromatography, using electron-capture detection. Procedures used for analysis were based on the method described by Breimer *et al.* (1974) for determination of TCA and TCOH in blood and urine.

**Preparation of microsomes.** Microsomes from liver, testis and epididymis were prepared by differential centrifugation (Forkert, 1995). Livers from 2 mice and testes and epididymides from 50 mice were pooled for preparation of the microsomes. The large number of mice was essential to obtain sufficient microsomal protein for incubations performed in triplicate. Tissues were homogenized in 4 volumes of phosphate buffered KCl (1.15% KCl, 100 mM  $K_2HPO_4$ , 1.5 mM EDTA, pH 7.4). The homogenates were centrifuged at 9000 x g at 0-4°C for 20 min, after which the supernatants were centrifuged 105,000 x g at 0-4° for 60 min. The resulting microsomal pellets were resuspended in phosphate buffered KCl, pH 7.4. Protein concentrations were determined by the method of Bradford (1976), using BSA as the standard. Microsomes from liver, testis and epididymis were used for protein immunoblotting, while those for testis and epididymis were used additionally for determination of CYP2E1 catalytic activity.

**Protein immunoblotting.** Microsomal proteins from liver, testis and epididymis were separated by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), using an 8.5% gel, and transferred to a 0.45  $\mu$ m nitrocellulose

membrane (Forkert, 1995). The membrane was then incubated in a blocking solution consisting of 5% nonfat dried milk in 20 mM Tris-HCl containing 500 mM NaCl, pH 7.5, following which it was incubated with the CYP2E1 mAb 1-98-1 (Park et al., 1986) diluted in Tween 20/Tris buffered saline containing 1% gelatin. After rinsing in the buffer to remove unbound antibody, the membrane was incubated for 2 h with IgG conjugated to horseradish peroxidase (1:1000). The protein bands were visualized by reaction with enhanced chemiluminescence detection reagents.

**p-Nitrophenol hydroxylase activity.** *P*-nitrophenol (PNP) hydroxylase activity was determined using the HPLC method described previously (Duescher and Elfarrar, 1993). The incubations were carried out in 100 mM potassium phosphate buffer, pH 6.8, containing 0.1 M ascorbic acid (final volume 250  $\mu$ l). Reaction mixtures contained microsomes from testis or epididymis (1 mg protein) and NADPH (1.5 mM, 3.75  $\mu$ l). Following preincubation for 3 min at 37°C, PNP in dimethyl sulfoxide (1 mM, 2.5  $\mu$ l) was added, and the incubations were continued for an additional 10 min. Microsomal proteins were precipitated with perchloric acid (70%, 20  $\mu$ l) and removed by centrifugation. Formation of PNP was determined in the supernatant fraction by HPLC analysis. Samples (100  $\mu$ l) were analyzed with a reverse phase C<sub>18</sub> column (5  $\mu$ m, 4.6 x 250 mm; Luna, Phenomenex). The isocratic mobile phase was 25% acetonitrile: 75% H<sub>2</sub>O:0.1% trifluoroacetic acid with a flow rate of 1.5 ml/min. The column effluent was monitored at 345 nm. HPLC analysis was performed on a Beckman System Gold Programmable Solvent Module 126 HPLC with a Beckman System Gold Module 168 UV detector. The UV spectra were monitored with a Hewlett Packard model 8452 diode array UV spectrophotometer. 4-Nitrocatechol eluted from the column at 8.0 min. Levels of PNP hydroxylase activity, as assessed by formation of 4-nitrocatechol, were determined by relating absorbance to a standard calibration curve of known amounts of 4-nitrocatechol. The enzyme assay was carried out under condition of linearity with respect to time and protein concentrations.



**Immunohistochemical localization of CYP2E1.** Testis and epididymis were fixed by vascular perfusion with 4% paraformaldehyde in 0.1 M Sorensen's phosphate buffer (12.0 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 69.0 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), pH 7.4. Tissues were then dehydrated, cleared and embedded in paraffin using standard procedures. Sections (5  $\mu\text{m}$ ) were adhered to slides and were used for the immunohistochemical studies. Detection of CYP2E1 was performed by the avidin-biotin complex technique, using a goat CYP2E1 polyclonal antibody (Forkert, 1995, 1999). Tissue sections were deparaffinized, cleared and hydrated in a graded ethanol series. The sections were rinsed in PBS, and treated with 5% normal horse serum to block nonspecific antibody binding. The sections were then incubated for 60 min with the CYP2E1 antibody, which was diluted in PBS containing 2.5% normal horse serum. After thorough rinsing in PBS, tissue sections were reacted for 30 min with a biotinylated horse anti-goat antibody. Endogenous peroxidase activity was inhibited by incubating tissue sections with 1% hydrogen peroxide in water for 30 min. Sections were then reacted for 10 min with streptavidin conjugated to horseradish peroxidase, and the immunoperoxidase color reaction developed by reaction with 0.05% 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride and 0.01% hydrogen peroxide. The sections were then rinsed, incubated for 5 min in 0.15 M sodium chloride containing 0.5% copper sulfate, dehydrated, cleared, and mounted. Controls for the specificity of the immunohistochemical reactions included incubations performed in the absence of the CYP2E1 antibody.

**Microsomal metabolism of TCE.** Microsomal incubations were performed at 37°C for 30 min. Reaction mixtures contained TCE (1-7 mM) in acetonitrile (0.5%, v/v), 1 mM NADPH and microsomes (0.75-10 mg of protein/ml) from testis or epididymis in 50 mM Tris-HCl buffer, pH 7.4, in a total volume of 0.75 ml, and were preincubated for 3 min at 37°C. The reaction was initiated by addition of 1 mM NADPH. Control experiments consisted of incubations performed in the absence of NADPH. The incubation vessels were stoppered to prevent loss of TCE. In the immunoinhibition experiments, microsomes were preincubated with

the CYP2E1 inhibitory mAb 1-91-3 (Ko et al., 1987; Park et al., 1986) before incubation with TCE, using procedures described in previous studies (Lee and Forkert, 1994). Control incubations were performed with HyHel 9, an inhibitory mAb specific for egg white lysozyme (Smith-Gill et al., 1982). Reaction mixtures containing 3.5 mg of microsomal protein in a final volume of 750  $\mu$ l were preincubated with mAb 1-91-3 at 37°C for 30 min. A mAb protein:microsomal protein ratio of 1:2 was used. After preincubation with the mAb, microsomal incubations were performed with TCE (3 mM) at 37°C for 60 min. Reactions were terminated with rapid cooling in liquid nitrogen. Samples were thawed following which 1  $\mu$ l of 1,3-dibromopropane diluted in ethyl acetate (1:1000) was added as an internal standard. The samples were then extracted with 0.5 ml ethyl acetate, and were frozen until analyzed. The samples were analyzed using a Perkin-Elmer Autosystem XL gas chromatograph fitted with a PE-210 30 m x 0.25 mm ID, 0.5  $\mu$ m thickness column (Perkin-Elmer, Norwalk, CT) and an electron capture detector. TCE metabolites (chloral, TCA, TCOH) were analyzed by injection of the ethyl acetate extracts into a split injector set at 200°C with a detector temperature of 300°C and an He flow rate of 24.8 cm/sec. The initial oven temperature was 35°C, and this was maintained for 11 min. The temperature was then increased at 10°/min to 120°C, where it was held for 19 min. Retention times for TCE and chloral were about 3.9 and 6.0 min, respectively.

**Histopathology.** Testicular and epididymal tissues from mice were fixed in Bouin's fluid. Tissues were embedded in paraffin, sections (5  $\mu$ m) were prepared and stained with hematoxylin and eosin for histopathologic observations.

**Statistical analysis.** Statistical analysis was performed by two-way ANOVA and the Kruskal-Wallis or Bonferroni test for pairwise comparisons to identify significant differences between treatment groups. The level of significance was set at  $p < 0.05$ .

## RESULTS

### Urinary Excretion of TCA and TCOH

Levels of TCA and TCOH (total) excreted in urine of mice exposed to TCE are given in Table 1. Both TCE metabolites were detected in the urine at all time-points examined. The levels of TCOH excreted were at all times significantly higher (5-fold) than those for TCA. The amounts of TCA detected after 2, 3 and 4 weeks of TCE exposure were about 75, 66, or 80% higher, respectively, than those detected after 1 week. The amounts of TCOH detected after 3 and 4 weeks were significantly higher (35%) than those after 1 and 2 weeks.

### Content of CYP2E1

Protein immunoblotting of microsomal proteins from testis and epididymis, using the CYP2E1 mAb 1-98-1, revealed a single protein band of ~ 51 kD (Fig. 2). The migration of these proteins was similar to that of liver microsomal proteins. However, the amounts of CYP2E1 protein detected in microsomes from the epididymis were markedly higher than those detected in microsomes from the testis at the same protein concentrations. Increased concentrations of microsomal proteins from the testis did not change the extent of immunoreactivity in the protein bands. However, increased concentrations of microsomal proteins from the epididymis resulted in enhanced immunoreactivity that was protein-dependent. *p*-Nitrophenol hydroxylase activity was used as a marker of CYP2E1 catalytic activity and was readily detected in microsomes isolated from the epididymis and testis (Table 2). The enzyme activity in microsomal samples from the epididymis was greater than two-fold of the levels detected in those from the testis.

### Immunohistochemical Localization of CYP2E1

The distribution of CYP2E1 was investigated in testis and epididymis from untreated mice. The P450 protein was distributed throughout the length of the epididymal tissue within the epithelial cells (Fig. 3a). However, the localization of

this P450 differed within the different segments of the epididymis, and was relatively higher in the corpus (body) than in either the caput (head) or cauda (tail) (not shown). In the testis, the CYP2E1 protein was localized in the interstitial tissue within the Leydig cells (Fig. 3b).

### **Metabolism of TCE to Chloral in Microsomal Incubations**

Chloral formation was used as an index of TCE metabolism. Incubations using microsomal proteins ranging from 0.5 to 10 mg per ml revealed that chloral formation in testis increased with protein concentrations of 0.5 to 5 mg/ml but declined slightly at concentrations of 7 and 10 mg/ml (Fig. 4). The highest levels of chloral were found at a protein concentration of 5 mg/ml. Concentration-dependent responses were also assessed in incubations with microsomes from the epididymis at protein concentrations ranging from 0.5 to 5 mg/ml. Within this range of protein concentrations, maximal formation of chloral was obtained in incubations containing 5 mg/ml of microsomal protein. Incubations with additional protein concentrations were not performed with epididymal microsomes due to the large number of animals required for the microsomal preparation. Although substantial formation of chloral in both testis and epididymis was achieved at a protein concentration of 5 mg/ml, the amounts found in epididymal microsomes were greater than two-fold of those detected in the testis.

Studies of time-dependence of TCE metabolism demonstrated that chloral formation increased with time of incubation (Fig. 5). Maximal levels of chloral formation in incubations of microsomes from the testis were manifested after incubation for 45 to 60 min, while maximal levels in incubations of microsomes from the epididymis was achieved after an incubation time of 60 min. Concentration-response studies revealed that chloral was generated in the microsomal incubations at levels that were incremental with TCE concentrations. High levels were achieved at a TCE concentration of 3.0 mM by microsomes from both testis and epididymis. Chloral formation by epididymal microsomes,

using a TCE concentration of 3.0 mM, amounted to about 3.7-fold of the level identified in incubations containing testicular microsomes (Fig. 6). Metabolite formation declined slightly when TCE concentrations were raised to 5 and 7 mM. The quantities of chloral produced in incubations of epididymal microsomes were consistently higher than in those of testicular microsomes. The level of chloral formed by control microsomes from the epididymis was two-fold of that formed by the testis (Fig. 7). Preincubation with the inhibitory CYP2E1 mAb inhibited chloral production in the microsomal incubations that amounted to about 20 and 30% in the testis and epididymis, respectively (Fig. 7). Although formation of chloral was inhibited by preincubation with the mAb in both tissues, it was only in the epididymis that the difference was statistically significant from control microsomes preincubated with the nonspecific mAb.

### **Histopathology**

Histopathologic observations revealed a normal pseudostratified epithelium that was observed throughout the length of the epididymis (Fig. 8a). In the experimental studies, no abnormal alterations were observed in the epididymal epithelium from mice exposed to TCE by inhalation for a total of 1 to 3 weeks, as observed by light microscopy. However, in mice subjected to TCE exposure for 4 weeks, sloughing of portions of the epithelium was evident (Fig. 8b). Fragments of exfoliated epithelial cells were visible within the lumens of some tubules lying among the spermatozoa. Morphologic alterations were not apparent in the testis, as observed by light microscopy.

### **DISCUSSION**

In this investigation, we sought to establish an experimental model to determine the potential of TCE to be metabolized in the male reproductive system and to elicit cytotoxic effects. We exposed mice by inhalation to TCE (1000 ppm) for 6

h/day for 5 days/week from 4 to 19 days and extending over a period of 1 to 4 weeks interspersed by "weekends". This route of TCE exposure mimics one commonly found in occupational situations. We measured urinary levels of TCA and TCOH (Table 1) during the exposure period. TCA is produced by P450-dependent oxidation of either chloral hydrate or TCOH, while TCOH is produced by reduction of chloral hydrate via aldehyde oxidase (Green and Prout, 1985; Dekant et al., 1986; Lash, 2000). Since the liver is the predominant site of TCE metabolism, TCA and TCOH excreted in urine reflected metabolism mainly at this site. In this study, both TCE metabolites were detected during the entire exposure period of 1 to 4 weeks (Table 1). The amounts of urinary TCOH were about 5-fold higher than those for TCA. This finding is consistent with additional data obtained showing that TCA levels in blood, measured as the ratio of areas under the concentration curves, were about 30-fold higher than TCOH levels following repeated inhalation exposure to 1000 ppm of TCE.<sup>3</sup> These findings are also in agreement with those of previous studies showing that blood levels of TCA were several-fold higher than those for TCOH (Prout et al., 1985). In mice given a single oral dose of TCE (1000 mg/kg), TCOH was rapidly cleared from the blood ( $t_{1/2}$ = 1-2 h), while high concentrations of TCA persisted for over 30 h. In other studies, the estimated plasma half-life for TCA was 16 h in male mice exposed to TCE vapors (42-889 ppm) (Fisher et al., 1991). The half-life of free TCOH in blood is 3 h in mice administered an oral dose of TCE (1,200 mg/kg) (Abbas and Fisher, 1997). Hence, the higher levels of TCOH found in urine are consistent with findings from numerous studies indicating that TCOH is excreted at a faster rate than TCA, which is retained in blood over an extended time period (Bernauer et al., 1996; Dekant et al., 1986; Green and Prout, 1985). Interestingly, Monster et al. (1979) proposed that relatively large amounts of TCOH reflect recent exposure, whereas relatively large amounts of TCA reflect chronic exposure.

An additional finding of this study is that urinary excretion of TCA and TCOH increased over the first 2 to 3 weeks of repeated TCE exposure, and

subsequently reached a plateau that was maintained until the 4th week of exposure (Table 1). In other studies in which rats were subjected to 14 weeks of repeated TCE exposure (55 ppm), there were progressive increases in urinary TCOH excretion until the 10th week following which the levels decreased. On the other hand, there was relatively constant TCA excretion during the exposure period, although a decrease was detected by the 14<sup>th</sup> week, suggesting saturation of TCE metabolism (Kimmerle and Eban, 1973). However, in human subjects exposed repeatedly to 70 ppm TCE for 5 days, there were progressive increases in both TCA and TCOH excretion during the exposure period, and the amounts only decreased when exposure was terminated (Monster et al., 1973, 1979). Our data are similar to those in humans showing that once achieved, high levels of TCA and TCOH were sustained during the 4 weeks of repeated TCE exposure (Table 1). Whether fluctuations in urinary TCA and TCOH levels occur during repeated TCE exposure is dependent on a number of factors including TCE concentration, duration of exposure, plasma protein binding, enterohepatic circulation and TCE sequestration and release from adipose tissue. However, a question arises regarding whether the sustained high levels of urinary TCA and TCOH observed with repeated TCE exposure is due, in part, to induction of hepatic CYP2E1. This possibility is supported by studies that reported increases in CYP2E1 levels following TCE exposure (Hanioka et al., 1997). Whether this inductive mechanism plays a role in producing our results remains to be determined.

Since CYP2E1 is implicated as having a major role in TCE metabolism (Guengerich, 1991; Guengerich et al., 1991; Koop et al., 1985; Nakajima et al., 1988, 1990, 1992a, b, 1993), it was of interest to determine the content of CYP2E1 in the male reproductive tissues. Protein immunoblotting with microsomal proteins revealed a marked difference in CYP2E1 protein content in the epididymis vs. the testis, and was markedly higher in the former than in the latter (Fig. 2). The relative amounts of CYP2E1 present in the two tissues correlated with their levels of catalytic activity, as assessed by PNP hydroxylase activity (Table 2), and were greater than two-fold higher in the epididymis than in

the testis. In comparison with CYP2E1 expression in murine liver, the levels in testis and epididymis represented only a small fraction (Fig. 2). We have also performed immunohistochemical studies to determine the cellular location of CYP2E1 in testis and epididymis. Our results demonstrated that this P450 resided in the epithelial cells of the epididymis (Fig. 3a). The CYP2E1 protein was also localized in the Leydig cells of the testis (Fig. 3b). Since the population of epididymal epithelial cells greatly exceeded that of the Leydig cells, this difference in cell numbers is consistent with our finding showing that the CYP2E1 protein and catalytic activity were both significantly higher in the former than in the latter (Fig. 2 and Table 2). The CYP2E1 enzyme has also been reported to be present in rat testis where PNP hydroxylase activity was detectable (Jiang et al., 1998). However, the hydroxylase activity reported in rat testis is lower than found in murine testis in this study. An additional study has also described the presence of the CYP2E1 protein in the Leydig cells in testis from B6C3F1 mice (Healy et al., 1999). The localization of CYP2E1 in the Leydig cells raises a question regarding the relationship between this finding and observation of Leydig cell tumors in rats exposed to TCE (Maltoni et al., 1988).

An objective of this study was to identify the involvement of CYP2E1 in TCE metabolism in male reproductive tissues. As a step to this end, we have used a microsomal incubation system to determine the potential of testis and epididymis to metabolize TCE to chloral, a metabolite that is rapidly converted to chloral hydrate, and that is implicated in TCE-induced toxicity (IARC, 1995a). Our results showed that formation of chloral was proportional to protein content in the incubations (Fig. 4), and was also time- and concentration-dependent (Figs. 5 and 6). The amounts of chloral generated were consistently higher in microsomes from the epididymis than from the testis (Fig. 5-7). These results correlated with the relative amounts of the CYP2E1 enzyme present in the testis and epididymis, and supported a role for this P450 in TCE metabolism. To obtain more direct evidence for involvement of CYP2E1 in TCE activation, we carried out immunoinhibition experiments using an inhibitory CYP2E1 mAb.



Chloral formation in the epididymis and testis was inhibited by about 30 and 20%, respectively, in microsomes preincubated with the mAb and subsequently incubated with TCE (Fig. 7). It should be noted in this regard that previous studies showed that the mAb inhibited PNP hydroxylase activity by about 30 and 50% in liver microsomes from untreated and acetone-treated mice, respectively (Lee and Forkert, 1994). Acetone is an efficacious inducer of the CYP2E1 enzyme (Forkert et al., 1994). These findings suggested that the extent of inhibition by the mAb is dependent on CYP2E1 levels present within a tissue (Lee and Forkert, 1994). Taken together, the inhibitory effects of the mAb on TCE metabolism in the epididymis and testis are consistent with the relative amounts of CYP2E1 present in the two tissues, and supported the assumption that CYP2E1 has a pertinent role in mediating TCE metabolism in the male reproductive system. However, the lack of a more substantial inhibitory effect on chloral formation by the mAb suggested that other P450 enzymes are also involved in TCE metabolism. This suggestion is consistent with findings indicating that, in addition to CYP2E1, CYP1A1/2, CYP2B1/2, CYP2C11/6 are also involved in TCE metabolism in liver (Guengerich et al., 1991; Nakajima et al., 1990, 1992a, b, 1993). However, CYP2E1 appears to be the major enzyme with the highest affinity for TCE (Nakajima et al., 1990, 1993). The relative contributions of individual P450 enzymes to TCE metabolism in the testis and epididymis remain to be determined.

Exposure to TCE results in internal exposure to a mixture of TCE metabolites including chloral, TCA and TCOH. The toxicities induced by TCE are attributable to its metabolites, although it has been difficult to ascribe a specific toxic effect to any particular metabolite. Nevertheless, it is believed that TCA is the primary metabolite responsible for the hepatotoxic effects of TCE (Bull, 2000). On the other hand, chloral has been proposed to be the TCE metabolite mediating lung injury (Green et al., 1997), although evidence for this is lacking. In this study, the reproductive toxicity induced by TCE is associated with its oxidative metabolism to chloral (Figs. 5 and 6), and the levels formed in the testis and epididymis

correlated with the relative amounts of CYP2E1 present in the tissues (Table 2). These findings implicated bioactivation of TCE as a mechanism responsible for the toxic effects. In concordance with this premise, the difference in the severity of toxicity in the epididymis and testis may be attributed, in part, to the extent of TCE bioactivation, as reflected by the 3.7-fold higher levels of chloral formed in the former, compared with the latter (Fig. 6). In addition, factors that modify production of TCE metabolites may also contribute to the enhanced susceptibility of the epididymis. For example, a differential vascular supply to individual tissues may lead to differences in TCE distribution and bioavailability. The blood supply to the epididymis and testis is derived from the testicular artery and the smaller deferential artery, both of which form an anastomosis. The blood supply to both tissues thus appears to be similar and a difference in TCE distribution through this mechanism is unlikely. An additional factor that may influence bioavailability is sequestration of the lipophilic TCE in adipose tissue, which is considerably more abundant around the epididymis than the testis. It has been estimated that the half-life of TCE in adipose tissue is about 3.5-5.0 h (Davidson and Beliles, 1991). As a result, continuous slow release of TCE from adipose tissue can produce prolonged exposure to a target tissue. Moreover, since CYP2E1 is present in microsomes from adipose tissue, TCE metabolism may also take place at this site (Lipscomb et al., 1998). Thus, a number of variables may influence exposure to TCE and its metabolites, and contribute to the differential toxic outcome in epididymis and testis. Of particular importance in the context of the mechanisms responsible for the reproductive toxicity elicited by TCE is the identity of the reactive metabolite, which has yet to be determined.

Histopathologic observation of the epididymis revealed no obvious cellular damage in tissues from mice exposed to TCE from 1 to 3 weeks, as assessed by light photomicroscopy. However, TCE exposure for 4 weeks produced cytotoxicity in the epididymis that was characterized by sloughing of epithelial cells (Fig. 8). Hence, the epididymis is a specific target of the action of TCE, a finding that correlates with enhanced levels of CYP2E1 and formation of chloral

in this tissue. No obvious pathologic alterations were observed in the testis after TCE exposure, as observed by light microscopy. The lack of a morphologically apparent toxic effect in the testis suggested that CYP2E1 levels and formation of chloral were not of sufficient amounts to produce a cytotoxic lesion. Taken together, our results supported the concept that bioactivation by CYP2E1 to metabolites including chloral mediates the toxicity of TCE in the male reproductive system.

This investigation has provided evidence showing that TCE bioactivation in the male reproductive system leads to adverse consequences that are manifested to the greatest extent in the epididymis. To the best of our knowledge, this is the first time that this has been characterized and reported. This toxicity has a high probability of affecting spermatozoa that develop and mature within the epididymal environment, producing under normal circumstances functional entities capable of motility and fertilizing ova. The results of these studies supported the premise that TCE exposure may produce impaired fertility due to toxic damage to the epididymis, and have serious implications for solvent abusers and workers exposed chronically to TCE. The high concentrations of TCE used in this study are unlikely to be encountered under normal occupational conditions, and further studies using lower concentrations and more prolonged exposure times are required to fully establish the potential of TCE to cause male reproductive toxicity.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

We wish to thank Dr. Richard Oko, Department of Anatomy and Cell Biology, Queen's University, for valuable advice regarding the morphology of the male reproductive tissues. The technical assistance provided by Carolyn Picco, Kathy Collins, David Putt and Ginette Charest-Tardif is gratefully acknowledged. This study was supported by the Toxic Substances Research Initiative, Health Canada and Environment Canada (P.G.F., R.T.) and in part by NIEHS RO1-ES08828 (L.H.L.).

## REFERENCES

- Abbas, R., and Fisher, J. W. (1997). A physiologically-based pharmacokinetic model for trichloroethylene and its metabolites, chloral hydrate, trichloroacetate, dichloroacetate, trichloroethanol, and trichloroethanol glucuronide in B6C3F1 mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **147**, 15-30.
- Allen, J. W., Collins, B. W., and Evansky, P. A. (1994). Spermatid micronucleus analyses of trichloroethylene and chloral hydrate effects in mice. *Mutat. Res.* **323**, 81-88.
- Bernauer, U., Birner, G., Dekant, W. and Henschler, D. (1996). Biotransformation of trichloroethene: dose-dependent excretion of 2,2,2-trichloro-metabolites and mercapturic acids in rats and humans after inhalation. *Arch. Toxicol.* **70**, 338-346.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Chem.* **72**, 248-254.
- Breimer, D. D., Ketalaars, C. J., and Van Rossum, J. M. (1974) Gas chromatographic determination of chloral hydrate, trichloroethanol and trichloroacetic acid in blood and in urine employing head-space analysis. *J. Chromatography* **88**, 55-63.
- Bruckner, J. V., Davis, B. D., and Blancato, J. N. (1989). Metabolism, toxicity, and carcinogenicity of trichloroethylene. *Crit. Rev. Toxicol.* **20**, 31-50.
- Bull, R. J. (2000). Mode of action of liver tumor induction by trichloroethylene. *Environ. Health Perspect.* **108 (supp. 2)**, 241-259.
- Cummings, B. S., Parker, J. C., and Lash, L. H. (2001). Cytochrome P450-dependent metabolism of trichloroethylene in rat kidney. *Toxicol. Sci.* **60**, 11-19.
- Davidson, W. F. and Beliles, R. P. (1991) Consideration of the target organ toxicity of trichloroethylene in terms of metabolite toxicity and pharmacokinetics. *Drug Metab. Rev.* **23**, 493-599.
- Dekant, W., Schultz, A., Metzler, M., and Henschler, D. (1986) Absorption, elimination and metabolism of trichloroethylene: a quantitative comparison between rats and mice. *Xenobiotica* **16**, 143-152.

- Duescher, R. J., and Elfarra, A. A. (1993). Determination of *p*-nitrophenol hydroxylase activity of rat liver microsomes by high-pressure liquid chromatography. *Anal. Biochem.* **212**, 311-314.
- Du Teux, S. B., and Miller, M. G. (2001) Identification of cytochrome P450 2E1 in the efferent ducts and epididymis of the rat. *The Toxicologist* **60**, 385.
- Fisher, J. W., Gargas, M. L., Allen, B. C., Andersen, M. E. (1991). Physiologically based pharmacokinetic modeling with trichloroethylene and its metabolite, trichloroacetic acid, in the rat and mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **79**, 389-400.
- Forkert, P. G. (1995). CYP2E1 is preferentially expressed in Clara cells of murine lung: localization by *in situ* hybridization and immunohistochemical methods. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **12**, 589-596.
- Forkert, P. G. (1999). In vivo formation and localization of 1,1-dichloroethylene epoxide in murine liver: identification of its glutathione conjugate 2-S-glutathionyl acetate. *J Pharmacol. Exp. Ther.* **290**, 1299-1306.
- Forkert, P. G., Redza, Z. M., Mangos, S., Park, S. S., and Tam, S.-P. (1994). Induction and regulation of CYP2E1 in murine liver after acute and chronic acetone administration. *Drug Metab. Dispos.* **22**, 248-253.
- Green, T., and Prout, M. S. (1985). Species differences in response to trichloroethylene. II. Biotransformation in rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **79**, 401-411.
- Green, T., Mainwaring, G. W., and Foster, J. R. (1997) Trichloroethylene-induced mouse lung tumors: studies of the mode of action and comparisons between species. *Fund. Appl. Toxicol.* **37**, 125-130.
- Guengerich, F. P. (1991). Oxidation of toxic and carcinogenic chemicals by human cytochrome P-450 enzymes. *Chem. Res. Toxicol.* **4**, 391-407.
- Guengerich, F. P., Kim, D.-H., and Iwasaki, M. (1991). Role of human cytochrome P-450 IIE1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects. *Chem. Res. Toxicol.* **4**, 168-179.
- Hanioka, N., Omae, E., Yoda, R., Jinno, H., Nishimura, T., and Ando, M. (1997). Effect of trichloroethylene on cytochrome P450 enzymes in the rat liver. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **58**, 628-635.
- Healy, L. N., Pluta, L. J., and Recio, L. (1999). Expression and distribution of cytochrome P450 2E1 in B6C3F1 mouse liver and testes. *Chem-Biol. Interact.* **121**: 199-207.

- IARC (1995a) Chloral and chloral hydrate, in *Dry Cleaning, Some Chlorinated Solvents and Other Industrial Chemicals*, (63), IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, pp. 245-270, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
- IARC (1995b) Trichloroethylene, in *Dry Cleaning, Some Chlorinated Solvents and Other Industrial Chemicals* (63), IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, pp. 75-158, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
- Jiang, Y., Kuo, C.-L., Pernecky, S. J., and Piper W. N. (1998). The detection of cytochrome P450 2E1 and its catalytic activity in rat testis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **246**: 578-583.
- Kimmerle, G., and Eben, A. (1973). Metabolism, excretion and toxicology of trichloroethylene after inhalation. I. Experimental exposure on rats. *Arch. Toxicol.* **30**, 115-126.
- Ko IY, Park SS, Song BJ, Patten C, Tan Y, Hah YC, Yang CS and Gelboin HV (1987) Monoclonal antibodies to ethanol-induced rat liver cytochrome P-450 that metabolize aniline and nitrosamines. *Cancer Res.* **47**, 3101-3109.
- Koop, D. R., Crump, B. L., Nordblom, G. D., and Coon, M. J. (1985). Immunochemical evidence for induction of the alcohol-oxidizing cytochrome P-450 of rabbit liver microsomes by diverse agents: ethanol, imidazole, Trichloroethylene, acetone, pyrazole and isoniazid. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **82**, 4065-4069.
- Land, P. C., Owen, E. L., and Linde, H. W. (1981). Morphologic changes in mouse spermatozoa after exposure to inhalational anesthetics during early spermatogenesis. *Anesthesiology* **54**, 53-56.
- Lash, L. H., Fisher, J. W., Lipscomb, J. C., and Parker, J. C. (2000). Metabolism of trichloroethylene. *Environ. Health Perspect.* **108** (suppl. 2), 177-200.
- Lee, R. P., and Forkert, P. G. (1994). *In vitro* biotransformation of 1,1-dichloroethylene by hepatic cytochrome P450 2E1 in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **270**, 371-376.
- Lipscomb, J. C., Fisher, J. W., Confer, P. D., and Byczkowski, J. Z. In vitro to in vivo extrapolation for trichloroethylene metabolism. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **152**, 376-387.

- Maltoni, C., Lefemine, G., Cotti, G., and Perino, G. (1988). Long-term carcinogenic bioassays on trichloroethylene administered by inhalation to Sprague-Dawley rats Swiss and B6C3F1 mice. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **534**, 316-342.
- Monster, A. C., and Eben, A. (1973). Metabolism, excretion and toxicology of trichloroethylene after inhalation. *Arch. Toxikol.* **30**, 127-138.
- Monster, A. C., Boersma, G., and Duba, W. C. (1979). Kinetics of trichloroethylene in repeated exposure of volunteers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* **42**, 283-292.
- Nakajima, T., Okino, T., Okuyama, S., Kaneko, T., Yonekura, I., and Sato, A. (1988). Ethanol-induced enhancement of Trichloroethylene metabolism and hepatotoxicity: difference from the effect of Phenobarbital. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **94**, 227-237.
- Nakajima, T., Wang, R.-S., Muruyama, N., and Sato, A. (1990). Three forms of trichloroethylene-metabolizing enzymes in rat liver induced by ethanol, Phenobarbital, and 3-methylcholanthrene. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **102**, 546-552.
- Nakajima, T., Wang, R.-S., Elovaara, E., Park, S. S., Gelboin, H. V., and Vainio H. (1992a). A comparative study of the contribution of cytochrome P450 isozymes to metabolism of benzene, toluene and trichloroethylene in rat liver. *Biochem. Pharmacol.* **43**, 251-257.
- Nakajima, T., Wang, R.-S., Katakura, Y., Kishi, R., Elovaara, E., Park, S.S., Gelboin, H. V., and Vainio, H. (1992b). Sex-, age-, and pregnancy-induced changes in metabolism of toluene and trichloroethylene in rat liver in relation to the regulation of cytochrome P450IIE1 and P450IIC11 content. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **261**, 869-874.
- Nakajima, T., Wang, R.-S., Elovaara, E., Park, S. S., Gelboin, H. V., and Vainio, H. (1993). Cytochrome P450-related differences between rats and mice in the metabolism of benzene, toluene and trichloroethylene in liver microsomes. *Biochem. Pharmacol.* **45**, 1079-1085.
- NTP (1988) Toxicology and carcinogenesis studies of trichloroethylene in four strains of rats (ACI, August, Marshall, Osborne-Mendel) (gavage studies). NTP Tech. Rep. 273, CAS No. 79-01-6. National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC.
- NTP (1990) Carcinogenesis studies of trichloroethylene (without epichlorohydrin) in F344/N rats and BC63F1 mice (gavage study). NTP Tech. Rep. 243, CAS No. 79-01-06. National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC.



- Park, S. S., Ko, I. Y., Patten, C., Yang, C. S., and Gelboin, H. V. (1986). Monoclonal antibodies to ethanol-induced cytochrome P450 that inhibit aniline and nitrosamine metabolism. *Biochem Pharmacol* **35**, 2855-2858.
- Prout, M. S., Provan, W. M., and Green, T. (1985). Species differences in response to trichloroethylene. I. Pharmacokinetics in rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **79**, 389-400.
- Scott, C. S., and Cogliano, V. J. (2000). Trichloroethylene health risks – state of the science. *Environ. Health Perspect.* **108** (suppl. 2), 159-160.
- Smith-Gill, S. J., Wilson, S. J., Potter, M., Prager, E. M., Feldmann, R. J., and Mainhart, C. R. (1982). Mapping the antigenic isotope for a monoclonal antibody against lysozyme. *J. Immunol.* **128**, 314-322.
- Weiss, N. S. (1996). Cancer in relation to occupational exposure to trichloroethylene. *Occup Environ Med* **53**, 1-5.
- Zenick, H., Blakburn, K., Hope, E., Richdale, N., and Smith, M. K. (1984). Effects of trichloroethylene exposure on male reproductive function in rats. *Toxicology* **331**, 237-250.

## Footnotes

<sup>1</sup>To whom correspondence should be addressed at Department of Anatomy and Cell Biology, Queen's University, Kingston, Ontario, Canada K7L 3N6. Fax: (613) 533-2566; E-mail: [forkertp@post.queensu.ca](mailto:forkertp@post.queensu.ca)

<sup>2</sup>Abbreviations used: mAb, monoclonal antibody; PNP, *p*-nitrophenol; TCA, trichloroacetic acid; TCOH, trichloroethanol; TCE, trichloroethylene.

<sup>3</sup>Nadeau, V., Charest-Tardif, G., Forkert, P. G., and Tardif, R. Characterization of the toxicokinetics of trichloroethylene, trichloroacetic acid and trichloroethanol in male CD-1 mice exposed to trichloroethylene by inhalation. In preparation.

**TABLE 1.** Urinary excretion of TCA and TCOH following inhalation exposure to TCE<sup>a</sup>.

TCE Metabolites ( $\mu\text{mole}/24\text{ h}$ )		
TCE Exposure (weeks)	TCA	TCOH
1	12.7 $\pm$ 1.1	79.0 $\pm$ 4.8 <sup>b</sup>
2	22.3 $\pm$ 2.6 <sup>c</sup>	99.4 $\pm$ 6.4 <sup>b</sup>
3	21.1 $\pm$ 2.3 <sup>c</sup>	104.9 $\pm$ 6.7 <sup>b,d</sup>
4	23.0 $\pm$ 2.4 <sup>c</sup>	106.1 $\pm$ 4.3 <sup>b,d</sup>

<sup>a</sup>Mice were exposed to TCE (1000 ppm) for 6 h/day, 5 days/week for 1 to 4 weeks. Urine was collected over a period of 24 h prior to the end of TCE exposure for that week. Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M. ( $n = 6$ ), and were analyzed by two-way ANOVA and the Bonferroni test.

<sup>b</sup>Significantly different from levels of TCA,  $p < 0.001$ .

<sup>c</sup>Significantly different from TCA levels detected at 1 week,  $p < 0.05$ .

<sup>d</sup>Significantly different from TCOH levels detected at 1 and 2 weeks,  $p < 0.05$ .

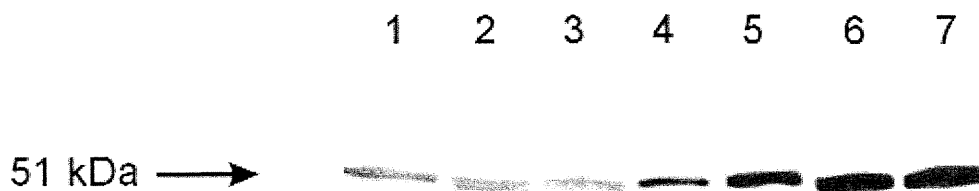
**TABLE 2.** Levels of *p*-nitrophenol hydroxylase activity in murine testis and epididymis\*

Tissue	PNP Hydroxylase Activity
	<i>pmol/mg protein/min</i>
Testis	3.01 ± 0.78
Epididymis	7.17 ± 1.01**

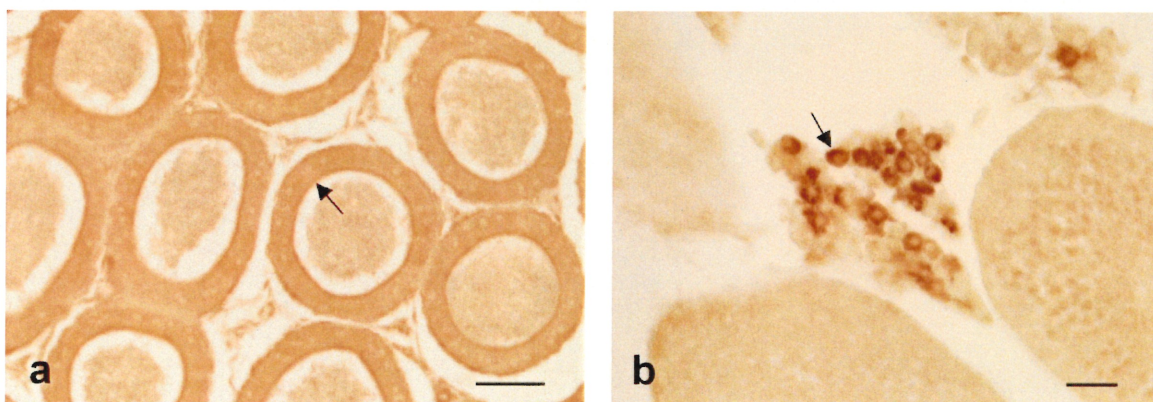
\*Reaction mixtures contained microsomes from testis or epididymis (1 mg protein) and NADPH (1.5 mM). Following preincubation for 3 min at 37°C, PNP in dimethyl sulfoxide (1 mM) was added, and the incubations were continued for an additional 10 min. Microsomal proteins were precipitated with perchloric acid (70%), and removed by centrifugation. Formation of 4-nitrocatechol from PNP was determined in the supernatant fraction (100  $\mu$ l), using reversed-phase HPLC analysis as described in "Materials and Methods". Data are expressed as mean  $\pm$  S. D. of sample determinations ( $n = 5$  for testis;  $n = 8$  for epididymis) from three different microsomal preparations.

\*\* Significantly different from levels of PNP hydroxylase activity in microsomes from testis,  $p < 0.001$ .

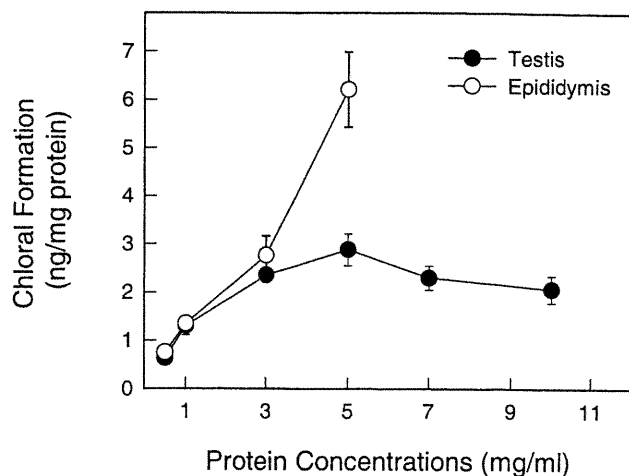




**FIGURE 2.** Protein immunoblotting for CYP2E1 with microsomes from testis, epididymis and liver of untreated mice. Microsomal proteins were subjected to SDS-PAGE, transferred to a nitrocellulose membrane, and reacted with the CYP2E1 mAb 1-98-1. Lanes were loaded with microsomal proteins as follows: lanes 1-3, testis; lanes 4-6, epididymis; lane 7, liver. Lanes 1-3 contained 10, 25 and 50  $\mu\text{g}$  of protein from testis, respectively; lanes 4-6 contained 5, 10 and 25  $\mu\text{g}$  of protein from epididymis, respectively; lane 7 contained 2  $\mu\text{g}$  of protein from liver.

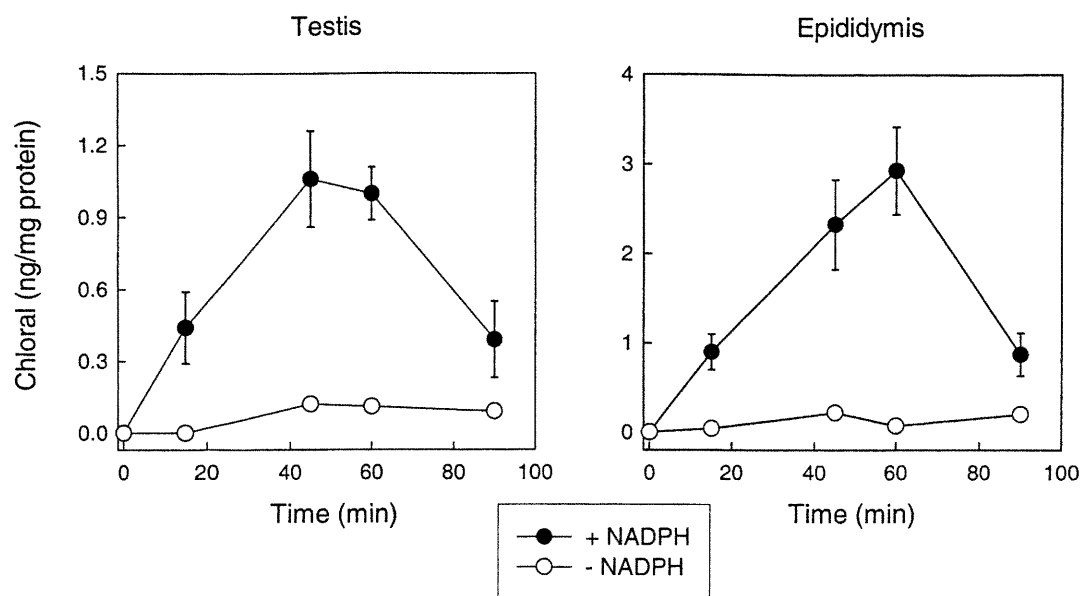


**FIGURE 3.** Localization and distribution of CYP2E1 in testis and epididymis. Immunohistochemical staining was performed on paraffin-embedded tissue sections, using a goat anti-rabbit CYP2E1 polyclonal antibody and the avidin-biotin complex procedure. In the epididymis, the CYP2E1 protein was localized in the epithelial cells (arrow). In the testis, this P450 protein was localized within the Leydig cells in the interstitial tissue (b). Scale bars: (a) 50  $\mu\text{m}$ , (b) 25  $\mu\text{m}$ .

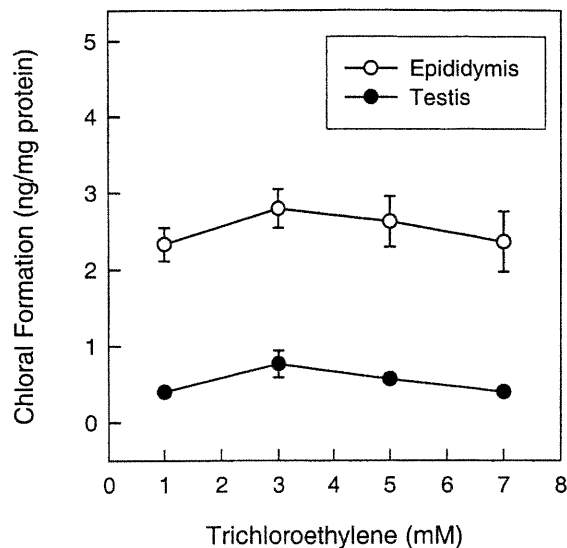


**FIGURE 4.** Formation of chloral from TCE in incubations containing various concentrations (0.5-10 mg/ml) of microsomal proteins from testis and epididymis. Reaction mixtures contained microsomes (0.5-5.0 mg/ml for epididymis; 0.5-10 mg/ml for testis), 3 mM TCE and NADPH (5 mM). Control incubations were carried out in the absence of NADPH, and the values were subtracted from the experimental incubations. The incubations were performed at 37°C for 60 min. The samples were frozen in liquid nitrogen, thawed, extracted with 0.5 ml ethyl acetate, and analyzed by gas chromatography as described in "Materials and Methods". Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M. of three triplicate samples from each microsomal preparation; a total of three separate microsomal preparations were used for each protein concentration.

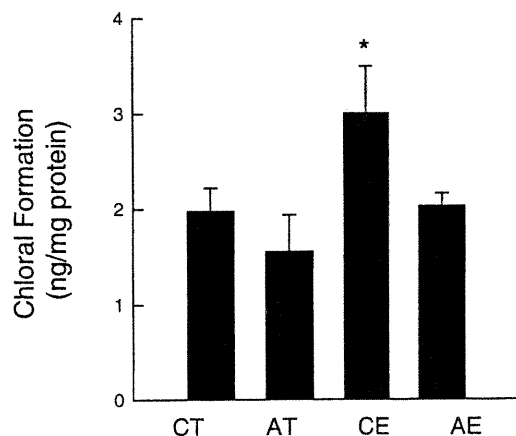




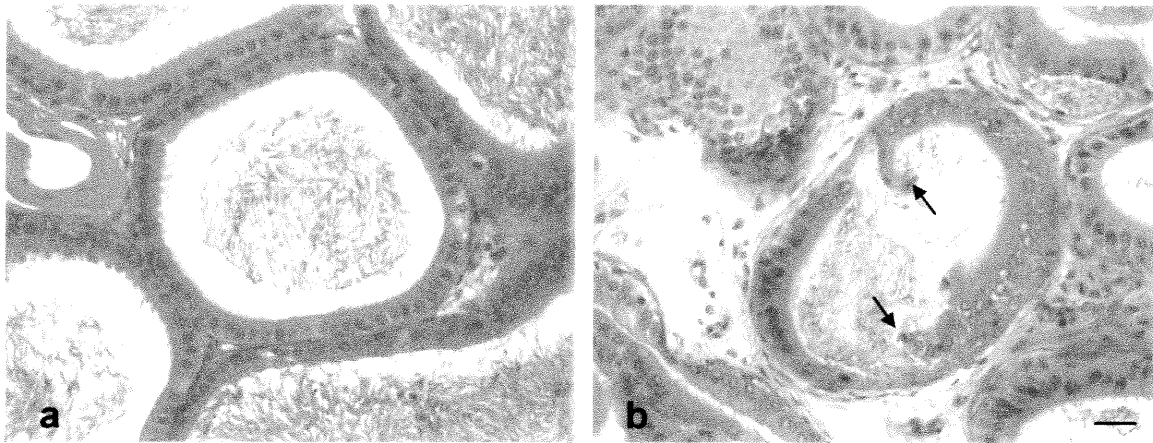
**FIGURE 5.** Time-dependent formation of chloral from TCE in incubations of microsomes from testis and epididymis. Reaction mixtures contained microsomes (5 mg/ml), 5 mM TCE and NADPH (5 mM). Control incubations were carried out in the absence of NADPH. The incubations were performed at 37°C for the duration indicated, and the reactions were terminated by immersion in liquid nitrogen. The samples were then thawed, extracted with 0.5 ml ethyl acetate, and analyzed by gas chromatography as described in "Materials and Methods". Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M. of three triplicate samples from each microsomal preparation; a total of three different microsomal preparations were used for each time-point.



**FIGURE 6.** Concentration-dependent metabolism of TCE in incubations of microsomes from testis and epididymis. Reaction mixtures contained microsomes (5 mg/ml), TCE (0.25-7.0 mM) and NADPH (5 mM). Control incubations were performed in the absence of NADPH, and the values were subtracted from the experimental incubations. The incubations were performed at 37°C for 60 min, and the reactions were terminated by immersion in liquid nitrogen. The samples were then thawed and extracted with 0.5 ml ethyl acetate. The samples were analyzed by gas chromatography as described in "Materials and Methods". Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M. of three triplicate samples from each microsomal preparation; a total of three different microsomal preparations were used for each TCE concentration.



**FIGURE 7.** Formation of chloral from TCE in microsomal incubations in testis and epididymis after preincubation with an inhibitory CYP2E1 mAb. In the control incubations, microsomes from testis (CT) and epididymis (CE) were preincubated with a nonspecific mAb (HyHel 9) before incubation with TCE. In the immunoinhibition experiments, microsomes from testis (AT) and epididymis (AE) were preincubated with the CYP2E1 mAb and subsequently incubated with TCE (3 mM). A mAb protein:microsomal protein ratio of 1:2 was used. Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M. of three triplicate samples from each microsomal preparation; a total of three different microsomal preparations were used. \*Significantly different from CT, AT and AE ( $p < 0.05$ ).



**FIGURE 8.** The epididymis in untreated mice (a) and mice exposed to TCE (1000 ppm) by inhalation for 6 h/day for 5 days/week for a total of 4 weeks (b). Tissues were fixed in Bouin's fluid, and paraffin-embedded tissue sections were stained with hematoxylin and eosin. Exposure to TCE resulted in sloughing of the epithelium. Scale bar = 25  $\mu$ m.

Troisième article

**Modélisation toxicocinétique à base physiologique du trichloroéthylène, de l'acide trichloroacétique et du trichloroéthanol chez la souris CD-1 mâle après administration par voie intraveineuse, intra-péritonéale et respiratoire.**

Véronique Nadeau<sup>1</sup>, Ginette Charest-Tardif<sup>1</sup>, et Robert Tardif<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>TOXHUM (Groupe de recherche en toxicologie humaine), Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada. Département de santé environnementale et santé au travail, Université de Montréal, QC, Canada, H3C 3J7.

**Adresser la correspondance à:**

Robert Tardif, Ph. D.  
Département de santé environnementale et santé au travail  
Université de Montréal  
2375, Chemin de la Côte Ste-Catherine  
Montréal, Québec  
Canada  
H3T 1A8  
Tel.: (514) 343-6111 ext.1515  
Fax: (514) 343-2200  
E-mail: [robert.tardif@umontreal.ca](mailto:robert.tardif@umontreal.ca)

## RÉSUMÉ

Cette étude a été entreprise dans le but de d'évaluer l'influence de l'administration de différentes doses de TCE et de diverses voies d'exposition [intraveineuse (IV), intra-péritonéale (IP) et par inhalation (INH)] sur la cinétique du TCE et de ses deux principaux métabolites, le trichloroéthanol (TCOH) et l'acide trichloroacétique (TCA), dans le sang et l'urine chez la souris CD-1 mâle. Le TCE, le TCOH et le TCA ont été mesurés par chromatographie en phase gazeuse avec capture d'électrons. Les souris ont reçu diverses doses de TCE : 0,25, 0,50 ou 0,75 mmole/kg (IV), 0,50, 1,0 ou 2,0 mmole/kg (IP). D'autres groupes ont été exposés par inhalation (INH) : 250, 500 ou 1000 ppm durant 4 heures. Les résultats indiquent une diminution rapide des concentrations sanguines de TCE inchangé pour toutes les voies d'exposition ainsi qu'une relation linéaire entre les surfaces sous la courbe des concentrations en fonction du temps et les doses pour la voie IV. La demie-vie ( $t_{1/2}$ ) du TCE est demeurée similaire en fonction des différentes doses et voies; pour la voie IV, la  $t_{1/2}$  a varié entre  $10,1 \pm 2,51$  minutes (moyenne  $\pm$  écart-type) et  $13,3 \pm 3,75$  minutes et entre  $6,5 \pm 4,03$  et  $26,0 \pm 4,13$  minutes pour la voie IP. Suite aux expositions par inhalation, la demie-vie du TCE a augmentée significativement en fonction de la concentration :  $5,9 \pm 1,5$  minutes (250 ppm),  $12,5 \pm 2,9$  minutes (500 ppm) et  $15,5 \pm 4,2$  minutes (1000 ppm). Le TCOH et le TCA ont été mesurés dans l'urine jusqu'à 72 heures après les expositions. Indépendamment de la dose et de la voie d'administration, le TCOH est le principal métabolite excrété dans l'urine (environ 88%) et l'excrétion urinaire des métabolites est proportionnelle aux doses administrées pour toutes les voies d'exposition. L'ensemble de ces résultats a servi, dans un deuxième temps, à élaborer un modèle toxicocinétique à base physiologique comprenant les 3 voies d'exposition et permettant de prédire la cinétique du TCE, du TCA et du TCOH dans le sang, l'urine, le foie et les testicules chez la souris CD-1 mâle. Le modèle prédit adéquatement les concentrations sanguines de TCE inchangé pour des expositions par voie IV et INH, mais ne décrit pas correctement la cinétique du TCE après administration par la voie IP et surestime les quantités de métabolites excrétées dans l'urine, et ce, pour les trois voies d'administration. En revanche, il permet de décrire correctement les concentrations sanguines et tissulaires (foie et testicules) du TCOH total après

expositions par inhalation tout en sous-estimant légèrement les concentrations sanguines de TCA après l'exposition à 1000 ppm. Les simulations effectuées permettent de croire que des expositions répétées au TCE pourraient entraîner l'accumulation des métabolites au niveau des testicules et, de par ce fait, une toxicité. En conclusion, les résultats suggèrent que la dose absorbée de TCE qui dépend de la voie d'administration, exerce une importante influence sur la cinétique du TCE et de ses métabolites. Finalement, le modèle proposé ici est le premier à décrire la cinétique au niveau des testicules.

Mots clés: Trichloroéthylène, cinétique, sang, urine, foie, testicules, acide trichloroacétique, trichloroéthanol, TCBP

## INTRODUCTION

Le trichloroéthylène (TCE) est un composé organique volatil utilisé principalement comme solvant lors des opérations de dégraissage de pièces métalliques. Aux États-Unis, environ 85% de la production totale de TCE est utilisée à cette fin (ATSDR, 1997). Une mauvaise ventilation en milieu de travail représente alors la principale cause associée aux expositions au TCE (Wu et Schaum, 2000). *L'American Conference of Government Industrial Hygiene* (ACGIH) et *l'Occupational Safety and Health Administration* (OSHA) ont établi des valeurs d'exposition moyennes pondérées (exposition de 8 heures/jour et 5 jours/semaine) de 50 et 100 ppm afin de protéger les travailleurs des effets neurotoxiques du TCE. Pour une exposition de courte durée, la limite d'exposition se situe entre 200 (ACGIH) et 300 ppm (OSHA) de TCE (ACGIH, 1998, Clewell et coll., 2000). L'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer (IARC) considère le TCE comme une substance probablement cancérigène pour l'humain (groupe 2A) en se basant sur l'évidence de cancérogénicité du TCE chez les rongeurs ainsi que sur certaines études épidémiologiques effectuées chez l'humain (Maull et Lash, 1998).

La voie d'administration d'un produit a un impact important sur les processus cinétiques responsables de la distribution de la dose administrée vers l'organe cible ainsi que sur les concentrations mesurées au niveau de cet organe cible (Dallas et coll., 1991; Fisher et coll., 1991). Indépendamment de la voie d'administration, le TCE est rapidement absorbé, distribué aux différents organes (foie, reins, poumons, cerveau, muscles), via la circulation sanguine et s'accumule principalement au niveau des tissus adipeux (Lash et coll., 2000). Le TCE peut aussi se concentrer au niveau des ovaires et des spermatoocytes (Gist et Burg, 1995). De récentes études suggèrent que l'exposition au TCE affecterait le système reproducteur des rongeurs mâles (Land et coll., 1981 ; Maltoni et coll., 1988 ; Georges et coll., 1997 ; Kumar et coll., 2000).



La biotransformation du TCE est principalement effectuée au niveau du foie, bien que certains organes comme les poumons, les reins et les testicules puissent aussi métaboliser le TCE (Odum et coll., 1992; Lash et coll., 2000; Forkert et coll., 2002). Les métabolites du TCE sont responsables de la majorité de ses effets toxiques, de là l'importance de leur quantification au niveau des organes cibles (Elcombe et coll., 1985; Lash et coll., 2000). Il existe deux voies de biotransformation du TCE; la conjugaison au glutathion produisant des métabolites réactifs, comme le DCVC, et la voie d'oxydation par le cytochrome P450. Cette dernière est la principale voie de biotransformation et implique surtout l'isoforme P450E1, isoforme ayant la plus grande affinité pour le TCE tant chez les rongeurs que chez l'humain (Nakajima et coll., 1992; Forkert et coll., 2002). Cette réaction entraîne la formation de l'hydrate de chloral (CH) qui produit majoritairement du trichloroéthanol (TCOH) et de l'acide trichloracétique (TCA) (Lipscomb et coll., 1996). Le TCA serait le métabolite responsable de la toxicité et de la prolifération des peroxysomes au niveau du foie (Herren-Freud, 1987; DeAngelo et coll., 1989).

Plusieurs modèles toxicocinétiques à base physiologique (TCBP) ont été développés pour le TCE. Un certain nombre d'entre eux n'ont été développés que pour la caractérisation de certains paramètres très spécifiques du TCE et n'incluent pas les métabolites du TCE; les modèles développés afin de reproduire l'absorption gastro-intestinale (Staats et coll., 1991), cutanée du TCE (Poet et coll., 2000) ainsi que le transport du TCE au niveau des tissus adipeux (Albanese et coll., 2002). Ce type de modèle permet de prédire les concentrations sanguines et tissulaires de TCE, mais ne permet pas de simuler les concentrations des différents métabolites notamment au niveau des organes cibles (Dallas et coll., 1991; Clewell et coll., 2000). Néanmoins, la plupart des modèles décrivent le devenir du TCE et celui de ses principaux métabolites; le TCA et le TCOH. Plus récemment, certains auteurs ont proposé des modèles TCBP décrivant l'exposition par inhalation chez l'humain (Sato et coll., 1977;

Allen et Fisher, 1993; Simon, 1997; Fisher et coll., 1998), le rat (Fisher et coll., 1991) et la souris (Fisher et coll., 1991; Greenberg et coll., 1999).

Peu de modèles, cependant, incluent plusieurs voies d'administration. Fisher et coll. (1990) ont développé un modèle TCBP pouvant prédire le résultat d'exposition par voies respiratoire et orale (eau de breuvage) chez la rate allaitant et les rats. Clewell et coll. (2000) ont aussi proposé un modèle pour l'humain, le rat et la souris qui peut prédire le résultat d'expositions par voies respiratoire et orale.

Greenberg et coll. (1999) ont développé un modèle TCBP pour le TCE et ses métabolites oxydés permettant de simuler les concentrations et le devenir du TCE, du CH, du TCA et du TCOH libre et glucuronidé, pour une exposition par inhalation chez la souris B6C3F1. Ce modèle permet, entre autres, de reproduire la cinétique des métabolites dans le sang, le foie et les poumons. Toutefois, leur modèle suppose une fraction d'absorption du TCE équivalente à 0,53, laquelle influence de façon très importante les concentrations simulées. Abbas et Fisher (1997) ont proposé un modèle permettant de prédire, suite à des doses orales de TCE, le devenir du TCE dans le sang et les tissus adipeux, des métabolites (TCA, TCOH libre et glucuronidé, DCA) dans le sang, les poumons, le foie et l'urine. À ce jour, aucun modèle n'a été développé en incluant les organes reproducteurs, dans une perspective d'évaluation de la reprotoxicité associée au TCE .

Cet article présente un modèle TCBP permettant de décrire la cinétique du TCE, du TCA et du TCOH dans le sang, l'urine et certains tissus suivant l'administration de TCE par différentes voies (intraveineuse, intra-péritonéale, respiratoire) chez la souris CD-1 mâle. Des expériences ont été conduites afin de déterminer la cinétique du TCE et/ou celles des métabolites dans le sang, l'urine, le foie et les testicules suite à diverses expositions par voie intraveineuse (IV), intra-péritonéale (IP) ou respiratoire (INH) au TCE. Les données recueillies ont

ensuite été utilisées afin de développer un modèle TCBP. Ce modèle est basé sur des modèles récemment publiés (Fisher et coll., 1991; Clewell et coll., 2000), mais il est le premier à décrire la cinétique du TCE, du TCA et du TCOH total (libre et conjugué) au niveau des testicules chez la souris CD-1 mâle.

## **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

**Animaux** Des souris CD-1 mâles, pesant entre 25 et 30 g, obtenues des laboratoires Charles River (St-Constant, Québec, Canada) ont été utilisées dans cette étude. Une semaine avant leur utilisation, elles ont été acclimatées à un cycle de lumière de 12 heures dans une pièce dont l'humidité et la température étaient contrôlées (20-22°C). Elles ont eu libre accès à la nourriture ainsi qu'à l'eau en tout temps, exception faite lors des expositions.

**Produits** Le TCE (99.5%), le TCOH (99%), le TCA (99%) ainsi que le dibromochlorométhane (98%) ont été obtenus auprès de la compagnie Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI), tandis que l'Alkamuls® (EL-620) nous a gracieusement été fourni par la compagnie Rhodia (Montréal, Québec).

**Mesure des coefficients de partage** Les coefficients de partage (CP) du TCE ont été mesurés selon une méthode développée par Gargas et coll. (1989) qui utilisent la technique par équilibration de vials. En résumé, des souris CD-1 mâles ont été euthanasiées par asphyxie au CO<sub>2</sub> et le sang, le foie, les testicules, les muscles et les tissus adipeux ont été prélevés et conservés au froid. Le sang et les homogénats de chaque tissu préparés avec une solution de saline 0,9% ont été placés dans des vials de 22 ml fermés hermétiquement. Les vials ont, par la suite, été chauffés à 37,5°C pendant 15 minutes. Un prélèvement de 1 ml d'air à l'intérieur des vials a été effectué à l'aide de seringue *gas thigh* et le remplacement par 1 ml d'air contenant 6000 ppm de TCE. Par la suite, les

vials ont été incubés à nouveau à 37,5°C durant 30 minutes, 1 ou 2 heures afin de déterminer le temps requis pour l'obtention de l'équilibre. La phase gazeuse (1 ml) de chacun des vials a ensuite été injectée dans un chromatographe à phase gazeuse à l'aide d'un injecteur automatique (TEKMAR 7000®).

**Administration du trichloroéthylène** Des groupes de 6 animaux ont reçu les traitements suivants; une administration de TCE par voie intraveineuse (IV) au niveau de la veine de la queue, à des doses de 0.25, 0.5 or 0.75 mmole/kg, ou une administration par la voie intra-péritonéale (IP) à des doses de 0.5, 1.0 or 2.0 mmole/kg. Dans les deux cas, les solutions de TCE ont été préparées à partir d'une solution aqueuse d'Alkamuls® (10%v/v).

En ce qui a trait aux expositions par inhalation, des groupe de 5 souris CD-1 mâles ont été exposées à 250, 500 et 1000 ppm de TCE durant 4 heures (Nadeau et coll., 2002). Les exposition par inhalation ont été conduites dans une chambre d'exposition de 500L (Unifab, Kalamazoo, Mich) où la température, le débit d'air ainsi que l'humidité étaient contrôlées. Le solvant a été injecté dans la chambre à l'aide d'une pompe à HPLC (pompe 2510 de chez Varian Canada, Montréal) où il a été mélangé à de l'air pur. La concentration dans l'air de la chambre a été vérifiée à toutes les 4 minutes par chromatographie en phase gazeuse avec détection par capture d'électrons, à l'aide une valve d'échantillonnage automatique. Durant les expositions, la concentration de solvant dans la chambre a été maintenue à  $\pm 4\%$  de la concentration cible.

**Mesure du TCE inchangé dans le sang** Des échantillon sanguins, de 10, 20 ou 30  $\mu\text{l}$ , ont été prélevés à partir de la veine saphène à des temps variant entre 1,5 et 100 minutes suite à l'administration de TCE. Les échantillons ainsi qu'un volume de 10  $\mu\text{l}$  d'une solution méthanolique contenant du dibromochlorométhane (standard interne) ont, par la suite, été placés dans des vials de 22 ml, scellés hermétiquement, et conservés sur de la glace. Les concentrations de TCE inchangé ont été mesurées par chromatographie en

phase gazeuse avec détection par capture d'électrons selon une méthode décrite par Da Silva et coll. (1999).

**Mesure des métabolites urinaires** Les animaux ont été placés dans des cages métaboliques, spécialement conçues, et les échantillons d'urine ont, par la suite, été recueillis sur une période variant de 48 à 72 heures (0-24h, 24-48h, 48-72h) après l'administration du TCE. Les échantillons conservés sur de la glace ont ensuite été congelés jusqu'à l'analyse. La mesure du TCA et du TCOH a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse avec détection par capture d'électrons. La méthode d'analyse est basée sur des méthodes décrites par O'Hara et coll. (1991) ainsi que par Muralidhara et Bruckner (1999). Brièvement, un échantillon de 10  $\mu$ l d'urine diluée a été mélangé avec 550  $\mu$ l d'une solution d'esthérification et placé dans un vial de 22 ml scellé hermétiquement. Le vial a, par la suite, été chauffé à 85°C durant 65 minutes et la phase gazeuse (1 ml) a été injectée dans un chromatographe équipé d'un détecteur par capture d'électrons.

**Analyse des données** Les surfaces sous la courbe (SSC) du TCE ont été calculées à l'aide du logiciel Excel® à partir du premier point d'échantillonnage jusqu'à l'infini. De plus, la demie-vie ( $t_{1/2}$ ) du TCE a été déterminée pour chaque scénario d'exposition.

**Statistiques** L'influence de la voie d'administration a été évaluée à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA). Le niveau de signification statistique entre les groupes a été déterminé par le test de Bonferroni et a été fixé à  $p < 0.05$ .

**Développement du modèle TCBP** Nous avons développé un modèle TCBP pour l'exposition par voie respiratoire, intraveineuse ou intra-péritonéale au TCE qui décrit la cinétique du TCE et de ses métabolites, le TCA et le TCOH (TCOH libre et glucuronidé), dans différents tissus chez la souris CD-1 mâle. Un schéma de la biotransformation relativement complexe du TCE par le CYP450 est

présenté à la figure 1. Sommairement, le TCE est rapidement métabolisé au niveau du foie en chloral qui, lui, est aussitôt converti en hydrate de chloral (CH). Par la suite, le CH est métabolisé en TCOH et en TCA. Le TCA est principalement excrété dans l'urine, mais une fraction du TCA peut aussi être réduite en DCA. La majorité du TCOH produit est glucuronidé pour former le TCOG qui peut être excrété dans l'urine ou retransformé en TCOH via la recirculation entérohépatique. Une plus faible fraction du TCOH libre peut être transformée en TCA via l'action du CYP450 (Templin et coll., 1993 ; Clewell et coll., 2000).

Le modèle comprend les 6 compartiments suivants; les poumons, le foie, les tissus richement et pauvrement perfusés, les tissus adipeux ainsi que les testicules. Ces compartiments sont reliés par la circulation sanguine (figure 2). Le foie y joue un rôle crucial puisqu'il est considéré comme le principal site du métabolisme en plus d'être aussi un organe cible lors de l'induction de tumeurs et ce, indépendamment de la voie d'exposition (Lash et coll., 2000 ; Maltoni et coll., 1988). Les liens entre le foie et les différents métabolites sont représentés à la figure 3. Les tissus adipeux représentent un compartiment unique à cause du caractère lipophile du TCE qui fait en sorte que celui-ci s'accumule surtout dans ces tissus (Albanese et coll., 2002). Les testicules représentent ici un organe cible capable également de métaboliser le TCE en intermédiaires toxiques (Forkert et coll., 2002).

Le volume des différents compartiments ainsi que leur débit sanguin respectifs présentés dans le tableau I proviennent, pour la plupart, de Fisher et coll. (1991) sur la souris B6C3F1. Les paramètres métaboliques du TCE et des métabolites du modèle TCBP sont représentés dans le tableau II. Les constantes de vitesse maximale ( $V_{max}$ ) et de Michaelis-Menten ( $K_m$ ) pour la biotransformation du TCE proviennent d'une étude de Fisher et coll. (1991a) portant sur l'absorption gazeuse chez la souris B6C3F1. Les constantes d'oxydation du TCOH en TCA ( $K_{VMO}$ ,  $K_{KMO}$ ), celles de la réduction du TCA en DCA ( $K_{VMT}$ ,  $K_{KMT}$ ), celles

concernant la réduction du TCOH en DCA (KVMR, KKMR) et de la glucuronidation du TCOH en TCOG (KVMG, KKMG), sont celles proposées par Clewell et coll. (2000). Les constantes de recirculation entérohépatique (KKHB, KKHR), d'excrétion urinaire du TCOG et du TCA (KKUG, KKUT) ainsi que les fraction des volumes de distribution de TCA et du TCOH dans le sang, le foie et les testicules (FTCAF, Btcas, Btcat, FTCEF, Btcs, Btct) ont été ajustées par optimisation du modèle. Les coefficients de partage utilisés dans notre modèle sont présentés au Tableau III.

**Simulation et optimisation du modèle** L'optimisation de certains paramètres de notre modèle a été effectuée à l'aide du logiciel ACSL math (*Advanced Continuous Simulation Language*) (Mitchell and Gauthier Associates, AL). Les simulations ont été effectuées à l'aide du logiciel ACSLtox (Mitchell and Gauthier Associates, AL).

**Analyse de sensibilité** Pour établir l'influence exercée par chacun des paramètres utilisés dans le modèle du TCE et de ses métabolites, toutes les variables biologiques, biochimiques et cinétiques ont été augmentées de 10% par rapport à leur valeur originale. Le pourcentage de changement au niveau des concentrations sanguines de TCE à la fin d'une exposition de 1000 ppm de TCE d'une durée de 4 heures a été calculé et comparé aux données obtenues avec les valeurs originales. En ce qui a trait au TCA et au TCOH, des coefficients de sensibilité ont été évalués à partir des concentrations de TCA et de TCOH hépatiques obtenues 4 heures après le début de l'exposition, et des quantités urinaires excrétées (24h) suite à des expositions de 1000 ppm de TCE durant 4 heures. Dans chaque cas, un coefficient de sensibilité normalisé a été déterminé conformément à la méthode proposée par Evans et Andersen, (1995).

## RÉSULTATS

### Mesure des coefficients de partage

Les coefficients de partage déterminés chez la souris CD-1 mâle sont présentés dans le tableau III. Le coefficient de partage le plus élevé est au niveau des tissus adipeux ( $448,75 \pm 51,8$ ). Les résultats que nous avons obtenus sont cependant différents de ceux de Fisher et coll. (1991) qui ont utilisé la souris B6C3F1. En effet, le coefficient de partage sang/air mesuré dans notre étude est de  $18,09 \pm 2,57$  comparativement à une valeur de 13,40. Les coefficients de partage au niveau des autres tissus sont tous des valeurs inférieures à celles utilisées par Fisher et coll. (1991). Il est toutefois à noter que ces données ne proviennent pas de données expérimentales chez la souris ; en fait, les coefficients de partage des différents tissus ont été mesurés chez le rat mâle F344 et ont, ensuite, été ajustées pour la souris B6C3F1 en les divisant par le coefficient de partage sang/air de celle-ci.

### Profil cinétique du TCE inchangé dans le sang

Les profils des concentrations sanguines de TCE en fonction du temps suivant des exposition par voie IV et IP au TCE sont présentés à la figure 4. Dans les deux cas, les concentrations sanguines de TCE inchangé diminuent rapidement après l'administration. Les demies-vies ainsi que les surfaces sous la courbe correspondante sont présentées dans le tableau IV. Encore une fois, l'administration des différentes doses de TCE n'a entraîné aucune augmentation significative de la demi-vie du TCE et ce, pour les deux voies d'administration.

*Administration intraveineuse de TCE:* Chez les souris ayant reçu, par voie intraveineuse, 0,25 mmole/kg de TCE dans l'Alkamuls®, des échantillons sanguins ont été obtenus 5, 10, 20, 30, 40 et 50 minutes après l'administration de la dose, tandis que pour les doses les plus fortes (0,50 mmole/kg et 0,75 mmole/kg), les prélèvements ont été effectués à 5, 20, 40, 60, 80 et 100 minutes.



Les résultats montrent qu'il existe une relation linéaire entre la SSC et les différentes doses administrées et que la demie-vie d'élimination du TCE est la même pour les trois doses, variant entre  $10,1 \pm 2,5$  minutes et  $13,3 \pm 3,8$  minutes.

*Administration par voie intra-péritonéale de TCE:* Les prélèvements ont été effectués 5, 10, 20, 30, 40 et 60 minutes pour la dose de 0,50 mmole/kg ; pour les souris exposées à 1,0 mmole/kg, les prélèvements ont été effectués 5, 10, 20, 30, 50 et 70 minutes après l'administration et à 5, 20, 40, 60, 80 et 100 minutes pour l'administration de 2,0 mmole/kg. Ici, l'augmentation des valeurs de SSC n'est pas proportionnelle aux doses administrées. De plus, la demie-vie du TCE est passée de  $16,5 \pm 4,0$  minutes à  $25,9 \pm 4,1$  minutes (moyenne  $\pm$  écart-type), mais ces différences ne sont pas statistiquement significatives ( $p < 0,059$ ).

Les résultats indiquent aussi que l'administration de 1,0 mmole/kg de TCE par la voie intra-péritonéale ou de 0,75 mmole/kg de TCE par voie intraveineuse résulte en des SSC ( $293,1 \pm 46,0$  mg.min/L vs  $317,1 \pm 31,4$  mg.min/L) et des demie-vies équivalentes ( $16,5 \pm 4,0$  minutes vs  $13,32 \pm 3,7$  minutes).

### **Modélisation du TCE inchangé dans le sang**

Les simulations donnent d'excellents résultats au niveau des concentrations veineuses de TCE inchangé surtout pour les expositions par voie intraveineuse et respiratoire (figure 4). En ce qui a trait à l'exposition par voie intra-péritonéale, le modèle ne réussit apparemment pas à décrire adéquatement l'absorption très rapide du composé et ne permet pas de décrire de façon satisfaisante la cinétique du TCE.

### **Excrétion urinaires des métabolites**

L'excrétion urinaire du TCA et du TCOH total (TCOH+TCOG) a été mesurée dès l'administration des doses et pour une durée de 72 heures (0-24, 24-48 et 48-72 heures). Néanmoins, seuls les résultats des premiers 24 heures sont présentés à

la figure 5 puisque que 96 à 98% du TCOH et 80 à 92% du TCA ont été, en moyenne, excrétés durant cette période, et ce, pour les voies IV et IP. Le TCOH total est le principal métabolite excrété (voie IV et IP). En effet, dans les deux cas, le TCOH représente, respectivement, plus de 87% et de 89% de l'excrétion totale des métabolites. Les résultats montrent aussi une relation linéaire entre l'excrétion du TCA et du TCOH et les doses administrées par ces mêmes voies. La même observation s'applique également aux quantités excrétées après inhalation.

### **Sous-modèle des métabolites (TCA et TCOH)**

La figure 6 compare les prédictions du modèle aux quantités urinaire excrétées de TCA et de TCOH pendant 24 heures suivant l'exposition pour trois voies différentes (IV, IP, et INH). Le modèle surestime l'excrétion urinaire du TCOH et du TCA pour toutes les voies d'exposition, sauf dans le cas des hautes doses où le modèle sous-estime les quantités urinaires de TCOH pour la voie respiratoire et intra-péritonéale (facteur de 0,8). Plus les concentrations d'exposition augmentent, plus le modèle se rapproche des valeurs réelles. Les différences les plus importantes entre les quantités observées et prédites sont au niveau des expositions les plus faibles (INH :250 ppm, IV : 0,25 mmole/kg et IP ; 0,50 mmole/kg). En effet, le modèle surestime les quantités excrétées de TCA d'environ 3,3 fois et de 2 fois dans le cas du TCOH. Au niveau des expositions intermédiaires, le modèle surestime toujours les quantités éliminées de TCA et de TCOH dans l'urine, mais par des facteurs de 2,1 et 1,3. Le modèle simule donc plus adéquatement l'excrétion urinaire du TCOH que celle du TCA. Curieusement, et sans que nous puissions l'expliquer, les simulations ne parviennent pas à reproduire les relations linéaires entre les doses de TCE administrées et les concentrations de métabolites telles qu'observées dans les résultats expérimentaux.

Les figures 7 et 8 comparent les simulations du modèle aux données expérimentales (Nadeau et coll., 2002) pour les concentrations sanguines et

tissulaires (foie et testicules) de TCA et de TCOH. Les simulations prédisent, de manière générale, relativement bien les concentrations expérimentales. Le modèle sous-estime légèrement les concentrations sanguines de TCA pour l'exposition de 1000 ppm de TCE. En ce qui a trait au TCOH, les simulations décrivent assez bien les résultats obtenus pour le foie, le sang et les testicules (figure 8).

### **Modélisation du TCE et des métabolites dans les testicules**

La figure 9 présente les concentrations de TCE inchangé prédites par le modèle dans les testicules suite à des expositions par inhalation de 250, 500 et 1000 ppm de TCE d'une durée de 4 heures. Dès l'arrêt de l'exposition, les concentrations de TCE diminuent très rapidement, et ce, indépendamment de la concentration, bien que l'élimination, spécialement après 1000 ppm, semble plus lente durant cette période. La figure 10, quant à elle, présente les profils cinétiques du TCE, TCA et du TCOH dans les testicules suivant une exposition de 50 ppm de TCE durant 8 heures. Cette concentration représente la limite d'exposition moyenne pondérée (VEMP) acceptée en milieu de travail. On remarque que le TCE, contrairement aux deux métabolites, diminue très rapidement dès la fin de l'exposition. En revanche, le TCA et de TCOH demeurent présents plus longtemps dans les testicules; 50 heures dans le cas du TCOH et 60 heures pour le TCA.

### **Analyse de sensibilité**

Les coefficients de sensibilité (CS) ont été calculés à partir des pourcentages de variation des concentrations sanguines, tissulaires ou urinaires du TCE, TCA ou TCOH suite à une augmentation de 10% de la valeur des différents paramètres (Tableaux XI, XII, XIII). Globalement, le paramètre ayant l'impact le plus marqué sur la cinétique sanguine du TCE est le coefficient de partage sang/air (PRB) suivi de la constante de vitesse maximale de biotransformation du TCE (KVMAX) qui influence à la fois, les concentrations tissulaires et l'excrétion urinaire de TCA et de TCOH.

### *TCE sanguin inchangé*

L'impact des différents paramètres sur la cinétique du TCE a été mesuré à partir de la concentration veineuse de TCE inchangé (CV) prédite à la fin d'une exposition de 1000 ppm de TCE d'une durée de 4 heures. Les résultats de ces analyses sont présentés dans la figure 11. Peu de paramètres ont eu une influence majeure sur la cinétique du TCE. Comme mentionné plus haut, le paramètre ayant l'impact le plus important est le PRB, avec un CS de 1,0. De plus, une augmentation de la valeur de la constante de débit alvéolaire (KQALVR) entraîne un effet positif sur les concentrations veineuses de TCE (CS de 0,23), tandis qu'au niveau du KVMAX, l'effet entraîne une diminution des concentrations (CS de -0,26).

### *Excrétion urinaire de TCA et TCOH*

L'analyse de sensibilité pour ces paramètres est basée sur les quantités urinaires excrétées de chacun des métabolites (ATCAu et ACOGu) 24 heures après le début d'une exposition à 1000 ppm de TCE d'une durée de 4 heures (figure 12). Pour le TCA, les paramètres les plus sensibles sont la constante de transformation du TCOH en TCA (kvmo; CS de 0,30), la fraction du CH métabolisée en TCA (F1; CS de 0,64) et la vitesse métabolique du TCE (KVMAX ; CS de 0,66). D'autres facteurs, de moindre importance (CS inférieurs à 0,15), peuvent aussi influencer l'excrétion de TCA ; la constante d'excrétion biliaire du TCOH (kkhb), la constante d'excrétion urinaire du TCA (kkut) ainsi que le coefficient de partage et le volume des tissus adipeux (KPRG et KVG). Ces paramètres tendent tous, suite à une augmentation de 10% de leur valeur, à augmenter l'excrétion urinaire de TCA. Même si certains paramètres (kkug, kvmg et kkmo) peuvent faire diminuer cette excrétion (CS de moins de -0,1), leur impact demeure assez faible.

L'excrétion urinaire du TCOH est faiblement influencée par les différents paramètres et, lorsque c'est le cas, c'est par un nombre limité de ces

paramètres. En effet, seuls le KVMAX (CS de 0,13), le KPRG (CS de 0,12) et le KVG (CS de 0,12) ont un effet positif sur celle-ci, tandis que la F1 et la kvmo ont un impact négatif de faible importance (CS > -0,1).

#### *TCA et TCOH au foie*

La figure 13 montre que les concentrations de TCA dans le foie sont principalement influencées par la fraction du volume de distribution du TCA au foie (FDTCAF; CS de -0,91), le KVMAX (CS de 0,77), la F1 (CS de 0,76), la kkut (CS de -0,27) et la kvmo (CS de 0,24). Le TCOH total est, quand à lui, influencé par la fraction du volume de distribution du TCOH au foie (FDTCEF; CS de -0,78), le KVMAX (CS de 1,1), la kkug (CS de -0,74) et la vitesse de glucuronidation du TCOH (kvmg; CS de -0,17).

## **DISCUSSION**

Le TCE est rapidement métabolisé en TCA et TCOH chez la souris CD-1 mâle et ce, indépendamment de la voie et des doses administrées. L'administration de 1,0 mmole/kg de TCE par la voie intra-péritonéale engendre des SSC (IP: 293,1 ± 46,0 mg.min/L et IV: 317,1 ± 31,4 mg.min/L) et des demies-vies similaires (IP: 16,5 ± 4,0 minutes et IV: 13,32 ± 3,7 minutes) à celles obtenues suite à l'administration de 0,75 mmole/kg de TCE par voie intraveineuse. Ces résultats peuvent être expliqués par l'effet de premier passage dans le cas d'une absorption gastro-intestinale comme c'est le cas avec la voie IP. En effet, une partie de la dose TCE absorbée a vraisemblablement été biotransformée par le foie avant d'atteindre la circulation systémique, de telle sorte que les concentrations sanguines de TCE sont plus faibles que celles rencontrées après d'une injection par voie IV (D'Souza et coll., 1985).

Les principaux métabolites formés sont le TCA et le TCOH; le TCOH est le métabolite urinaire le plus important (entre 87 et 89%), tandis que le TCA est celui qui persiste le plus longtemps dans le sang et les tissus et ce, indépendamment de la voie d'administration. On a montré que le TCOH libre ou conjugué représentent environ 80-90% des métabolites urinaires du TCE après administrations de 2 à 200 mg/kg de [<sup>14</sup>C] TCE par voie orale ou 10 à 2000 mg/kg de TCE par voie orale chez la souris, alors que le TCA représente moins de 15 % des métabolites urinaires (Dekant et coll., 1986, Green et Prout, 1985). Des expositions par voie respiratoire à des niveaux allant de 49 à 330 ppm de TCE durant 4 heures chez le rat ont produit des quantités de TCOH excrétées dans l'urine 2,5 à 4 fois plus élevées que celles du TCA (Kimmerle et Eben, 1973).

Les données obtenues ont été utilisées afin de développer et valider un modèle TCBP chez la souris CD-1 mâle permettant de décrire les concentrations sanguines et tissulaires ainsi que celle de l'excrétion urinaire de TCE, TCA et TCOH suivant différentes voies d'administration. Ce modèle simule de façon appropriée les concentrations sanguines de TCE attendues suivant l'exposition à différentes doses intraveineuses (0,25, 0,50 et 0,75 mmole/kg) et à différentes concentrations de TCE par inhalation (250, 500 et 1000 ppm de TCE). Nous n'avons pas, au départ, fixé une valeur pour déterminer la fraction observée contrairement à Greenberg et coll. (1999) qui ont utilisé une fraction d'absorption de 0,53 pour des concentrations variant entre 100 et 600 ppm de TCE durant 4 heures chez le rat. Cette fraction aurait compensé pour un effet de *wash-in*, *wash-out* qui n'est pas observable dans notre étude et qui nous semble peu probable compte tenu du faible coefficient de partage sang/air du TCE chez la souris CD-1 mâle.

Néanmoins, le modèle ne simule pas adéquatement les valeurs observées pour la voie intra-péritonéale. Templin et coll. (1993) ainsi que Abbas et Fisher (1997) ont tous observé une absorption et une distribution très rapides du TCE suite à

des expositions par voie orale impliquant, elle aussi, le phénomène de premier passage. Ces derniers ont utilisé deux compartiments afin de décrire l'absorption orale du TCE par le tractus gastro-intestinal avec des constantes d'absorption de 3,09 et 2,18 h<sup>-1</sup>. Dans notre cas, l'ajout d'un compartiment pour l'intestin ainsi que la modification de certains paramètres comme la constante d'absorption (KOR) et le coefficient de partage sang/air du TCE (PRB) n'ont pas permis de simuler correctement les concentrations sanguines de TCE. De plus, le fait de ne pas considérer les données provenant de l'exposition de 2,0 mmole/kg par la voie IP n'a pas amélioré les simulations pour la voie IP

Le modèle surestime les quantités excrétées de TCA et de TCOH, et ce, pour toutes les voies d'administration du TCE. L'évaluation faite par le modèle pourrait, à notre avis, représenter correctement les quantités de métabolites excrétées dans l'urine puisque, en fait, la méthode utilisée lors de la cueillette des urines peut avoir résulté en une sous-estimation des quantités mesurées. En effet, la cueillette de l'urine a été effectuée seulement à toutes les 24 heures et, bien que le tube collecteur ait été gardé sur la glace afin de prévenir une éventuelle évaporation et que la cage et que le tube collecteur aient été nettoyés afin de recueillir le maximum d'urine, la possibilité de pertes demeure tout de même présente compte tenu du faible volume d'urine excrétée quotidiennement par une souris ( $\approx 1$  ml).

Cependant, le modèle ne reflète pas, contrairement aux données expérimentales, la relation linéaire entre les concentrations d'exposition et les quantités de métabolites urinaires après expositions par inhalation. Le modèle considère, en effet, que les doses absorbées suivant l'exposition à 250, 500 ou 1000 ppm de TCE durant 4 heures sont, respectivement, de 2,30, 2,92 et 3,40 mmole/kg; expliquant ainsi l'incapacité du modèle à représenter correctement la relation linéaire entre la quantité de métabolites excrétés et les concentrations d'exposition pour la voie respiratoire.

La cinétique du TCA et du TCOH dans le sang, le foie et les testicules après des expositions de 250, 500 et 1000 ppm de TCE (4 heures) est bien décrite par le modèle. Néanmoins, les concentrations sanguines de TCA après exposition à 1000 ppm de TCE sont légèrement sous-estimées. Ceci pourrait être dû au fait que les concentrations sanguines de TCA sont dérivées à partir de celles du foie par une relation mathématique. Comme les concentrations de TCA hépatiques se rapprochent énormément entre 500 et 1000 ppm, les concentrations sanguines le font autant. Dans un avenir rapproché, il serait intéressant d'effectuer la mesure des coefficients de partage du TCA et du TCOH au niveau du sang et des tissus comme le foie et les testicules chez la souris CD-1 mâle; ceci permettrait d'incorporer des compartiments tissulaires spécifiques pour ces produits et éviterait d'avoir recours à une simple relation mathématique pour dériver les concentrations de TCA et de TCOH dans le sang et les testicules. Néanmoins, pour l'instant, ces relations permettent tout de même une bonne description des différentes concentrations tissulaires et sanguines de métabolites suite à une exposition par inhalation.

Les concentrations de TCE inchangé prédites dans les testicules après expositions à diverses concentrations permettent de montrer que le TCE diminue rapidement dès la fin de l'exposition, et ce, indépendamment de la concentration. C'est donc dire que le TCE est soit rapidement éliminé dans la circulation veineuse ou métabolisé en ses principaux métabolites même au niveau des testicules. Forkert et coll. (2002) ont récemment démontré la présence de l'enzyme CYP450 2E1 au niveau des cellules de Leydig dans les testicules et dans l'épithélium d'épididymes de souris CD-1 mâle. Cette même étude a aussi démontré la formation *in vitro* d'hydrate de chloral, le métabolite responsable de la formation du TCOH et du TCA, au niveau de ces organes.

Lorsque l'on simule une exposition à 50 ppm (VEMP au Québec), on constate que le taux d'élimination du TCOH et du TCA est beaucoup plus faible comparativement au TCE. La persistance du TCA au niveau des testicules peut



être expliquée à la fois par le métabolisme possible *in situ* du TCE en TCA ainsi que par l'apport du sang, dont les protéines plasmatiques ont un haut degré d'affinité pour le TCA (Lash et coll., 2000). Il est donc fort possible que l'exposition répétée au TCE puisse entraîner une accumulation des métabolites au niveau des testicules et, par le fait même, engendrer une toxicité à cet organe chez la souris CD-1 mâle. Il faut toutefois considérer la capacité métabolique élevée de la souris comparativement à celle de l'humain qui fait en sorte que la souris est exposée à de plus grandes quantités de métabolites toxiques (Prout et coll., 1985, Green et Prout, 1985).

## CONCLUSION

En conclusion, les résultats de cette étude suggèrent que la dose absorbée exerce une influence sur la cinétique du TCE, TCA et du TCOH chez la souris CD-1 mâle. La dose absorbée de TCE dépend de la voie d'administration et exerce une importante influence sur le cinétique du TCE et de ses métabolites. Le modèle TCBP que nous proposons permet de décrire la cinétique du TCE, du TCA et du TCOH dans le sang, l'urine et certains tissus après administration par différentes. Ce modèle, à notre connaissance, est le premier qui permet de décrire la cinétique du TCE et de ses principaux métabolites au niveau des testicules.

## REMERCIEMENTS

Ce projet de recherche est subventionné par Environnement Canada et Santé Canada (Initiative de Recherche sur les Substances Toxiques). Véronique Nadeau est la récipiendaire d'une bourse d'études de l'institut Robert-Sauvé en Santé et sécurité au travail (IRSST) du Québec ainsi que d'une bourse du Fonds pour la Formation de Chercheurs et Aide à la Recherche et Fonds pour la Recherche en Santé du Québec (FCAR-FRSQ).

## RÉFÉRENCES

- ACGIH. American Conference of Governmental and Industrial Hygiene. 1998. 1998 TLVs® and BELs®. Threshold limit values for chemical substances and physical agents.
- ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 1997. Toxicological profile for trichloroethylene. ATDSR, Atlanta.
- Abbas, R., et Fisher, J. W. 1997. A physiologically based pharmacokinetic model for trichloroethylene and its metabolites, chloral hydrate, trichloroacetate, dichloroacetate, trichloroethanol, and trichloroethanol glucuronide in B6C3F1 mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 147; 15-30.
- Albanese, R. A., Banks, H. T., Evans, M. V., et Potter, L. K. 2002. Physiologically based pharmacokinetics models for transport of trichloroethylene in adipose tissue. *Bulletin of Mathematical Biology* 64; 97-131.
- Allen, B.C. et Fisher, J. W. 1993. Pharmacokinetic modeling of trichloroethylene and trichloroacetic acid in humans. *Risk Analysis* 13(1); 71-85.
- Brown, R. P., Lindstedt, S. L., Rhomberg, L. R., et Beliles, R. P. 1997. Physiological parameter values for physiologically based pharmacokinetic models. *Toxicology and Industrial Health* 31, 407-483.
- Clewell III, H. J., Gentry, P. R., Covington, T. R., et Gearhart, J. M. 2000. Development of a physiologically based pharmacokinetics model of trichloroethylene and its metabolites for use in risk assessment. *Environmental health perspectives* 108 (suppl 2); 283-305.
- Dallas, C. E., Gallo, J. M., Ramanathan, R., Muralidhara, S., et Bruckner, J. V. 1991. Physiological pharmacokinetic modeling of inhaled trichloroethylene in rats. *Toxicology and applied pharmacology* 110; 303-314.
- Da Silva, M. L., Charest-Tardif, G., Krishnan, K. et Tardif, R. 1999. Influence of oral administration of a quaternary mixture of trihalomethanes on their blood kinetics in the rat. *Toxicology Letters* 106;49-57.
- DeAngelo, A. B., Daniel, F. B., McMillan, L., Wernsing, P., et Savage, R. E. 1989. Species and strain sensitivity to the induction of peroxisome proliferation by chloroacetic acids. *Toxicology and Applied Pharmacology* 101; 285-298.
- Dekant, W., Schulz, A., Metzler, M., et Henschler, D. 1986. Absorption, elimination and metabolism of trichloroethylene: a quantitative comparison between rats and mice. *Xenobiotica* 16 (2); 143-152.

- D'Souza, R. W., bruckner, J. V., et Feldman, S. 1985. Oral and intravenous trichloroethylene pharmacokinetics in the rat. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 15;587-601.
- Elcombe, C. R. 1985. Species differences in carcinogenicity and peroxisome proliferation due to trichloroethylene: a biochemical human hazard assessment. *Archives of Toxicology* 8 ; 6-17.
- Evans, M. E., et Andersen, M. E. 1995. Sensitivity analysis and the design of gas uptake inhalation studies. *Inhalation toxicology* 7; 1075-1094.
- Fisher, J. W., Gargas, M. L., Allen, B. C., et Andersen, M. E. 1991a. Physiologically based pharmacokinetic modeling with trichloroethylene and its metabolite, trichloroacetic acid, in the rat and the mouse. *Toxicology and Applied Pharmacology* 109; 183-195.
- Fisher, J. W., Whittaker, T. A., Taylor, D. H., Clewell III, H. J., et Andersen, M. E. 1991b. Physiologically based pharmacokinetics modeling of the lactating rat and nursing pup: A multiroute exposure model for trichloroethylene and its metabolite, trichloroacetic acid. *Toxicology and Applied Pharmacology* 102; 497-513.
- Fisher, J. W., Mahle, D., et Abbas, R. 1998. A human physiologically based pharmacokinetic model for thrichloroethylene and ist metabolites, trichloroacetic acid and free trichloroethanol. *Toxicology and Applied Pharmacology* 152; 4339-359.
- Forkert, P. G., Lash, L. W., Nadeau, V., Tardif, R., et Simmonds, A. 2002. Metabolism and toxicity of trichloroethylene in epididymis and testis. Accepted dans *Toxicology and Applied Pharmacology*.
- Gargas, M. L., Burgess, R. J., Voisard, D. E., Cason, G. H., et Andersen, M. E. 1989. Partition coefficients of low-molecular-weight volatile chemicals in various liquids and tissues. *Toxicology and Applied pharmacology* 98; 87-99.
- Gist, G. L. and Burg, JE. A. 1995. Trichloroethylene. A review of the litterature from a health effects perspective. *Toxicology and Industrial Health* 11 (3); 253-307.
- George, J., Reel, J., Myers, C., et Lawton, A. D. 1997. Trichloroethylene. *Environmental Health Perspectives* 105 (suppl 1); 357-359.
- Green, T., et Prout, M. S. 1985. Species differences in response to trichloroethylene. II. Biotransformation in rats and mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 79; 401-411.

- Greenberg, M. S., Burton, G. A. et Fisher, J. W. 1999. Physiologically based pharmacokinetic modeling of inhaled trichloroethylene and its oxidative metabolites in B6C3F1 mice. *Toxicology and applied pharmacology* 154 ; 264-278.
- Herren-Freund, S. L., Pereira, M. A., Khoury, M. D., et Olson, G. 1987. The carcinogenicity of trichloroethylene and its metabolites, trichloroacetic acid and dichloroacetic acid, in mouse liver. *Toxicology and Applied Pharmacology* 90; 183-189.
- Kimmerle, G., et Eben, A. 1973. Metabolism, excretion and toxicology of trichloroethylene after inhalation. *Archives of Toxicology* 30;115-126.
- Kumar, P., Prasad, A.K., et Dutta, K. K. 2000. Steroidogenic alterations in testis and sera of rats exposed to trichloroethylene (TCE) by inhalation. *Human and Experimental Toxicology* 19; 117-121.
- Land, P. C., Owen, E. L., et Linde, H. W. 1981. Morphologic changes in mouse spermatozoa after exposure to inhalational anesthetics during early spermatogenesis. *Anaesthesiology* 54; 53-56.
- Lash, L. H., Fisher, J. W., Lipscomb, J. C. and Parker, J. C. 2000. Metabolism of trichloroethylene. *Environmental health perspectives* 108 (suppl 2); 177-200.
- Lipscomb, J. C., Mahle, D. A., Brashear, W. T., et Garrett, C. M. 1996. A species comparison of chloral hydrate metabolism in blood and liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 227; 340-350.
- Lipscomb, J. C., Fisher, J. W., Confer, P. D., et Byczkowski, J. Z. 1998. *In Vitro* and *In Vivo* extrapolation for trichloroethylene metabolism in humans. *Toxicology and Applied Pharmacology* 152; 376-387.
- Maltoni, C., Lefemine, G., Cotti, G., et Perino, G. 1988. Long-term carcinogenicity bioassays on trichloroethylene administered by inhalation to Sprague-Dawley rats and Swiss and B6C3F1 mice. *Annals of the New York Academy of Sciences* 534; 316-342.
- Mauil, E. A., et Lash, L. H. 1998. Trichloroethylene : A current review of metabolism, mode of action, and regulatory considerations. *Toxic Substances Mechanisms* 17; 153-169.
- Muralidhara, S. and Bruckner, J. V. 1999. Simple method for rapid measurement of trichloroethylene and its major metabolites in biological samples. *J. Chromatogr B* 732; 145-153.

- Nadeau, V., Charest-Tardif, G., Forkert, P. G., et Tardif, R. 2002. Characterization of the toxicokinetics of trichloroethylene, trichloroacetic acid and trichloroethanol in male CD-1 mice exposed by inhalation. (Soumis).
- Nakajima, T., Wang, R. S., Elovaara, E., Park, S. S., Gelboin, H. V., et Vaino, H. 1992. A comparative study of the contribution of cytochrome P450 isozymes to metabolism of benzene, toluene and trichloroethylene in the rat liver. *Biochemistry and Pharmacology* 43; 251-257.
- Odum, J., Foster, J.R., et Green, T. 1992. A mechanism for the development of Clara cell lesions in the mouse lung after exposure to trichloroethylene. *Chemical-Biological Interactions* 83;135-153.
- Ohara, A., Michitsuji, H., Jyoyama, Y., Yamaguchi, K., et Fujiki, Y. 1991. Determination of trichloroacetic acid and trichloroethanol by head-space gas chromatography (HS-GC). *Japanese Journal of Industrial Health* 33; 94-103.
- Prout, M. S., Provan, W. M., et Green, T. 1985. Species differences in response to trichloroethylene. I. Pharmacokinetics in rats and mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 79; 389-400.
- Sato, A., Nakajima, T., Fujiwara, Y., et Murayama, N. 1977. A pharmacokinetic model to study the excretion of trichloroethylene and its metabolites after an inhalation exposure. *British Journal of Industrial Medicine* 34; 56-63.
- Staats, D. A. Fisher, J. W., et Connolly, R. B. 1991. Gastrointestinal absorption of xenobiotics in physiologically based pharmacokinetic models. A two compartment model. *Drug Metabolism and Disposition* 19(1); 144-148.
- Simon, T. W. 1997. Combining physiologically based pharmacokinetics modeling with monte carlo simulation to derive an cute inhalation guidance value for trichloroethylene. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 26; 257-270.
- Templin, M. V., Parker, J. C., et Bull, R. J. 1993. Relative formation of dichloroacetate and trichloroacetate from trichloroethylene in male CD-1 mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 123; 1-8.
- Wu C., et Schaum, J. 2000. Exposure assessment of trichloroethylene. *Environmental Health Perspectives* 108 (suppl 2); 359-363.

**Tableau I .** Paramètres physiologiques du TCE utilisés dans le modèle TCBP pour la souris CD-1 mâle.

<b>Paramètres</b>	<b>Symbole</b>	<b>Valeur</b>	<b>Source</b>
Ventilation alvéolaire (L/h/kg)	KQCR	26,05 <sup>a</sup>	Fisher et coll., 1991
Débit cardiaque (L/h/kg)	KQALVR	26,05 <sup>a</sup>	Fisher et coll., 1991
Poids corporel (kg)	BW	0,025	----
<i>Fraction du poids corporel de chaque compartiment</i>			
Foie	KVF	0,04	Fisher et coll., 1991
Tissus richement perfusés	KVR	0,05	Fisher et coll., 1991
Tissus faiblement perfusés	KVMP	0,773	Fisher et coll., 1991
Testicules	KVT	0,007	Valeur de laboratoire
Tissus adipeux	KVG	0,04	Fisher et coll., 1991
Volume de sang total	KVB	0,049	Brown et coll., 1997
	Total	0,959	
<b>Fraction du débit cardiaque de chaque compartiment</b>			
Foie	KQFR	0,24	Fisher et coll., 1991
Tissus richement perfusés	KQR	0,52	Fisher et coll., 1991
Tissus faiblement perfusés	KQMP	0,188	Fisher et coll., 1991
Testicules	KQT	0,002	Valeur de laboratoire
Tissus adipeux	KQGR	0,05	Fisher et coll., 1991
	Total	1,00	
<b>Fraction des volumes de distribution</b>			
<b><i>Fraction TCA au foie</i></b>	FTCAF	0,45	Valeur optimisée
Fraction TCA dans le sang	Btcas	0,77	Valeur optimisée
Fraction TCA dans les testicules	Btcat	0,37	Valeur optimisée
Fraction TCOH au foie	FTCEF	0,45	Valeur optimisée
Fraction TCOH dans le sang	Btces	0,28	Valeur optimisée
Fraction TCOH dans les testicules	Btctet	0,35	Valeur optimisée

<sup>a</sup> Constante\*BW<sup>0,70</sup>

**Tableau II.** Paramètres métaboliques du TCE et de ses métabolites utilisés dans le modèle TCBP pour la souris CD-1 mâle.

Paramètres	Symboles	Valeurs	Sources
<i>Paramètres métaboliques du TCE</i>			
Constante d'absorption orale et IP (h <sup>-1</sup> )	KOR	2,12	Valeur optimisée
Constante d'affinité du TCE (mg/L)	KM	0,25 <sup>a</sup>	Fisher et coll., 1991
Vitesse métabolique du TCE (mg/h/kg)	KVMAX	32,7 <sup>a</sup>	Fisher et coll., 1991
<b>Paramètres de biotransformation du TCE</b>			
Fraction du CH métabolisée en TCA	F1	0,084	Clewell et coll., 2000 <sup>c</sup>
Fraction du CH métabolisée en TCOH	F2	1-F1	----
<i>Oxydation du TCOH en TCA au foie</i>			
Constante d'affinité du TCOH (mg/L)	KKMO	1	Clewell et coll., 2000
Vitesse métabolique du TCOH (mg/h/kg)	KVMO	0,25 <sup>a</sup>	Clewell et coll., 2000
<i>Réduction du TCOH en DCA</i>			
Constante d'affinité du TCOH (mg/L)	KKMR	10	Clewell et coll., 2000
Vitesse métabolique du TCOH (mg/h/kg)	KVMR	1 <sup>a</sup>	Clewell et coll., 2000
<i>Glucuronidation du TCOH</i>			
Constante d'affinité du TCOH (mg/L)	KKMG	25	Clewell et coll., 2000
Vitesse de glucuronidation (mg/h/kg)	KVMG	100 <sup>a</sup>	Clewell et coll., 2000
<i>Paramètres métaboliques du TCOG</i>			
Excrétion biliaire dans l'intestin (h <sup>-1</sup> .kg <sup>-1</sup> )	KKhb	0,07 <sup>b</sup>	Valeur optimisée
Réabsorption dans le foie (h <sup>-1</sup> .kg <sup>-1</sup> )	KKhr	0,044 <sup>c</sup>	Valeur optimisée
Excrétion urinaire de TCOG (h <sup>-1</sup> .kg <sup>-1</sup> )	KKug	0,9 <sup>c</sup>	Valeur optimisée
<i>Réduction du TCA en DCA</i>			
Constante d'affinité du TCA (mg/L)	KKMT	10	Clewell et coll., 2000
Vitesse métabolique du TCA (mg/h/kg)	KVMT	0 <sup>a</sup>	Clewell et coll., 2000
Excrétion urinaire du TCA (h <sup>-1</sup> .kg <sup>-1</sup> )	KKut	0,06 <sup>c</sup>	Valeur optimisée

<sup>a</sup> Constante\* BW<sup>0,75</sup>, <sup>b</sup> Constante\*BW<sup>0,25</sup>, <sup>c</sup> Donnée ajustée par optimisation (0,035-0,1)



**Tableau III.** Coefficients de partage du TCE mesurés dans divers organes chez la souris CD-1 mâle (n=28-44).

Organes	Symbole	Valeurs mesurées (moyenne $\pm$ E.T.)	Valeurs dans le modèle
Sang/air	PRB	18,09 $\pm$ 2,57	18,1
Foie/air	KPRF	18,32 $\pm$ 2,25	18,3
Tissus richement perfusés/air	KPRR	16,94 $\pm$ 0,94	16,9
Tissus pauvrement perfusés/air	KPRMP	12,39 $\pm$ 1,82	12,4
Testicules/air	KPRT	11,58 $\pm$ 2,33	11,6
Tissus adipeux/air	KPRG	448,75 $\pm$ 51,78	448,7

**Tableau IV.** Comparaison de la surface sous la courbe concentrations en fonction du temps (SSC) et de la demie-vie du TCE en fonction d'une exposition aiguë à différentes doses par diverses voies d'administration (intraveineuse, intra-péritonéale ou respiratoire) chez la souris CD-1 mâle (moyenne  $\pm$  écart-type).

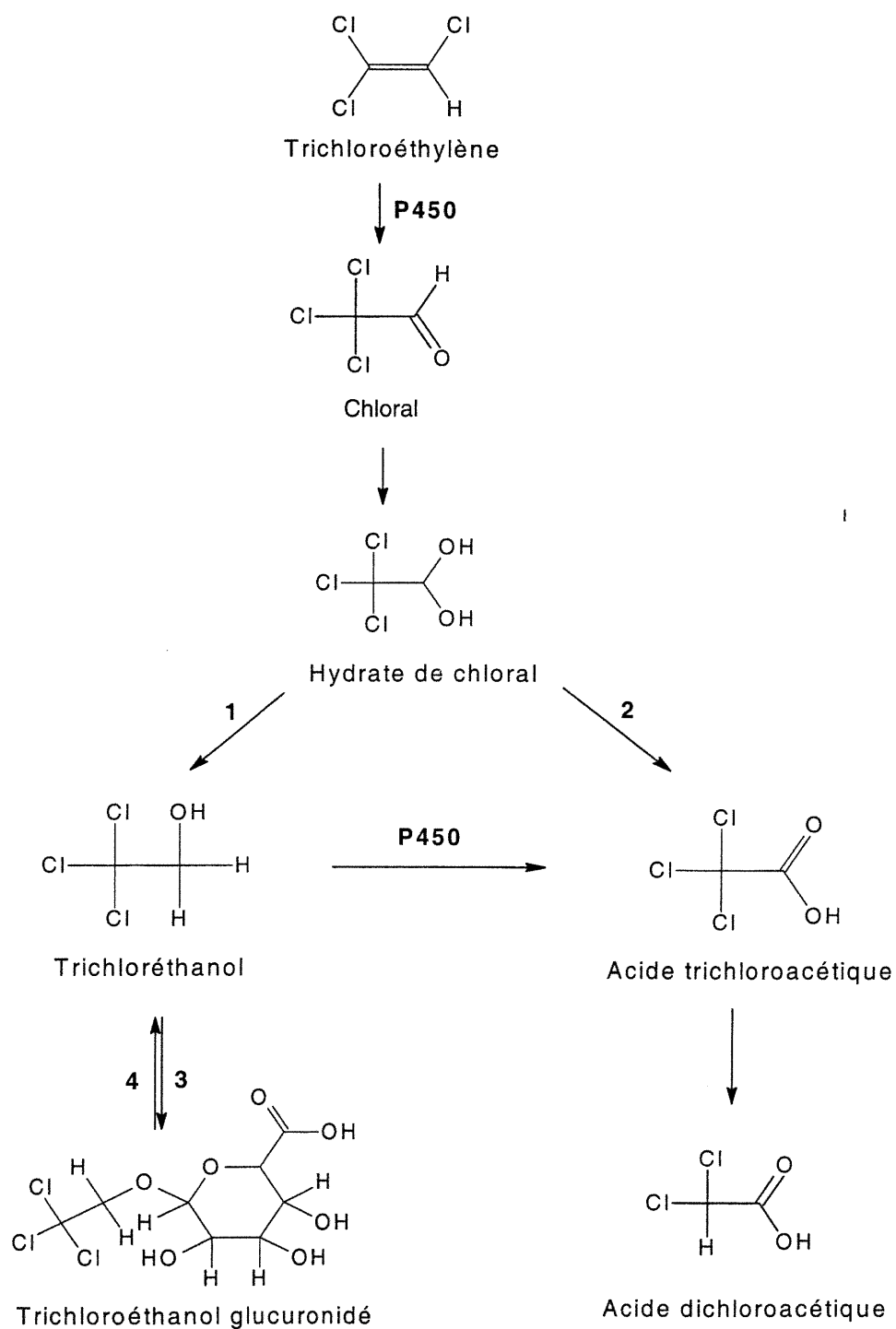
Voie d'administration	Doses (mmole/kg)	SSC (mg.min/l)	Demie-vie du TCE (minutes)
Inhalation <sup>a</sup>	250 ppm	2,30 <sup>b</sup>	24,3 $\pm$ 7,4 <sup>c</sup>
	500 ppm	2,92 <sup>b</sup>	113,0 $\pm$ 0,5 <sup>c</sup>
	1000 ppm	3,40 <sup>b</sup>	981,7 $\pm$ 139,9 <sup>c</sup>
Intraveineuse	0,25	48,3 $\pm$ 6,4	10,1 $\pm$ 2,5
	0,50	174,3 $\pm$ 25,5	10,3 $\pm$ 2,4
	0,75	317,1 $\pm$ 31,4	13,3 $\pm$ 3,8
Intra-péritonéale	0,5	75,1 $\pm$ 18,5	20,3 $\pm$ 7,5
	1,0	293,1 $\pm$ 46,0	16,5 $\pm$ 4,0
	2,0	1474,6 $\pm$ 289,0	25,9 $\pm$ 4,1

<sup>a</sup> Nadeau et coll., 2002

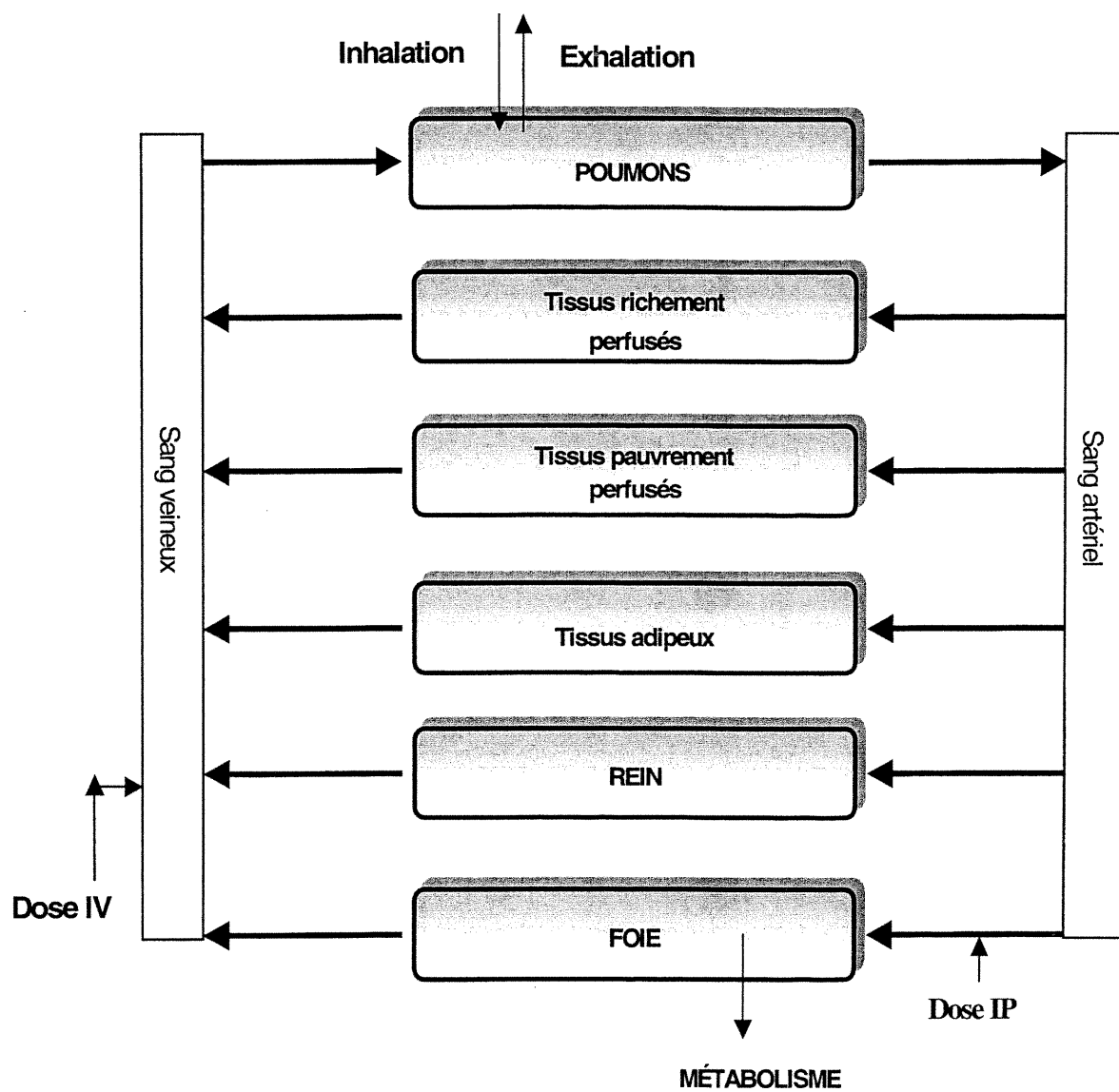
<sup>b</sup> Doses estimées à partir du modèle TCBP.

<sup>c</sup> SSC calculées à partir de la fin des expositions par inhalation de 4 heures.

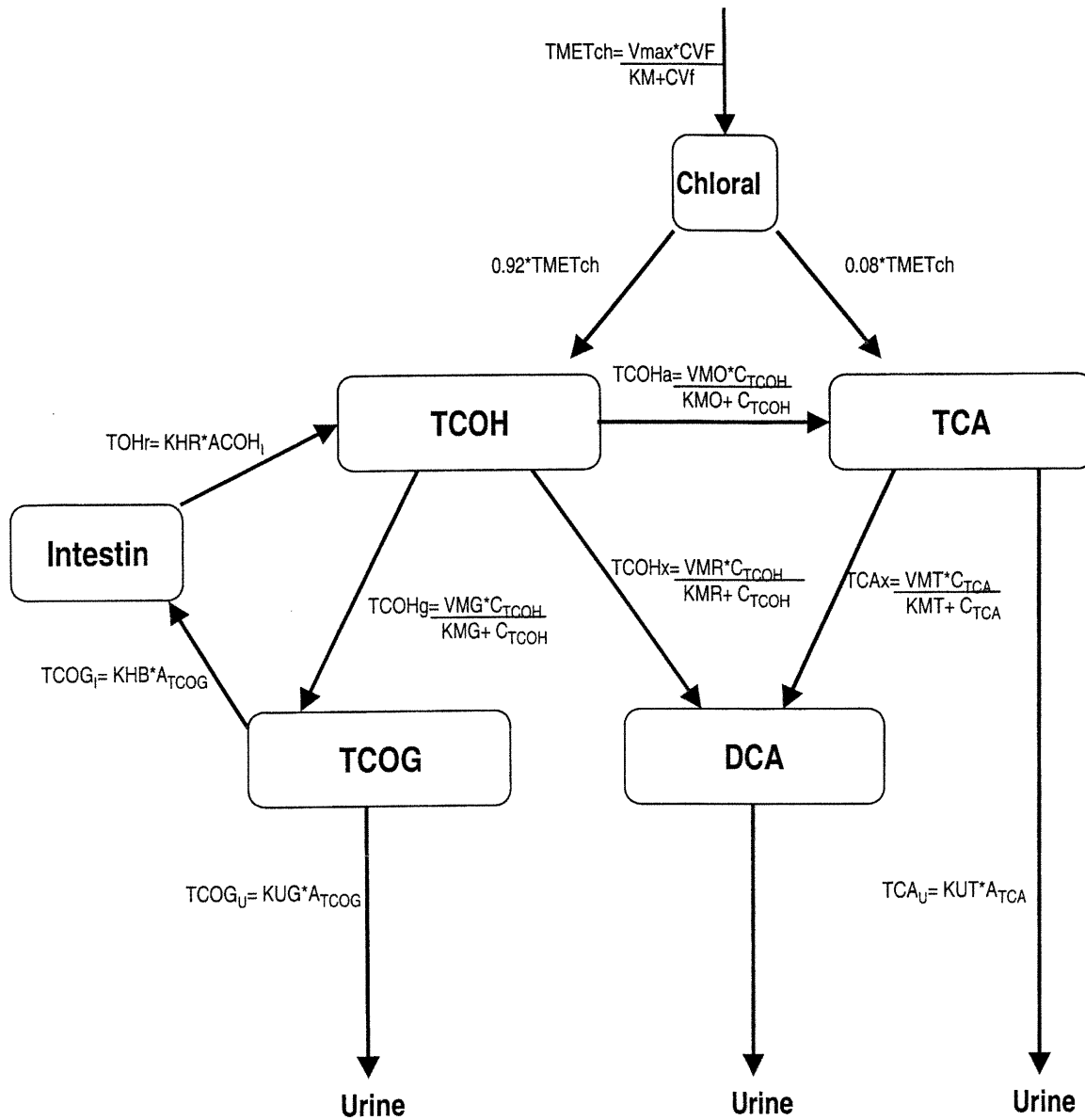
\* différence par rapport à 500 et 1000 ppm ( $p < 0,05$ )



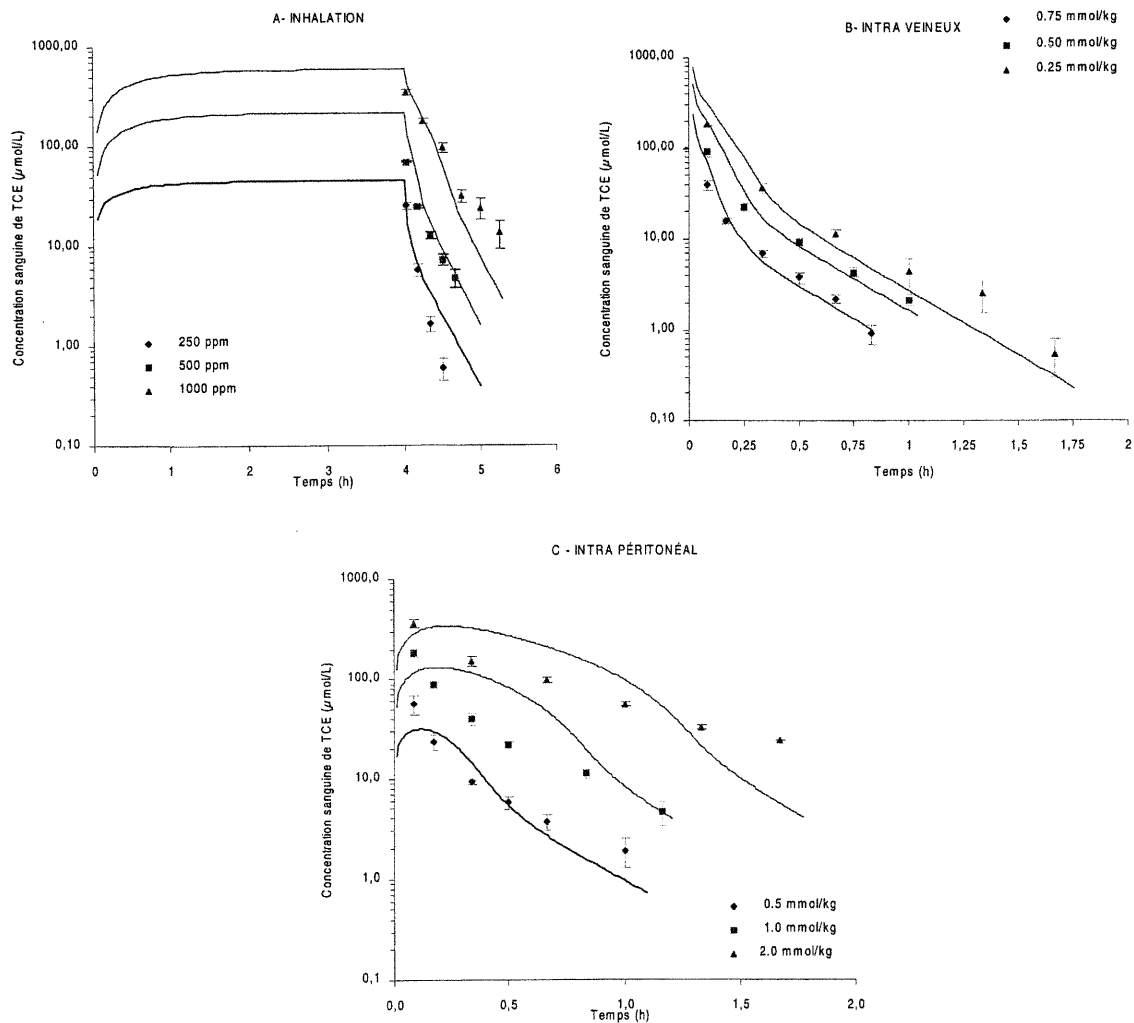
**Figure 1.** Étapes de la biotransformation du TCE par le cytochrome P450 (voie oxydative). 1: Aldéhyde déshydrogénase, 2: Chloral déshydrogénase, 3:UDPglucuronyl-transférase, 4:Recirculation entérohépatique. Adapté de Forkert et coll. (2002).



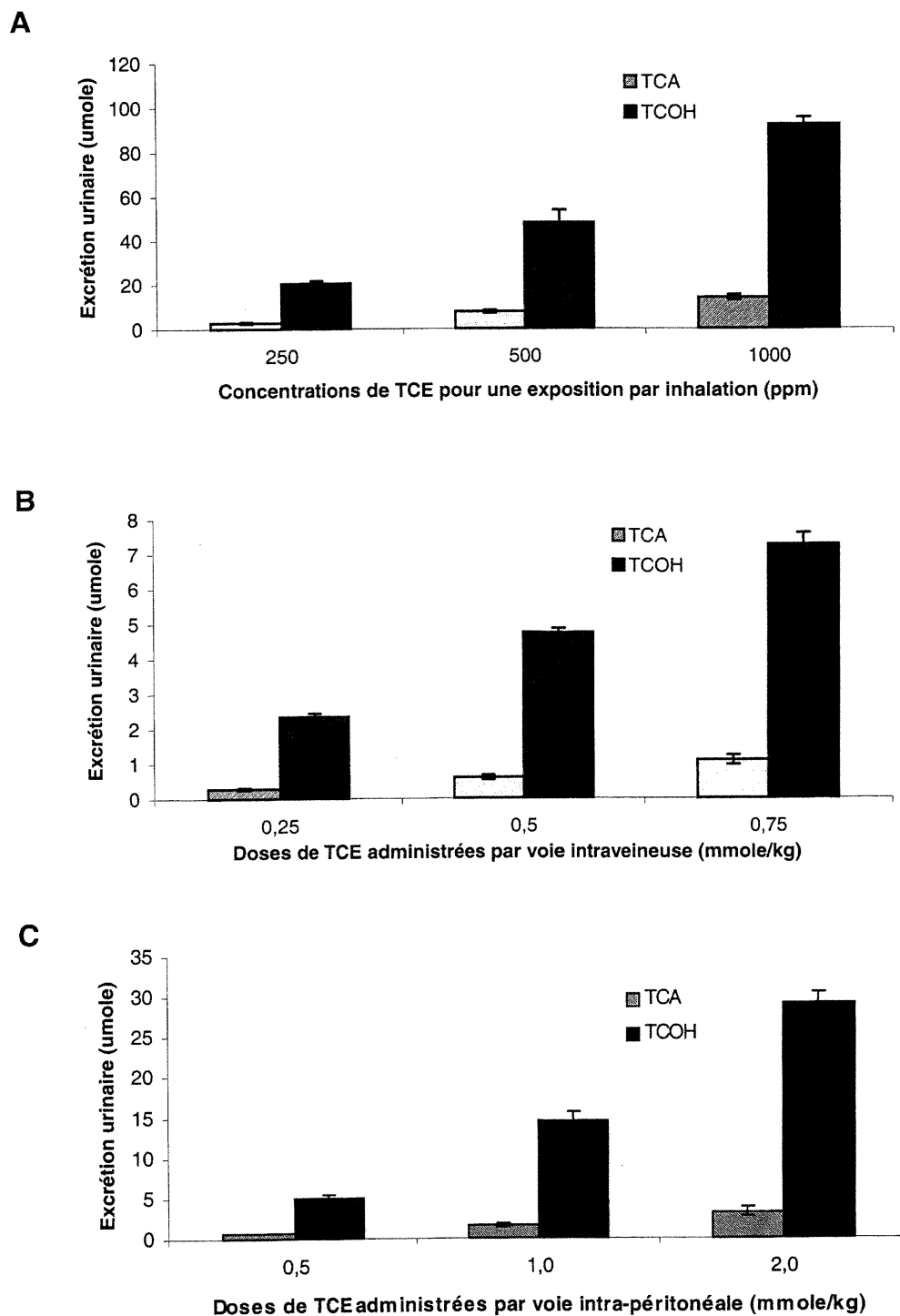
**Figure 2.** Schéma conceptuel utilisé pour le développement du modèle TCBP du TCE et de ses métabolites oxydés chez la souris CD-1 mâle.



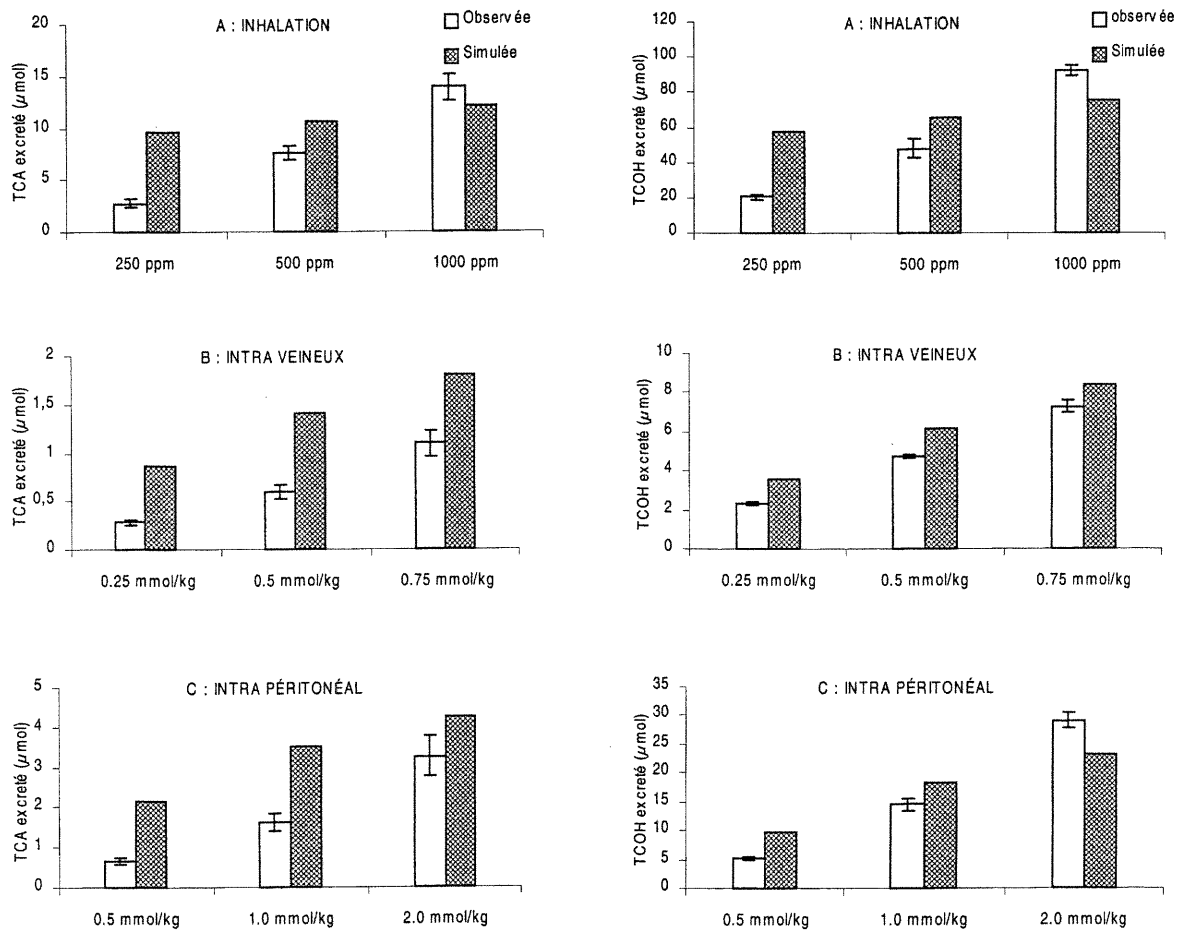
**Figure 3.** Sous-modèle du métabolisme (voie oxydative) du TCE au niveau du foie utilisé dans la conception du modèle TCBP du TCE et de ses métabolites chez la souris CD-1 mâle.



**Figure 4.** Comparaison entre les concentrations veineuses de TCE simulées et observées suivant différents scénarios d'exposition; A) Exposition par voie respiratoire à 250, 500 et 1000 ppm de TCE durant 4 heures, B) Doses intraveineuses de 0,25, 0,50 et 0,75 mmole/kg de TCE, C) Doses de 0,5, 1,0 et 2,0 mmole/kg de TCE par voie intra-péritonéale.

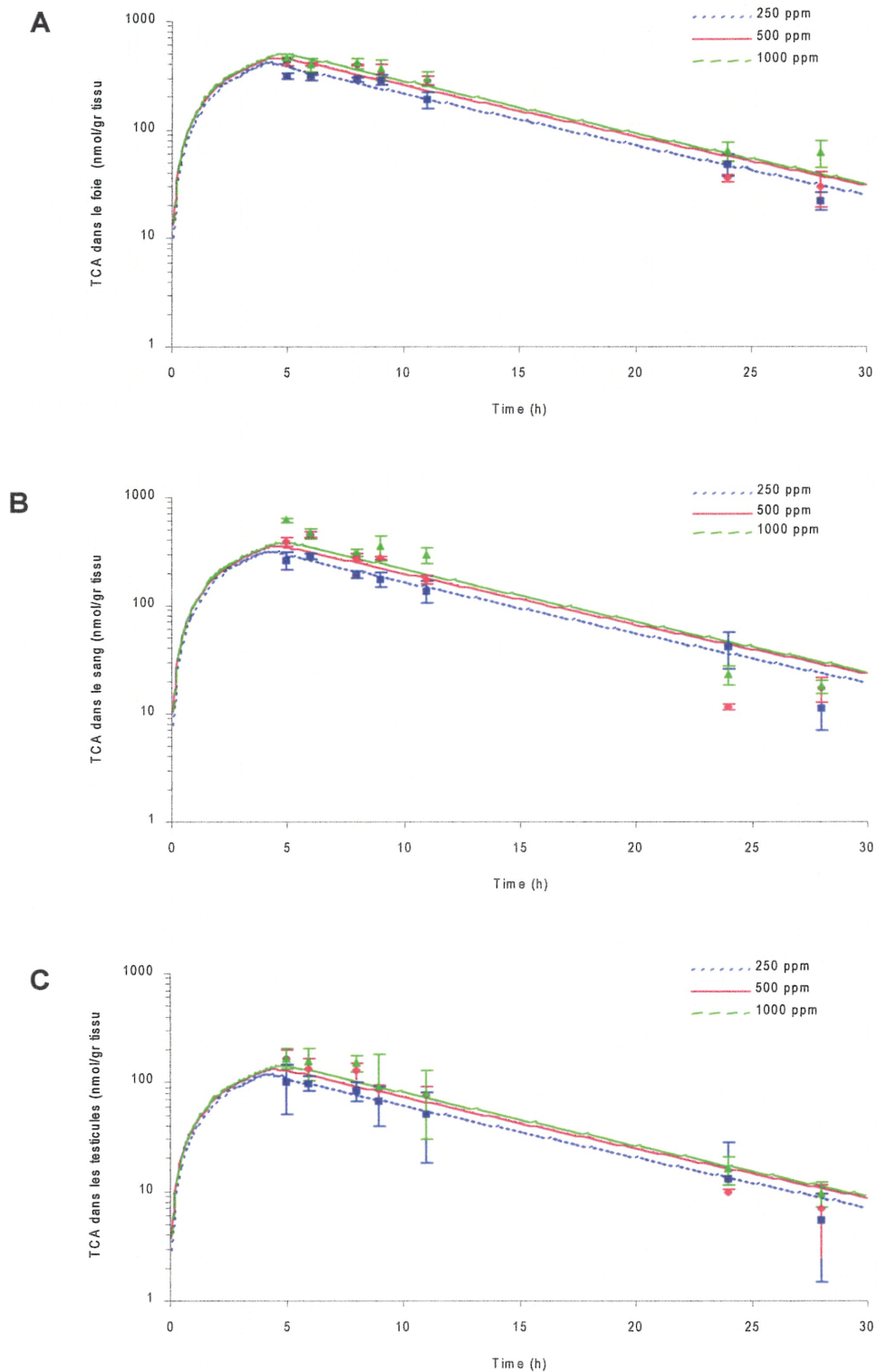


**Figure 5.** Excrétion urinaire de TCA et de TCOH sur une période de 24 heures dans l'urine de souris CD-1 mâles (n=6) en fonction de divers scénarios d'exposition au TCE; A) Exposition par voie respiratoire à 250, 500 et 1000 ppm de TCE durant 4 heures, B) Doses de 0,25, 0,5, et 0,75 mmole/kg de TCE par voie intraveineuse, C) Doses de 0,5, 1,0 et 2,0 mmole/kg de TCE par voie intra-péritonéale.

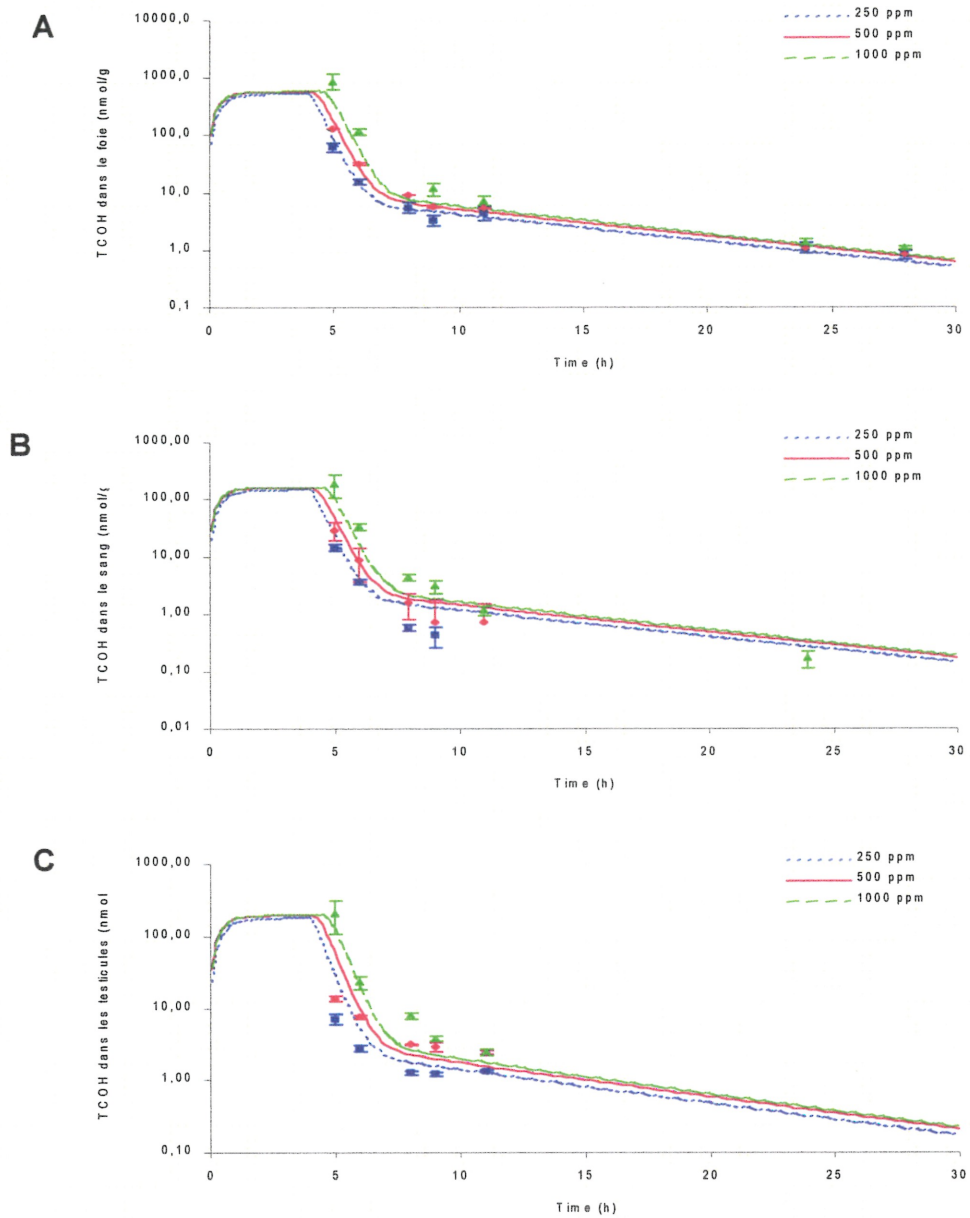


**Figure 6.** Comparaison entre les simulations et les quantités excrétées de TCA et de TCOH sur une période de 24 heures dans l'urine de souris CD-1 mâles (n=6) en fonction de divers scénarios d'exposition au TCE; A) Exposition par voie respiratoire à 250, 500 et 1000 ppm de TCE durant 4 heures, B) Doses de 0,25, 0,5, et 0,75 mmole/kg de TCE par voie intraveineuse, C) Doses de 0,5, 1,0 et 2,0 mmole/kg de TCE par voie intra-péritonéale.

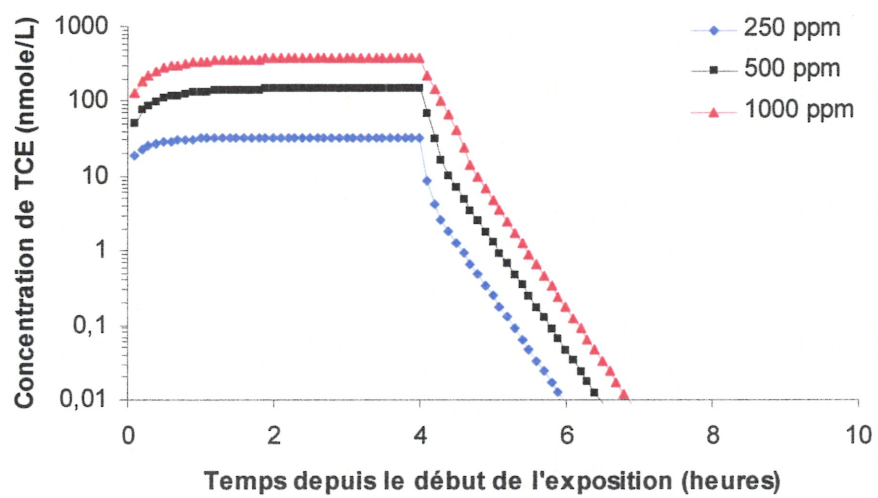




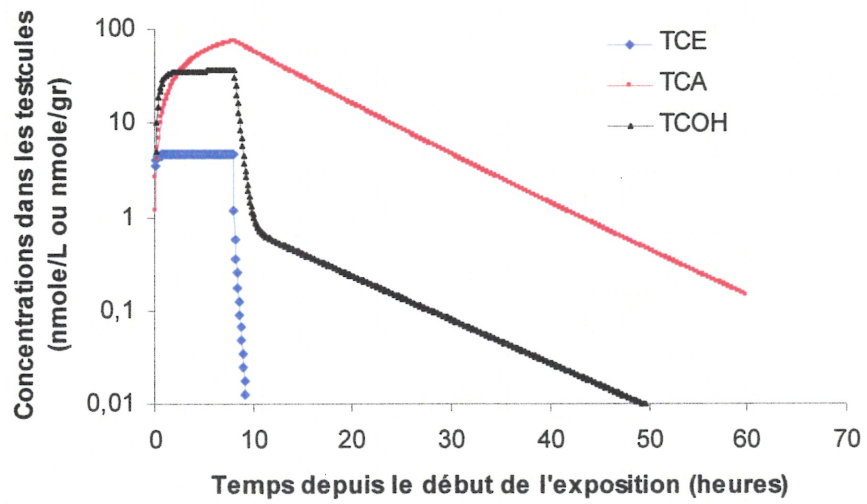
**Figure 7.** Comparaison entre les simulations et les concentrations de TCA mesurées dans le foie (A), le sang (B) et les testicules (C) de la souris CD-1 mâle (n=28) suite à des expositions par inhalation à 250, 500 ou 1000 ppm de TCE durant 4 heures.



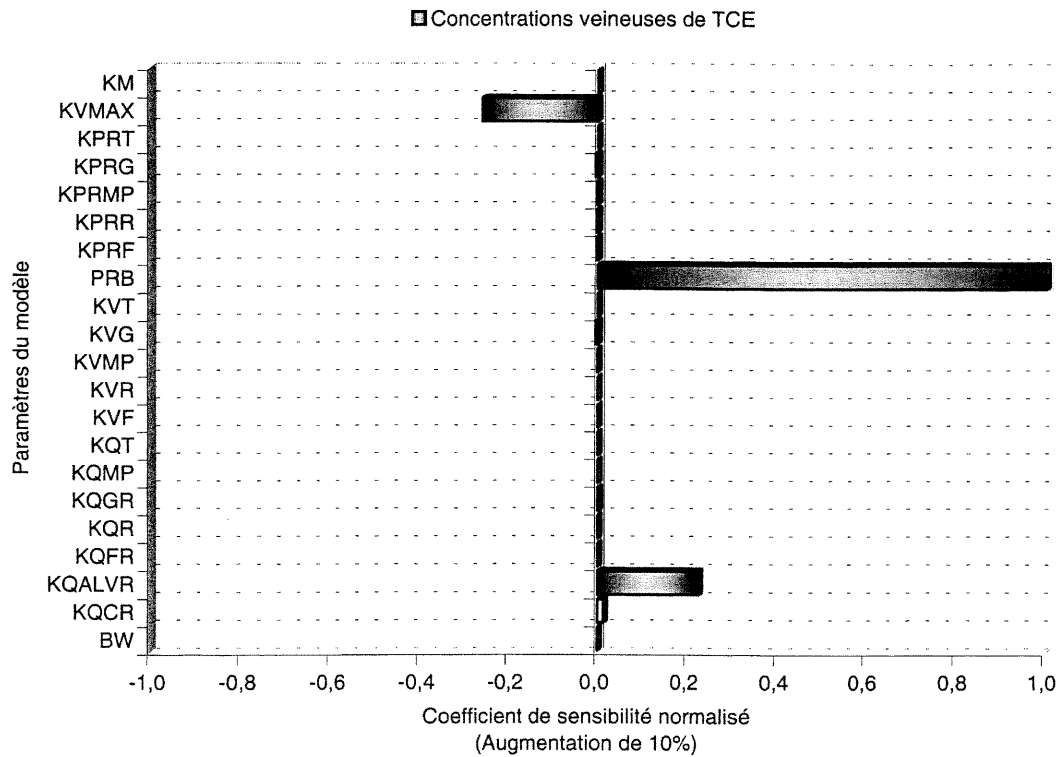
**Figure 8.** Comparaison entre les simulations et les concentrations de TCOH mesurées dans le foie (A), le sang (B) et les testicules (C) de la souris CD-1 mâle (n=28) suite à des expositions par inhalation à 250, 500 ou 1000 ppm de TCE durant 4 heures.



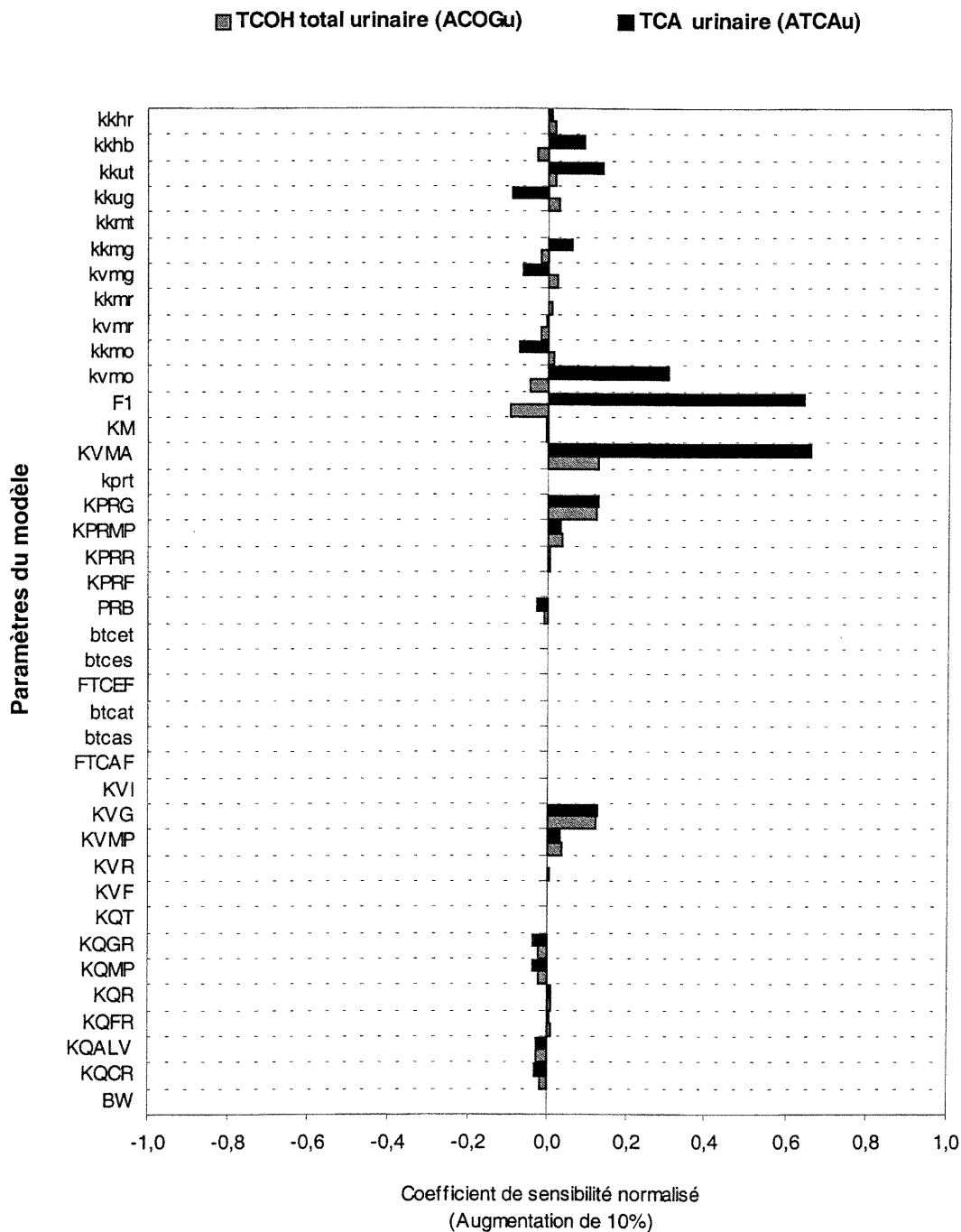
**Figure 9.** Simulation des concentrations de TCE au niveau des testicules chez la souris CD-1 mâle exposée à 250, 500 et 100 ppm de TCE durant 4 heures.



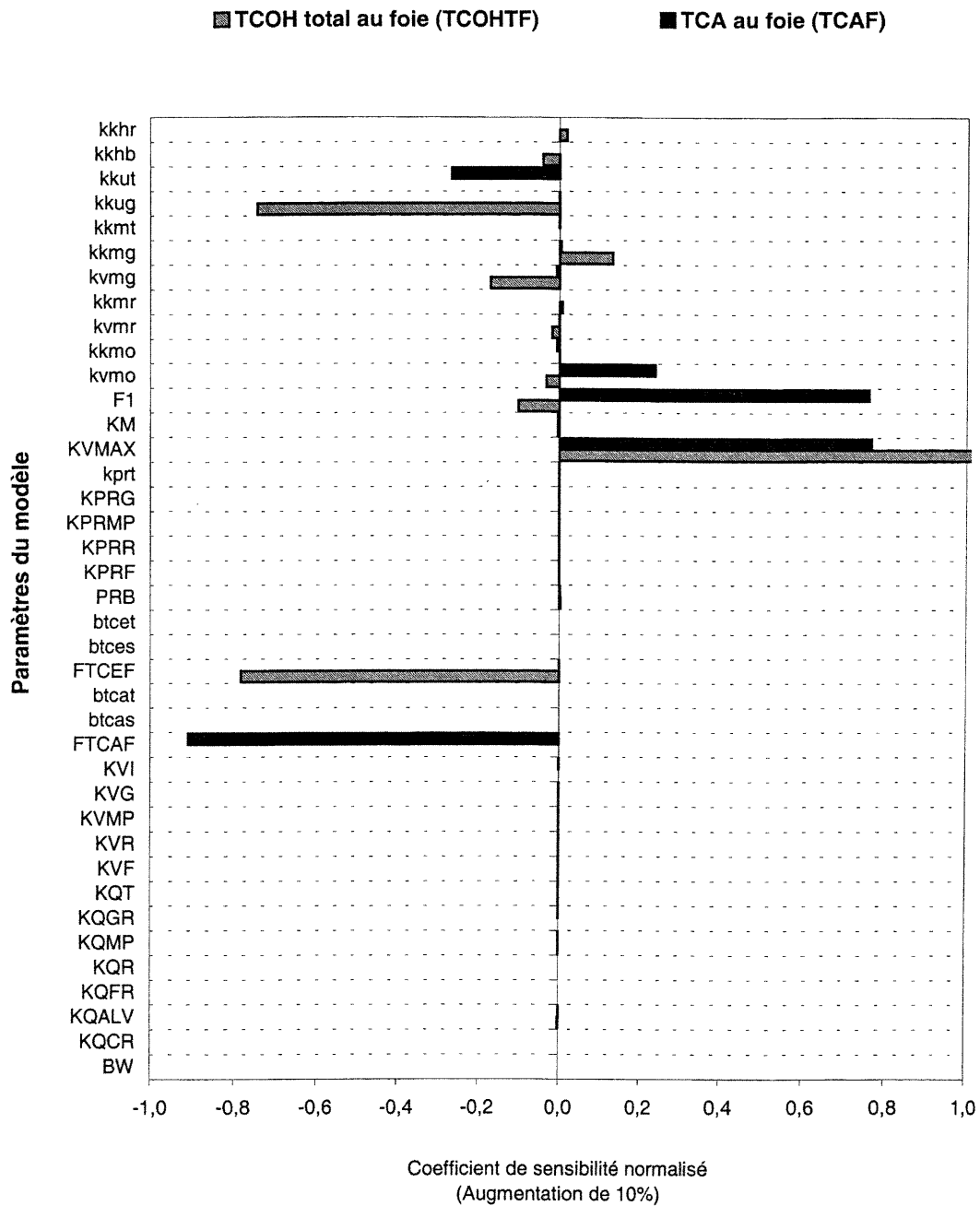
**Figure 10.** Simulation des concentrations de TCE, TCA et de TCOH total au niveau des testicules chez la souris CD-1 mâle exposée à 50 ppm de TCE durant 8 heures.



**Figure 11.** Analyse de sensibilité des paramètres influençant la concentration veineuse de TCE inchangé chez la souris CD-1 mâle à la fin d'une exposition de 1000 ppm de TCE d'une durée de 4 heures.



**Figure 12.** Analyse de sensibilité des paramètres influençant l'excrétion urinaire de TCOH et de TCA chez la souris CD-1 mâle à la fin d'une exposition de 1000 de TCE d'une durée de 4 heures.



**Figure 13.** Analyse de sensibilité des paramètres influençant les concentrations de TCOH et de TCA au niveau du foie chez la souris CD-1 mâle à la fin d'une exposition de 1000 de TCE d'une durée de 4 heures.

CHAPITRE CINQUIÈME

**DISCUSSION ET CONCLUSION**



Notre étude a apporté un éclairage original sur la cinétique du TCE, du TCA et du TCOH chez la souris CD-1 mâle suivant différentes voies d'exposition. La souris est un modèle animal très utilisé, mais la souche CD-1 n'avait, jusqu'à ce jour, fait l'objet d'aucune étude en ce qui a trait au devenir du TCE et de ses métabolites suite à une exposition au TCE. Notre étude apporte en plus la première démonstration de la présence de certains métabolites du TCE au niveau des testicules suite à des expositions par voie respiratoire.

Indépendamment de la voie d'exposition, le TCE est rapidement absorbé, distribué et éliminé chez la souris CD-1 mâle. Les principaux métabolites découlant de la biotransformation du TCE sont le TCOH et le TCA; le TCOH étant le principal métabolite urinaire. La fréquence d'exposition ou la voie d'administration n'entraînent aucun changement au niveau des proportions des différents métabolites excrétés. Toutefois, les expositions répétées par voie respiratoire ont permis de démontrer une augmentation de l'excrétion urinaire des métabolites du TCE. À l'heure actuelle, il est impossible d'expliquer la cause réelle de cette augmentation; les hypothèses les plus probables résident dans l'induction de l'activité du CYP450 par le TCE ou dans la redistribution du TCE à partir des tissus adipeux. Ces deux mécanismes pourraient faire en sorte d'augmenter l'excrétion urinaire des métabolites. Les données obtenues ont aussi apporté la preuve que l'exposition par la voie respiratoire permet l'absorption de doses plus élevées que par la voie intraveineuse. L'administration d'une dose sur une période plus longue évite que les organes cibles (ex, SNC) soient exposés à des concentrations très élevées comme c'est le cas notamment après administration intra-veineuse. En effet, durant l'inhalation, il y a distribution continue du TCE dans les divers compartiments et une partie importante est métabolisée.

Nos résultats ont permis de démontrer la présence de TCA et de TCOH au niveau des testicules de la souris CD-1 mâle suite à une exposition unique au TCE par voie respiratoire. Le TCA est reconnu comme étant le métabolite

responsable des effets toxiques du TCE au foie et induit l'apparition de tumeurs au niveau du foie. En outre, l'exposition répétée au TCE a entraîné une atteinte au niveau de l'épithélium des épидидymes. Il est donc fort possible que la présence de ce métabolite au niveau des organes reproducteurs soit à l'origine de cette toxicité. Néanmoins, de plus amples études doivent être réalisées pour mieux évaluer la toxicité des divers métabolites du TCE vis-à-vis les organes reproducteurs. Nos données ne permettent pas non plus de déterminer si l'activité du CYP450 contribue à elle seule à la présence des métabolites au niveau des organes reproducteurs et/ou si l'apport sanguin y joue un rôle important. Cette information pourrait influencer grandement le développement d'un prochain modèle TCBP appliqué à l'évaluation du risque reprotoxique du TCE.

La mise en évidence à partir des résultats *in vitro* de la présence plus importante du CYP450E1 au niveau des épидидymes par rapport aux testicules, suggèrent que des études plus poussées sont nécessaires afin d'évaluer plus précisément la cinétique du TCE et de ses métabolites dans ces tissus.

Le modèle TCBP développé dans notre étude est le premier à inclure les testicules en tant qu'organe cible du TCE et à permettre de simuler la cinétique du TCE, du TCA et du TCOH au niveau de cet organe. Les simulations effectuées à partir de ce modèle permettent de croire que l'exposition répétée au TCE à de faibles niveaux pourrait conduire à l'accumulation de TCA au niveau des testicules. Dans un avenir rapproché, il serait intéressant de déterminer les coefficients de partage des principaux métabolites du TCE au niveau des organes reproducteur et ceci, combiné au développement d'un nouveau modèle TCBP qui inclurait les épидидymes, permettrait alors une meilleure évaluation du risque potentiel découlant d'une exposition au TCE pour les organes reproducteurs mâles.

En conclusion, l'ensemble des données recueillies dans cette étude suggère que la voie d'administration importe peu quant au devenir du TCE dans l'organisme, mais qu'elle joue un rôle important sur la concentration de TCE et de ses métabolites retrouvés dans les différents compartiments de l'organisme incluant les organes cibles. De plus, l'exposition au TCE par voie respiratoire résulte en des concentrations mesurables des métabolites au niveau des testicules.

**RÉFÉRENCES**

- Abbas, R., et Fisher, J. W. 1997. A physiologically based pharmacokinetic model for trichloroethylene and its metabolites, chloral hydrate, trichloroacetate, dichloroacetate, trichloroethanol, and trichloroethanol glucuronide in B6C3F1 mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 147; 15-30.
- Abrahamsson, K., Ekdahl, A., Collen, J., et Pedersen, M. 1995. Marine algae - a source of trichloroethylene and perchloroethylene. *Limnology and Oceanography* 40(7);1321-1326.
- ACGIH. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. 1998. TLVs® and BELs®. Threshold limit values for chemical substances and physical agents. ACGIH, Cincinnati, Ohio.
- Agency for Toxic Substance and Disease Registry (ATSDR). 1997. Toxicological profile for trichloroethylene. U.S. Department of health and Human Services, Public Health Service, Atlanta.
- Albanese, R. A., Banks, H. T., Evans, M. V., et Potter, L. K. 2002. Physiologically based pharmacokinetics models for the transport of trichloroethylene in adipose tissue. *Bulletin of Mathematical Biology* 64; 97-131.
- Allen, B. C., et Fisher, J. W. 1993. Pharmacokinetic modeling of trichloroethylene and trichloroacetic acid in humans. *Risk Analysis* 13(1); 71-85.
- Anna, C. H., Maronpot, R. R., Pereira, M. A., Foley, J. F., Malarkey, D. E., et Anderson, M. W. 1994. *ras* proto-oncogene activation in dichloroacetic acid, trichloroethylene and tétrachloroéthylène induced liver tumours in B6C3F1 mice. *Carcinogenesis* 15; 2255-2261.
- Anders, M. W., Lash, L. H., Dekant, W., Elfarra, A. A., et Donh, D. R. 1988. Biosynthesis and biotransformation of glutathione S-conjugates to toxic metabolites. *CRC Critical Review in Toxicology* 18; 311-341.
- Antilla, A., Pukkala, E., Sallmen, M., Hernberg, S., Hemminki, K. 1995. Cancer incidence among finnish workers exposed to halogenated hydrocarbons. *JOEM* 37; 797-806.
- Astran, I., et Ovrurn, P. 1976. Exposure to trichloroethylene. Uptake and distribution in man. *Scandinavian Journal of Work and Environmental Health* 4; 199-211.
- Axelson, O., Selden, A., Anderson, K., et Hogstedt, C. 1994. Updated and expanded Swedish cohort study of trichloroethylene and cancer risk. *Journal of Occupational Medecine* 36; 556-562.

- Barton, H. A., et Clewell III, H. J. 2000. Evaluating noncancer effects of trichloroethylene: dosimetry, mode of action and risk assessment. *Environmental Health Perspectives* **108** (2); 323-334.
- Beliles, R., Brusick, D., Mecler, F. 1980. Teratogenic-mutagenic risk of workplace contaminants: trichloroethylene, perchloroethylene and carbon disulfide. U.S. Department of Health, Education and Welfare. Contract No 210-77-0047.
- Blair, A., Hartge, P., Stewart, A., McAdams, M., Lubin, J. 1998. Mortality and cancer risk incidence of aircraft maintenance workers exposed to trichloroethylene and other organic solvents and chemicals: extended follow up. *Occupational and Environmental Medicine* **55**; 161-171.
- Boices, J. D., Marano, D. E., Fryzek, J. P., Sadler, C. J., McKaughlin, J. K. 1999. mortality among aircraft manufacturing workers. *Occupational and Environmental Medicine* **56**; 581-597.
- Bove, F. J., Fulcomer, M. C., Klotz, J. B., Esmart, J., Dufficy, E. M., et Savrin, J. E. 1995. Public drinking water contamination and birth outcomes. *American Journal of Epidemiology* **141**; 850-862.
- Boyes, W. K., Bushnell, P. J., Crofton, K. M., Evans, M., et Simmons, E. 2000. Neurotoxic and pharmacokinetics responses to trichloroethylene as a function of exposure scenario. *Environmental Health Perspectives* **108** (2); 317-322.
- Bross, G., DiFrancesco, D., et Desmond, M. 1983. The effects of low dosages of trichloroethylene on chick development. *Toxicology* **28**; 283-294.
- Bull, r. J. 2000. Mode of action of liver tumour induction by trichloroethylene and its metabolites, trichloroacetate and dichloroacetate. *Environmental Health Perspectives* **108** (2); 241-259.
- Bull, R. J., Templin, J. L., et Stevens, D. K. 1993. The role of dichloroacetate in the hepatocarcinogenicity of trichloroethylene. *Toxicology Letters* **68**; 203-211.
- Burg, J. R., et Gist, G. L. 1999. Health effects of environmental contaminant exposure: An intrafile comparison of the trichloroethylene subregistry. *Archives of Environmental Health* **54**; 231-240.
- Chia, S. E., Goh, V. H.H., et Ong, C. N. 1997. Endocrines profiles of male workers with exposure to trichloroethylene. *American Journal of Industrial Medicine* **32**; 217-222.

- Clewell III, H. J., Gentry, R., Covington, T. R., et Geahart, J. M. 2000. Development of a physiologically based pharmacokinetics model of trichloroethylene and its metabolites for use in risk assessment. *Environmental Health Perspectives* **108** (2); 283-305.
- Clewell, H. J., Gentry, P. R., Geahart, J. M., Allen, B. C., et Andersen, M. E. 1995. Considering pharmacokinetic and mechanistic information in cancer risk assessments for environmental contaminants: examples with vinyl chloride and trichloroethylene. *Chemosphere* **31** (1); 2561-2578.
- Cook, J. C., Klinefelter, G. R., et Hardisty, J. F. 1999. Rodent Leydig cell tumorigenesis: a review of the physiology, pathology, mechanisms and relevance to humans. *CRC Critical Reviews in Toxicology* **29**; 169-261.
- Cosby, N. C., et Dukelow, W. R. 1992. Toxicology of maternally ingested trichloroethylene (TCE) on embryonal and fetal development in mice of TCE metabolites on *in Vitro* fertilization. *Fundamental and Applied Toxicology* **19**; 268-274.
- Dallas, C. E., Gallo, J. M., Ramanathan, R., Muralidhara, S., et Bruckner, J. V. 1991. Physiological pharmacokinetics modeling of inhaled trichloroethylene in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* **110**; 303-314.
- Dawson, B. V., Johnson, P. D., Golberg, S. J., et Ulreich, J. B. 1993. Cardiac teratogenesis of halogenated hydrocarbon-contaminated drinking water. *JACC* **21**; 1466-1472.
- Dawson, B. V., Johnson, P. D., Golberg, S. J., et Ulreich, J. B. 1990. Cardiac teratogenesis of trichloroethylene and dichloroéthylène in a mammalian model. *JACC* **16**; 1304-1309.
- DeAngelo, A. B., Daniel, F. B., McMillan, L., Wernsing, P., et Savage, R. E. 1989. Species and strain sensitivity to the induction of peroxisome proliferation by chloroacetic acids. *Toxicology and Applied Pharmacology* **101**; 285-298.
- Dekant, W., Schulz, A., Metzler, M., et Henschler, D. 1986. Absorption, elimination and metabolism of trichloroethylene: a quantitative comparison between rats and mice. *Xenobiotica* **16**(2); 143-152.
- Dees, C., et Travis, C. 1993. The mitogenic potential of trichloroethylene in B6C3F1 mice. *Toxicology Letters* **69**; 129-137.
- Dilling, W. L., Tefertiller, N. B., et Kallo, G. J. 1975. Evaporation rates and reactivities of methylene chloride, chloroform, 1,1,1,-trichloroethane, trichloroethylene, tétrachloroéthylène and other chlorinated compounds in dilute aqueous solutions. *Environmental Science and Technology* **9**;833-838.

- Doolittle, D. J., Muller, G., et Scribner, H. E. 1987. The *in vivo-in vitro* hepatocyte assay for assessing DNA repair and DNA replication: studies in the CD-1 mouse. *Food and Chemical Toxicology* **25**; 399-405.
- Dorfmueller, M. A., Henne, S. P., York, R. G., Bornschein, R. L., et Manson, J. M. 1979. Evaluation of the teratogenicity and behavioural toxicity with inhalation exposure of maternal rats to trichloroethylene. *Toxicology* **14**; 153-166.
- Dosemeci, M., Cocco, P., Chow, W. H. 1999. Gender differences in risk of renal cancer carcinoma and occupational exposure to chlorinated aliphatic hydrocarbons. *American Journal of Industrial Medicine* **36**; 54-59.
- D'Souza, R. W., Bruckner, J. V., et Feldman, S. 1985. Oral and intravenous trichloroethylene pharmacokinetics in the rat. *Journal of Toxicology and Environmental Health* **15**; 587-601.
- Elcombe, C. R. 1985. Species differences in carcinogenicity and peroxysome proliferation due to trichloroethylene: A biochemical human hazard assessment. *Archives of Toxicology* **suppl. 8**; 6-17.
- Elfarra, A. A., Krause, R. J., Last, A. R., Lash, L. H., et Parkert, J. C. 1998. Species and sex related differences in metabolism of trichloroethylene to yield chloral and trichloroethanol in mouse, rat and human liver microsomes. *Drug Metabolism and Disposition* **26**; 779-785.
- Environnement Canada. 2001. Trichloroethylene and tétrachloroéthylène in solvent degreasing. ([www.ec.gc.ca/degrease/degrease.htm](http://www.ec.gc.ca/degrease/degrease.htm)).
- Evans, M. E., et Andersen, M. E. 1995. Sensitivity analysis and the design of gas uptake inhalation studies. *Inhalation toxicology* **7**; 1075-1094.
- Fisher, J. W. 2000. Physiologically based pharmacokinetics models for trichloroethylene and its oxidative metabolites. *Environmental Health Perspectives* **108 (2)**; 265-273.
- Fisher, J. W., Mahle, D., et Abbas, R. 1998. A human physiologically based pharmacokinetic model for trichloroethylene and its metabolites, trichloroacetic acid and free trichloroethanol. *Toxicology and Applied Pharmacology* **152**; 339-359.
- Fisher, J. W., et Allen, B. C. 1993. Evaluating the risk of liver cancer in human exposed to trichloroethylene using physiological models. *Risk Analysis* **13 (1)**; 87-95.



- Fisher, J. W., Gargas, M. L., Allen, B. C., et Andersen, M. E. 1991. Physiologically based pharmacokinetic modeling with trichloroethylene and its metabolite, trichloroacetic acid, in the rat and mouse. *Toxicology and Applied Pharmacology* **109**; 183-195.
- Fisher, J. W., Whittaker, T. A., Taylor, D. H., Clewell III, H. J., et Andersen, M. E. 1990. Physiologically based pharmacokinetics modeling of the lactating rat and nursing pup: A multiroute exposure model for trichloroethylene and its metabolite, trichloroacetic acid. *Toxicology and Applied Pharmacology* **102**; 497-513.
- Forkert, P. G., Lash, L. W., Nadeau, V., Tardif, R., et Simmonds, A. 2002. Metabolism and toxicity of trichloroethylene in epididymis and testis. Accepté dans *Toxicology and Applied Pharmacology*.
- Fukuda, K., Takemoto, K., et Tsuruta, H. 1983. Inhalation carcinogenicity of trichloroethylene in mice and rats. *Industrial Health* **21**; 243-254.
- George, J., Reel, J., Myers, C., et Lawton, A. D. 1997. Trichloroethylene. *Environmental Health Perspectives* **105** (suppl 1); 357-358.
- Gist, G. L., Burg, J. R. 1995. Trichloroethylene. A review of the literature from a health effects perspective. *Toxicology and Industrial Health* **11**; 253-307.
- Goh, V. H. H., Chia, S. E., et Ong, C. N. 1998. Effects of chronic exposure to low doses of trichloroethylene on steroid hormone and insulin levels in normal men. *Environmental Health Perspectives* **106**; 41-44.
- Gouvernement du Canada. Federal-Provincial Subcommittee on Drinking Water. 2001. Trichloroethylene in drinking water-Guideline development. ([www.hc-sc.gc.ca/waterquality](http://www.hc-sc.gc.ca/waterquality)).
- Gouvernement du Canada. Environnement et Santé Canada. 1993. Trichloroéthylène. Liste des substances d'intérêt prioritaire. Rapport d'évaluation. Ministère des Approvisionnements et Service Canada, Ottawa, ISBN 0-662-98667-9. 54 pages.
- Gouvernement du Québec. Gazette officielle du Québec. 1998. Règlement modifiant le Règlement sur la qualité en milieu de travail (RMQT). *Gazette Officielle du Québec* **126** (37); 5453-5491.
- Green, L. C., et Lash, T. L. 1999. Renal cell cancer correlated with occupational exposure to trichloroethylene. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* **125**; 430-432.

- Green, T. 2000. Pulmonary toxicity and carcinogenicity of trichloroethylene: Species differences and modes of action. *Environmental Health Perspectives*, **108** (2); 261-264.
- Green T., Mainwaring, G. W., et Foster, J. R. 1997. Trichloroethylene induced lung tumors: studies of the mode of action and comparisons between species. *Fundamentals in Applied Pharmacology* **37**; 125-130.
- Green, T., et Prout, M. S. 1985. Species differences in response to trichloroethylene. II. Biotransformation in rats and mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* **79**; 401-411.
- Greenberg, M. S., Allen Burton, G., et Fisher, J. W. 1999. Physiologically based pharmacokinetic modeling of inhaled trichloroethylene and its oxydative metabolites in B6C3F1 mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* **154**; 264-278.
- Gu, Z. W., Sele, B., Jlabert, P., Vincent, M., Vincent, F., Marka, C., Chmara, D., et Faure, J. 1981. Induction d'échanges entre les chromatides sœurs (SCE) par le trichloroéthylène et ses métabolites. *Toxicological European Research* **3**; 63-67.
- Halmes, N. C., Samokyszyn, V. M., et Pumford, N. R. 1997. Covalent binding and inhibition of cytochrome P4502E1 by trichloroethylene. *Xenobiotica* **27**; 101-110.
- Halmes, N. C., McMillan, D. C., Oatis, J. E., et Pumford, N. R. 1996. Immunochemical detection of protein adducts in mice treated with trichloroethylene. *Chemical Research in Toxicology* **9**; 451-456.
- Hansen, J., Raaschou-Nielsen, O., Christensen, J. M., Johansen, I., Mclaughlin, J. K., Lipworth, L., Blot, W. J., et Olsen, J. H. 2001. Cancer incidence among Danish workers exposed to trichloroethylene. *JOEM* **43**; 135-139.
- Hardin, B. D., Bond, G. P., Sikov, M. R., Andrew, F. D., Beliles, R. P., et Niemeier, R. W. 1981. Testing of selected workplace chemicals for teratogenic potential. *Scandinavian Journal of Environmental Health* **7**; 66-75.
- Henschler, D., Vamvakas, S., Lammert, M., Dekant, W., Kraus, B., Thomas, B., et Ulm, K. 1995. Increased incidence of renal cell tumors in a cohort of cardboard workers exposed to trichloroethylene. *Archives of Toxicology* **69**; 291-299.
- Henschler, D., Romen, W., Elsässer, H. M., Reichert, D., et Eder, E. 1984. Carcinogenicity study of trichloroethylene, with and without epoxide stabilizers in mice. *Journal of Cancer Research and clinical Oncology* **107**; 149-156.

- Henschler, D., Romen, W., Elsässer, H. M., Reichert, D., et Eder, E. 1980. Carcinogenicity study of trichloroethylene by longterm inhalation in three animal species. *Archives of Toxicology* **43**; 237-248.
- Herren-Freund, S. L., Pereira, M. A., Khoury, M. D., et Olson, G. 1987. The carcinogenicity of trichloroethylene and its metabolites, trichloroacetic acid and dichloroacetic acid, in mouse liver. *Toxicology and Applied Pharmacology* **90**; 183-189.
- Hewer, C. L. 1975. Trichloroethylene. *Anaesthesia* **30**; 483-487.
- Jonhson, P. D., Dawson, B. V., et Goldberg, S. J. 1998. Cardiac teratogenicity of trichloroethylene metabolites. *JACC* **32**; 540-545.
- Kimmerle, G., et Eben, A. 1973. Metabolism, excretion and toxicology of trichloroethylene after inhalation. *Archives of Toxicology* **30**; 115-126.
- Klaunig, J. E., Siglin, J. C., Schafer, L. D., Hartnett, J. A., Weghorst, C. M., et Olson, M. J. 1991. Correlation between species and tissue sensitivity to chemical carcinogenesis in rodents and the induction of DANN synthesis. *Progress in Clinical Biology Research* **369**; 185-194.
- Kligerman, A. D., Bryant, M. F., Doerr, C. L., Erexson, G. L., Evansky, P. A., Kwanyuen, P., et McGee, J. K. 1994. Inhalation studies of the genotoxicity of trichloroethylene to rodents. *Mutation Research* **322**; 87-96.
- Krishnan, K., et Andersen, M. 1994. Physiologically based pharmacokinetic modeling in toxicology. Dans: Principles and Methods in Toxicology, 3e edition. Editeur: W.H. Hayes, Raven Press, New York, pages 149-188.
- Kumar, P., Prasad, A.K., et Dutta, K. K. 2000. Steroidogenic alterations in testis and sera of rats exposed to trichloroethylene (TCE) by inhalation. *Human and Experimental Toxicology* **19**; 117-121.
- Lamb, J., George, J., Reel, J., Myers, C., et Lawton, A. D. 1997. Trichloroethylene. CAS No 79-01-6. *Environmental Health Perspectives* **105** (suppl 1); 359-360.
- Land, P. C., Owen, E. L., et Linde, H. W. 1981. Morphologic changes in mouse spermatozoa after exposure to inhalational anesthetics during early spermatogenesis. *Anaesthesiology* **54**; 53-56.
- Lash, L. H., Fisher, J. W., Lipscomb, J. C., et Parker, J. C. 2000a. Metabolism of trichloroethylene. *Environmental Health Perspectives*, **108** (2), 177-200

- Lash, L. H., Parker, J. C., et Scott, C. S. 2000b. Modes of action of trichloroethylene for kidney tumorigenesis. *Environmental Health Perspectives* **108** (2); 225-240.
- Lee, K. M., Muralidhara, S., White, C.A., et Bruckner, J. V. 2000. Mechanisms of the dose-dependant kinetics of trichloroethylene: oral bolus dosing of rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* **164**; 55-64.
- Lipscomb, J. C., Garrett, C. M., et Snawder, J. E. 1997. Cytochrome P450-dependant metabolism of trichloroethylene: interindividual differences in humans. *Toxicology and Applied Pharmacology* **142**; 311-318.
- Lipscomb, J. C., Mahle, D. A., Brashear, W. T., et Garrett, C. M. 1996. A species comparison of chloral hydrate metabolism in blood and liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **227**; 340-350.
- Loeber, C. P., Hendrix, M. C., De Pinos, S., et Goldberg, S. J. 1988. Trichloroethylene: A cardiac teratogen in developing chick embryos. *Pediatric Research* **24**; 740-744.
- Lorente, C., Cordier, S., Bergeret, A., De Walke, H. E. K., Goujard, J., Aymé, S., Knill-Jones, R., Calzolari, E., et Bianchi, F. 2000. Maternal occupational risk factors for oral clefts. *Scandinavian Journal of Environmental Health* **26**; 137-145.
- Maltoni, C., Lefemine, G., Cotti, G., et Perino, G. 1988. Long-term carcinogenicity bioassays on trichloroethylene administered by inhalation to Sprague-Dawley rats and Swiss and B6C3F1 mice. *Annals of the New York Academy of Sciences* **534**; 316-342.
- Maltoni, C., Lefemine, G., et Cotti, G. 1986. Experimental research on trichloroethylene carcinogenesis. Dans: Archives of research on industrial carcinogenesis. *Éditeurs*: C. Maltoni et M. A. Mehlman. Princeton Scientific Publishing Co, Princeton.
- Manson, J. M., Murphy, M., Richdale, N., et Smith, M. K.. 1984. Effect of oral exposure to trichloroethylene on female reproductive function. *Toxicology* **32**; 229-242.
- Maull, E. A., et Lash, L. H. 1998. Trichloroethylene: A current review of metabolism, mode of action, and regulatory considerations. *Toxic Substances Mechanisms* **17**; 153-169.
- Mazzullo, M., Bartoli, S., Bonora, B., Colacci, A., Lattanzi, G., Niero, A., Silingardi, P., et Grilli, S. 1992. In vivo and In vitro interaction of trichloroethylene with macromolecules from various organs of rat and mouse. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology* **76**; 192-208.

- McGregor, D. B., Reynolds, D. M., et Zeiger, E. 1989. Conditions affecting the mutagenicity in *Salmonella*. *Environmental and Molecular Mutagenesis* **13**; 197-202.
- McKone, T. E., et Knezovich, J. P. 1991. The transfer of trichloroethylene (TCE) from a shower to indoor air: Experimental measurements and their implications. *Journal of the Air Waste Management Association* **40**; 282-286.
- McLaughlin, J. K., et Blot, W. J. 1997. A critical review of epidemiology studies of trichloroethylene and perchloroethylene and risk of renal-cell cancer. *International Archives of Occupational and Environmental Health* **70**; 222-231.
- Medinsky, M. A., et Klaassen, C. D. 1996. Toxicokinetics. Dans: Casarett & Doull's Toxicology. The basic science of poisons, 5e edition. Éditeur: C. D. Klaassen. McGraw-Hill, Montréal, pages 187-198.
- Mirza, T., Gérin, M., Bégin, D., et Drolet, D. 2000. A study on the substitution of trichloroethylene as a spot remover in the textile industry. *AIHAJ* **61**; 431-438.
- Mirza, T., Gérin, M., Lalonde, M., et Sauvage, L. 1999. Étude sur la substitution du trichloroéthylène comme détachant dans les industries du textile et de l'habillement. ([www.presst.qc.ca/actes99/pdf/mirza.pdf](http://www.presst.qc.ca/actes99/pdf/mirza.pdf)).
- Moore, M. M., et Harrington-Brock, K. 2000. Mutagenicity of trichloroethylene and its metabolites: Implication for the risk assessment of trichloroethylene. *Environmental Health Perspectives* **108 (2)**; 215-223.
- Morgan, R. W., Kelsh, M. A., Zhao, K., et Heringer, S. 1998. Mortality of aerospace workers exposed to trichloroethylene. *Epidemiology* **9**; 424-431.
- Muller, G., Spassovski, M., et Henschler, D. 1972. Trichloroethylene exposure and trichloroethylene metabolites in urine and blood. *Archives of Toxicology* **29**; 335-340.
- Nagaya, T., Ishikawa, N., et Hata, H. 1989. Sister-chromatid exchanges in lymphocytes of workers exposed to trichloroethylene. *Mutation research* **222**; 279-282.
- Nakai, J. S., Stathopoulos, P. B., Campbell, G. L., Chu, I. Li-Muller, A., et Aucion, R. 1999. Penetration of chloroform, trichloroethylene and tetrachloroethylene through human skin. *Journal of Toxicology and Environmental Health (part A)* **58**; 157-170.
- Nakajima, T., Kamijo, Y., Usuda, N., Liang, Y., Fukushima, Y., Kametan, K., Gonzalez, F. J., et Aoyama, T. 2000. Sex-dependant regulation of hepatic peroxisome proliferation in mice by trichloroethylene via peroxysome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ). *Carcinogenesis* **21**; 677-682.

- Nakajima, T., Wang, R.-S., Elovaara, E., Park, S. S., Gelboin, H. V., and Vainio H. (1992a). A comparative study of the contribution of cytochrome P450 isozymes to metabolism of benzene, toluene and trichloroethylene in rat liver. *Biochem. Pharmacol.* **43**, 251-257.
- National Toxicology Program (NTP). 1998. Trichloroethylene. CAS No. 79-01-6. First listed on the Ninth Report on carcinogens. (<http://ehis.niehs.nih.gov/roc/nonth/ranc/trichloroethylene.pdf>).
- National Toxicology Program (NTP). Toxicology and carcinogenesis studies of trichloroethylene in four strains of rats (ACI, August, Marshall, Osborne-Mendel). CAS No 79-01-6. Research Triangle Park, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institute of Health.
- Nelson, M. A., et Bull, R. J. 1988. Induction of strand breaks in DNA by trichloroethylene and metabolites in rat and mouse liver in vitro. *Toxicology and Applied Pharmacology* **94**; 45-54.
- Odum, J., Foster, J. R., et Green, T. 1992. A mechanism for the development of Clara cell lesions in the mouse lung after exposure to trichloroethylene. *Chemical and Biological Interactions* **83**; 135-153.
- Ojajärvi, A., Partanen, T., Ahlbom, A., Bofetta, P., Hakulinen, T., Jourenkova, N., Kaupinnen, T., Koveginas, M., Vainio, H., Weiderpass, E., et Wesseling, C. 2001. Risk of pancreatic cancer in workers exposed to chlorinated hydrocarbon solvents and related compounds: A meta-analysis. *American Journal of Epidemiology* **153**; 841-850.
- Pastino, G. M., Yap, W. Y., et Carroquino, M. 2000. Human variability and susceptibility to trichloroethylene. *Environmental Health Perspectives* **108** (2); 201-214.
- Poet, T.S., Corley, R. A., Thrall, K. D., Edwards, J. A., Tanojo, H., Weitz, K. K., Hui, X., Maibach, H. I., et Wester, R. C. 2000. Assessment of the percutaneous absorption of trichloroethylene in rats and human using MS/MS real-time breath analysis and physiologically based pharmacokinetics modeling. *Toxicological Sciences* **56**; 61-72.
- Prout, M. S., Provan, W. M., et Green, T. 1985. Species differences in response to trichloroethylene. I. Pharmacokinetics in rats and mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* **79**; 389-400.
- Rasmussen, K., Sabore, S., Wohler, M., Ingerslev, H. J., Kappel, B., et Nielsen, J. 1988. A genotoxic study of metal workers exposed to trichloroethylene. *International Archives of Occupational Health* **60**; 419-423.

- Ritz, B. 1999. Cancer mortality among workers exposed to chemicals during uranium processing. *JOEM* **41**; 556-566.
- Roldan-Arjona, T., Garcia-Pedrajas, M. G., Luque-Romero, F. L., Hera, C., et Pueyo, C. 1991. An association between mutagenicity of the Ara test of *Salmonella typhmuri* and carcinogenicity in rodents for 16 halogenated aliphatic hydrocarbons. *Mutagenesis* **6**; 199-205.
- Saillenfait, A. M., Langonné, I., et Sabaté, J. P. 1995. Developmental toxicity of trichloroethylene, tetrachloroethylene and four of their metabolites in rat whole embryo culture. *Archives of Toxicology* **70**; 71-82.
- Santé Canada. 1996. Concentrations/doses journalières admissibles et concentrations/doses tumorigènes des substances d'intérêt prioritaire calculées en fonction de critères sanitaires. ISBN 0-662-81394-4. Ministère des Approvisionnements et Services, Ottawa. 16 pages.
- Sato, A., Nakajima, T., Fujiwara, Y., et Murayama, N. 1977. A pharmacokinetic model to study the excretion of trichloroethylene and its metabolites after an inhalation exposure. *British Journal of Industrial Medicine* **34**; 56-63.
- Sharpe, C. R., Rochon, J. E., Adam, J. M., et Suissa, S. 1989. Case-control study of hydrocarbon exposures in patients with renal cell carcinoma. *CMAJ* **140**; 1309-1318.
- Simon, T. W. 1997. Combining physiologically based pharmacokinetics modeling with Monte Carlo simulation to derive an acute inhalation guidance value for trichloroethylene. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **26**; 257-270.
- Smith, M. K., Randall, J. L., Read, E. J., et Stober, J. A. 1992. Developmental toxicity of dichloroacetate in the rat. *Teratology* **46**; 217-223.
- Smith, L. R., et Dragun, J. 1984. Degradation of volatile chlorinated aliphatic priority pollutants in groundwater. *Environmental International* **10**; 291-298.
- Spirtas, R., Stewart, P. A., Lee, J. S., Marano, D. E., Forbes, C. D., Grauman, D. J., Pettigrew, H. M., Blais, A., Hoover, R. N., et Cohen, J. L. 1991. Retrospective cohort mortality study of workers at an aircraft maintenance facility. I Epidemiological results. *British Journal of Industrial Medicine* **48**; 515-530.
- Staats, D. A., Fisher, J. W., et Conolly, R. B. 1991. Gastrointestinal absorption of xenobiotics in physiologically based pharmacokinetic models. *Drug Metabolism and Disposition* **19**(1); 144-148.

- Stenner, R. D., Merdink, J. M., Fisher, J. W., et Bull, R. J. 1998. Physiologically based pharmacokinetic model for trichloroethylene considering enterohepatic recirculation of major metabolites. *Risk Analysis* **18** (3); 261-269.
- Stenner, R.D., Merdink, J.L., Stevens, D.L., and Bull, R.J. 1997. Enterohepatic recirculation of Trichloroethanol glucuronide as a significant source of Trichloroacetic acid. *Drug Metabolism and Disposition* **25**; 529-535.
- Stott, W.T., Quast, J.F., and Watanabe, P.G. 1982. The pharmacokinetics and macromolecular interactions of Trichloroethylene in mice and rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* **62**; 137-151.
- Swaen, G. M. H. 1995. Increased incidence of renal cell tumours in a cohort of cardboard workers exposed to trichloroethylene. *Archives of Toxicology* **70**; 127-128.
- Tao, L., Ge, R., Kramer, P. M., et Pereira, M. A. 1999. Effect of trichloroethylene on DNA methylation and expression of early-intermediate protooncogenes in the liver of B6C3F1 mice. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* **13**; 231-237.
- Tao, L., Kramer, P. M., Ge, R., et Pereira, M. A. 1998. Effect of dichloroacetic acid and trichloroacetic acid on DNA methylation in liver nad tumors of female B6C3F1 mice. *Toxicological Sciences* **43**; 139-144.
- Templin, M. V., Stevens, D. K., Stenner, R. D., Bonate, P. L., Tuamn, D., et Bull, R. J. 1995. Factors affecting species differences in the kinetics of metabolites of trichloroethylene. *Journal of Toxicology and Environmental Health* **44**; 435-447.
- Templin, M. V., Parker, J. C., et Bull, R. J. 1993. Relative formation of dichloroacetate and trichloracetate from trichloroethylene in male CD-1 mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* **123**; 1-8.
- Toraason M., Clark, J., Dankovic, D., Mathias, P., Skaggs, S., Walker, C., et Werren, D. 1999. Oxidative stress and DNA damage in Fisher rats following acute exposure to trichloroethylene or perchloroethylene. *Toxicology* **138**; 43-53.
- Tucker, A. N., Sanders, V. M., Barnes, D. W., Bradshaw, T. J., White, K. L., Sain, L. E., Borzelleca, J. F., et Munson, A. E. 1982. Toxicology of trichloroethylene in the mouse. *Toxicology and Applied Pharmacology* **62**; 351-357.



- U. S. Environmental Protection Agency. (US EPA). 2001. Sources, emission and exposure for trichloroethylene (TCE) and related chemicals. National Center for Environmental Research, Office of Research and Development, Washington, DC. 125 pages.
- U.S. Environmental Protection Agency. (U.S. EPA). AIRSDATA. 1998. Office of Air Quality Planning and Standard. ([www.epa.gov/airsdata](http://www.epa.gov/airsdata)).
- Vamvakas, S., Brüning, T., Thomasson, B., Lammert, M., Baumüller, A., Bolt, H. M., Birner, G., Henschler, D., et Ulm, K. 1998. Renal cell cancer correlated with occupational exposure to trichloroethene. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* **124**; 374-382.
- Wartenberg, D., Reyner, D., et Scott, C.H. 2000. Trichloroethylene and cancer: Epidemiologic evidence. *Environmental Health Perspectives* **108** (2); 161-176.
- Weiss, N. S. 1996. Cancer in relation to occupational exposure to trichloroethylene. *Occupational and Environmental Medicine* **53**; 1-5.
- Windham, G. C., Shusterman, D., Swan, S. H., Fenster, L., et Eskenazi, B. 1991. Exposure to organic solvents and adverse pregnancy outcomes. *American Journal of Industrial Medicine* **20**; 241-259.
- White, A. E., Takehisa, S., Eger, E., Wolff, S., et Stevens, W. C. 1979. Sister chromatid exchanges induced by inhaled anesthetics. *Anesthesiology* **50**; 426-430.
- Whitney, J. R., Collins, B. T., et Collins, P. G. 1983. Effect of vehicle on the pharmacokinetics and uptake of four halogenated hydrocarbons from the gastrointestinal tract of the rat. *Journal of Applied Toxicology* **3**; 249-253.
- WHO. World Health Organization. 2000. Trichloroethylene. *Dans: Air quality guideline, 2<sup>nd</sup> edition*. Regional Office for Europe, Copenhagen. 15 pages.
- WHO. World Health Organization. 1985. Environmental Health Criteria 50. Trichloroethylene. Office of publications, Geneva. 133 pages.
- Willhite, C. C., et Clewell, H. J. 1997. Usefulness of physiologically based pharmacokinetics (PBPK) data in assessment of human risk for developmental and reproductive toxicity: A regulatory perspective. *International Journal of Toxicology* **16**(6); 674.
- Wu, C., et Schaum, J. 2000. Exposure assessment of trichloroethylene. *Environmental Health Perspectives* **108** (2); 359-363.

Young, J. F. 1997. Underlying principles of physiologically based pharmacokinetics (PBPK) models. *International Journal of Toxicology* **16**(6); 674.

Zenick, H., Blackburn, K., Hope, E., Richdale, N., et Smith, K. H. 1984. Effects of trichloroethylene exposure on male reproductive function in rats. *Toxicology* **31**; 237-250.

**ANNEXES**

## ANNEXE 1

**Premier article:** Characterization of the toxicokinetics of trichloroethylene, trichloroacetic acid and trichloroethanol in male CD-1 mice exposed by inhalation.

**Auteurs :** Nadeau, V., Charest-Tardif, G., Forkert, P. G., et Tardif, R.

### Participation de chacun des auteurs à l'article :

Nadeau, Véronique :

- Expositions des animaux
- Prélèvements des échantillons biologiques (sang, urine, foie, testicules)
- Mise au point des méthodes d'analyse (sang, urine, tissus)
- Analyse des échantillons
- Analyse des résultats
- Rédaction du manuscrit

Charest-Tardif, Ginette :

- Prélèvements des échantillons biologiques (sang, foie, testicules)
- Mise au point des conditions d'analyse (sang, urine, tissus)

Forkert, Poh Gek :

- Correction du manuscrit

Tardif, Robert :

- Rédaction et correction du manuscrit

**FORMULAIRE D'AUTORISATION****Identification de l'étudiante**

Véronique Nadeau  
Département de santé environnementale et santé au travail  
Faculté de médecine  
Université de Montréal  
M. Sc Santé environnementale et santé au travail (2-488-1-0)

**Description de l'article**

Titre: Characterization of the toxicokinetics of trichloroethylene, trichloroacetic acid and trichloroethanol in male CD-1 mice exposed by inhalation.

Auteurs: Véronique Nadeau, Ginette Charest-Tardif, Poh Gek Forkert, et Robert Tardif.

Cet article est soumis pour évaluation à la revue Toxicological Sciences

**Déclaration des auteurs**

En tant que coauteur de l'article mentionné ci-haut, j'autorise Véronique Nadeau à inclure cet article dans son mémoire de maîtrise intitulé "Caractérisation et modélisation de la toxicocinétique du trichloroéthylène chez la souris CD-1 mâle".

G. CHAREST-TARDIF

Coauteur

Signature

24 avril 2002

Date

ROBERT TARDIF

Coauteur

Signature

25 avril 2002

Date



## ANNEXE 2

**Deuxième article:** Metabolism and Toxicity of Trichloroethylene in Epididymis and Testis.

**Auteurs :** Poh-Gek Forkert, Lawrence H. Lash, Veronique Nadeau, Robert Tardif and Andrea Simmonds

### Participation de chacun des auteurs à l'article :

Nadeau, Véronique :

- Expositions des animaux
- Prélèvements des échantillons biologiques (urine, foie, testicules, poumons, épидидymes)
- Perfusion et fixation des différents organes (foie, testicules, épидидymes)
- Mise au point des méthodes d'analyse (urine)
- Analyse des échantillons urinaires
- Analyse des résultats de l'excrétion urinaire de métabolites
- Rédaction du manuscrit (introduction et matériels et méthodes)

Forkert, Poh Gek :

- Préparation des microsomes
- Immunoblotting des protéines (foie, testicules, épидидymes)
- Histopathologie (testicules, épидидymes)
- Rédaction et correction du manuscrit

Lash, Lawrence H. :

- Analyse de la formation de l'hydrate de chloral
- Activité de la *p*-Nitrophénol hydroxylase
- Rédaction et correction du manuscrit

Tardif, Robert :

- Rédaction et correction du manuscrit

Simmonds, A. :

- Localisation immunohistochimique des enzymes du CYP450



CONSENT FORM

Student identification

Véronique Nadeau
Département de santé environnementale et santé au travail
Faculté de médecine
Université de Montréal
M. Sc Santé environnementale et santé au travail (2-488-1-0)

Article description

Title : Metabolism and toxicity of trichloroethylene in epididymis and Testis.
Authors: Poh-Gek Forkert , Lawrence H. Lash, Véronique Nadeau, Robert Tardif
and Andrea Simmonds
This article is accepted for publication in Toxicology and Applied Pharmacology

Author's declaration

As a co-author of the article mentioned above, I agree that Véronique Nadeau
includes this article in her master degree thesis entitled "Caractérisation et
modélisation de la Toxicocinétique du trichloroéthylène chez la souris CD-1
mâle".

Lawrence H. Lash, Ph.D. [Redacted Signature] 4/16/02
Coauthor Signature Date

ROBERT TARDIF [Redacted Signature] 4/25/02
Coauthor Signature Date

Coauthor Signature Date

Coauthor Signature Date

## CONSENT FORM

### Student identification

Véronique Nadeau  
 Département de santé environnementale et santé au travail  
 Faculté de médecine  
 Université de Montréal  
 M. Sc Santé environnementale et santé au travail (2-488-1-0)

### Article description

Title : Metabolism and toxicity of trichloroethylene in epididymis and Testis.

Authors: Poh-Gek Forkert , Lawrence H. Lash, Véronique Nadeau, Robert Tardif  
 and Andrea Simmonds

This article is accepted for publication in Toxicology and Applied Pharmacology

### Author's declaration

As a co-author of the article mentioned above, I agree that Véronique Nadeau includes this article in her master degree thesis entitled "Caractérisation et modélisation de la Toxicocinétique du trichloroéthylène chez la souris CD-1 mâle".

	[Redacted Signature]	<i>April 16/02</i>
Coauthor	Signature	Date

	[Redacted Signature]	<i>April 23/02</i>
Coauthor	Signature	Date

Coauthor	Signature	Date

Coauthor	Signature	Date

## ANNEXE 3

**Troisième article:** Modélisation toxicocinétique à base physiologique du trichloroéthylène, de l'acide trichloroacétique et du trichloroéthanol chez la souris CD-1 mâle après administration par voie intraveineuse, intra-péritonéale et respiratoire.

**Auteurs :** Véronique Nadeau<sup>1</sup>, Ginette Charest-Tardif<sup>1</sup>, et Robert Tardif<sup>1</sup>.

### Participation de chacun des auteurs à l'article :

Nadeau, Véronique :

- Expositions des animaux (intraveineuse, intra-péritonéale)
- Prélèvements des échantillons biologiques (urine, sang)
- Mise au point des méthodes d'analyse (urine)
- Analyse des échantillons et des résultats
- Modification du modèle déjà existant pour le TCE inchangé (ajout des compartiments, des voies d'expositions et des métabolites)
- Optimisation des paramètres du modèle final
- Analyse de sensibilité
- Simulations
- Rédaction et correction du manuscrit

Charest-Tardif, Ginette:

- Expositions des animaux (intraveineuse, intra-péritonéale)
- Mise au point des méthodes d'analyse (sang)
- Création du modèle pour le TCE inchangé
- Optimisation des paramètres du modèle final
- Simulations
- Rédaction du manuscrit

Tardif, Robert :

- Rédaction et correction du manuscrit

**FORMULAIRE D'AUTORISATION****Identification de l'étudiante**

Véronique Nadeau  
Département de santé environnementale et santé au travail  
Faculté de médecine  
Université de Montréal  
M. Sc Santé environnementale et santé au travail (2-488-1-0)

**Description de l'article**

Titre: Modélisation toxicocinétique à base physiologique du trichloroéthylène, de l'acide trichloroacétique et du trichloroéthanol chez la souris CD-1 mâle suite à l'administration de TCE par voie intraveineuse, intra-péritonéale et respiratoire.

Auteurs: Véronique Nadeau, Ginette Charest-Tardif, et Robert Tardif.

**Déclaration des auteurs**

En tant que coauteur de l'article mentionné ci-haut, j'autorise Véronique Nadeau à inclure cet article dans son mémoire de maîtrise intitulé "Caractérisation et modélisation de la toxicocinétique du trichloroéthylène chez la souris CD-1 mâle".

G. CHAREST-TARDIF

Coauteur

Signature

24 avril 02

Date

ROBERT TARDIF

Coauteur

Signature

25 avril 2002

Date

## ANNEXE 4

## FICHER CSL

PROGRAM: modele PB-PK pour TRICHLOROETHYLENE chez le souris  
 'Nom de fichier: A6MICE.CSL'  
 'Voie d'absorption INHALATION et INTRAVEINEUX et INTRAPERITONIAL'  
 'Les compartiments decrits sont, le foie, les tissus riches'  
 'le gras, les testicules, les muscles'  
 'Coefficient de partage et metabolite Tardif et coll'  
 'Adapte de Clewell et al. 2000 recirculation enteropathique'  
 'Conception: Ginette Charest Tardif avril 2002'

INITIAL '\$'Initialisation des constantes pour la souris'

"Parametres physiologiques Fisher 1991"

CONSTANT BW=0.025 !poids corporel du sujet en kg  
 CONSTANT KQCR=26.05 !const du debit cardiaque au repos (L/hr/kg)  
 CONSTANT KQALVR=26.05 !const du debit alveolaire au repos (L/hr/kg)

' VOLUMES Fisher 1991 '

CONSTANT KVG = 0.04 !Fraction gras  
 CONSTANT KVF = 0.04 !Fraction foie  
 CONSTANT KVMP = 0.773 !Fraction tissue pauvre  
 CONSTANT KVR = 0.05 !Fraction tissue riche  
 CONSTANT KVT = 0.007 !Fraction testicules (Mylene 2001)  
 CONSTANT KVB =0.049 !Fraction du Volume de sang total (L)Brown=4.9%, Davis  
 et Morris =8.9%

CONSTANT FDTCAf = 0.45 !Fract du vol distr du TCA foie (\* BW) Nadeau 2002 Optim  
 CONSTANT BTCAs =0.77 !Facteur de biodisponibilité TCA sang en fx du foie  
 CONSTANT BTCAt = 0.37 !Facteur de biodisponibilité TCA testicules en fx du sang  
 CONSTANT FDTCEf = 0.45 !Fract du vol dist du TCOH foie (\*BW) Nadeau 2002 Optim  
 CONSTANT BTCEs = 0.282 !Facteur de biodisponibilité du TCOH sang en fx du foie  
 CONSTANT BTCEt = 1.20 !Facteur de biodisponibilité TCOH testicules en fx du sang  
 CONSTANT FDDCAs= 0.35 !Fraction du vol de distr du DCA ????? (\* BW) (non  
 considere dans le modele)

' DEBIT Fisher 1991 '

CONSTANT KQGR = 0.05 !Fraction debit sanguin au gras((l/hr)/QC)  
 CONSTANT KQFR = 0.24 !Fraction debit sanguin foie ((l/hr)/QC)  
 CONSTANT KQR = 0.52 !Fraction debit sanguin riche(l/hr)/QC)  
 CONSTANT KQMP = 0.188 !Fraction debit sanguin faible((l/hr)/QC)  
 CONSTANT KQT = 0.002 !Fraction debit sanguin testicules (calcul)

' Parametres physico chimiques du trichloroethylene Labo Mylene 2001'

CONSTANT PRB = 18.1 !Coefficient de partage Sang/air Nadeau 02  
 CONSTANT KPRF = 18.32 !Coefficient de partage Foie/air Nadeau 02  
 CONSTANT KPRG = 448.75 !Coefficient de partage Gras/air Nadeau 02  
 CONSTANT KPRR = 16.9 !Coefficient de partage Rich.perf./air Nadeau 02  
 CONSTANT KPRMP = 12.4 !Coefficient de partage Mod.perf./air Nadeau 02  
 CONSTANT KPRT = 11.6 !Coefficient de partage testicules/air Nadeau 02  
 CONSTANT PM = 131.4 !Poids moleculaire du solvant (g/mol)  
 CONSTANT PMca = 163.4 !Poids moleculaire (g/mole) TCA  
 CONSTANT PMoh = 149.4 !Poids moleculaire (g/mole) TCOH  
 CONSTANT PMd = 128.95 !Poids moleculaire (g/mole) DCA  
 CONSTANT KVMAX = 32.7 !Vitesse metabolique (mg/hr/kg) Fisher 1991  
 CONSTANT KM = 0.25 !Michaelis constant (mg/l) Fisher 1991

'Constante pour METABOLITES TCA TCE CLEWELL '

CONSTANT F1 = 0.084 !Fraction Du CH metabolise en TCA (0.035-0.1 Clewell 2001)

CONSTANT KVMO = 1.0 !Vitesse transformation TCOHf en TCAf par oxydation  
 (mg/hr/kg)  
 CONSTANT KKMO = 0.25 !Constante d affinite TCOHf en TCAf (mg/l)  
 CONSTANT KVMR = 1.0 !Vitesse transf. TCOHf en DCAf par reduction (mg/hr/kg)  
 CONSTANT KKMR = 10.0 !Constante d affinite TCOHf en DCAf (mg/l)  
 CONSTANT KVMG = 100.0 !Vitesse de glucoronidation TCOHf en TCOGf (mg/hr/kg)  
 CONSTANT KKMg = 25.0 !Constante d affinite TCOHf en TCOGf (mg/l)  
 CONSTANT KVMT = 0.0 !Vitesse transformation TCAf en DCAf met (mg/hr/kg)  
 CONSTANT KKMT = 10.0 !Constante daffinite TCAf en DCAf (mg/l)  
 CONSTANT KVMD = 100.0 !Vitesse reduction du DCAf (mg/hr/kg)  
 CONSTANT KKMD = 1000.0 !Constante daffinite DCAf (mg/l)  
 CONSTANT KKug = 0.90 !Cste elimination TCOHg urine hr-1.kg-1 Tardif 2001 Opt  
 CONSTANT KKhb = 0.07 !Cste excretion biliaire du TCOHg intestin hr-1.kg-1 Tardif  
 2001 Opt)  
 CONSTANT KKhr = 0.044 !Cste recirculation TCOHg foie hr-1.kg-1 Tardif 2001 Opt  
 CONSTANT KKut = 0.06 !Cste elimination TCAf urine hr-1.kg-1 (Tardif 2001 Opt)  
 CONSTANT KKud = 0.035 !Constante elimination DCAf dans urine hr-1.kg-1

CONSTANT TUR = 1.848 !Cte debit urinaire (ml/hr/kg) Sato (Humain)

"Parametres de simulation"

CONSTANT CONC = 0.0 !Concentration inhalee (ppm)  
 CONSTANT TSTOP = 7.0 !Nb d hr de simulation  
 CONSTANT DUREE = 4.0 !Duree de l exposition (heures)  
 CONSTANT HRS = 24.0 !Nombre de jrs exposition hr/semaine  
 CONSTANT IVDOS = 0.0 !Dose intraveineues (mmole/kg)  
 CONSTANT TINF = 0.005 !Temps d infusion dose IV (hr) 18 secondes  
 CONSTANT CINT = 0.1 !Interv. sauvegarde des result.  
 MAXTERVAL MAXT = 0.001 !PAS MAXIMUM D INTEGRATION egal a TINF  
 CONSTANT KOR = 2.12 !Const du temps d absorption orale (hr-1)  
 CONSTANT ORAL = 0. !Dose IP (mmole/kg) trichloroethylene

"Parametres calcules exposant 0 70 TAP 93 Tardif "

QC = KQCR\*BW\*\*0.70 !Debit cardiaque (l/hr)  
 QALV = KQALVR\*BW\*\*0.70 !Debit alveolaire (L/hr)  
 F2 = 1.0 - F1 !Fraction Du CH metabolise en TCOH

VMO = (KVMO\*BW\*\*0.75)/(PMoh/1000) !Vitesse d oxydation TCOHf en TCAf (umol/h)  
 VMR = (KVMR\*BW\*\*0.75)/(PMoh/1000) !Vitesse reduction TCOHf en DCA (umol/hr)  
 VMG = (KVMG\*BW\*\*0.75)/(PMoh/1000) !Vitesse glucoronidation TCOHf en TCOGf  
 (umol/h)

VMT = (KVMT\*BW\*\*0.75)/(PMca/1000)!Vitesse transformation TCAf en DCA (umol/hr)  
 VMD = (KVMD\*BW\*\*0.75)/(PMd/1000) !Vitesse reduction du DCA (umol/hr)  
 KMO = KKMO/(PMoh/1000) !Constante d affinite TCOHf en TCAf (umol/l)  
 KMR = KKMR/(PMoh/1000) !Constante d affinite TCOHf en DCA (umol/l)  
 KMG = KKMg/(PMoh/1000) !Constante d affinite TCOHf en TCOGf (umol/l)  
 KMT = KKMT/(PMca/1000) !Constante daffiniteTCAf en DCA (umol/l)  
 KMD = KKMD/(PMd/1000) !Constante daffinite du DCA (umol/l)  
 Kug = KKug\*BW\*\*(-0.25) !Constante elimnation du TCOHg dans urine hr-1.  
 Khb = KKhb\*BW\*\*(-0.25) !Constante excretion biliaire du TCOHg dans intestin hr-1  
 Khr = KKhr\*BW\*\*(-0.25) !Constante recirculation du TCOHg dans foie hr-1  
 Kut = KKut\*BW\*\*(-0.25) !Constante elimination du TCAf dans urine hr-1  
 Kud = KKud\*BW\*\*(-0.25) !Constante elimination du DCAf dans urine hr-1

CREOUT=TUR\*BW\*\*0.82 !Taux d excretion d urine (l/hr)

'VOLUMES'

VR = KVR\*BW !Volume rich. perf. tissus (l)  
 VMP = KVMP\*BW !Volume mod. perf. tissus (l)  
 VG = KVG\*BW !Volume gras (l)  
 VF = KVF\*BW !Volume foie (l)  
 VT = KVT\*BW !Volume testicules (l)  
 VB = KVB\*BW !Volume total du sang (L)  
 VVZ = 0.66\*VB !Volume de sang veineux (L)  
 VVY = 0.34\*VB !Volume de sang arteriel (L)

DDCA = FDDCAs \* BW !Volume de distribution du DCA sanguin (L)  
 DTCEf = FDTCEf \* BW !Volume de distribution du TCOH foie (L)  
 DTCAf = FDTCAf \* BW !Volume de distribution du TCA foie (L)

'DEBIT'

QG = KQGR\*QC !Debit sanguin gras (l/hr)  
 QF = KQFR\*QC !Debit sanguin foie (l/hr)  
 QR = KQR\*QC !Debit sanguin rich. perf. tissus (l)  
 QMP= KQMP\*QC !Debit sanguin mod. perf.tissus (l)  
 QT = KQT\*QC !Debit sanguin testicules (l)

'METABOLIC CONSTANTS exposant 0 75 TAP 93 Tardif et al'

VMAX=KVMAX\*BW\*\*0.75 !Metabolisme au foie (mg/h)

## 'COEFFICIENT DE PARTAGE'

PRF = KPRF/PRB !Foie/sang partition coefficient  
 PRG = KPRG/PRB !Gras/sang partition coefficient  
 PRR = KPRR/PRB !Rich.perf./sang  
 PRMP= KPRMP/PRB !Mod.perf./sang  
 PRT = KPRT/PRB !Testicules/sang

## 'CONCENTRATION D EXPOSITION (mg/L)'

CEXPO=CONC\*PM/(24.45\*1000) !Conc. d exposition en mg/l  
 IVR = (IVDOS\*BW\*PM)/TINF !Dose IV TRI (mg/hr)  
 ODOSE= ORAL\*PM\*BW !Dose IP (mg) TRI  
 ALGORITHM IALG=2 !Methode de calcul de Gear

END !Fin de la section INITIAL

DYNAMIC !Debut: section dynamique de la simulation  
 DERIVATIVE !Resolution des equations diff.

## "Controle des evenements discrets de la simulation"

JOURNE=PULSE(0.,24.,DUREE) !hrs exposition =DUREE chaque 24 hr  
 HEBDO = PULSE (0.,168.0,HRS) !jours exposition= HRS= 120hr/168hrs donc 5jrs/sem  
 CI=JOURNE\*CEXPO\*HEBDO !Seq. d exposition

## 'QUANTITE ABSORBE PAR VOIE IP'

RSTOM=-KOR\*STOM !taux abs IP (mg/hr)  
 STOM = INTEG(RSTOM,odose) !qte absorbee IP(mg)

## "Solvant dans le poumon"

CAb=(QC\*CVb+(QALV\*CI))/(QC+(QALV/prb)) !Conc. art.(mg/l)  
 CEXP=CAb/prb !Conc. dans air expire (mg/l)

## "solvant dans le compartiment sang arteriel"

TCAb=Qc\*(CAb-CA) !Taux acc dans le comp sang arteriel (mg/L)  
 AAb=INTEG(TCAb,0) !Qte TRI dans le comp sang arteriel (mg)  
 CA=AAb/VVy !Conc TRI dans sang arteriel (mg/L)

## "Solvant dans le sang veineux"

IV = IVR\*(1-STEP(TINF)) !Qte de TRI intra veineux (mg/hr)  
 TCVb=((Qc\*CV)+IV)-(Qc\*CVb) !Taux acc TRI comp sang veineux (mg/hr)  
 AVb=INTEG(TCVb,0) !Qte TRI dans comp sang veineux (mg)  
 CVb=AVb/VVz !conc sang veineux sortie comp (mg/L)

CV=(QF\*CVF+QG\*CVG+QR\*CVR+QMP\*CVMP+QT\*CVT)/QC !Conc sang  
 veineux(mg/l)  
 SS=INTEG(CV,0)



'Compartiment foie'

TAF=(QF\*CA)-(QF\*CVF)-TMET +(-RSTOM) !Taux d acc.: foie (mg/hr)

AF=INTEG(TAF,0) !Quantite acc.: foie (mg)

CF=AF/VF !Conc.:tissu hepaticque (mg/l)

CVF=CF/prf !Conc.:sang vein. hep. (mg/l)

'Sous compartiment metabolites TCOH et TCA CLEWELL '

TMETch=(TMET /PM)\*1000 ! Taux de met. chloral Hydrate (umole/h)

CH = INTEG(TMETch,0) ! uMOLE de metabolites produit par le

"Transformation du TCOH dans le foie"

TCOHf=(F2\*TMETch)+ TOHr -TCOHg-TCOHx-TCOHa !Taux accumulation TCOH dans  
le corps, umole/hr

ACOHf=INTEG(TCOHf,0) !Qte de TCOH dans le comp. (umole)

CTCOH=ACOHf/DTCEf !Conc de TCOH libre dans le corps ou foie (umole/L)

TCOHg=(VMG\*CTCOH)/(KMG+CTCOH) !Taux de glucoronidation TCOH TCOHg,  
mmole/hr

ACOHg =INTEG(TCOHg,0) !Qte TCOHf transforme en TCOg (umole)

TCOHx=(VMR\*CTCOH)/(KMR+CTCOH) !Taux reduction TCOH en DCA , umole/hr

ACOHx =INTEG(TCOHx,0) !Qte TCOH accumulee par reduction du TCOH (umole)

TCOHa=(VMO\*CTCOH)/(KMO+CTCOH)!Taux oxydation TCOH en TCA comp, umole/hr

ACOHa =INTEG(TCOHa,0) !Qte TCOH oxydee en TCA ds comp. (umole)

"Transformation du TCOHg dans l'intestin"

TTCOg = TCOHg - TTOGi - TTOGu !Taux acc. du TCOHg (umol) dans foie, umol/hr

ATCOg = INTEG ( TTCOg,0) !Qte de TCOg glucoronide dans foie (umol)

CTCOg = ATCOg/DTCEf !Concentration de TCOHg dans foie (umol/L)

TTOGi = Khb \* ATCOg !Taux elimination biliaire du TCOHg (umol)

ACOGi = INTEG ( TTOGi, 0) !Qte de TCOHg retournant ds intestin (umol)

TTOGu = Kug \* ATCOg !Taux elimination urinaire du TCOHg (umol)

ACOGu =INTEG (TTOGu,0) !Qte de TCOHu elimine dans urine (umol)

TTOHi = TTOGi - TOHr !Taux acc. du TCOH dans intestin (umol)

ACOHi = INTEG ( TTOHi,0) !Qte de TCOH dans intestin (umol)

TOHr = Khr \* ACOHi !Taux de TCOHg retournant au foie (umol/h)

ACOHr = INTEG ( TOHr ,0) !Qte de TCOHg retournant au foie

FTCOHt = (ATCOg+ACOHf)/DTCEf !Concentration de TCOH total dans foie (umol/L)

TCOht = BTCEs\*FTCOHt !Concentration de TCOH total dans le sang (umol/L)

TsTCOht = BTCEt\*TCOht !Concentration de TCOH total dans testicules (umol/L)

TCOHCR = (TTOGu/creout)\*1000 !Taux excretion urinaire de TCOH/crea (umol/mmol)

"Transformation du TCA dans le foie "

TCAf=(F1\*TMETch)+TCOHa-TCAu-TCAx !Taux acc. TCA ds comp. foie, umole/hr  
 ATCA=INTEG(TCAf,0) !Qte de TCA dans le comp. foie (umole)  
 TCAu=Kut\*ATCA !Taux excretion de TCA dans urine, umole/hr  
 ATCAu =INTEG(TCAu,0) !Qte TCA accumulee dans urine (umole)  
 TCAx = (VMT\*FTCA)/(KMT+FTCA) !Taux de transformation TCAf en DCA (umol/h)  
 ATCAx= INTEG ( TCAx,0) !Qte de TCAf transformee en DCA (umol)  
 TCACR = (TCAu/creout)\*1000 !Taux d'excretion urinaire de TCA/crea (umol/mmol)

FTCA = ATCA/DTCAf !Concentration de TCA dans le comp foie (umol/L)  
 CTCA = BTCAs\*FTCA !Concentration de TCA dans le sang (umol/L)  
 TsTCA = BTCAt\*CTCA !Concentration de TCA dans les testicules (umol/L)

" Transformation du DCA A VOIR le VOLUME de Distribution "

TTDCA = TCAx + TCOHx - TDCA - TDCAu !Taux acc. DCA dans le comp. (umol/h)  
 ADCA = INTEG ( TTDCA, 0) !Qte de DCA dans le compartiment ( umol)  
 CDCA = ADCA/DDCA !Concentration du DCA dans le compartiment ( umol/L)  
 TDCA = (VMD\*CDCA)/(KMD+CDCA) !Taux de reduction du DCA (umol/h) autresvoies  
 ADCAx = INTEG ( TDCA,0) !Qte de DCA reduit (umol) autres voies  
 TDCAu = KUD \* ADCA !Taux d excretion urinaire du DCA (umol/hr)  
 ADCAu = INTEG (TDCAu, 0) !Qte de DCA excretee dans l urine (umol)

'Bilan sous compartiment METABOLITES'

TBIL1=F2\*TMETch  
 BIL1 =INTEG(TBIL1,0) !Qte CH transformee en TOHf (umole)  
 TBIL2=F1\*TMETch  
 BIL2 =INTEG(TBIL2,0) !Qte de CH transformee en TCA (umole)  
 BILM1= CH-BIL1-BIL2  
 BILMET= CH- ACOHf- ATCOg-ACOGi-ACOGu- ATCA - ATCAu -ADCA- ADCAu ...  
 - ADCAx + ACOHr ! Bilan sur quantite metabolise (umol)

'Compartiment richement perfuses'

TAR=QR\*(CA-CVR) !Taux d acc.: tissus riches (mg/hr)  
 AR=INTEG(TAR,0) !Quantite acc.: tissus riches (mg)  
 CR=AR/VR !Conc.: tissus riches (mg/l)  
 CVR=CR/prr !Conc.: sang veineux riche (mg/l)

'Compartiment tissus adipeux'

TAG=QG\*(CA-CVG) !Taux d acc.: tissus gras (mg/hr)  
 AG=INTEG(TAG,0) !Quantite acc.: tissus gras (mg)  
 CG=AG/VG !Conc. dans les tissus gras (mg/l)  
 CVG=CG/prg !Conc. dans le sang vein. gras(mg/l)

"compartiment pauvrement perfuse"

TAMP=QMP\*(CA-CVMP) !Taux d acc. dans les tissus MP (mg/hr)  
 AMP=INTEG(TAMP,0) !Quantite acc. dans les tissus MP (mg)  
 CMP =AMP/VMP !Conc. dans les tissus MP (mg/l)  
 CVMP=CMP/prmp !Conc. dans le sang veineux MP (mg/l)

"Compartiment testicules"

TAT=QT\*(CA-CVT) !Taux acc.: testicules (mg/hr)  
 AT=INTEG (TAT,0) !Quantite acc.:testicules (mg)  
 CT=AT/VT !Conc. dans testicules (mg/l)  
 CVT= CT/prt !Conc. dans le sang vein. testicules (mg/l)

'Metabolisme du TRICHLOROETHYLENE'

TMET = VMAX\*CVF/(KM+CVF) !Taux de transformation metabolique au foie (mg/h)  
 MET = INTEG(TMET,0.) !Qte de metabolites formes a partir du TCE au foie (mg)

"Bilan de masse sur l organisme entier"

'TRICHLOROETHYLENE'

TACC=(QALV\*CI)-(QALV\*CEXP) !Taux acc. dans l organisme par inhalation (mg/hr)  
 ACC=INTEG(TACC,0) !Qte acc. dans l organisme par inhalation (mg)  
 DOSET=(IVDOS\*BW\*PM)+ACC+ODOSE !Dose IV + inhalation + IP  
 TISS=AAb+AVb+AR+AG+AMP+AT+AF+STOM+MET !Qte dans les comp et eliminee  
 par metab  
 BILAN=DOSET-TISS !Bilan sur l organisme doit etre zero

"Conditions necessaires a l arret"

TERMT(T.GE.TSTOP) !Arret de la simulation

END !Fin de la section DERIVATIVE  
 END !Fin de la section DYNAMIC  
 END !Fin du programme